

## **ACIDO TAUROURSODESOSMICOLICO (TUDCA) PER L'USO NEL TRATTAMENTO DEI DISTURBI NEURODEGENERATIVI**

### **Descrizione**

L'oggetto della presente invenzione è l'uso di TUDCA o di un suo sale farmaceuticamente accettabile nel trattamento di disturbi neurodegenerativi, quali la SLA, il morbo di Alzheimer, il morbo di Parkinson, la malattia di Huntington e/o la retinite pigmentosa. Il destinatario di tale trattamento è preferibilmente un essere umano.

### STATO DELLA TECNICA

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una condizione neurodegenerativa rapidamente progressiva e fatale caratterizzata dalla perdita dei motoneuroni superiori e inferiori del sistema nervoso centrale (1). La degenerazione dei motoneuroni inferiori nelle corna anteriori del midollo spinale e del tronco cerebrale porta a progressiva atrofia muscolare ed infine alla morte entro pochi anni dovuta a insufficienza respiratoria. Un certo numero di complesse vie biochimiche e regolatorie sono probabilmente coinvolte nella patogenesi della SLA (2). Queste diverse vie interagiscono tra loro, portando infine alla morte cellulare controllata o apoptosi, che è ritenuta essere un fattore di promozione comune per molte malattie neurodegenerative, inclusa la SLA (3,4). Inoltre, recenti evidenze suggeriscono un ruolo della disfunzione mitocondriale nella patogenesi di questa malattia invariabilmente e rapidamente fatale (5,6).

Lo sviluppo di una terapia modificante la malattia che possa invertire la progressione della disabilità è una priorità assoluta nella ricerca sulla SLA. Finora, solo il riluzolo, un farmaco che inibisce il rilascio di glutammato, ha



mostrato una modesta efficacia nel modificare la malattia, in quanto ha prolungato la sopravvivenza di tre mesi dopo 18 mesi di trattamento, sebbene con un effetto minimo se non nullo sul deterioramento funzionale (7). Sfortunatamente, questo approccio non si è dimostrato soddisfacente nell'arrestare o nel rallentare significativamente il processo degenerativo della SLA (8,9).

L'acido tauroursodesossicolico (TUDCA) è un acido biliare idrofilo che viene normalmente prodotto endogenamente nell'uomo a livelli molto bassi nel fegato, per coniugazione della taurina con l'acido ursodesossicolico. Questa sostanza è comunemente usata come terapia sostitutiva con acidi biliari per il trattamento di diverse malattie epatiche colestatiche croniche, per la dissoluzione dei calcoli biliari e come prevenzione della formazione di calcoli biliari (10). TUDCA aumenta l'attività di solubilizzazione del colesterolo della bile e possiede inoltre molte caratteristiche ancillari, inclusa l'inibizione dell'apoptosi associata ai mitocondri attraverso diversi meccanismi (11). TUDCA è anche noto per avere un'azione citoprotettiva e anti-apoptotica (12; 13). TUDCA è un potente farmaco neuroprotettivo nel modello animale transgenico della malattia di Huntington e nei modelli animali di ictus (20, 21). TUDCA ha migliorato la sopravvivenza e la funzionalità dei trapianti di cellule nigrali in un modello in ratto della malattia di Parkinson (22). Più recentemente, è stato dimostrato che TUDCA proteggeva da danni secondari dopo lesioni del midollo spinale nei ratti (23). L'effetto terapeutico dell'acido ursodesossicolico può essere attribuito al successo del rilascio di TUDCA al sistema nervoso centrale (24) e alle sue molteplici azioni citoprotettive.



In una recente pubblicazione, una formulazione orale solubile di acido ursodesossicolico è stata testata per tre mesi in pazienti SLA con un disegno cross-over, randomizzato, controllato con placebo (19). Un rallentamento relativo non significativo del 34% del tasso di deterioramento è stato osservato nel gruppo di trattamento rispetto al placebo.

Esiste quindi la necessità di un trattamento migliore che arresti o rallenti in modo significativo il processo di neurodegenerazione e che sia ben tollerato dai pazienti.

#### DESCRIZIONE

È stato ora sorprendentemente trovato che la somministrazione di TUDCA a pazienti refrattari ai trattamenti tradizionali risulta particolarmente efficace per il trattamento dei disturbi neurodegenerativi, in particolare per il trattamento della SLA, poiché rallenta in modo significativo il progresso della malattia, migliorando così la qualità della vita dei pazienti.

L'oggetto della presente invenzione è quindi l'uso di TUDCA o di un suo sale farmaceuticamente accettabile nel trattamento di disturbi neurodegenerativi, come ad esempio la SLA.

Come usato nella presente, il termine "trattamento di un disturbo neurodegenerativo" significa arrestare o rallentare significativamente il progresso di tale disturbo neurodegenerativo.

Secondo una forma di realizzazione dell'invenzione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato a un mammifero, preferibilmente a un essere umano. Vie di somministrazione adatte per TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile includono la via orale o la via parenterale, preferibilmente la via orale. Secondo un'altra forma di



realizzazione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato a pazienti refrattari ai trattamenti tradizionali, come ad esempio un trattamento della SLA a base di riluzolo. Secondo un'altra forma di realizzazione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato dopo un trattamento tradizionale, come ad esempio un trattamento della SLA a base di riluzolo.

Secondo un'altra forma di realizzazione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato in combinazione con un trattamento tradizionale, come ad esempio un trattamento della SLA a base di riluzolo (con o senza vitamina E).

Secondo un'altra forma di realizzazione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato ad una dose di almeno 1,5 g al giorno, preferibilmente ad una dose di circa 2 g al giorno.

Secondo un'altra forma di realizzazione, TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile viene somministrato almeno due volte al giorno, più preferibilmente a una dose di 1 g due volte al giorno.

Secondo un'altra forma di realizzazione, TUDCA viene somministrato per almeno 30 settimane, preferibilmente per almeno 54 settimane.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è una composizione farmaceutica comprendente TUDCA o un suo sale farmaceuticamente accettabile e almeno un eccipiente fisiologicamente accettabile per l'uso nel trattamento di disturbi neurodegenerativi, come ad esempio la SLA. Secondo una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica della presente invenzione viene somministrata come preparazione combinata con riluzolo per uso simultaneo, separato o sequenziale.



## DESCRIZIONE DELLE FIGURE

Figura 1. Diagramma di flusso dello studio e disposizione dei pazienti

Figura 2. Valori assoluti corretti per il basale (pannello sinistro) e variazioni percentuali corrette per il basale (pannello destro) per il punteggio ALSFRS-R alla fine delle 54 settimane di trattamento con placebo (barre aperte, n=17) o TUDCA (acido tauroursodesossicolico, barre grigie, n=17). I dati sono riportati come medie e intervalli di confidenza al 95% per il set di analisi completo. I valori p si riferiscono al significato statistico delle differenze tra i gruppi.

Figura 3. Stime di Kaplan-Meier della probabilità di sopravvivenza nei due gruppi, nei pazienti trattati con placebo e nei pazienti trattati con TUDCA (P = 0,092; test log-rank).

Figura 4. Analisi di regressione lineare: relazione tra i punteggi medi ALSFRS-R e il tempo (settimane) per i pazienti trattati con TUDCA (cerchio nero, pendenza= -0,388) e per i pazienti trattati con placebo (cerchio bianco, pendenza= -0,262).

## SEZIONE SPERIMENTALE

Il presente studio clinico è volto a valutare l'azione modificante la malattia di TUDCA nei pazienti SLA quando aggiunto a riluzolo.

### Popolazione in studio

I pazienti eleggibili avevano un'età compresa tra 18 e 75 anni e presentavano la malattia SLA clinicamente probabile o determinata, come definito nei criteri El Escorial rivisti (14), con una durata della malattia inferiore a 12 mesi all'ingresso nello studio. Ai pazienti era richiesto di avere una capacità vitale forzata (FVC) uguale o superiore al 75% di quella

*mul*

prevista, un regime di trattamento costante con riluzolo e vitamina E da almeno 3 mesi ed evidenza di progressione della malattia negli ultimi 3 mesi. Questi criteri di inclusione erano finalizzati al reclutamento di pazienti che non fossero gravemente disabili, la cui progressione della malattia potesse essere efficacemente monitorata.

I pazienti non eleggibili per lo studio erano quelli precedentemente sottoposti ad una tracheotomia o ad una resezione di cistifellea, quelli con segni di blocco della conduzione nervosa motoria o sensoriale, con demenza, affetti da ulcera peptica attiva o malignità attiva. Sono state escluse anche le donne in gravidanza e le madri che allattano al seno o le donne in età fertile, ma non praticanti un efficace metodo di controllo delle nascite.

Tutti i pazienti eleggibili hanno dato il consenso informato scritto a partecipare a questo studio, che è stato approvato dal comitato etico dell'ospedale.

#### Disegno dello studio

Questo studio è uno studio di fase II, multicentrico (3 centri italiani), randomizzato (1:1), in doppio cieco, controllato con placebo, a gruppi paralleli. La durata dello studio del trattamento in studio è stata di 54 settimane con placebo o TUDCA (1 g BID *per os*), preceduto da un periodo di run-in di 12 settimane con trattamento costante di riluzolo (50 mg BID) e vitamina E (300 mg QID). La randomizzazione è stata eseguita indipendentemente generando un elenco randomizzato che è stato tenuto in cieco agli investigatori dello studio e agli statistici.



Tutti i pazienti sono stati seguiti durante il periodo osservazionale di run-in di 12 settimane, durante il quale sono stati sottoposti a due visite di persona, per valutare farmaci concomitanti, occorrenza di eventi avversi, compliance al trattamento con riluzolo e vitamina E e livello di disabilità (ALSFRS-R). Alla fine della fase di run-in, i pazienti eleggibili sono entrati in un periodo di trattamento randomizzato di 54 settimane, con visite di persona ogni 6 settimane. Alla randomizzazione e ad ogni visita di follow-up sono stati prelevati campioni di sangue per esami di routine e sono state eseguite le seguenti valutazioni: funzione fisica e progressione della disabilità dei pazienti utilizzando la scala ALSFRS-R (15), uso di farmaci concomitanti, occorrenza di eventi avversi e compliance al trattamento. Inoltre, le seguenti valutazioni sono state eseguite alla randomizzazione, alla settimana 24 e alla fine del periodo di trattamento: esame fisico neurologico, funzione respiratoria (FVC), forza muscolare (scala MRC) (16) e qualità della vita (questionario SF-36) (17). La sicurezza è stata valutata attraverso il monitoraggio degli eventi avversi (questionario sulla sicurezza e segnalazioni spontanee da parte dei pazienti), i segni vitali e la valutazione dei dati degli esami di laboratorio per emocromo completo, pannello ematochimico di base, test di funzionalità epatica e creatina chinasi (CK) effettuati ad ogni visita.

L'endpoint primario dello studio era un confronto di ALSFRS-R tra trattamenti alla fine dello studio. L'ipotesi dello studio era che il trattamento con TUDCA fosse superiore al placebo nel ridurre o ritardare l'attività clinica della malattia nei pazienti SLA. Questo era inteso come uno studio pilota al fine di ottenere informazioni preliminari sulla possibile



efficacia terapeutica di TUDCA come trattamento aggiuntivo nei pazienti SLA che assumevano anche il riluzolo e la vitamina E. Pertanto, non è stata eseguita alcuna stima della dimensione del campione basata sui risultati attesi.

L'analisi è stata eseguita con un disegno intention-to-treat sul set completo di analisi, includendo tutti i pazienti randomizzati che avevano ricevuto almeno una dose del farmaco in studio e che avevano almeno una valutazione primaria di efficacia dopo la randomizzazione, indipendentemente dalle possibili violazioni del protocollo. Il metodo di attribuzione dell'ultima osservazione disponibile è stato utilizzato per sostituire i valori mancanti alla fine dello studio per i pazienti che hanno abbandonato prematuramente lo studio.

Gli outcome secondari di efficacia includevano il confronto tra trattamenti di: a) tasso di pazienti responder, definiti come tutti i soggetti che mostravano un miglioramento di almeno il 15% nella pendenza di ALSFRS-R durante il periodo di trattamento rispetto al basale; b) FCV alla fine del trattamento; c) tempo di sopravvivenza durante il follow-up; d) punteggi di sintesi dei componenti fisici (PCS) e di sintesi dei componenti mentali (MCS) di SF-36 alla fine del trattamento; e) punteggi MRC per i gruppi muscolari destro e sinistro alla fine dello studio.

L'omogeneità delle caratteristiche cliniche e delle variabili di efficacia al basale tra i due gruppi di randomizzazione è stata valutata mediante analisi della varianza, in caso di variabili continue, e con un test del chi-quadrato in caso di variabili discrete. Tutti gli endpoint di efficacia sono stati confrontati tra i due gruppi di randomizzazione a fine studio mediante



analisi della covarianza, correggendo per il basale e per l'effetto centro. Inoltre, l'analisi della covarianza con correzione per il valore basale è stata utilizzata per confrontare le variazioni rispetto al basale per alcuni endpoint di efficacia. È stato confrontato il tempo di sopravvivenza tra i trattamenti mediante un'analisi di sopravvivenza di Kaplan-Meier e un modello dei rischi proporzionali di Cox, utilizzando sesso ed età all'esordio della SLA come covariate.

Il livello di significatività statistica è stato mantenuto a 0,05 per la durata dell'intero studio e tutti i risultati sono riportati con valori p bilaterali. I dati sono mostrati come media $\pm$ DS o come media e intervallo di confidenza al 95% (CI) (variabili continue) o come valore assoluto (n) e frequenza relativa (variabili categoriali).

### Risultati

In totale sono stati randomizzati 34 pazienti, 17 dei quali al placebo e 17 al trattamento con TUDCA (Figura 1). Dei 34 pazienti randomizzati al trattamento, cinque non sono stati inclusi nella popolazione intention-to-treat (ITT) perché hanno abbandonato prima della visita 2. Il set completo di analisi includeva 29 pazienti randomizzati, quattro dei quali morirono durante il periodo di studio (Figura 1). Le caratteristiche al basale dei pazienti erano simili in entrambi i gruppi di trattamento (Tabella 1).

**Tabella 1.**

	Placebo (n=17)	TUDCA (n=17)	Valore p
Età (anni)	58,8±12,1	54,9±11,9	0,3505
Genere			
<i>Maschi</i>	10 (58,8)	11 (64,7)	0,7242
<i>Femmine</i>	7 (41,2)	6 (35,3)	
Scala ALSFRS-R	38,4±6,4	38,7±4,9	0,8870
FVC (%)	96,1±7,9	94,9±12,2	0,7358
SF-36			
Questionario			
<i>PCS</i>	38,0±7,0	39,3±9,9	0,695
<i>MCS</i>	45,4±13,0	50,9±11,8	0,263
Scala MRC			
<i>Gruppo muscolare destro</i>	56,9±7,6	58,2±3,9	0,626
<i>Gruppo muscolare sinistro</i>	54,9±9,0	55,6±8,9	0,851

Abbreviazioni:

ALSFRS-R: Scala di valutazione funzionale per la sclerosi laterale amiotrofica rivista; FVC: capacità vitale forzata; SF-36: Short Form 36; PCS: Sintesi dei componenti fisici; MCS: Sintesi dei componenti mentali; MRC: Medical Research Council

Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione in studio al momento della randomizzazione. I dati sono riportati come medie±DS o

come valore assoluto (n) e percentuali relative (%) per il gruppo di pazienti randomizzati al placebo e per quelli randomizzati all'acido tauroursodesossicolico (TUDCA). I valori p si riferiscono alla significatività statistica delle differenze tra i gruppi.

I trattamenti sono stati ben tollerati in tutti i pazienti, senza eventi avversi segnalati. I parametri di laboratorio erano coerenti con i valori ottenuti alle visite al basale. Non sono state osservate variazioni medie degne di nota nei parametri di laboratorio in entrambi i gruppi di trattamento.

#### Valutazione primaria di efficacia.

Al termine dello studio il punteggio ALSFRS-R assoluto corretto per il basale era significativamente più alto nei pazienti trattati con TUDCA rispetto ai pazienti trattati con placebo [valore medio e IC 95%: 23,3 (da 19,9 a 26,6) vs. 16,3 (da 12,9 a 19,7)] ( $p=0,007$ ; Figura 2). L'ALSFRS-R basale è diminuito progressivamente durante il periodo di trattamento fino alla fine dello studio, ma in misura significativamente inferiore con TUDCA rispetto al placebo [riduzione percentuale media e IC 95%: 53,0 (da 62,3 a 43,7) vs. 36,8 (da 45,8 a 27,9)] ( $p=0,016$ ).

#### Valutazioni secondarie di efficacia.

Il tasso di pazienti responder era significativamente più alto con TUDCA (87%) rispetto al placebo (43%) ( $p=0,021$ ). Gli altri outcome secondari non differivano significativamente tra i gruppi di trattamento (Tabella 2).

**Tabella 2.**

	Placebo (basale)	Placebo (54 settimane)	TUDCA (basale)	TUDCA (54 settimane)	Valore p
FVC (%)	96,1 (90,0- 102,2)	87,7 (80,9- 95,3)	94,9 (86,8- 101,4)	89,1 (81,4- 96,7)	0,778
SF-36					
Questionario					
<i>PCS</i>	38,0 (33,8- 42,2)	35,0 (30,4- 39,6)	39,3 (33,3- 45,3)	34,8 (30,2- 39,4)	0,951
<i>MCS</i>	45,4 (37,5- 53,2)	42,3 (35,5- 49,2)	50,9 (43,8- 58,1)	49,0 (42,1- 55,8)	0,173
Scala MRC					
<i>Gruppo muscolare destro</i>	56,91 (51,8- 62,0)	47,0 (35,6- 58,5)	58,2 (55,6- 60,8)	49,2 (44,9- 53,4)	0,695
<i>Gruppo muscolare sinistro</i>	54,9 (48,8- 61,0)	43,7 (32,9- 54,6)	55,6 (49,6- 61,6)	47,0 (41,6- 52,4)	0,553

Abbreviazioni:

FVC: capacità vitale forzata; SF-36: Short Form 36; PCS: Sintesi dei componenti fisici; MCS: Sintesi dei componenti mentali; MRC: Medical

---

Research Council

Misure di outcome secondari. I dati sono riportati come percentuali relative (%) o valori medi corretti per il basale e intervalli di confidenza al 95% per il gruppo di pazienti randomizzati al placebo e quelli randomizzati all'acido tauroursodesossicolico (TUDCA). I valori p si riferiscono alla significatività statistica delle differenze tra i gruppi.

L'incidenza cumulativa di morte nel corso del periodo di osservazione (follow-up mediano di 66 settimane) tendeva ad essere più elevata nel gruppo placebo (3 decessi, 18% dei pazienti) rispetto al gruppo TUDCA (1 decesso, 6% dei pazienti) (Figura 3). Di conseguenza, il tempo di sopravvivenza medio era un po' più lungo nel trattamento con TUDCA [valore medio e IC 95%: 65,7 (da 65,2 a 66,3) vs. 61,1 (da 55,3 a 66,9) settimane con placebo].

Alla fine del periodo di studio (54 settimane) il punteggio medio ALSFRS-R nel gruppo TUDCA corrispondeva al valore medio raggiunto dal gruppo placebo alla settimana 36, cioè 18 settimane prima (Figura 4). Le pendenze delle due linee di regressione erano diverse (-0,262 per il gruppo TUDCA, -0,388 per il gruppo placebo,  $p < 0,01$ ).

### Discussione

Questo studio mostra che un anno di trattamento con TUDCA alla dose prescritta era associato a un deterioramento funzionale più lento nei pazienti SLA. Questo effetto modificante la malattia si aggiunge a quello del riluzolo, poiché entrambi i gruppi di trattamento erano sotto trattamento con riluzolo e vitamina E. Alla fine del periodo di studio annuale (54



settimane) i pazienti nel gruppo TUDCA hanno ottenuto un punteggio di 23 su ALSFRS-R, corrispondente al valore medio ottenuto dal gruppo placebo alla settimana 36. Ciò suggerisce che il trattamento per un anno con TUDCA potrebbe rallentare il peggioramento della SLA di 18 settimane. Il trend di progressione osservato suggerisce inoltre che durate più lunghe del trattamento possano produrre ulteriori divergenze tra i gruppi. In linea con questo, il numero di pazienti “responder” era significativamente più alto nel gruppo TUDCA.

L’outcome non significativo su altri endpoint secondari può dipendere dalla piccola dimensione del campione di questo studio pilota. Nonostante ciò, nei pazienti trattati con TUDCA è stato osservato un declino minore della funzione polmonare, che indica un possibile impatto positivo del trattamento sul coinvolgimento respiratorio. È noto che una FVC progressivamente ridotta durante il decorso della malattia è associata a prognosi sfavorevole per il paziente (18). Inoltre, il trattamento con TUDCA è stato associato a un deterioramento meno pronunciato della forza muscolare e della qualità della vita. Infine, è stata osservata una tendenza ad un minore tasso di mortalità nel gruppo TUDCA. Attualmente non è noto se queste misure si riveleranno significative in studi futuri di dimensioni maggiori.

Il trattamento è stato ben tollerato da tutti i pazienti. Fatta eccezione per le attese complicazioni della SLA, come dispnea e disfagia, non sono stati registrati eventi avversi che potrebbero possibilmente essere attribuiti al farmaco in studio o al placebo; inoltre i valori dei segni vitali e i valori di laboratorio erano stabili durante il periodo di studio. I risultati di questo

studio sono interessanti in quanto mostrano che l'effetto modificante la malattia esercitato da TUDCA è aggiuntivo a quelli del riluzolo, suggerendo che più di un composto possa essere utilizzato per rallentare la progressione della malattia nella SLA. La dose di TUDCA utilizzata in questo studio (2 g al giorno) è superiore a quella solitamente raccomandata per il trattamento delle malattie epatiche (da 500 a 750 mg al giorno). Tuttavia, considerando che è stato ben tollerato, non possiamo escludere che possano essere utilizzate dosi orali ancora più elevate o somministrazione per via endovenosa di TUDCA.

#### ELENCO RIFERIMENTI

- (1) Ince PG, Lowe J, Shaw PJ. Amyotrophic lateral sclerosis: current issues in classification, pathogenesis and molecular pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998 Apr;24(2):104-17.
- (2) Rowland LP, Shneider NA. Amyotrophic lateral sclerosis. *N Engl J Med* 2001 May 31;344(22):1688-700.
- (3) Mitchell JD, Borasio GD. Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet* 2007 Jun 16;369(9578):2031-41.
- (4) Sathasivam S, Shaw PJ. Apoptosis in amyotrophic lateral sclerosis-- what is the evidence? *Lancet Neurol* 2005 Aug;4(8):500-9.
- (5) Caroppi P, Sinibaldi F, Fiorucci L, Santucci R. Apoptosis and human diseases: mitochondrion damage and lethal role of released cytochrome C as proapoptotic protein. *Curr Med Chem* 2009; 16(31):4058-65.
- (6) Rizzardini M, Lupi M, Bernasconi S, Mangolini A, Cantoni L. Mitochondrial dysfunction and death in motor neurons exposed to the

glutathione-depleting agent ethacrynic acid. *J Neurol Sci* 2003 Mar 15;207(1-2):51-8.

- (7) Lacomblez L, Bensimon G, Leigh PN, Guillet P, Meininger V. Dose-ranging study of riluzole in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Riluzole Study Group II. *Lancet* 1996 May 25; 347(9013) :1425-31.
- (8) Leigh PN, Swash M, Iwasaki Y, Ludolph A, Meininger V, Miller RG, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: a consensus viewpoint on designing and implementing a clinical trial. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2004 Jun;5(2):84-98.
- (9) Ludolph AC, Brettschneider J, Weishaupt JH. Amyotrophic lateral sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2012 Oct;25(5):530-5.
- (10) Hofmann AF. The continuing importance of bile acids in liver and intestinal disease. *Arch Intern Med* 1999 Dec 13;159(22):2647-58.
- (11) Amaral JD, Xavier JM, Steer CJ, Rodrigues CM. The role of p53 in apoptosis. *Discov Med* 2010 Feb;9(45):145-52.
- (12) Amaral JD, Viana RJ, Ramalho RM, Steer CJ, Rodrigues CM. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *J Lipid Res* 2009 Sep;50(9):1721-34.
- (13) Jain K. *The Handbook of Neuroprotection*. New York: Springer; 2011.
- (14) Brooks BR, Miller RG, Swash M, Munsat TL. El Escorial revisited: revised criteria for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000 Dec;1(5):293-9.

- (15) Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, Fuller C, Hilt D, Thurmond B, et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). J Neurol Sci 1999 Oct 31;169(1-2):13-21.
- (16) Medical Research Council. Aids to the examination of the peripheral nervous system, Memorandum no. 45. Her Majesty's Stationery Office ed. London: 1981.
- (17) Jenkinson C, Hobart J, Chandola T, Fitzpatrick R, Peto V, Swash M. Use of the short form health survey (SF-36) in patients with amyotrophic lateral sclerosis: tests of data quality, score reliability, response rate and scaling assumptions. J Neurol 2002 Feb;249(2):178-83.
- (18) Czaplinski A, Yen AA, Appel SH. Forced vital capacity (FVC) as an indicator of survival and disease progression in an ALS clinic population. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2006 Mar;77(3):390-2.
- (19) Min JH, Hong YH, Sung JJ, Kim SM, Lee JB, Lee KW. Oral solubilized ursodeoxycholic acid therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a randomized cross-over trial. J Korean Med Sci 2012 Feb;27(2):200-6.
- (20) Keene CD, Rodrigues CM, Eich T, Chhabra MS, Steer CJ, Low WC. Tauroursodeoxycholic acid, a bile acid, is neuroprotective in a transgenic animal model of Huntington's disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2002 Aug 6;99(16):10671-6.
- (21) Rodrigues CM, Sola S, Nan Z, Castro RE, Ribeiro PS, Low WC, et al. Tauroursodeoxycholic acid reduces apoptosis and protects against



neurological injury after acute hemorrhagic stroke in rats. Proc Natl Acad Sci U S A 2003 May 13; 100(10):6087-92.

- (22) Duan WM, Rodrigues CM, Zhao LR, Steer CJ, Low WC. Tauroursodeoxycholic acid improves the survival and function of nigral transplants in a rat model of Parkinson's disease. Cell Transplant 2002;11(3):195-205.
- (23) Macedo B, Batista AR, Ferreira N, Almeida MR, Saraiva MJ. Anti-apoptotic treatment reduces transthyretin deposition in a transgenic mouse model of Familial Amyloidotic Polyneuropathy. Biochim Biophys Acta 2008 Sep;1782(9):517-22.
- (24) Parry GJ, Rodrigues CM, Aranha MM, Hilbert SJ, Davey C, Kelkar P, et al. Safety, tolerability, and cerebrospinal fluid penetration of ursodeoxycholic Acid in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Clin Neuropharmacol 2010 Jan;33(1):17-21.



## RIVENDICAZIONI

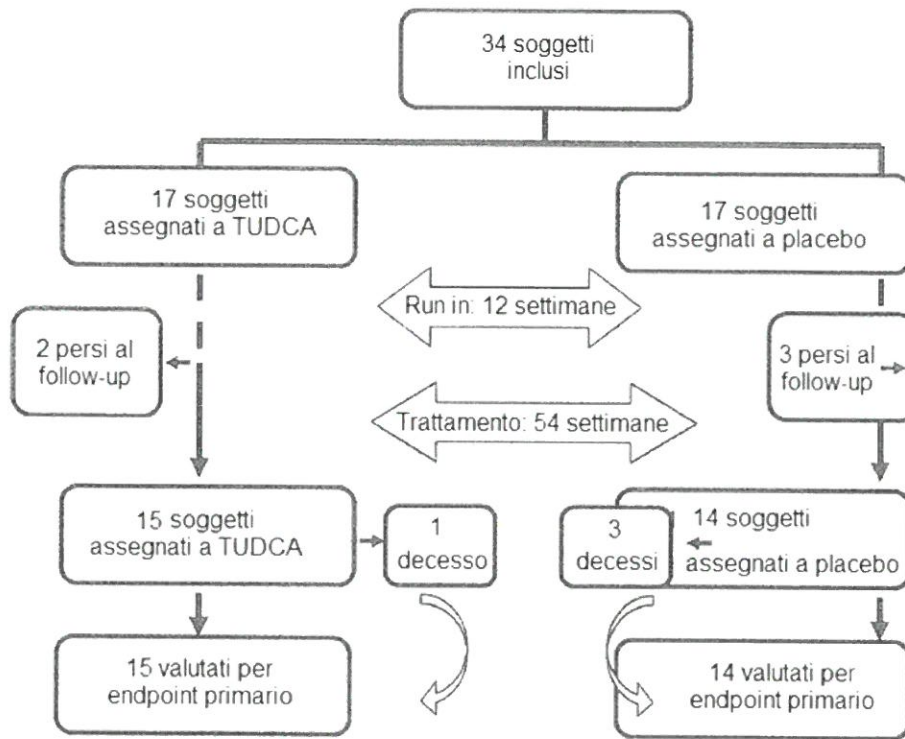
1. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso nel trattamento di un disturbo neurodegenerativo in un mammifero, caratterizzato dal fatto che detto disturbo neurodegenerativo è la sclerosi laterale amiotrofica.
2. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto mammifero è un essere umano.
3. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-2, caratterizzato dal fatto che esso viene somministrato per via orale o parenterale, preferibilmente per via orale.
4. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2-3, caratterizzato dal fatto che detto acido tauroursodesossicolico viene somministrato a una dose di almeno 1,5 g al giorno, preferibilmente di circa 2 g al giorno.
5. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2-4, caratterizzato dal fatto che detto acido tauroursodesossicolico viene somministrato almeno due volte al giorno, preferibilmente a una dose di 1 g due volte al giorno.
6. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2-5,



caratterizzato dal fatto che viene somministrato per almeno 30 settimane, preferibilmente per almeno 54 settimane.

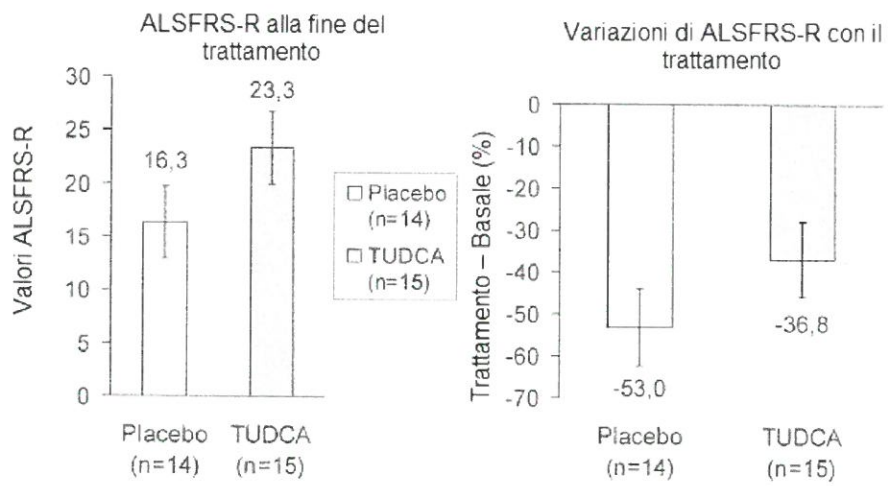
7. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 2-6, caratterizzato dal fatto che viene somministrato a pazienti refrattari ai trattamenti tradizionali della sclerosi laterale amiotrofica.
8. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7, caratterizzato dal fatto che viene somministrato dopo un trattamento a base di riluzolo.
9. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7, caratterizzato dal fatto che viene somministrato in combinazione con riluzolo.
10. Acido tauroursodesossicolico o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo la rivendicazione 9, caratterizzato dal fatto che viene somministrato contemporaneamente, separatamente o sequenzialmente rispetto al riluzolo.

FIGURA 1



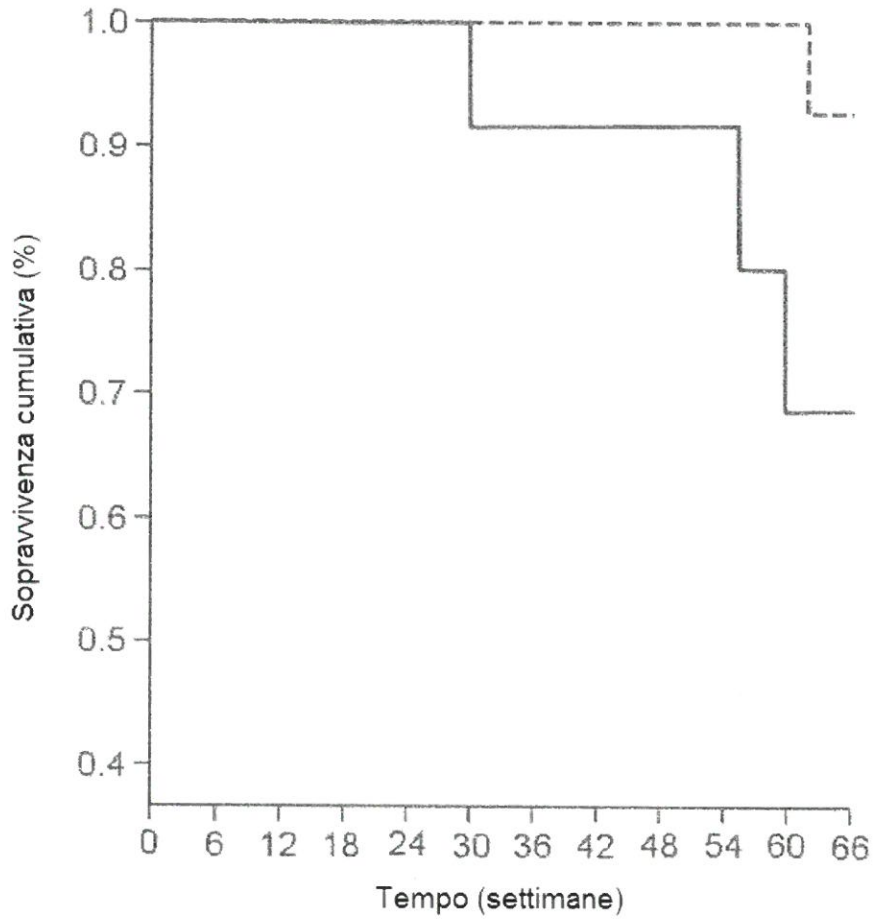
*ms*

FIGURA 2



MP

FIGURA 3



*MS*

FIGURA 4

