

IMMUNOGLOBULINE NEL TRATTAMENTO DELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMARIE

Opinion Paper

A cura di

Achille P. Caputi, Carlo Riccardi, Angelo Vacca

Con la collaborazione di Carolina Marasco e Alessandra Russo

INDICE

- 1. Immunodeficienze primarie (PID)**
 - 1.a. Immunodeficienza Comune Variabile (CVID)**
 - 1.b. Diagnosi di PID**
- 2. Le immunoglobuline**
 - 2.a. Efficacia**
 - 2.b. Safety**
- 3. Vie di somministrazione dei farmaci: vantaggi e svantaggi**
- 4. Evoluzione della somministrazione delle immunoglobuline**
- 5. Acido ialuronico e ialuronidasi**
- 6. Farmacocinetica delle immunoglobuline**
- 7. Qualità della vita dei pazienti affetti da PID**
- 8. Conclusioni**

1. Immunodeficienze primarie

Le immunodeficienze primarie (*primary immune deficiencies*, PID) costituiscono un gruppo eterogeneo di oltre 230 disordini diversi causati da alterazioni genetiche a livello del sistema immunitario (1).

Il fenotipo più frequente è il deficit della produzione di anticorpi, che può essere completo o parziale, per cui la caratteristica principale comune a tale gruppo di patologie è rappresentata dall'aumentata suscettibilità alle infezioni che possono essere ricorrenti e di grado severo (2).

1.a. Immunodeficienza Comune Variabile

L'Immunodeficienza Comune Variabile (*Common Variable Immunodeficiency*, CVID) rappresenta il deficit umorale primitivo più frequente dell'età adulta, con una prevalenza tra 1:100.000 e 1:10.000 individui (3). È caratterizzata da bassi livelli di immunoglobuline sieriche ed elevata suscettibilità alle infezioni, e da predisposizione a sviluppare malattie autoimmuni e neoplasie. Interessa in uguale misura il sesso maschile e femminile, con picco di esordio nella seconda e terza decade di vita. Tuttavia, anche i bambini oltre il quarto anno, possono manifestare questa immunodeficienza (4).

La CVID è una patologia molto eterogenea sia sul piano eziopatogenetico che clinico, con quadri sintomatologici polimorfi e con evoluzione altrettanto diversa da paziente a paziente. Il quadro clinico alla diagnosi è dominato da infezioni ricorrenti, benché alcuni pazienti possano esordire con patologie autoimmuni o con neoplasie senza significativi sintomi infettivi (5). Le infezioni hanno andamento generalmente ricorrente e coinvolgono principalmente il tratto respiratorio e gastroenterico. Più rare sono le meningo-encefaliti e le infezioni dell'apparato osteoarticolare e tegumentario (6). Le infezioni respiratorie sono principalmente causate da batteri capsulati, quali *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis* e da agenti virali; quelle gastrointestinali si devono soprattutto a virus e parassiti, tra cui *Giardia lamblia* (7). Sono inoltre descritte alcune patologie infettive inusuali, quali infezioni urinarie ricorrenti da *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma spp* (8). Le infezioni da patogeni opportunisti non sono tipiche e devono suggerire forme di immunodeficienza di tipo combinato o altra diagnosi (9).

In associazione alle manifestazioni infettive, il 20-67% dei pazienti accusa manifestazioni cliniche da disregolazione immunologica (10). Circa un terzo dei pazienti sviluppa manifestazioni autoimmuni (11) che, nel 20% circa dei pazienti, possono costituire sintomi d'esordio, e nel 2% gli unici sintomi di malattia (12). Le più frequenti sono le citopenie, che rappresentano complessivamente il 25% di tutte le forme di autoimmunità nella CVID (13). La porpora

trombocitopenica idiopatica e l'anemia emolitica autoimmune sono le più comuni e, se simultanee, configurano la Sindrome di Evans. Più rare sono le neutropenie autoimmuni (14). L'artrite sieronegativa, l'anemia perniciosa, la sindrome di Sjögren, le uveiti (anteriori e posteriori), le vasculiti, la tiroidite, l'epatite autoimmune, la cirrosi biliare primitiva, il lupus eritematoso sistemico rappresentano le altre più comuni patologie autoimmuni in corso di CVID (15).

Manifestazioni linfoproliferative sono molto frequenti. Circa il 20% dei pazienti mostra linfadenopatie superficiali, mediastiniche e addominali, e più della metà splenomegalia (12). Istologicamente, si osserva iperplasia linfoide ("iperplasia atipica"), iperplasia linfoide reattiva e infiammazione granulomatosa, in assenza di centri germinativi e plasmacellule. A livello splenico, si descrivono lesioni granulomatose, congestione della polpa rossa, iperplasia follicolare e atrofia dei centri germinativi e della polpa bianca (16). La splenomegalia può determinare ipersplenismo, che a sua volta è causa di piastrinopenia, leucopenia, e sindrome da iperafflusso, responsabile di ipertensione portale (17).

La malattia infiammatoria granulomatosa, non di tipo caseoso, si rileva in circa l'8-22% dei pazienti, con frequente interessamento polmonare, linfonodale e splenico, ma con possibili localizzazioni in tutti gli organi, quali cute, fegato, midollo osseo, reni, tratto gastrointestinale e sistema nervoso centrale (18). A livello polmonare, il granuloma contiene denso infiltrato linfoide, e tale associazione è definita "malattia granulomatosa linfocitica polmonare interstiziale" (*Granulomatous-lymphocytic interstitial lung disease, GLILD*) (19). Alla TAC ad alta risoluzione, gli infiltrati polmonari interstiziali danno luogo ad ispessimento di tipo reticolo-nodulare, opacità lineari marcate, fibrosi o aree di *ground glass*. Nei pazienti con CVID non diagnosticata, spesso il rilievo di granulomi polmonari conduce all'errata diagnosi di sarcoidosi. Tuttavia, la sarcoidosi si associa ad ipergammaglobulinemia, e non ad ipogammaglobulinemia tipica della CVID. Inoltre, a differenza della sarcoidosi, nella CVID è presente un maggior interessamento splenico. Sarcoidosi e CVID si differenziano ulteriormente per la disposizione e la dimensione dei granulomi polmonari, che nel primo caso hanno una distribuzione prevalentemente perilinfatica e dimensioni molto piccole (micronoduli), mentre nel secondo caso hanno dimensioni maggiori e distribuzione *random* (20).

Circa il 10% dei pazienti ha interessamento dell'apparato gastroenterico, spesso a carattere autoimmune, splenomegalia e bassi livelli di IgA e IgM (10). I pazienti con enteropatia cronica hanno un tasso di mortalità più elevato, probabilmente a causa del malassorbimento e della peggiore qualità della vita (10). Alcuni pazienti possono sviluppare una forma di enteropatia non infettiva, di tipo infiammatorio, clinicamente caratterizzata da diarrea cronica, calo ponderale, steatorrea e malassorbimento, definita "enteropatia autoimmune CVID-associata" (21). Da un punto di vista

istologico, l'enteropatia autoimmune si caratterizza per atrofia dei villi, distorsione delle cripte e aumento dei linfociti T (generalmente CD8+), aggregati linfoidi (cosiddetta "iperplasia linfoide"), e assenza di plasmacellule e centri germinativi (21).

La malattia celiaca può essere causa di diarrea cronica nei pazienti con CVID. La diagnosi di celiachia può risultare problematica, poiché nella maggior parte dei pazienti mancano gli anticorpi specifici (22). Nei pazienti con CVID e quadro istologico indicativo di celiachia, la presenza dei marcatori HLA-DQ celiachia-associati può essere d'aiuto nella diagnosi differenziale rispetto all'enteropatia autoimmune e ad altre forme di enteropatia (23).

Un coinvolgimento epatico non è infrequente: in particolare, molti pazienti presentano rialzo degli enzimi epatici, soprattutto fosfatasi alcalina, ed epatomegalia, e non è rara alla biopsia una lesione denominata "iperplasia nodulare rigenerativa" (24). Nella maggior parte dei pazienti, il coinvolgimento del fegato mostra andamento benigno, benché alcuni di essi possano sviluppare alterazioni istologiche più marcate e una condizione di ipertensione portale (non cirrotica). In generale, lo sviluppo di ipertensione portale peggiora la prognosi (17). Sono stati descritti, inoltre, casi di cirrosi biliare primitiva, epatite autoimmune o epatite granulomatosa come potenziale causa di anomalie epatiche (4).

I pazienti con CVID sono a maggior rischio di sviluppare neoplasie. Più comunemente, si osservano linfomi (principalmente linfomi non-Hodgkin) e neoplasie gastriche (25). Una neoplasia, sia linfoide che gastroenterica, può costituire il sintomo di esordio della CVID. Non è chiaro se l'aumentato rischio linfoproliferativo nei pazienti con CVID sia associato, in analogia con altre immunodeficienze, ad una maggiore radiosensibilità.

1.b. Diagnosi di PID

La diagnosi di PID talvolta può risultare difficile, per cui non viene riconosciuta. Infatti, l'azione efficace degli antibiotici può "mascherare" il riconoscimento della patologia (1), in quanto la risoluzione dell'infezione non induce il medico a sospettare la presenza di PID. Per tale motivo, molti pazienti hanno una storia di infezioni ricorrenti ed anomale prima che venga effettuata la diagnosi.

Oltre al notevole numero di episodi infettivi, il ritardo nella diagnosi comporta lo sviluppo di altre complicanze (es. bronchiectasia, malassorbimento, etc.) (1) che esercitano un impatto notevolmente negativo sulla qualità della vita (26), ma può anche comportare che le alterazioni funzionali diventino permanenti prima dell'inizio del trattamento (27,28).

In uno studio condotto su 2212 pazienti con CVID, un tipo di PID, è stato riscontrato che ogni anno di ritardo nella diagnosi e ogni anno in più di età della diagnosi è risultato associato ad un aumento del rischio di mortalità pari, rispettivamente, a 1,7% e 4,5% (29).

Nell'arco dei decenni, la consapevolezza dell'importanza di una diagnosi precoce è sensibilmente aumentata, anche grazie ai notevoli progressi tecnologici effettuati in campo genetico nei tempi più recenti. Infatti, il ritardo medio nella diagnosi di PID si è ridotto notevolmente negli ultimi 20 anni. In uno studio è stato evidenziato un ritardo mediano di 17 anni nella diagnosi in pazienti i cui sintomi si erano manifestati prima del 1986; tale ritardo diminuiva a 6,7 anni tra il 1986 e il 1996 e si attenuava ulteriormente a 2,7 anni nei pazienti i cui sintomi si sono presentati dopo il 1996 (30). Nonostante questi miglioramenti nella diagnosi, moltissimi casi tuttora rimangono non diagnosticati e quindi i pazienti non ricevono un trattamento appropriato e tale ritardo comporta notevoli problemi (27,31,32).

Una volta che vengono riconosciuti, tali disordini nella maggior parte dei casi sono trattabili ed in alcuni casi curabili. Tuttavia, se non vengono adeguatamente trattati, i pazienti possono andare incontro ad esiti gravi e talvolta fatali.

L'incidenza di PID è aumentata notevolmente negli ultimi 40 anni, proprio perchè è stata compresa l'eziologia genetica e i meccanismi immunologici responsabili (33-35), anche se l'esatta prevalenza non è nota.

Nel 2011, è stato stimato che circa 6 milioni di persone al mondo sono affetti da una PID (36).

Il trattamento delle immunodeficienze primarie si basa principalmente sulla terapia sostitutiva con immunoglobuline (Ig) e sulla protezione dalle infezioni (37).

2. Le immunoglobuline

Le immunoglobuline (Ig) sono gli anticorpi che il sistema immunitario produce anche per proteggere il nostro organismo dalle infezioni causate da agenti patogeni. Sono un'ampia famiglia di glico-proteine la cui sintesi può essere indotta da sostanze estranee (antigeni) verso cui raggiungono progressivamente elevati gradi di specificità durante lo sviluppo della risposta immunitaria. In particolare le IgG sono importanti per la difesa dell'organismo riconoscendo specificamente antigeni espressi da microrganismi.

Le Ig sono prodotte esclusivamente dai linfociti B con grande efficienza, legano i determinanti antigenici riconosciuti e antagonizzano i microrganismi con vari meccanismi che coinvolgono anche fagociti ed altre cellule citotossiche del sistema immunitario.

Le Ig sono classificate in classi e sottoclassi, con peculiari funzioni effettrici, sulla base delle diverse regioni tra cui la regione variabile, in grado di conferire la specificità e di riconoscere il

determinante antigenico, e la regione “costante”, il frammento Fc, in grado di legare recettori specifici (recettori per il frammento Fc) presenti su diversi tipi di cellule.

Sulla base del frammento Fc si conoscono diverse classi di immunoglobuline: IgG, IgA, IgE, IgM e IgD. Le IgG, in base alle loro caratteristiche, rappresentano un importante meccanismo di difesa e possono essere usate in terapia.

Meccanismo d'azione

Le IgG sono usate nel trattamento di alcune patologie autoimmunitarie e nelle immunodeficienze. Nel caso delle immunodeficienze possono essere considerati diversi e complessi meccanismi d'azione. Tra questi assumono particolare rilevanza due importanti tipi di meccanismo d'azione che danno ragione dell'efficacia terapeutica delle IgG in terapia.

Il primo meccanismo consiste nell'effetto diretto delle IgG somministrate nel riconoscere ed attaccare i microrganismi responsabili di infezioni. Si tratta dunque di una vera e propria terapia sostitutiva dove la carenza delle Ig è ricostituita dalle IgG somministrate che vanno dunque a contrastare la carenza di immunoglobuline del paziente affetto dalla immunodeficienza come ad esempio nella CIVD, la più comune delle immunodeficienze (38).

Il secondo meccanismo è la modulazione dell'attività di cellule del sistema immunitario (39) tramite l'interazione delle IgG con i recettori per il frammento Fc (40).

Esistono diversi recettori per l'Fc per diverse classi di immunoglobuline incluso ad esempio per le IgM (41) e per le IgG. In particolare, recettori per l'Fc delle IgG sono espressi su vari tipi di cellule della serie linfoide e della serie mieloide. Tra questi i linfociti B, le cellule NK, le cellule dendritiche, i macrofagi, i monociti, i neutrofili, gli eosinofili e le piastrine. Esistono almeno 6 tipi diversi di recettori umani per l'Fc delle IgG tra cui FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIc, FcγRIIIa e FcγRIIIb (42). Questi recettori possono essere modulati, in termini di espressione, da altri fattori del sistema immuno/infiammatorio, hanno diverso grado di affinità, sono localizzati sia in membrana che a livello citoplasmatico, sono in grado di interagire con il segnale intracellulare e di regolare lo sviluppo e la intensità della risposta immunitaria (43). Inoltre, l'espressione dei diversi recettori dipende anche dal genotipo del paziente, costituendo così elemento di possibile variabilità della risposta al trattamento.

Le Ig, dunque, anche agendo sui recettori Fc modulano l'attività di cellule effettrici e regolatorie della componente innata e di quella adattiva della risposta immunitaria, inclusa la produzione di citochine e chemochine. In tal modo le IgG possono antagonizzare ad esempio, lo stato di attivazione cronica di diverse componenti cellulari del sistema immune descritto nelle immunodeficienze, anche promovendo lo sviluppo di cellule regolatorie (39,44).

2.a. Efficacia

La maggior parte dei trial clinici relativi alla terapia sostitutiva delle immunodeficienze ha focalizzato l'attenzione sui pazienti con agammaglobulinemia legata al cromosoma X (*X-linked agammaglobulinemia*, XLA) e su quelli con CVID. L'efficacia delle immunoglobuline viene valutata in base in base all'incidenza di infezioni batteriche acute gravi che si verificano nei pazienti ogni anno, come così come stabilito dalla FDA (45)

Questa agenzia ha stabilito una serie di criteri molto rigorosi per diagnosticare le infezioni gravi e nella classificazione di esse rientrano: batteriemia/sepsi, polmonite, ascesso viscerale, osteomielite/artrite settica e meningite batterica. Negli Stati Uniti il criterio minimo accettabile per l'autorizzazione di un nuovo prodotto a base di Ig è che il limite superiore dell'intervallo di confidenza al 99% intorno alla media sia <1 (NB, nella maggior parte dei trial tale limite è di gran lunga inferiore) per quanto riguarda l'incidenza annuale delle suddette infezioni nei pazienti con XLA e/o CVID,

L'efficacia e la sicurezza delle Ig variano anche in funzione della via di somministrazione.

In terapia sostitutiva una metanalisi di trial clinici (46), condotti somministrando le Ig per via endovenosa (*intravenous immunoglobulin*, IVIG), ha mostrato: 1) che i livelli minimi di Ig aumentano più o meno linearmente con la dose cumulativa fino a circa 1 g/kg/mese e che, per dosi superiori, non si assiste né ad un aumento del plateau di concentrazione né ad una diminuzione della pendenza della curva; 2) che aumentando i livelli minimi di Ig fino allo stesso limite di dose si osserva una riduzione lineare nell'incidenza di polmonite, ma che aumentando la dose non si ottengono “*point of diminishing returns*” relativamente ai benefici. Ciò probabilmente riflette il fatto che alcuni soggetti, rispetto ad altri, necessitano di dosi relativamente superiori di Ig per ottenere un beneficio clinico (47). Ad esempio può essere necessario somministrare dosi superiori in soggetti con altre patologie concomitanti come bronchiectasie ed enteropatia con perdita di proteine.

Una revisione analitica di diversi studi (48) suggerisce che la somministrazione sottocutanea di Ig (*subcutaneous Ig*, SCIG) è risultata sovrapponibile in termini di efficacia ad una terapia IVIG, anche se non sono stati effettuati confronti diretti della stessa preparazione di Ig somministrata attraverso le due vie.

In un'altra metanalisi dei trial condotti in pazienti trattati con SCIG (49) molto simile a quella sopra riportata con IVIG (46) sono state riportate conclusioni sovrapponibili: nessun effetto plateau del

livello dello steady-state delle Ig in relazione alla dose cumulativa e nessun plateau rispetto al tasso di riduzione di tutte le infezioni riportate in relazione al livello di steady-state delle Ig.

Uno studio retrospettivo (**50**) ha indicato che è appropriato dosare le Ig in base alla massa corporea totale. I pazienti con elevato indice di massa corporea (*body mass index*, BMI), trattati con Ig dosate sul peso corporeo totale (indipendentemente dalla via di somministrazione), non presentano un aumento maggiore o inferiore nei livelli di Ig rispetto ai soggetti con basso BMI. Pertanto non è appropriato utilizzare il peso corporeo ideale o una massa corporea magra come denominatore per il dosaggio di Ig. Lo stesso studio retrospettivo suggerisce che tale approccio potrebbe determinare un sotto-dosaggio.

Una recentissima revisione sistematica di 24 studi, di cui 18 eleggibili con 446 pazienti (**51**) con metanalisi ha valutato i livelli serici di IG nonché l'efficacia e la sicurezza di IVIG e SCIG in pazienti adulti affetti da PID. Tale metanalisi dimostra: 1) una SMD (*Standard Mean Differences*) pari a 0,336 (IC 0,2–0,47) indicante una superiore efficacia della SCIG; 2) un superiore aumento medio dei livelli serici di Ig dopo SCIG (9,59) rispetto alla IVIG (8,54). Inoltre essa dimostra sia l'assenza di una significativa differenza tra SCIG ed IVIG nella quantità di Ig necessarie in un determinato periodo, sia nella dose mensile di Ig. Il tasso di infezioni e l'uso di antibiotici, come misura di efficacia, è stato valutato in 14 dei suddetti trial per un totale di 376 pazienti. A seguito del trattamento con IVIG e SCIG, si sono verificati rispettivamente 163 e 121 episodi di infezioni di grado moderato, prevalentemente (<85%) nel tratto respiratorio superiore ed inferiore. Tali differenze non erano statisticamente significative (**52**).

Un altro studio (**53**) ha osservato un tasso annuale di infezioni batteriche di grado severo pari a 0,06 per paziente. La terapia con SCIG ha ridotto in misura statisticamente significativa i giorni di assenza da lavoro/scuola unitamente ad una piccola, non statisticamente significativa, riduzione nel numero dei giorni di ospedalizzazione ($1,93 \pm 4,08$ vs $0,64 \pm 2,94$ della terapia con IVG).

Kanegane e coll. (**54**) non hanno osservato casi di infezioni batteriche gravi in pazienti con PID trattati con SCIG, anche se il 52,4% di questi pazienti ha sviluppato comunque episodi infettivi non gravi.

Un altro trial clinico (**55**) riporta che non sono stati osservati casi di infezioni gravi durante il periodo di trattamento con SCIG, ma solo 2 casi di polmonite non invasiva che non ha richiesto l'ospedalizzazione. Il tasso annuale di infezione per paziente annuo è risultato pari a 1,4 con IVIG e pari a 0,4 infezioni con SCIG.

Uno studio simile (**56**) riporta un tasso annuale di infezioni batteriche gravi pari a 0 (limite superiore di IC 99% 0,133) a seguito del trattamento con SCIG di 12 mesi. Il tasso annuale di ospedalizzazione era pari a 0,56 per paziente.

Borte e coll (57) hanno riferito di 15 pazienti che hanno sviluppato 42 infezioni (tasso annuale 4,73) durante un periodo di 6 mesi di trattamento con IVIG e di 10 pazienti che hanno sviluppato 34 infezioni (tasso annuale 3,4) durante uno stesso periodo di trattamento con SCIG. Nel complesso, su 3145 giorni di trattamento soli il 44% dei pazienti ha ricevuto un trattamento con antibiotici per 267 giorni.

2.b. Safety

I prodotti a base di Ig sono ottenuti dal plasma di donatori e nelle procedure di produzione sono incluse fasi di inattivazione dei virus (58). Non ci sono evidenze che suggeriscano che il rischio di presenza di virus o prioni possa variare tra i prodotti somministrati per via endovenosa e quelli per via sottocutanea, nè sono stati riportati casi di trasmissione di malattie attraverso la somministrazione di SCIG e di IVIG (59).

La sicurezza, così come l'efficacia, differisce a seguito della terapia con IVIG o con SCIG (60).

La maggior parte dei pazienti tollera il trattamento con IVIG senza manifestare reazioni avverse e non necessita di pre-medicazione. Tuttavia, nel 10-25% dei pazienti si sviluppano lievi effetti collaterali che insorgono durante o dopo l'infusione. Tali sintomi includono cefalea, lombalgia o dolore addominale, malessere, rash non specifico o orticarioide e tosse.

Circa il 5% dei pazienti presenta sintomi più severi che possono mimare le reazioni di ipersensibilità o malattia simil-influenzale con febbre, mialgia/artralgia, rinorrea e dispnea. Nella maggior parte dei casi i sintomi sono controllabili abbastanza facilmente con pre-idratazione, lenta infusione, antistaminici ed occasionalmente corticosteroidi. In alcuni studi è stato riportato che le IVIG sono risultate associate a complicanze sistemiche come cefalea, febbre e reazioni anafilattiche (52,61,62).

L'insorgenza di grave anafilassi non è stata riportata nel corso di terapia con SCIG e tutti gli altri sintomi sistemici si manifestano con minore frequenza rispetto ad una terapia con IVIG. Nei pazienti in cui è insorta anafilassi a seguito del trattamento con IVIG, la somministrazione successiva di SCIG è risultata ben tollerata (60,63-66). La differente safety è dovuta almeno in parte all'assorbimento più lento e all'equilibrio che raggiungono le Ig a livello circolatorio, come sarà descritto successivamente. Tuttavia, l'incidenza di reazioni a livello locale del sito di infusione può essere elevata soprattutto in quei pazienti che per la prima volta iniziano ad utilizzare la via sottocutanea.

Le reazioni locali spesso includono edema ed eritema, mentre talvolta si può verificare una sensazione di bruciore e prurito (60,66). Queste reazioni locali raramente vengono considerate dolorose e gravi. Quasi sempre l'edema e l'eritema si risolvono del tutto entro 24 ore dalla fine

dell'infusione. Nella maggior parte dei casi, dopo 72 ore, è difficile identificare il sito in cui è stata effettuata la somministrazione sottocutanea di Ig. Il tasso di reazioni locali scende da 80-90% con le prime infusioni a meno del 30% entro 1-2 mesi di trattamento sottocutaneo settimanale.

È stato riportato che la severità di questi tipi di reazione e l'incidenza con cui si verificano si riducono drasticamente quando il paziente continua il trattamento con SCIG (60,66).

A parte la sensazione soggettiva del paziente che tende a segnalare meno con il passare del tempo, di fatto anche i segni oggettivi delle reazioni a livello del sito di infusione migliorano nel tempo. Esaminando i tessuti dei pazienti che hanno utilizzato la via sottocutanea per molti anni non sono state evidenziate alterazioni locali croniche come fibrosi o lipodistrofia.

In alcuni pazienti si sviluppano noduli isolati che di solito regrediscono spontaneamente nell'arco di poche settimane o mesi. Bisognerebbe evitare l'infusione nei siti con noduli al fine di accelerare la risoluzione.

Una rara complicanza della terapia con Ig è rappresentata dagli eventi trombotici (67,68), che si verificano più spesso a seguito dell'infusione rapida di alte dosi di IVIG, ma che sono stati riportati anche con la somministrazione di SCIG. I pazienti maggiormente a rischio sono quelli con una storia di trombosi o vasculite con fattori predisponenti a rischio di trombosi.

Sono stati riportati anche casi di emolisi (69,70), talvolta riconosciuti dopo oltre 24 ore dalla somministrazione. L'anemia può essere di grado talmente severo da richiedere una trasfusione. Anche l'emolisi viene riscontrata con maggiore frequenza nei pazienti trattati con IVIG rispetto a SCIG. I fattori di rischio includono malattia emolitica preesistente, stati infiammatori ed infusione rapide di dosi elevate. Raramente sono stati segnalati casi di insufficienza renale acuta e di decesso (69).

Nella revisione sistematica con metanalisi pubblicata nel 2016 (51), e già menzionata, sono stati presi in considerazione 13 lavori su 24 per un totale di 431 pazienti al fine di confrontare gli effetti collaterali insorti durante il trattamento. Si sono verificati meno effetti avversi dopo SCIG rispetto alla terapia con IVG (OR 0,497; IC 0,180–1,371; p=0,1).

3. Vie di somministrazione dei farmaci: vantaggi e svantaggi

Le vie di somministrazione dei farmaci sono svariate (es. orale, sublinguale, parenterale, topica). Viene preferita una via piuttosto che un'altra in base ad alcuni parametri, tra cui le proprietà del farmaco (idrosolubile o liposolubile) e l'obiettivo terapeutico (es. la necessità di un effetto rapido, prolungato o limitato al sito locale). Al tempo stesso, però, come già riportato, le vie di somministrazione differiscono in termini di efficacia, sicurezza, soddisfazione del paziente e costi.

La somministrazione parenterale di solito viene effettuata per via endovenosa (IV), intramuscolare (IM) o sottocutanea (SC). Tali vie presentano alcuni vantaggi, in quanto, al contrario della via orale, non passano attraverso l'apparato gastrointestinale, ma il farmaco viene introdotto direttamente attraverso le barriere corporee nella circolazione sistemica o altri tessuti vascolarizzati.

La somministrazione parenterale, inoltre, è preferita quando è necessario ottenere un rapido assorbimento, come in occasione di emergenze, e nei casi di pazienti che sono in stato di incoscienza o non riescono ad assumere farmaci per via orale.

I vantaggi e gli svantaggi delle 3 principali vie parenterali (endovenosa, muscolare e sottocutanea) sono riportati nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Somministrazione endovenosa, intramuscolare e sottocute: vantaggi e svantaggi (71,72)

Somministrazione (via)	Vantaggi	Svantaggi
Intramuscolare	<ul style="list-style-type: none"> - Appropriata per farmaci non prontamente solubili - Consente infusione di volumi maggiori (2-5 ml) rispetto alla via sottocutanea 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiede personale addestrato - Associata a: a) rischio di infezione, b) indurimento a livello locale, c) sanguinamento e formazione di ascesso, d) rischio di colpire/danneggiare nervi e vasi sanguigni, e) costi maggiori rispetto alla somministrazione sottocutanea - Dolorosa e può determinare una limitazione della mobilità
Endovenosa	<ul style="list-style-type: none"> - Appropriata per agenti irritanti - Consente l'infusione di volumi maggiori, la somministrazione di una dose precisa in modo controllato ed il prelievo si campioni di sangue una volta stabilito l'accesso venoso - Fornisce una rapida risposta 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiede personale addestrato in ambito clinico (come un centro d'infusione) ed una durata prolungata di osservazione dopo l'iniezione per monitorare l'insorgenza di effetti collaterali - Associata a rischio di infezioni sistemiche ed a costi maggiori rispetto alla somministrazione sottocutanea
Sottocute	<ul style="list-style-type: none"> - Può essere somministrata dal paziente o dal caregiver e consente un ampio numero di possibili siti di iniezioni per più dosi. - Associata a migliore compliance e qualità della vita del paziente, ad un minor rischio di infezioni sistemiche nonché a costi ridotti - Meno dolorosa rispetto alle altre vie di somministrazione 	<ul style="list-style-type: none"> - Richiede piccoli volumi (<1-2 mL) - Può essere associata a: a) ritenzione a livello del sito di iniezione con possibile l'insorgenza a livello locale di reazioni avverse, b) degradazione a livello del sito di iniezione che porta a ridotta biodisponibilità -

4. Evoluzione nella produzione e somministrazione delle immunoglobuline

L'uso terapeutico delle immunoglobuline (Ig) umane viene riportato per la prima volta nel 1952 (73), allor quando il colonnello Ogden Bruton le somministrò per via sottocutanea ad un ragazzo con agammaglobulinemia. Dimostrò che era rilevabile un picco di gamma globuline all'elettroforesi serica e che erano diminuite sia la frequenza che la severità delle infezioni batteriche (73,74).

Somministrazione intramuscolare

A partire dagli anni '60, si sono rese disponibili Ig umane policlonali purificate. All'inizio venne utilizzata *la via intramuscolare*, che non solo non permetteva di somministrare Ig in quantità sufficienti da garantire la protezione dalle infezioni, ma risultava dolorosa.

Somministrazione endovenosa

A partire dagli anni '80 i metodi di purificazione sono andati progressivamente migliorando e quindi le Ig divennero somministrabili per *via endovenosa* (IVIG). Le indagini, volte alla messa a punto di preparati idonei all'utilizzazione per via endovenosa, hanno portato nel tempo allo sviluppo di tre "generazioni di IVIG" (**Tabella 2**).

Tabella 2. Caratteristiche delle IVIG (75).

Generazione	Trattamento	Frammento Fc	Integrità funzionale
Prima	Enzimatico: papaina e pepsina	Assente	Alterata
Seconda	Chimico (propiolattone, S-sulfonazione, alchilazione)	Modificato	Compromessa
Terza	Rimozione selettiva di aggregati mediante pH 4 con o senza pepsina, glicole polietilenico e resina a scambio ionico	Intatto	Integra

In Italia sono commercializzate diverse specialità (**Tabella 3**). Tutte queste formulazioni sono ben tollerate dalla maggior parte dei pazienti, pur in presenza della possibile insorgenza di effetti collaterali sistemici durante o dopo l'infusione (**76**). Inoltre, in alcuni pazienti si verificano aumenti e riduzioni cicliche dei livelli di Ig nel periodo compreso tra le infusioni ed i pazienti riferiscono di periodi di relativo malessere quando i livelli di Ig sono bassi.

Tabella 3. Immunoglobuline per via endovenosa disponibili in commercio in Italia (4 luglio 2016)

Specialità	Ditta Produttrice	Indicazioni
Flebogamma	Grifols Italia Spa	Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (2–18 anni) per: <ul style="list-style-type: none">- Sindromi da immunodeficienza primaria (PID) con alterata produzione di anticorpi.- Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica che non hanno risposto alla profilassi antibiotica.- Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto all'immunizzazione pneumococcica.- Ipogammaglobulinemia in pazienti che sono stati sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche (haematopoietic stem cell

		<p>transplantation, HSCT).</p> <ul style="list-style-type: none"> - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (2–18 anni) per:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia Immune Primaria (ITP), in pazienti ad alto rischio di emorragia o prima di interventi chirurgici per il ripristino della conta piastrinica. - Sindrome di Guillain Barré. - Malattia di Kawasaki.
Gammagard	Baxalta Italy Srl	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0-18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria con produzione anticorpale compromessa. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti affetti da leucemia linfocitica cronica, che non hanno risposto all'antibioticoterapia profilattica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti affetti da mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto alla vaccinazione antipneumococco. - Ipogammaglobulinemia in pazienti a seguito di trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (Haematopoietic Stem Cell Transplantation - HSTC). - AIDS congenito, con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0-18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP) in pazienti ad alto rischio di emorragia o prima di un intervento chirurgico per correggere la conta delle piastrine. - Sindrome di Guillain Barré. - Malattia di Kawasaki.
Gamten	Octapharma Italy Spa	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria con produzione di anticorpi compromessa. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica che non hanno risposto alla profilassi antibiotica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto alla vaccinazione antipneumococcica. - Ipogammaglobulinemia in pazienti che hanno subito un trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP), in pazienti ad alto rischio di emorragia o prima di interventi chirurgici per la correzione della conta piastrinica. - Sindrome di Guillain Barré - Malattia di Kawasaki
Ig Vena	Kedrion Spa	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria con produzione di anticorpi compromessa. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica che non hanno risposto alla profilassi antibiotica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto alla vaccinazione antipneumococcica. - Ipogammaglobulinemia in pazienti che hanno subito un trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP), in pazienti ad alto rischio di sanguinamenti o prima di interventi chirurgici per correggere la conta piastrinica. - Sindrome di Guillain Barré. - Poliradicoloneuropatia cronica infiammatoria demielinizzante (CIDP). - Malattia di Kawasaki.
Intratect	Biotest Italia Srl	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - sindromi da immunodeficienza primaria con compromissione della produzione

		<p>anticorpale.</p> <ul style="list-style-type: none"> - ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica, nei quali la profilassi antibiotica ha fallito. - ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau, che non hanno risposto all'immunizzazione pneumococcica. - ipogammaglobulinemia in pazienti dopo trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (haematopoietic stem cell transplantation, HSCT). - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - trombocitopenia immune primaria (primary immune thrombocytopenia, ITP), nei pazienti a rischio elevato di sanguinamenti o prima di un intervento chirurgico per correggere la conta delle piastrine. - sindrome di Guillain Barré. - malattia di Kawasaki.
Kiovig	Baxter Spa	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria con produzione anticorpale compromessa. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti affetti da leucemia linfocitica cronica, che non hanno risposto all'antibioticoterapia profilattica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti affetti da mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto alla vaccinazione antipneumococco. - Ipogammaglobulinemia in pazienti a seguito di trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). - AIDS congenito e infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP) in pazienti ad alto rischio di emorragia o prima di un intervento chirurgico per correggere la conta delle piastrine. - Sindrome di Guillain Barré. - Malattia di Kawasaki. - • Neuropatia motoria multifocale (MMN).
Octagam	Octapharma Italy Spa	<p>Terapia sostitutiva in caso di:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria quali agammaglobulinemia e ipogammaglobulinemia congenite, immunodeficienza variabile comune, immunodeficienza combinata grave, Sindrome di Wiskott Aldrich. - Mieloma o leucemia linfocitica cronica con grave ipogammaglobulinemia secondaria e infezioni ricorrenti. - Bambini con AIDS congenito soggetti a infezioni ricorrenti. - Porpora trombocitopenica idiopatica (ITP) in adulti o bambini ad alto rischio di emorragia o prima di interventi chirurgici per la correzione della conta piastrinica. - Sindrome di Guillain Barré, Malattia di Kawasaki, trapianto allogenico di midollo osseo.
Pentaglobin	Biotest Italia Srl	<p>Terapia di supporto di gravi infezioni batteriche in aggiunta alla terapia antibiotica.</p> <p>Terapia sostitutiva in pazienti immunocompromessi.</p>
Privigen	Csl Behring Spa	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) per:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria (PID) con alterata produzione di anticorpi. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica che non hanno risposto alla profilassi antibiotica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto all'immunizzazione pneumococcica. - Ipogammaglobulinemia in pazienti che sono stati sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (haematopoietic stem cell transplantation, HSCT). - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) per:</p>

		<ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP) in pazienti ad alto rischio di emorragia o prima di interventi chirurgici, per il ripristino della conta piastrinica. - Sindrome di Guillain–Barré. - Morbo di Kawasaki. - Polineuropatia demielinizzante infiammatoria cronica (CIDP). - Esistono solo esperienze limitate sull’uso delle immunoglobuline endovenose nei bambini con CIDP.
Venital	Kedrion	<p>Terapia sostitutiva in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sindromi da immunodeficienza primaria con produzione di anticorpi compromessa. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con leucemia linfocitica cronica che non hanno risposto alla profilassi antibiotica. - Ipogammaglobulinemia e infezioni batteriche ricorrenti in pazienti con mieloma multiplo in fase di plateau che non hanno risposto alla vaccinazione antipneumococcica. - Ipogammaglobulinemia in pazienti che hanno subito un trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (HSCT). - AIDS congenito con infezioni batteriche ricorrenti. <p>Immunomodulazione in adulti, bambini e adolescenti (0–18 anni) in:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Trombocitopenia immune primaria (ITP), in pazienti ad alto rischio di sanguinamenti o prima di interventi chirurgici per correggere la conta piastrinica. - Sindrome di Guillain Barrè. - Poliradicoloneuropatia cronica infiammatoria demielinizzante (CIDP). - Malattia di Kawasaki.

Somministrazione sottocutanea

Alcune Ig formulate per uso endovenoso possono anche essere somministrate per *via sottocutanea* e alcuni prodotti hanno ottenuto l’approvazione per entrambe le vie di somministrazione. In Italia sono commercializzate quelle riportate in **Tabella 4**.

Rispetto all’infusione endovenosa, la *somministrazione sottocutanea* (SCIG) risulta associata ad effetti collaterali minori a livello locale e ad un numero inferiore di effetti sistemici (36). Inoltre le SCIG hanno il vantaggio di essere somministrate senza la necessità di un accesso venoso e, di solito, a dosi più piccole e più frequenti in modo che i livelli di Ig nell’organismo rimangano relativamente consistenti, senza che si verifichino le fluttuazioni tipiche delle IVIG somministrate ogni 3 – 4 settimane.

Tabella 4. Immunoglobuline per via sottocutanea disponibili in commercio in Italia (4 luglio 2016)

Specialità	Ditta Produttrice	Indicazioni
Hizentra	Csl Behring Spa	<p>Terapia sostitutiva in adulti e bambini (da 0 a 18 anni) in caso di sindromi da immunodeficienza primaria, quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - agammaglobulinemia e ipogammaglobulinemia congenita - immunodeficienza comune variabile - immunodeficienza combinata grave - deficit delle sottoclassi di IgG con infezioni ricorrenti <p>Terapia sostitutiva in caso di mieloma o leucemia linfatica cronica con ipogammaglobulinemia secondaria grave e infezioni ricorrenti.</p>
Octanorm	Octapharma Italy	Terapia sostitutiva per adulti e bambini in caso di sindromi da

	Spa	immunodeficienza primaria quali: <ul style="list-style-type: none"> - agammaglobulinemia e ipogammaglobulinemia congenite - immunodeficienza variabile comune (CVID) - immunodeficienza combinata grave - Deficit delle sottoclassi di IgG con infezioni ricorrenti Terapia sostitutiva in caso di mieloma o leucemia linfocitica cronica con grave ipogammaglobulinemia secondaria e infezioni ricorrenti.
Subcuvia	Baxalta Italy Srl	Terapia sostitutiva in pazienti adulti e bambini con sindromi da immunodeficienza primaria, quali: <ul style="list-style-type: none"> - agammaglobulinemia e ipogammaglobulinemia congenite - immunodeficienza comune variabile - immunodeficienza grave combinata - deficit delle sottoclassi di IgG con infezioni ricorrenti Terapia sostitutiva in caso di mieloma o di leucemia linfatica cronica con ipogammaglobulinemia secondaria grave e infezioni ricorrenti.

La somministrazione sottocutanea presenta un limite: le sostanze somministrate per questa via, non riuscendo ad attraversare la matrice extracellulare, possono rimanere intrappolate e tale fenomeno è causa sia di reazioni avverse a livello del sito di iniezione sia di una possibile riduzione della loro biodisponibilità (77).

Per ovviare a tale problema, sono state sviluppate diverse strategie.

La prima è quella di aumentare la concentrazione di Ig nelle formulazioni sottocutanee. Anche in questo caso, permangono fattori che limitano la quantità del farmaco che può essere somministrato, quali la viscosità, la solubilità e la potenziale aggregazione di proteine oltre all'occasionale irritazione locale causata dal rilascio di proteine e non ultimo il volume somministrabile, pari a 20-30 ml/sito di infusione (77).

Una seconda strategia è quella di aumentare la frequenza di somministrazione di SCIG ovvero il numero di siti di iniezione. Il paziente è così costretto ad utilizzare più siti di infusione per più volte al mese.

Una ulteriore strategia è quella di far precedere l'iniezione di SCIG dalla somministrazione di ialuronidasi umana ricombinante (78). Si tratta delle SCIG "facilitate" (f-SCIG) e rappresenta un nuovo sistema di drug delivery che facilita la somministrazione sottocutanea.

5. Acido ialuronico e ialuronidasi

L'acido ialuronico presente nella matrice extracellulare è una componente fondamentale del tessuto sottocutaneo che rallenta il passaggio delle sostanze introdotte nello spazio sottocutaneo e gioca un ruolo essenziale per la diffusione nel comparto vascolare e linfatico (77).

Un enzima in grado di scindere l'acido ialuronico è la ialuronidasi il cui nome deriva proprio da questa capacità. Essa venne identificata per la prima volta da Duran-Reynals negli anni '20 in estratti di testicoli di coniglio (79). Venne successivamente isolata dall'umor vitreo e da altri tessuti (80).

In seguito alla sua scoperta, gli estratti dai testicoli bovini, con dimostrata attività ialuronidasi, vennero sviluppati come prime forme farmaceutiche del prodotto ed utilizzati per aumentare l'assorbimento e la dispersione di farmaci iniettati sottocute.

Gli estratti animali non sono puri ed, essendo la ialuronidasi una proteina, può essere contaminata con altre proteine non umane, quali proteasi, immunoglobuline, anticoagulanti, fattori di crescita, fattori di vasopermeabilità ed altre impurità (77,81,82). Pertanto essa può risultare immunogenica quando somministrata negli esseri umani, stimolando reazioni allergiche IgE-mediate, in particolare dopo ripetute somministrazioni (83-85).

Dopo più di 70 anni dalla scoperta dell'enzima ialuronidasi ne è stato identificato, nell'uomo, il gene codificante (86). Ciò ha portato allo sviluppo della forma ricombinante, denominata rHuPH20 (77).

Questa degrada l'acido ialuronico in maniera transitoria e localizzata, riducendo sia la viscosità della matrice extracellulare che la resistenza al passaggio delle sostanze nello spazio sottocutaneo locale, consentendo di aumentare la dispersione di molecole complesse come ad esempio le Ig. Inoltre la sua attività enzimatica non altera la struttura o le proprietà di Ig, comprese le catene laterali glicosilate.

In particolare:

- Studi pre-clinici nei roditori hanno dimostrato che rHuPH20 agisce velocemente ed ha un'emivita locale nello spazio sottocutaneo inferiore a 30 minuti (87).
- Nei primati, iniettata sottocute, è risultata ben tollerata fino a 45.000 unità/iniezione (77), che corrispondono ad oltre 9000 volte la dose tipica somministrata prima della successiva somministrazione delle Ig.
- Quando i siti di iniezione sono stati confrontati con il carrier controllo dopo un periodo compreso fra 24 ore e 28 giorni dall'iniezione, non sono state osservate reazioni infiammatorie clinicamente rilevabili o infiltrati di cellule infiammatorie istologicamente identificabili.
- In studi su suini, Kang e coll. (88) hanno valutato il potenziale impatto che possono avere sul tessuto locale ampi volumi somministrati per via sottocutanea. Rispetto alla somministrazione di un controllo l'iniezione di rHuPH20, a livello della sede di iniezione, ha: a) migliorato la dispersione di Ig in misura statisticamente significativa, con riduzione sia del volume medio dell'edema locale (250 mm³ con placebo *versus* 32 mm³ con rHuPH20; p<0,0001) sia della sua

estensione (150 mm² con placebo *versus* 62 mm² con rHuPH20; p<0,0001); b) ridotto la pressione associata ad iniezione di Ig (199 mmHg con placebo *versus* 128 mmHg con rHuPH20; p<0,0001) con minimizzazione del danno a livello del tessuto locale.

Questi dati dimostrano che rHuPH20 consente la somministrazione di grandi volumi di Ig in un singolo sito (**Figura 1**).

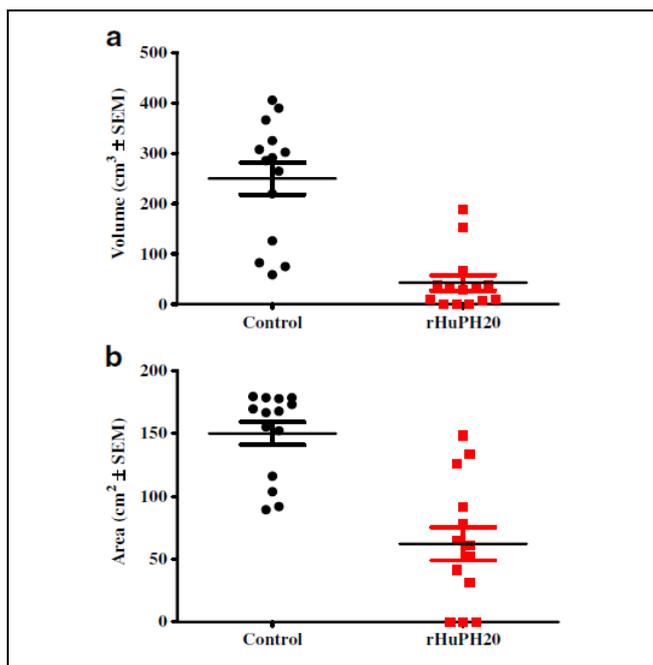


Figura 1. Volume ed area dell'edema locale dopo infusione di Ig in assenza (controllo) e presenza di rHuPH20 (88)

- Ulteriori studi hanno dimostrato la sicurezza e l'efficacia di rHuPH20 (89-91) in diverse aree terapeutiche (es. endocrinologia, immunologia, oncologia, ecc), cosicché l'rHuPH20 costituisce oggi uno strumento di facilitazione per la somministrazione sottocutanea di altri farmaci commercializzati in Italia e nel mondo (36). Nella **Tabella 5** sono elencati in dettaglio alcuni prodotti contenenti rHuPH20.

Tabella 5. Elenco di prodotti contenenti rHuPH20 autorizzati o in fase di sviluppo (36)

Products and product candidates		Therapeutic area	Use/indication	Development stage
rHuPH20 ± product	Product name			
rHuPH20	Hylenex® (Halozyme Therapeutics Inc., CA, USA) [†]	Various; endocrinology	Peptide, small molecule and fluid delivery	Approved (US FDA)
rHuPH20 + IgG 10% [‡] (IGHy)	HyQvia (Baxter Innovations GmbH, Vienna, Austria)	Immunology	Primary immunodeficiency	Approved (EMA); Phase III (FDA)
rHuPH20 + trastuzumab	Herceptin SC (Roche Pharma AG, Grenzach-Wyhlen, Germany) [§]	Oncology	Breast cancer	Approved (EMA)
rHuPH20 + rituximab	MabThera SC (Roche Products, Welwyn Garden City, UK) [†]	Oncology	Non-Hodgkin's lymphoma	Approved for MabThera (EMA)
rHuPH20 + insulin	Analog Insulin-PH20	Endocrinology	Diabetes	Phase II
PEGylated rHuPH20*	PEGPH20 (Halozyme Therapeutics Inc.)	Oncology	Solid tumors	Phase II

Attualmente, in Italia sono presenti in commercio tre farmaci associati a ialuronidasi:

- **Herceptin** (trastuzumab, *Roche*) impiegato nel trattamento del cancro alla mammella HER2-positivo.
- **MabThera** (rituximab, *Roche*) indicato nei pazienti con linfoma non Hodgkin.
- **HyQvia** (immunoglobuline, *Baxter*) utilizzato nei casi di immunodeficienza primaria.

Immunogenicità di rHuPH20

Le proteine umane ricombinanti possono causare immunogenicità (92). Tuttavia, il significato clinico di tale risposta immunitaria può variare ampiamente e quindi deve essere determinato caso per caso valutando l'impatto della risposta immunitaria sull'efficacia del prodotto e sulla safety. Infatti, la presenza di anticorpi anti-farmaco può avere un impatto sull'efficacia (attraverso lo sviluppo di anticorpi neutralizzanti) e/o sul profilo farmacocinetico del farmaco (93). Inoltre sono stati individuati pazienti in cui erano presenti anticorpi pre-esistenti prima dell'esposizione al trattamento (94,95).

Le ragioni di tali anticorpi pre-esistenti non sono ancora ben comprese, ma la loro presenza può complicare l'interpretazione dei risultati dei test anticorpali ottenuti dopo somministrazione del farmaco.

La potenziale immunogenicità associata a rHuPH20, quando esso viene somministrata in concomitanza a farmaci, è ovviamente stata oggetto di studi.

In particolare Rosengren e coll. (96) hanno analizzato campioni di plasma di soggetti che hanno partecipato a trial clinici così come di donatori sani allo scopo di dosare gli anticorpi. Questo studio ha indicato che:

- La prevalenza di anticorpi reattivi per rHuPH20 pre-esistenti variava dal 3% al 12%, eccetto che negli studi sulla PID, e quella indotta dal trattamento era pari a 2-18%. Non sono stati osservati anticorpi neutralizzanti.
- La cinetica tra la risposta agli anticorpi pre-esistenti e quella agli anticorpi indotti dal trattamento era simile, sebbene le risposte classificate come persistenti risultassero più comuni nei soggetti con anticorpi pre-esistenti.
- Non era dimostrabile un'associazione tra positività agli anticorpi e eventi avversi locali o sistemici.
- I soggetti con anticorpi pre-esistenti e quelli con anticorpi indotti dal trattamento presentavano isotipi simili di immunoglobuline e cross-reagivano al PH20 endogeno in modo simile.
- Gli anticorpi purificati dai soggetti positivi al basale erano simili qualitativamente a quelli purificati da pazienti che avevano sviluppato anticorpi anti-rHuPH20 in seguito all'esposizione a questo enzima.

Gli autori dello studio concludono dichiarando che i risultati emersi suggeriscono che rHuPH20 induce solo una modesta immunogenicità, senza alterazioni significative nel profilo degli eventi avversi.

E' commercializzata in Italia al momento solo una IG associata a ialuronidasi con le indicazioni riportate in **Tabella 6**.

Tabella 6. Immunoglobuline per via sottocutanea associate a ialuronidasi disponibili in commercio in Italia (4 luglio 2016)

Specialità	Ditta produttrice	Indicazioni
Hyqvia	Baxalta Italy Srl	<p>Terapia sostitutiva in pazienti adulti (≥ 18 anni di età) per il trattamento delle sindromi da immunodeficienza primaria quali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - agammaglobulinemia congenita e ipogammaglobulinemia - immunodeficienza comune variabile - immunodeficienza combinata grave - deficit di sottoclasse delle immunoglobuline G con infezioni ricorrenti. <p>Terapia sostitutiva in pazienti adulti (≥ 18 anni di età) per il trattamento del mieloma o della leucemia linfocitica cronica con ipogammaglobulinemia secondaria grave e infezioni ricorrenti.</p>

N.B. Per questa formulazione Il 28 aprile 2016 l'EMA ha approvato l'estensione di indicazione ai pazienti di età <18 anni (97)

6. Farmacocinetica delle Ig somministrate per:

a) via endovenosa (IVIG)

Tale via ovviamente garantisce una biodisponibilità del 100%. Subito dopo l'infusione di circa 300-500 mg/kg, il livello serico di IgG aumenta di ≥ 2 volte dal momento che la dose intera si trova nello

spazio intravascolare (98). Nelle successive 48-72 ore, le Ig diffondono dalla circolazione sistemica agli spazi extravascolari ed infine si equilibra nel volume di distribuzione quasi uguale al liquido extracellulare totale. Le Ig vengono poi catabolizzate con una cinetica di primo ordine ed un'emivita di circa 21 giorni. Questa è l'emivita media delle Ig fisiologiche in circolo.

Durante i trial clinici l'emivita media misurata delle Ig è di solito più lunga con una variazione statisticamente significativa tra i prodotti che varia da 28 a 45 giorni, soprattutto nei pazienti con immunodeficienze.

E' fondamentale sottolineare che esiste un'enorme variabilità tra gli individui. Durante i trial clinici, anche con una singola preparazione, la variazione nell'emivita serica delle Ig tra gli individui può essere superiore fino a 6 volte (range 15-88 giorni) (98).

Di solito le IVIG sono somministrate ad intervalli di dosaggio di 3 – 4 settimane. Durante questo periodo, il range delle concentrazioni di Ig tra i valori massimi e minimi di solito varia del 250-300% rispetto ai valori minimi (Figura 2).

b) via sottocutanea (SCIG)

Tale via garantisce una biodisponibilità del 60-70% (99), corrispondente a 2/3 di Ig somministrate per via endovenosa.

A seguito di tale somministrazione, le Ig vengono assorbite dal sito di infusione sottocutanea nell'arco di una settimana, ma la maggior parte dell'assorbimento avviene nelle prime 48 ore. L'equilibrio nel volume di distribuzione finale viene raggiunto grazie alla diffusione dal sito locale nel sistema linfatico, nel sistema vascolare, poi di nuovo fuori nello spazio extravascolare in tutto l'organismo.

Al contrario dei picchi elevati raggiunti dopo le infusioni periodiche endovenose, nella maggior parte dei regimi terapeutici a base di SCIG la dose mensile si fraziona in incrementi più piccoli somministrati ogni 1-14 giorni (98).

Con le infusioni settimanali (o più frequenti), il range di concentrazioni di Ig dal picco ai valori minimi può variare di $\pm 10\%$ intorno alla media. È stato dimostrato che ciò determina la presenza di concentrazioni seriche di Ig essenzialmente costanti nel tempo. Pertanto, non si osservano i picchi elevati tipici delle infusioni endovenose.

Proprio perchè la differenza tra concentrazione minima e massima di IgG si riduce notevolmente rispetto a quanto accade con l'impiego delle IVIG, i pazienti che passano dalla terapia endovenosa a quella sottocutanea riferiscono la scomparsa del cosiddetto “*wearing off effect*”, cioè l'effetto “*fine cura*” che in alcuni casi si manifesta nella settimana che precede ogni somministrazione endovenosa (100).

c) via sottocutanea facilitata (f-SCIG)

Tale via di somministrazione garantisce una biodisponibilità del 93% (36,78,101). Ciò permette di considerarla bioequivalente alla somministrazione endovenosa.

Rispetto alle SCIG, la formulazione facilitata è molto più simile a quella delle IVIG consentendo una somministrazione con un intervallo di tempo fino a 3-4 settimane (36,78,101).

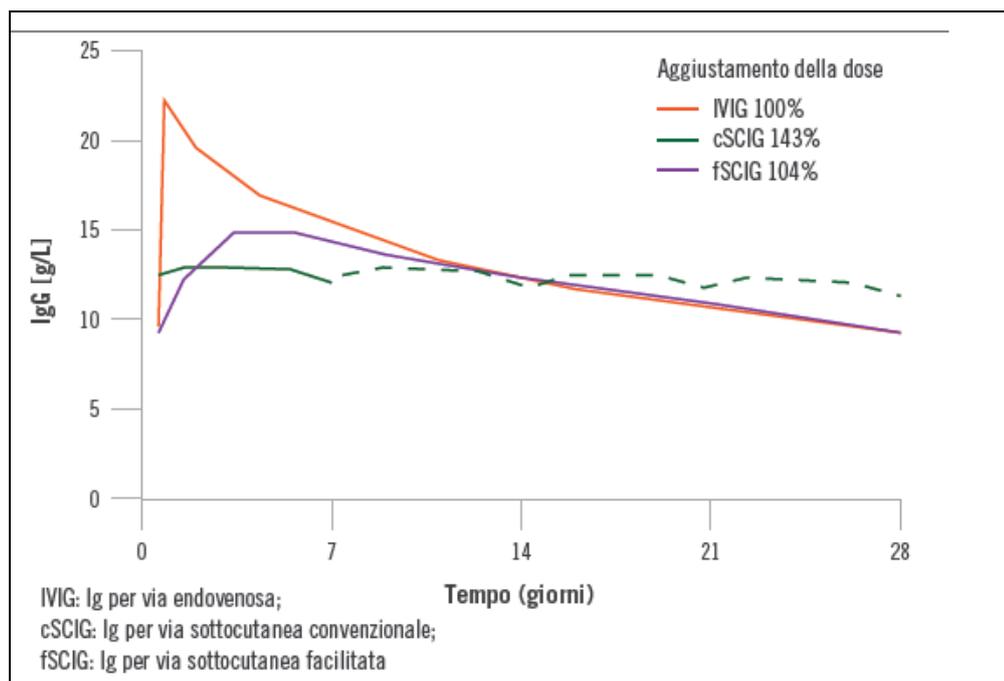


Figura 2. Curve di decadimento delle concentrazioni seriche di Ig misurate a tempi diversi dalla singola somministrazione di IVIG (dose 100%), fSCIG (dose 104%) e cSCIG (dose 143%, in paziente già trattato precedentemente) (48).

Confronto f-SCIG versus IVIG

Uno studio di fase III, multicentrico, open-label ha valutato l'efficacia e la tollerabilità di f-SCIG versus IVIG in 87 pazienti (età 4-78 anni) con immunodeficienza primaria (78). I pazienti sono stati trattati prima con IVIG per 3 mesi e poi con f-SCIG (N=83) per circa 14–18 mesi. Le infusioni di f-SCIG inizialmente sono state effettuate all'inizio ogni settimana e successivamente ad intervalli di 3-4 settimane. I risultati ottenuti possono così essere riassunti (Tabelle 7,8,9):

- Nel 94% dei pazienti la somministrazione di f-SCIG è stata effettuata ogni 3-4 settimane, in un solo sito (mediana 1,09/mese).
- L'AUC della f-SCIG era pari al 93,3% delle IVIG, cioè equivalente dal punto di vista farmacocinetico.

- Le reazioni sistemiche sono risultate meno frequenti con f-SCIG rispetto a IVIG (8,3% vs 25% delle infusioni). Le reazioni a livello locale sono risultate di solito di grado lieve-moderato, con un tasso di 0,203 per infusione.
- Il tasso complessivo di infezioni era pari a 2,97 per anni-persona nel gruppo trattato con f-SCIG versus 4,51 nel gruppo esposto a IVIG.

Tabella 7. Eventi avversi associati dal punto di vista temporale, a prescindere dalla causalità, verificatisi in >5% dei soggetti durante il trattamento con f-SCIG e l'infusione endovenosa (78).

Adverse event†	IGHy		IGIV	
	Percentage of subjects (N = 81)	Rate of adverse events per infusion‡ (N = 1129)§	Percentage of subjects (n = 87)	Rate of adverse events per infusion (N = 365)§
Local adverse events	51.9	0.199	4.6	0.011
Headache	19.8	0.031	25.3	0.112
Fatigue	8.6	0.012	9.2	0.027
Nausea	7.4	0.010	11.%	0.027
Pyrexia	7.4	0.009	5.7	0.016
Vomiting	7.4	0.008	5.7	0.016
Chills	1.2	0.003	8.0	0.025

*Occurring during or within 72 hours of the infusion.
†Excluding infections.
‡Rate = total number of events divided by total number of infusions.
§N = total number of infusions.

Tabella 8. Reazioni avverse locali più frequenti riportate in >1% delle infusioni (78).

Infusion site reaction	Rate of reactions per infusion (n = 1129)
Discomfort/pain	0.108
Erythema	0.028
Swelling/edema	0.024
Pruritus	0.017

Tabella 9. Numero di siti di infusione per mese (78).

Study arm*	Treatment	No.	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
Study arm 1	IGIV	31	1.1	1.09	1.09	1.10	1.4
	IGSC	31	9.0	17.32	21.43	24.94	43.3
	IGHy	30	1.0	1.08	1.09	1.76	3.5
Study arm 2	IGIV	56	0.4	1.09	1.09	1.16	1.5
	IGHy	51	0.8	1.08	1.09	1.94	4.3

Q, Quartile.

Secondo gli autori dello studio la somministrazione di SCIG, facilitata da rHuPH20, è equivalente a quella dell'infusione endovenosa in termini di farmacocinetica ed efficacia e migliore in termini di safety (reazioni sistemiche in misura minore).

Un confronto indiretto fra le diverse modalità di somministrazione è riportato in **Tabella 10**.

Tabella 10. Confronto tra IVIG, SCIG convenzionali, SCIG facilitate (71,78,82,102,103)

Parametro	IVIG	SCIG convenzionali	SCIG facilitate
Numero di siti di infusione	Tipicamente 1 sito di infusione	Multipli	Tipicamente 1 sito di infusione
Frequenza delle infusioni	Generalmente 1 ogni 3-4 settimane	Generalmente 1 ogni 1-2 settimane	Generalmente 1 ogni 3-4 settimane
Biodisponibilità	100% della dose somministrata	60-70% della dose somministrata	Equivalenza alle IVIG al dosaggio 1:1
Rischio di ADR locali	Ridotto rispetto alle SCIG	Aumentato rispetto alle IVIG	Aumentato rispetto alle IVIG
Variazione picco-valle	Variazione maggiore	Ridotta. Ciò determina livelli di Ig quasi costanti	Livelli simili rispetto alle SCIG convenzionali
Rischio di ADR sistemiche	Aumentato rispetto alle SCIG	Ridotto rispetto alle IVIG	Ridotto rispetto alle IVIG; simile alle SCIG convenzionali
Modalità di somministrazione	Richiede supervisione di un medico per tutta la durata dell'infusione. Richiede un accesso venoso	Autosomministrazione. Dopo il training non occorre la supervisione di un medico. Non richiede accesso venoso	Autosomministrazione. Dopo il training non occorre la supervisione di un medico. Non richiede accesso venoso

7. Qualità della vita dei pazienti affetti da PID

La sopravvivenza è certamente l'outcome più importante di una terapia, ma anche la qualità della vita in un paziente, costretto a ricevere iniezioni per tutta la vita come nel caso dei pazienti affetti da PID, ha una importanza vitale ai fini dell'outcome (**104**). La qualità della vita di un paziente con PID è certamente influenzata da:

- tipo di somministrazione (endovena *versus* sottocute),
- frequenza delle somministrazioni (giornaliero *versus* settimanale *versus* mensile),
- numero di visite ospedaliere (con conseguente assenza dal lavoro o da scuola e costi per il paziente, per i genitori e i caregiver).

Ci sono evidenze che la terapia sostitutiva a base di immunoglobuline prolunghi la sopravvivenza e riduca la morbilità e che la loro somministrazione contribuisca quindi anche ad un miglioramento della qualità della vita (**105**).

Essa risulta migliore nei pazienti trattati con SCIG, rispetto a quelli trattati con IVIG, ed in particolare risultano migliorati la salute globale/generale, la vitalità, la salute mentale e i rapporti sociali (**106**).

L'iniezione sottocutanea risulta più confortevole per il paziente. Essendo associata ad un rischio molto basso di reazioni sistemiche gravi, questa somministrazione può essere effettuata a casa dal paziente stesso, dai parenti o dai caregiver. Inoltre, la maggior parte dei pazienti preferisce non dipendere dal personale specializzato e/o da strutture particolari per effettuare il trattamento a base di Ig.

Come già sopra descritto, nella maggior parte dei regimi terapeutici a base di SCIG la dose totale mensile di Ig deve essere frazionata in 4 o più infusioni, somministrate settimanalmente o anche con maggiore frequenza. Sono possibili anche basse dosi somministrate giornalmente e sono preferite da alcuni pazienti (107,108).

Anche da un punto di vista economico l'impiego di SCIG presenta dei vantaggi rispetto alla somministrazione di IVIG (109) e tali effetti sono ancora più evidenti nei pazienti trattati con la formulazione sottocutanea associata a ialuronidasi.

Infatti, confrontando l'impiego f-SCIG con il trattamento a base di IGIV, sono stati osservati vantaggi in particolare in termini di assenza di giorni dal lavoro/scuola, durata della degenza ospedaliera, giorni di trattamento con antibiotici (tabella 11).

Tabella 11. Tasso di tutte le infezioni, giorni di assenza da scuola/lavoro, giorni di terapia con antibiotici, durata della degenza ospedaliera e visite mediche urgenti/non programmate (78).

	IGHy		IGIV	
	Point estimate	95% CI	Point estimate	95% CI
Overall rate of infections (per year)	2.97	2.51-3.47	4.51	3.50-5.69
Days off school/work (per year)	0.28	0.20-0.37	0.23	0.15-0.34
Days on antibiotics (per year)	1.69	1.29-2.16	3.15	2.19-4.35
Unscheduled physician visits (per year)	0.40	0.32-0.49	0.33	0.23-0.45
Days in hospital (per year)	0.02	0.01-0.03	0.06	0.03-0.10
Days in hospital due to infection (per year)	0.00	0.00-0.01	0.03	0.01-0.05

8. Conclusioni

Per stabilire quale via di somministrazione potrebbe essere preferibile utilizzare in ogni singolo paziente con PID, ci sono due tipi di fattori che possono contribuire alla decisione.

- 1) *fattori clinici*: accesso venoso, intollerabilità per dosi endovenose intermittenti relativamente ampie, condizioni subottimali cui va incontro il paziente quando i livelli serici di IG sono bassi, rischio di reazioni avverse locali e sistemiche. Tutto ciò può far propendere il paziente verso la via sottocutanea che, rispetto alla via endovenosa, presenta una serie di vantaggi. La formulazione con ialuronidasi, rispetto alle IVIG e rispetto alla SCIG ha ulteriori vantaggi sotto l'aspetto clinico: ridotto numero di somministrazioni rispetto alla SCIG e minor frequenza di reazioni avverse sistemiche rispetto alla IVIG (36,60,61,66,78,101,110).

2) *qualità della vita*. I regimi terapeutici per via sottocutanea sono molto flessibili per quanto riguarda la frequenza delle infusioni e la possibilità di una auto somministrazione da parte del paziente. La maggior parte di essi apprezza questa aumentata flessibilità e l'autonomia determinata dal trattamento domiciliare e riferiscono un miglioramento della qualità della vita.

Come dimostrato da uno studio condotto da Samaan e coll. (111), può essere utile coinvolgere il paziente nella scelta del trattamento allo scopo di ottenere il massimo della compliance, In ogni caso è sempre necessario un monitoraggio costante del paziente con regolari visite di follow-up per valutare se modificare il regime terapeutico e per il dosaggio dei livelli di Ig. E' chiaro che ciò determina necessariamente una responsabilizzazione dei pazienti, dei parenti e dei caregiver.

Bibliografia

1. Chapel H, et al. Primary immune deficiencies - principles of care. *Front Immunol* 2014; 5: 627.
2. International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies, Notarangelo LD, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124: 1161-78.
3. Chapel H, Cunningham-Rundles C. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. *Br J Haematol* 2009; 145: 709–727.
4. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol* 1999; 92: 34–48.
5. Cunningham-Rundles C. The many faces of common variable immunodeficiency. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 301-5.
6. Wood P, et al; UK Primary Immunodeficiency Network. Recognition, clinical diagnosis and management of patients with primary antibody deficiencies: a systematic review. *Clin Exp Immunol* 2007; 149: 410-23.
7. Agarwal S, Mayer L. Diagnosis and treatment of gastrointestinal disorders in patients with primary immunodeficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1050-63.
8. Webster AD, et al. Chronic cystitis and urethritis associated with ureaplasma and mycoplasma infection in primary hypogammaglobulinaemia. *Br J Urol* 1982; 54: 287-91.
9. Malphettes M, et al; DEFI Study Group. Late-onset combined immune deficiency: a subset of common variable immunodeficiency with severe T cell defect. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1329-38.
10. Resnick ES, et al. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades. *Blood* 2012; 119: 1650-7.

11. Boileau J, et al; DEFI Study Group. Autoimmunity in common variable immunodeficiency: correlation with lymphocyte phenotype in the French DEFI study. *J Autoimmun* 2011; 36: 25-32.
12. Quinti I, et al. Long-term follow-up and outcome of a large cohort of patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2007; 27: 308–16.
13. Podjasek JC, Abraham RS. Autoimmune cytopenias in common variable immunodeficiency. *Front Immunol* 2012; 3: 189.
14. Wang J, Cunningham-Rundles C. Treatment and outcome of autoimmune hematologic disease in common variable immunodeficiency (CVID). *J Autoimmun* 2005; 25: 57-62.
15. Agarwal S, Cunningham-Rundles C. Autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Curr Allergy Asthma Rep* 2009; 9: 347-52.
16. Unger S, et al. Ill-defined germinal centers and severely reduced plasma cells are histological hallmarks of lymphadenopathy in patients with common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2014; 34: 615-26.
17. Pulvirenti F, et al. Idiopathic non cirrhotic portal hypertension and spleno-portal axis abnormalities in patients with severe primary antibody deficiencies. *J Immunol Res* 2014; 2014: 672458.
18. Aghamohammadi A, et al. Cutaneous granulomas in common variable immunodeficiency: case report and review of literature. *Acta Dermatovenerol Croat* 2010; 18: 107-13.
19. Bates CA, et al. Granulomatous-lymphocytic lung disease shortens survival in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 415-21.
20. Verbsky JW, Routes JM. Sarcoidosis and common variable immunodeficiency: similarities and differences. *Semin Respir Crit Care Med* 2014; 35: 330-5.
21. Daniels JA, et al. Gastrointestinal tract pathology in patients with common variable immunodeficiency (CVID): a clinicopathologic study and review. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1800-1812.
22. Biagi F, et al. The significance of duodenal mucosal atrophy in patients with common variable immunodeficiency: a clinical and histopathologic study. *Am J Clin Pathol* 2012; 138: 185-9.
23. Venhoff N, et al. The role of HLA DQ2 and DQ8 in dissecting celiac-like disease in common variable immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2013; 33: 909-16.
24. Malamut G, et al. Nodular regenerative hyperplasia: the main liver disease in patients with primary hypogammaglobulinemia and hepatic abnormalities. *J Hepatol* 2008; 48: 74-82.
25. Quinti I, et al. Malignancies are the major cause of death in patients with adult onset common variable immunodeficiency. *Blood* 2012; 120: 1953-4.

26. Aghamohammadi A, et al. Health-related quality of life in primary antibody deficiency. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2011; 10: 47–51
27. Seymour B, et al. Primary antibody deficiency and diagnostic delay. *J Clin Pathol* 2005; 58: 546–7
28. Eades-Perner AM, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2004-06. *Clin Exp Immunol* 2007; 147: 306–12.
29. Gathmann B, et al. Clinical picture and treatment of 2212 patients with common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 134: 116–26.
30. Joshi AY, et al. Incidence and temporal trends of primary immunodeficiency: a population-based cohort study. *Mayo Clin Proc* 2009; 84: 16–22
31. Spickett GP, et al. Primary antibody deficiency in adults. *Lancet* 1991; 337: 281–4
32. Blore J, Haeney MR. Primary antibody deficiency and diagnostic delay. *BMJ* 1989; 298: 516-7.
33. Boyle JM, Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J Clin Immunol* 2007; 27: 497-502.
34. Fischer A. Human primary immunodeficiency diseases. *Immunity* 2007; 27: 835–45.
35. Morra M, et al. Genetic diagnosis of primary immune deficiencies. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008; 28: 387–412
36. Wasserman RL. Overview of recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous infusion of IgG in primary immunodeficiencies. *Immunotherapy* 2014; 6: 553-67.
37. Cunningham-Rundles C. Key aspects for successful immunoglobulin therapy of primary immunodeficiencies. *Clin Exp Immunol* 2011; 164 Suppl 2: 16-9.
38. Lucas M et al. Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 1354-1360
39. Paquin-Proulx D et al. Persistent immune activation in CVID and the role of IVIg in its suppression. *Front Immunol* 2014; 5: 637.
40. Matucci et al. Mechanisms of action of Ig preparations: immunomodulatory and anti-inflammatory effects. *Front Immunol* 2015; 5:690
41. Wang H, et al Emerging functions of natural IgM and its Fc receptor FcMR in immune homeostasis. *Front Immunol* 2016; 7: 99
42. Sietse et al. Immunomodulation by IVIg and the Role of Fc-Gamma Receptors: Classic Mechanisms of Action after all? *Front Immunol* 2015; 5: 674
43. Nimmerjahn F, et al. Fcgamma receptors as regulators of immune responses. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 34-47

44. Kaufman GN et al. Induction of Regulatory T Cells by Intravenous Immunoglobulin: A Bridge between Adaptive and Innate Immunity. *Front Immunol* 2015; 6: 469
45. (<http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/blood/ucm072130.htm>).
46. Orange JS, et al. Impact of trough IgG on pneumonia incidence in primary immunodeficiency: A meta-analysis of clinical studies. *Clin Immunol* 2010; 137: 21-30.
47. Bonagura VR. Illustrative cases on individualizing immunoglobulin therapy in primary immunodeficiency disease. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 111 (6 Suppl): S10-3.
48. Berger M. Subcutaneous immunoglobulin replacement in primary immunodeficiencies. *Clin Immunol* 2004; 112: 1-7.
49. Orange JS, et al. Evaluation of correlation between dose and clinical outcomes in subcutaneous immunoglobulin replacement therapy. *Clin Exp Immunol* 2012; 169: 172-81.
50. Shapiro R. Subcutaneous immunoglobulin (16 or 20%) therapy in obese patients with primary immunodeficiency: a retrospective analysis of administration by infusion pump or subcutaneous rapid push. *Clin Exp Immunol* 2013; 173: 365-71.
51. Shabaninejad H, et al. A comparative study of intravenous immunoglobulin and subcutaneous immunoglobulin in adult patients with primary immunodeficiency diseases: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12: 595-602
52. Chapel HM, et al. The comparison of the efficacy and safety of intravenous versus subcutaneous immunoglobulin replacement therapy. *J Clin Immunol* 2000; 20: 94–100.
53. Vultaggio A, et al. Subcutaneous immunoglobulin replacement therapy in patients with primary immunodeficiency in routine clinical practice: the VISPO prospective multicenter study. *Clin Drug Investig* 2015; 35: 179–185
54. Kanegane H, et al. Efficacy and safety of IgPro20, a subcutaneous immunoglobulin, in Japanese patients with primary immunodeficiency diseases. *J Clin Immunol* 2014; 34: 204–211
55. Bezrodnik L, et al. Comparative study of subcutaneous versus intravenous IgG replacement therapy in pediatric patients with primary immunodeficiency diseases: a multicenter study in Argentina. *J Clin Immunol* 2013; 33: 1216–1222
56. Empson MB, et al. Efficacy, safety and pharmacokinetics of a novel subcutaneous immunoglobulin, Evogam®, in primary immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2012; 32: 897–906.
57. Borte M, et al. Efficacy and safety of subcutaneous Vivaglobin® replacement therapy in previously untreated patients with primary immunodeficiency: a prospective, multicenter study. *J Clin Immunol* 2011; 31: 952–961.

58. Hooper JA. Intravenous immunoglobulins: evolution of commercial IVIG preparations. *Immunology Allergy Clin North Am* 2008; 28: 765-78.
59. Siegel J. Safety considerations in IGIV utilization. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 523-7.
60. Berger M. Adverse effects of IgG therapy. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2013; 1: 558-66.
61. Ochs HD, et al. Subcutaneous IgG Study Group. Safety and efficacy of self-administered subcutaneous immunoglobulin in patients with primary immunodeficiency diseases. *J Clin Immunol* 2006; 26: 265-73.
62. Gaspar J, et al. Immunoglobulin replacement treatment by rapid subcutaneous infusion. *Arch Dis Child* 1998; 79: 48–51
63. Rachid R, Bonilla FA. The role of anti-IgA antibodies in causing adverse reactions to gamma globulin infusion in immunodeficient patients: a comprehensive review of the literature. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 628-34.
64. Horn J, et al. Anti-IgA antibodies in common variable immunodeficiency (CVID): diagnostic workup and therapeutic strategy. *Clin Immunol* 2007; 122: 156-62.
65. Burks AW, et al. Anaphylactic reactions after gamma globulin administration in patients with hypogammaglobulinemia. Detection of IgE antibodies to IgA. *N Engl J Med* 1986; 314: 560-4.
66. Stiehm ER. Adverse effects of human immunoglobulin therapy. *Transfus Med Rev* 2013; 27: 171-8.
67. Menis M, et al. Hyperimmune globulins and same-day thrombotic adverse events as recorded in a large healthcare database during 2008-2011. *Am J Hematol* 2013; 88: 1035-40.
68. Sridhar G, et al. Immune globulins and same-day thrombotic events as recorded in a large health care database during 2008 to 2012. *Transfusion* 2014; 54: 2553-65
- 69.** Desborough MJ, et al. Intravenous immunoglobulin-induced haemolysis: a case report and review of the literature. *Transfus Med* 2014; 24: 219-26.
70. Berard R, et al. Hemolytic anemia following intravenous immunoglobulin therapy in patients treated for Kawasaki disease: a report of 4 cases. *Pediatr Rheumatol Online J* 2012; 10: 10.
71. Haller MF. Converting intravenous dosing to subcutaneous dosing with recombinant human hyaluronidase. *Pharm Tech* 2007; 10: 861–864
72. Dychter SS, et al. Subcutaneous drug delivery: a route to increased safety, patient satisfaction, and reduced costs. *J Infus Nurs* 2012; 35: 154-60
73. Bruton OC. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* 1952; 9: 722–728.
74. Khan WN. Colonel Bruton's kinase defined the molecular basis of X-linked agammaglobulinemia, the first primary immunodeficiency. *J Immunol* 2012; 188: 2933-5.

75. Barandun S, Morell A, Skvaril F. Clinical experiences with immunoglobulin for intravenous use. In: Immunoglobulins. Characteristics and use of intravenous preparations, Alving BM, Finlayson JS (eds). US Department of Health, Human Services (FDA), 1980; 80-9005: 31-35
76. Bonilla FA. Intravenous immunoglobulin: adverse reactions and management. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 1238-9.
77. Frost GI. Recombinant human hyaluronidase (rHuPH20): an enabling platform for subcutaneous drug and fluid administration. *Expert Opin Drug Deliv* 2007; 4: 427-440
78. Wasserman RL, et al. Recombinant human hyaluronidase-facilitated subcutaneous infusion of human immunoglobulins for primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 951-7.
79. Duran-Reynals F. The effect of extracts of certain organs from normal and immunized animals on the infecting power of vaccine virus. *J Exp Med* 1929; 50: 327-340.
80. Kreil G. Hyaluronidases – a group of neglected enzymes. *Protein Sci* 1995; 4: 1666-1669.
81. Silverstein SM, et al. Hyaluronidase in ophthalmology. *J Appl Res* 2012; 12: 1-13.
82. Bookbinder LH, et al. A recombinant human enzyme for enhanced interstitial transport of therapeutics. *J Control Release* 2006; 114: 230-41.
83. Eberhart AH, et al. Angioedema related to the use of hyaluronidase in cataract surgery. *Am J Ophthalmol* 2004; 138: 142-143
84. Borchard K, et al. Hyaluronidase allergy: a rare cause of periorbital inflammation. *Australas J Dermatol* 2010; 51: 49-51.
85. Kim TW, et al. Allergic reactions to hyaluronidase in pain management - A report of three cases - . *Korean J Anesthesiol* 2011; 60: 57-9
86. Csoka AB, et al. The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biol* 2001; 20: 499-508
87. Thompson CB, et al. Enzymatic depletion of tumor hyaluronan induces antitumor responses in preclinical animal models. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 3052-3064
88. Kang DW, et al. Recombinant human hyaluronidase PH20 (rHuPH20) facilitates subcutaneous infusions of large volumes of immunoglobulin in a swine model. *Drug Deliv Transl Res* 2012; 2: 254-264
89. Allen CH, et al. Recombinant human hyaluronidase-enabled subcutaneous pediatric rehydration. *Pediatrics* 2009; 124: e858-e867.
90. Harb G, et al. Safety and pharmacokinetics of subcutaneous ceftriaxone administered with or without recombinant human hyaluronidase (rHuPH20) versus intravenous ceftriaxone administration in adult volunteers. *Curr Med Res Opin* 2010; 26: 279-288.

91. Thomas JR, et al. The INFUSE-Morphine study: use of recombinant human hyaluronidase (rHuPH20) to enhance the absorption of subcutaneously administered morphine in patients with advanced illness. *J Pain Symptom Manage* 2009; 38: 663–672.
92. Baker MP, et al. Immunogenicity of protein therapeutics: The key causes, consequences and challenges. *Self Nonsel* 2010; 1: 314–22.
93. Chirmule N, et al. Immunogenicity to therapeutic proteins: impact on PK/PD and efficacy. *AAPS J* 2012; 14: 296–302
94. Xue L, et al. Pre-existing biotherapeutic-reactive antibodies: survey results within the American Association of Pharmaceutical Scientists. *AAPS J* 2013; 15: 852–5.
95. Xue L, Rup B. Evaluation of pre-existing antibody presence as a risk factor for posttreatment anti-drug antibody induction: analysis of human clinical study data for multiple biotherapeutics. *AAPS J* 2013; 15: 893–6.
96. Rosengren S, et al. Clinical Immunogenicity of rHuPH20, a Hyaluronidase Enabling Subcutaneous Drug Administration. *AAPS J* 2015; 17: 1144-56.
97. http://www.ema.europa.eu/ema/pages/includes/document/open_document.jsp?webContentId=W500205393
98. Bonilla FA. Pharmacokinetics of immunoglobulin administered via intravenous or subcutaneous routes. *Immunol Allergy Clin North Am* 2008; 28: 803-19.
99. Berger M, et al. Bioavailability of IgG administered by the subcutaneous route. *J Clin Immunol* 2013; 33: 984-90.
100. Berger M. Choices in IgG replacement therapy for primary immune deficiency diseases: subcutaneous IgG vs. intravenous IgG and selecting an optimal dose. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 532-538
101. Sanford M. Human immunoglobulin 10 % with recombinant human hyaluronidase: replacement therapy in patients with primary immunodeficiency disorders. *Bio Drugs* 2014; 28: 411-20.
102. Gardulf A. Immunoglobulin treatment for primary antibody deficiencies: advantages of the subcutaneous route. *BioDrugs* 2007; 21: 105-116.
103. Jolles S. Hyaluronidase facilitated subcutaneous immunoglobulin in primary immunodeficiency. *Immunotargets Ther* 2013; 2: 125-133.
104. Jiang F, et al. Health-related quality of life in patients with primary immunodeficiency disease. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2015; 11: 27.

105. Espanol T, et al. Improving current immunoglobulin therapy for patients with primary immunodeficiency: quality of life and views on treatment. *Patient Prefer Adherence* 2014; 8: 621-9.
106. Lingman-Framme J, Fasth A. Subcutaneous immunoglobulin for primary and secondary immunodeficiencies: an evidence-based review. *Drugs* 2013; 73: 1307-19.
107. Shapiro RS. Subcutaneous immunoglobulin therapy given by subcutaneous rapid push vs infusion pump: a retrospective analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013; 111: 51-5.
108. Shapiro RS. Subcutaneous immunoglobulin: rapid push vs. infusion pump in pediatrics. *Pediatr Allergy Immunol* 2013; 24: 49-53.
109. Martin A, et al. Economic benefits of subcutaneous rapid push versus intravenous immunoglobulin infusion therapy in adult patients with primary immune deficiency. *Transfusion Medicine* 2013; 23: 55-60.
110. Berger M, et al. Improved quality of life, immunoglobulin G levels, and infection rates in patients with primary immunodeficiency diseases during self-treatment with subcutaneous immunoglobulin G. *South Med J* 2010; 103: 856-63.
111. Samaan K, et al. SCIG vs. IVIg: let's give patients the choice! *J Clin Immunol* 2014; 34: 611-4.