



UNIVERSITÀ DI PARMA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN
MEDICINA VETERINARIA

**Monoclonal antibodies against Nerve Growth Factor (NGF): a new
tool for chronic pain management in dogs and cats**

**Gli anticorpi monoclonali contro il fattore di crescita nervoso
(NGF): un nuovo strumento per il controllo del dolore cronico nel
cane e nel gatto**

Relatore:

Chiar.mo Prof. Alessandro Menozzi

Laureanda:

Eva Bellassai

Matricola: 354740

Anno accademico 2025-2026

Sommario

ABSTRACT	4
ABSTRACT IN ITALIANO	5
1. FISIOPATOLOGIA DEL DOLORE	6
1.1 DEFINIZIONE DI DOLORE CRONICO	6
1.1.1 DEFINIZIONE DI DOLORE SECONDO L'IASP	6
1.1.2 DISTINZIONE TRA DOLORE ACUTO E DOLORE CRONICO	7
1.1.3 CLASSIFICAZIONE IASP/ICD-11 DEL DOLORE CRONICO	9
1.1.4 CLASSIFICAZIONE FISIOPATOLOGICA: DOLORE NOCICETTIVO, NEUROPATICO E NOCIPLASTICO	13
1.1.5 BASI NEUROANATOMICHE DELLA NOCICEZIONE E MODULAZIONE DEL DOLORE	15
1.1.6 CONSEGUENZE DEL DOLORE CRONICO SULL'ANIMALE E RICONOSCIMENTO CLINICO	17
1.2 SENSIBILIZZAZIONE CENTRALE (SC) E SENSIBILIZZAZIONE PERIFERICA (SP)	19
1.2.1 SC E SP COME FORME DI NEUROPLASTICITA'	19
1.2.2 CENNI STORICI SULLA SCOPERTA DELLA SC	20
1.2.3 MANIFESTAZIONI CLINICHE DELLA SENSIBILIZZAZIONE: IPERALGESIA E ALLODINIA	23
1.2.4 DALLA SC ALL'OSTEOARTROSI	25
1.3 OSTEOARTROSI (OA)	26
1.3.1 DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA	26
1.3.2 OSTEOARTROSI NEL CANE: EZIOLOGIA, FATTORI DI RISCHIO, PREVALENZA	28
1.3.3 OSTEOARTROSI NEL GATTO	29
1.3.4 ATTIVAZIONE DEI NOCICETTORI ARTICOLARI NELL'OA	31
2. II FATTORE DI CRESCITA NERVOSO COME TARGET TERAPEUTICO	33
2.1 DEFINIZIONE DEL FATTORE DI CRESCITA NERVOSO E RUOLO NELLA NOCICEZIONE	33
2.2 LA TRASMISSIONE DEL DOLORE	36
2.3 L'ASSE NEURO-IMMUNITARIO NELLA MODULAZIONE DEL DOLORE	38
2.4 NGF NEL DOLORE OSTEOARTROSICO: EVIDENZE SPECIFICHE	40
3. LA FARMACOLOGIA DEGLI ANTICORPI MONOCLONALI	42

3.1 DEFINIZIONE E FARMACODINAMICA	42
3.1.1 DEFINIZIONE, STRUTTURA E PRODUZIONE DEI MABS.....	42
3.1.2 SPECIAZIONE E INGEGNERIZZAZIONE	44
3.1.3 FARMACODINAMICA.....	45
3.2 FARMACOCINETICA	47
3.2.1 MODALITA' DI INOCULO E ASSORBIMENTO.....	47
3.2.2 DINAMICHE DI DISTRIBUZIONE DEI MABS	48
3.2.3. PROCESSI METABOLICI E VIE DI ELIMINAZIONE DEI MABS	49
4. APPLICAZIONI CLINICHE DEI MABS ANTI-NGF.....	54
4.1 BEDINVETMAB, EFFICACIA CLINICA NEL CANE	54
4.2 FRUNEVETMAB, EFFICACIA CLINICA NEL GATTO	56
4.3 PROFILO DI SICUREZZA EFFETTI AVVERSI E CONTROINDICAZIONI.....	58
4.3.1 DATI REAL-WORLD SULLA QUALITÀ DELLA VITA.....	58
4.3.2 SEGNALI DI FARMACOVIGILANZA SUL BEDINVETMAB	59
4.3.3 DISCUSSIONE CRITICA E BILANCIAMENTO DELLE EVIDENZE	62
5. DALLA MONOTERAPIA ALLA POLITERAPIA MULTIMODALE CON MABS NEL DOLORE OSTEOARTROSICO	67
5.1 LIMITI DELLE TERAPIE TRADIZIONALI.....	67
5.2 INTEGRAZIONE DEI MABS NEI PROTOCOLLI DI TERAPIA MULTIMODALE	68
5.2.1 DALLA MONOTERAPIA AL PARADIGMA MULTIMODALE	68
5.2.2 ASSOCIAZIONE DEI MABS CON ADIUVANTI ANALGEICI E NUTRACEUTICI	69
5.2.3 SICUREZZA DELL'ASSOCIAZIONE MAB-FANS.....	70
5.2.4 EVIDENZE REAL-WORLD: RIDUZIONE DELLA POLITERAPIA DOPO INTRODUZIONE DEL MAB	71
5.3 NUOVE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE E ORIZZONTI FUTURI DI RICERCA	73
5.3.1 IL NODO IRRISOLTO DELLA RPOA: VERSO UNA STANDARDIZZAZIONE DIAGNOSTICA	73
5.3.2 OLTRE L'OA: NUOVE INDICAZIONI CLINICHE IN ESPLORAZIONE	75
5.3.3 DALL'ANALGESIA ALLA MODIFICA DELLA MALATTIA: L'IPOTESI DMOAD E ALTRI BERSAGLI MOLECOLARI PER IL DOLORE CRONICO	76
6. CONCLUSIONI	79

ABSTRACT

Chronic pain represents one of the major therapeutic challenges in veterinary medicine, often refractory or only partially controlled by conventional pharmacological therapies. Among the molecular mediators involved in its onset and maintenance, nerve growth factor (NGF) has emerged as a key player, binding to the TrkA receptor on sensory neurons and amplifying nociceptive signal transmission. This thesis examines the pathophysiological rationale and clinical evidence supporting the use of anti-NGF monoclonal antibodies (mAbs) in the treatment of chronic pain in veterinary medicine, as an alternative to traditional pharmacological therapies (NSAIDs and opioids), which are burdened by systemic toxicity and high individual response variability.

Bedinvetmab (Librela®) and frunevetmab (Solensia®), the two anti-NGF mAbs currently licensed for osteoarthritis-related pain in dogs and cats respectively, have demonstrated statistically significant analgesic efficacy in randomised, placebo-controlled registration trials, confirmed by real-world quality-of-life data. The first head-to-head trial against a NSAID (meloxicam) showed comparable efficacy between the two drugs, with a lower adverse event rate for bedinvetmab. Although anti-NGF mAbs seem generally safe in dogs and cats, pharmacovigilance reports have raised some concerns, not yet fully clarified, regarding the risk of rapidly progressive osteoarthritis (RPOA) associated with treatment with bedinvetmab.

Anti-NGF monoclonal antibodies represent a significant therapeutic innovation in chronic pain management, with a robust efficacy profile in the short to medium term; their definitive place within a multimodal treatment strategy, however, remains contingent on the availability of longer-term safety data.

ABSTRACT IN ITALIANO

Il dolore cronico rappresenta una delle principali sfide terapeutiche in medicina veterinaria, spesso refrattario o solo parzialmente controllato dalle terapie farmacologiche convenzionali. Tra i mediatori molecolari coinvolti nella sua genesi e nel suo mantenimento, il nerve growth factor (NGF) ha assunto un ruolo di primo piano, legandosi al recettore TrkA su neuroni sensoriali e amplificando la trasmissione del segnale nocicettivo. Questa tesi esamina il razionale fisiopatologico e le evidenze cliniche a supporto dell'impiego degli anticorpi monoclonali (mAbs) anti-NGF nella terapia del dolore cronico in medicina veterinaria, in alternativa alle terapie farmacologiche tradizionali (FANS e oppioidi), gravate da tossicità sistemica ed elevata variabilità di risposta individuale.

Bedinvetmab (Librela®) e frunevetmab (Solensia®), i due mAbs anti-NGF attualmente autorizzati rispettivamente nel cane e nel gatto per il dolore da osteoartrosi, hanno dimostrato in studi registrativi randomizzati e controllati con placebo un'efficacia analgesica statisticamente significativa, confermata da dati real-world sulla qualità della vita. Il primo trial di confronto diretto con un FANS (meloxicam) ha mostrato un'efficacia sovrapponibile tra i due farmaci, con un tasso di eventi avversi inferiore per il bedinvetmab. Nonostante i mAbs anti-NGF sembrino generalmente ben tollerati in cani e gatti, segnalazioni di farmacovigilanza hanno sollevato alcuni interrogativi sul rischio, non ancora del tutto chiarito, di osteoartrosi rapidamente progressiva (RPOA) associato al trattamento con bedinvetmab.

Gli anticorpi monoclonali anti-NGF configurano un'innovazione terapeutica rilevante nella gestione del dolore cronico, con un profilo di efficacia solido nel breve-medio periodo; la loro collocazione definitiva nell'ambito di una strategia multimodale resta tuttavia subordinata alla disponibilità di dati di sicurezza su orizzonti temporali più estesi.

1. FISIOPATOLOGIA DEL DOLORE

1.1 DEFINIZIONE DI DOLORE CRONICO

1.1.1 DEFINIZIONE DI DOLORE SECONDO L'IASP

La definizione IASP di dolore ha ottenuto un'accettazione a livello mondiale da parte di professionisti sanitari e ricercatori del settore, ed è stata adottata da numerose organizzazioni professionali, governative e non governative, tra cui l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS). Secondo la definizione IASP, il dolore viene definito come "un'esperienza sensoriale ed emotiva spiacevole, associata o simile a quella associata a un danno tissutale reale o potenziale" (Raja et al., 2020). Negli anni più recenti, tuttavia, alcuni esperti del settore hanno sostenuto che i progressi nella comprensione del dolore, nella sua accezione più ampia, giustificassero una revisione della definizione. L'intensità, la qualità e la durata del dolore possono variare enormemente, e i suoi meccanismi fisiopatologici e i significati ad esso attribuiti sono altrettanto diversificati. Proprio per questo, racchiudere il concetto di dolore in una definizione al contempo sintetica e rigorosa risulta un compito complesso. Il dolore costituisce sempre un vissuto soggettivo, sul quale incidono in varia misura componenti biologiche, psicologiche e sociali (Raja et al., 2020), il dolore definito come "un concetto psicologico, non una misura fisica" (Merskey et al., 1994), sostiene che l'esperienza dolorosa venga tenuta distinta dalla semplice stimolazione nocicettiva, per cui dolore e nocicezione non devono essere considerati sinonimi, perché quest'ultima, diversamente dal dolore, indica l'attività che il sistema nervoso genera in risposta ad uno stimolo dannoso. Coerentemente con questa impostazione, l'attuale definizione IASP prende atto del fatto che, sebbene il danno tissutale costituisca frequentemente un antecedente del dolore, quest'ultimo può manifestarsi anche in assenza di un danno tissutale identificabile, mantenendo comunque un legame con tale concetto proprio per distinguere il dolore da altre esperienze parimenti sgradevoli (come nausea o prurito). Tra i punti di forza di questa definizione vi sono il riconoscimento della natura multidimensionale del dolore, insieme alla sua concisione e chiarezza espositiva (Raja et al., 2020).

È stato inoltre sostenuto che il dolore rappresenti qualcosa di più di un semplice sintomo, e che il dolore cronico possa configurarsi come una vera e propria patologia dotata di un proprio decorso clinico (Loeser e Treede 2008), in netto contrasto con il ruolo protettivo e adattativo tipico del dolore acuto, il dolore cronico assume una funzione mal adattativa,

comportando conseguenze negative sul piano funzionale e sul benessere dell'individuo (Raja et al., 2020).

In medicina veterinaria non esiste una definizione di dolore specifica per gli animali; tuttavia, la stessa definizione IASP precisa che "l'incapacità di comunicare non esclude la possibilità che un essere umano o un animale non umano provi dolore". Si ritiene quindi comunemente che tale definizione sia applicabile tanto agli animali quanto agli esseri umani. Nella pratica clinica, i veterinari tendono a mostrare un atteggiamento favorevole verso il riconoscimento e la gestione del dolore, ciononostante, permangono alcune difficoltà legate ad una conoscenza ancora insufficiente riguardo all'impatto che il dolore esercita sulla qualità di vita degli animali, così come alla disponibilità di strumenti idonei alla sua valutazione nei piccoli animali. Riuscire a distinguere le diverse forme di dolore risulta indispensabile per poterlo gestire adeguatamente (Pedersen et al., 2025).

1.1.2 DISTINZIONE TRA DOLORE ACUTO E DOLORE CRONICO

Il dolore acuto si distingue per un esordio netto e una durata contenuta nel tempo, si protrae per una durata di giorni o settimane (Hernández-Avalos et al., 2026), è generalmente associato a un danno tissutale, reale o imminente, e svolge la funzione essenziale di modificare rapidamente il comportamento dell'animale, al fine di evitare o limitare il danno stesso e di favorire le condizioni ottimali per la guarigione, cessando una volta che questa si è completata. La sua intensità può variare da lieve-moderata a severa-insopportabile. Il dolore acuto è provocato da una patologia o una lesione specifica, assolve ad una funzione biologica durante il processo di guarigione, ed è per sua natura autolimitante, si tratta di una risposta indispensabile alla sopravvivenza dell'organismo, in quanto ne previene possibili danni. Ne sono esempi il dolore associato a una ferita da taglio, a interventi chirurgici elettivi, oppure a patologie ad esordio acuto, come la pancreatite acuta (Mathews et al., 2014).

Il dolore cronico, o maladattivo, è invece quello che si protrae oltre il normale periodo di guarigione o oltre la risoluzione della lesione che lo ha originato, supera i tre mesi di durata (soglia temporale convenzionale). A determinare la sua cronicità non contribuisce soltanto la durata, ma anche altri fattori quali il numero di nocicettori coinvolti, l'intensità dello stimolo scatenante e la frequenza con cui l'organismo vi viene esposto. A differenza del dolore acuto, il dolore cronico non assolve a nessuna funzione biologica specifica,

generando piuttosto una reazione eccessiva a stimoli nocivi a causa di un'alterazione dell'attività dei neuroni sensoriali periferici. Quando la percezione dolorosa persiste, genera dolore neuropatico per effetto della sensibilizzazione centrale e/o periferica oggetto del capitolo 1.2. Questa forma di dolore accompagna spesso condizioni patologiche quali neoplasie, osteoartrosi o malattie neurologiche, che tendono a catalizzare l'attenzione clinica sulla patologia in sé, relegando in secondo piano la componente dolorosa (Hernández-Avalos et al., 2026).

Non presenta un termine definito; nell'uomo, oltre ad incidere sul benessere fisico, può avere un impatto rilevante anche sulla sfera psicologica di chi ne è affetto. In medicina umana, il dolore cronico viene generalmente descritto come quel dolore che persiste oltre i normali tempi di guarigione, oppure come dolore persistente legato a condizioni prive di una guarigione completa, o che tendono a risolversi temporaneamente per poi ripresentarsi (Mathews et al., 2014).

Dolore acuto e dolore cronico costituiscono quindi entità cliniche distinte, e il dolore cronico può essere considerato, esso stesso, una vera e propria condizione patologica per cui gli approcci terapeutici alla gestione del dolore dovrebbero tenere conto di questi profili differenti. Il trattamento del dolore acuto è mirato a intervenire sulla causa sottostante e a interrompere la trasmissione del segnale nocicettivo a diversi livelli del sistema nervoso, mentre l'approccio terapeutico al dolore cronico richiede necessariamente una strategia multidisciplinare e una gestione complessiva della qualità di vita del paziente (Mathews et al., 2014).

Talvolta il dolore cronico costituisce una prosecuzione diretta del dolore acuto, a dimostrazione di ciò, Miranda e collaboratori (2015) hanno analizzato i meccanismi alla base della cronicizzazione del dolore in ratti Wistar albini maschi, sottoposti quotidianamente a iniezioni sottocutanee di prostaglandina E2 (PGE2) nella zampa posteriore. Già 15 minuti dopo la somministrazione, si è osservata una riduzione significativa - pari a 30 g - della soglia di ritiro della zampa, effetto che permaneva anche dopo 7 giorni di trattamento con PGE2, con un picco massimo di riduzione di 60 g: un dato che testimonia lo sviluppo di un'iperalgia persistente negli animali. In una fase successiva dello studio, gli autori hanno inoltre riscontrato che la somministrazione, 10 minuti prima dell'iniezione sottocutanea di capsaicina di un antagonista selettivo del recettore μ -oppiode comportava una riduzione dell'effetto analgesico, un dato che suggerisce come la via neurobiologica degli oppioidi endogeni giochi un ruolo

determinante nel mantenimento dell'iperalgesia persistente. Ciò conferma come la cronicizzazione del dolore rappresenti l'esito di una complessa catena di eventi, che conduce ad una vera e propria disfunzione della via nocicettiva. Nella trattazione sul concetto di dolore si sostiene che quest'ultimo non si esaurisca nella semplice attività neuronale sensoriale (Raja et al., 2020).

In questa prospettiva, Bell et al. (2018) descrivono la via nocicettiva come composta da cinque fasi consecutive - trasduzione, trasmissione, modulazione, proiezione e percezione - che portano infine alla percezione consapevole del dolore acuto, quale risposta immediata ad un danno tissutale, oggetto del sottocapitolo 1.1.5. Quando però il dolore assume carattere cronico, occorre considerare anche l'intervento della sensibilizzazione periferica e centrale, condizione caratterizzata da uno stato di ipereccitabilità neuronale. Tali meccanismi possono determinare alterazioni sia di natura funzionale che strutturale, abbassando la soglia di attivazione dei nocicettori agli stimoli esterni (Loeser & Treede, 2008). È stato inoltre segnalato come, nelle condizioni di dolore cronico, il legame tra l'esperienza dolorosa e le condizioni reali dei tessuti tenda a farsi via via più incerto e difficile da prevedere. Ne è un esempio emblematico la frequente discordanza, riscontrabile nei soggetti con osteoartrosi di ginocchio, tra l'intensità del dolore percepito e le alterazioni strutturali rilevabili tramite tecniche di imaging (Bedson & Croft, 2008).

1.1.3 CLASSIFICAZIONE IASP/ICD-11 DEL DOLORE CRONICO

Nel 2013, l'IASP ha costituito una task force incaricata di elaborare e aggiornare una classificazione delle patologie dolorose destinata ad un utilizzo su scala internazionale, rivolgendosi in seguito all'OMS. Da questo lavoro è nata la nuova edizione della Classificazione Internazionale delle Malattie (ICD-11), recepita dall'OMS nel 2019, che per la prima volta comprende una sezione dedicata specificamente alla classificazione del dolore cronico, un nuovo sistema, pensato per essere concreto e applicabile (Raja et al., 2020).

La task force IASP ha stabilito una scala di priorità, collocando al primo posto l'eziologia del dolore, seguita dai meccanismi fisiopatologici alla base della sintomatologia, e infine dalla localizzazione corporea. La costruzione di questa struttura classificativa a più livelli è stata resa possibile grazie ad un innovativo criterio di attribuzione dei codici nell'ICD-

11, denominato "genitorialità multipla" (multiple parenting), che permette ad una stessa diagnosi di essere ricondotta contemporaneamente a più categorie. Ogni diagnosi conserva un'unica categoria come riferimento principale, pur essendo collegata ad altre categorie che fungono da riferimenti secondari. L'insieme di questi impegni promossi dall'IASP costituisce un passo significativo verso il pieno riconoscimento del dolore come condizione clinicamente rilevante, e avrà un impatto concreto sulla ricerca dedicata al dolore. La nuova sezione dell'ICD dedicata al "Dolore Cronico" racchiude le condizioni clinicamente più rilevanti e frequenti, organizzate in sette macrocategorie: dolore primario cronico, dolore oncologico cronico, dolore post-traumatico e post-chirurgico cronico, dolore neuropatico cronico, cefalea cronica e dolore orofacciale, dolore viscerale cronico, e dolore muscoloscheletrico cronico. Per ciascun gruppo, un team di esperti dedicati si è occupato di definire i criteri diagnostici e selezionare le diagnosi da inserire in queste sottocategorie (Treede et al., 2015).

Dolore primario cronico: consiste in un dolore localizzato in una o più regioni anatomiche, che persiste o si ripresenta per oltre tre mesi ed è accompagnato da un significativo disagio emotivo o da una rilevante disabilità funzionale (interferenza con le attività quotidiane), che non può essere spiegato in modo più adeguato da un'altra condizione dolorosa cronica. Si tratta di una definizione fenomenologica di nuova concezione, introdotta perché l'eziologia resta ignota per numerose forme di dolore cronico. (Ad esempio, in umana, condizioni frequenti come il mal di schiena - non classificabile né come dolore muscoloscheletrico né come dolore neuropatico - il dolore cronico diffuso, la fibromialgia e la sindrome dell'intestino irritabile, rientrano in questa categoria, indipendentemente dalla presenza o assenza di riscontri biologici associati al disturbo doloroso). Il termine "dolore primario" è stato scelto in stretta collaborazione con il comitato di revisione dell'ICD-11, ritenuto il termine più ampiamente comprensibile, specialmente per un pubblico non specialistico.

Dolore oncologico cronico: Il dolore rappresenta un fenomeno frequente e debilitante che accompagna le patologie tumorali, e che finora non aveva trovato una rappresentazione adeguata nell'ICD. La Task Force ha deciso di trattarlo come entità distinta, in virtù dell'esistenza di linee guida terapeutiche specifiche. Il dolore oncologico cronico comprende sia il dolore provocato dalla neoplasia stessa (tumore primario o metastasi), sia quello derivante dal trattamento antitumorale (chirurgia, chemioterapia, radioterapia e altre terapie). Il dolore correlato al cancro verrà suddiviso, in base alla sede, in viscerale,

osseo (o muscoloscheletrico) e somatosensoriale (neuropatico). Potrà essere descritto come continuo (dolore di fondo) oppure intermittente (dolore episodico), qualora associato a movimento fisico o a procedure cliniche.

Dolore cronico post-chirurgico e post-traumatico: viene definito come il dolore che si sviluppa dopo una procedura chirurgica o un danno tissutale (comprendente qualsiasi trauma, incluse le ustioni) e che persiste per almeno tre mesi dall'intervento o dal trauma tissutale; si tratta di una definizione per esclusione, poiché è necessario escludere tutte le altre possibili cause di dolore (infezione, recidiva neoplastica) così come il dolore derivante da una condizione dolorosa preesistente. Data la diversa causalità in gioco, e anche per ragioni di natura medico-legale, si è ritenuto utile mantenere separati il dolore post-chirurgico e il dolore conseguente ad altri tipi di trauma. In base al tipo di intervento, il dolore post-chirurgico cronico assume spesso natura neuropatica (in media nel 30% dei casi, con un intervallo che va dal 6% al 54% e oltre).

Dolore neuropatico cronico: non è causato dall'attivazione dei nocicettori, ma è determinato da una lesione o da una patologia che coinvolge il sistema nervoso somatosensoriale (Pedersen et al., 2025), responsabile della trasmissione delle informazioni provenienti da cute, apparato muscoloscheletrico e organi viscerali. Il dolore neuropatico può manifestarsi spontaneamente oppure essere evocato, presentandosi come risposta amplificata ad uno stimolo doloroso (iperalgisia) o come risposta dolorosa a uno stimolo normalmente non doloroso (allodinia). La diagnosi di dolore neuropatico richiede un'anamnesi positiva per un danno al sistema nervoso - ad esempio un trauma nervoso o una neuropatia diabetica, e una distribuzione del dolore compatibile dal punto di vista neuroanatomico. Per stabilire con certezza la presenza di dolore neuropatico, è necessario documentare la lesione o la patologia a carico del sistema nervoso, ad esempio mediante imaging, biopsia, esami neurofisiologici o di laboratorio. Devono inoltre essere presenti segni sensoriali positivi o negativi coerenti con il territorio di innervazione della struttura nervosa lesionata. Il dolore che presenta una componente neuropatica risulta generalmente più intenso rispetto al dolore nocicettivo puro, e tende a incidere più negativamente sulla qualità di vita (Treede et al., 2015). Sul piano neurobiologico, ne derivano numerose modificazioni a livello del sistema nervoso periferico, del midollo spinale, del tronco encefalico e del cervello, poiché i nervi danneggiati scaricano spontaneamente e sviluppano una risposta eccessiva sia a stimoli infiammatori sia a stimoli normalmente innocui. Nell'uomo, il dolore neuropatico si

manifesta comunemente, ad esempio, nel dolore da arto fantasma dopo amputazione e nella neuropatia post-erpetica; è stato inoltre suggerito che il dolore neuropatico rappresenti la principale causa di dolore post-chirurgico persistente nell'uomo. Risulta quindi sorprendente che il dolore neuropatico venga descritto con minore frequenza negli animali; ciò potrebbe tuttavia essere attribuibile ad una scarsa consapevolezza riguardo alla sua possibile insorgenza e al suo riconoscimento (Mathews et al., 2014).

Cefalea cronica e dolore orofacciale: l'International Headache Society (IHS) ha elaborato una classificazione delle cefalee, tale classificazione distingue tra cefalea primaria (idiopatica), cefalea secondaria (sintomatica) e dolore orofacciale, comprese le nevralgie craniche. In riferimento al dolore cronico sono presi in considerazione unicamente la cefalea cronica e il dolore orofacciale cronico. Questi vengono definiti come cefalee o dolori orofacciali presenti per almeno il 50% dei giorni, per un periodo di almeno 3 mesi. Tra i dolori orofacciali cronici più comuni figurano i disturbi temporomandibolari. Il dolore orofacciale cronico può rappresentare, in alcuni casi, la manifestazione localizzata di una cefalea primaria, evento frequente nelle cefalalgie autonome trigeminali, meno comune nelle forme emicraniche e raro nella cefalea di tipo tensivo.

Dolore viscerale cronico: è un dolore persistente o ricorrente che origina dagli organi interni della regione testa-collo e delle cavità toracica, addominale e pelvica. Solitamente questo dolore viene percepito a livello dei tessuti somatici della parete corporea (cute, sottocute, muscolo), in aree che condividono la stessa innervazione sensoriale dell'organo interno da cui ha origine il sintomo (dolore viscerale riferito). In queste aree si osserva spesso un'iperalgesia secondaria (aumentata sensibilità agli stimoli dolorosi in zone diverse dal punto di origine dello stimolo nocicettivo); l'intensità del sintomo può risultare priva di relazione con l'estensione del danno interno o dello stimolo viscerale nocivo.

Dolore muscoloscheletrico cronico: viene definito come dolore persistente o ricorrente che si manifesta nell'ambito di un processo patologico che coinvolge direttamente osso, articolazioni, muscoli o tessuti molli correlati. Coerentemente con i limiti dell'approccio descritto nell'introduzione, questa categoria si limita quindi al dolore nocicettivo ed esclude il dolore che, sebbene percepito a livello dei tessuti muscoloscheletrici, non ha origine da essi, come nel caso del dolore da neuropatia compressiva o del dolore somatico riferito. Le entità comprese in questo ambito includono quelle caratterizzate da infiammazione persistente di natura infettiva, autoimmune o metabolica, come l'artrite

reumatoide, e quelle determinate da alterazioni strutturali a carico di ossa, articolazioni, tendini o muscoli, come l'osteoartrosi sintomatica.

Le 7 macrocategorie del dolore cronico sono state individuate dopo un'ampia attività di ricerca e discussione. Esse rappresentano un compromesso tra la completezza del sistema e la sua applicabilità pratica. Verranno presi in considerazione i fattori eziologici, l'intensità del dolore e la disabilità a esso correlata (Treede et al., 2015).

1.1.4 CLASSIFICAZIONE FISIOPATOLOGICA: DOLORE NOCICETTIVO, NEUROPATICO E NOCIPLASTICO

Oltre alla classificazione per durata ed eziologia appena vista, il dolore può essere classificato anche in base al meccanismo fisiopatologico sottostante, il dolore viene suddiviso in nocicettivo, neuropatico o nociplastico:

- Il dolore nocicettivo viene descritto come "un dolore che origina da un danno reale o potenziale a carico di tessuti non neurali, conseguente all'attivazione dei nocicettori" (International Association for the Study of Pain (IASP), 2025), e può a sua volta essere distinto in somatico o viscerale: il primo deriva dall'attivazione di recettori situati nelle strutture muscoloscheletriche e nei tessuti molli, mentre il secondo trae origine dagli organi interni. Rappresenta la forma più comune di dolore acuto, ma può evolvere in una condizione cronica (Pedersen et al., 2025).
- Il dolore neuropatico viene invece definito come "dolore che si manifesta come conseguenza diretta di una lesione o di una patologia a carico del sistema somatosensoriale" (International Association for the Study of Pain (IASP), 2025), potendo manifestarsi anche in zone del corpo prive di qualsiasi danno tissutale. In questi casi, la sensazione dolorosa può infatti localizzarsi lontano dalla sede della lesione neurologica originaria, si pensi, ad esempio, al dolore percepito a livello di gamba e piede in presenza di una compressione radicolare, oppure al dolore da arto fantasma che colpisce chi ha subito un'amputazione, il danno tissutale non riveste alcun ruolo comprovato (Bedson & Croft, 2008).
- Il dolore nociplastico, infine, corrisponde ad "un dolore che deriva da un'alterazione dei meccanismi nocicettivi, senza che vi sia evidenza chiara di un danno tissutale reale o minacciato responsabile dell'attivazione dei

nocicettori periferici, né evidenza di una malattia o lesione del sistema somatosensoriale alla base del dolore stesso" (International Association for the Study of Pain (IASP), 2025). Il termine è stato proposto per descrivere quelle forme di dolore evocato in cui il paziente avverte dolore senza una causa apparente, a seguito di alterazioni a carico del sistema somatosensoriale. L'esistenza del dolore nociplastico è stata documentata sia nell'uomo sia in modelli murini. Sebbene al momento manchino evidenze solide riguardo alla presenza di questa forma di dolore nel cane o nel gatto, si ritiene plausibile che tale fenomeno si verifichi anche in queste specie. Questa forma di dolore è considerata piuttosto diffusa nel caso dell'uomo, e sembra rivestire un ruolo significativo in numerose condizioni dolorose croniche di comune riscontro, quali la fibromialgia, il mal di schiena cronico e la cefalea (Pedersen et al., 2025).

Comprendere questa distinzione tra dolore nocicettivo, neuropatico e nociplastico richiede tuttavia una conoscenza preliminare del substrato anatomico e funzionale su cui tali meccanismi si articolano: è quindi necessario ripercorrere brevemente le basi neuroanatomiche della nocicezione, dalla trasduzione periferica dello stimolo doloroso fino alla sua elaborazione a livello centrale.

1.1.5 BASI NEUROANATOMICHE DELLA NOCICEZIONE E MODULAZIONE DEL DOLORE

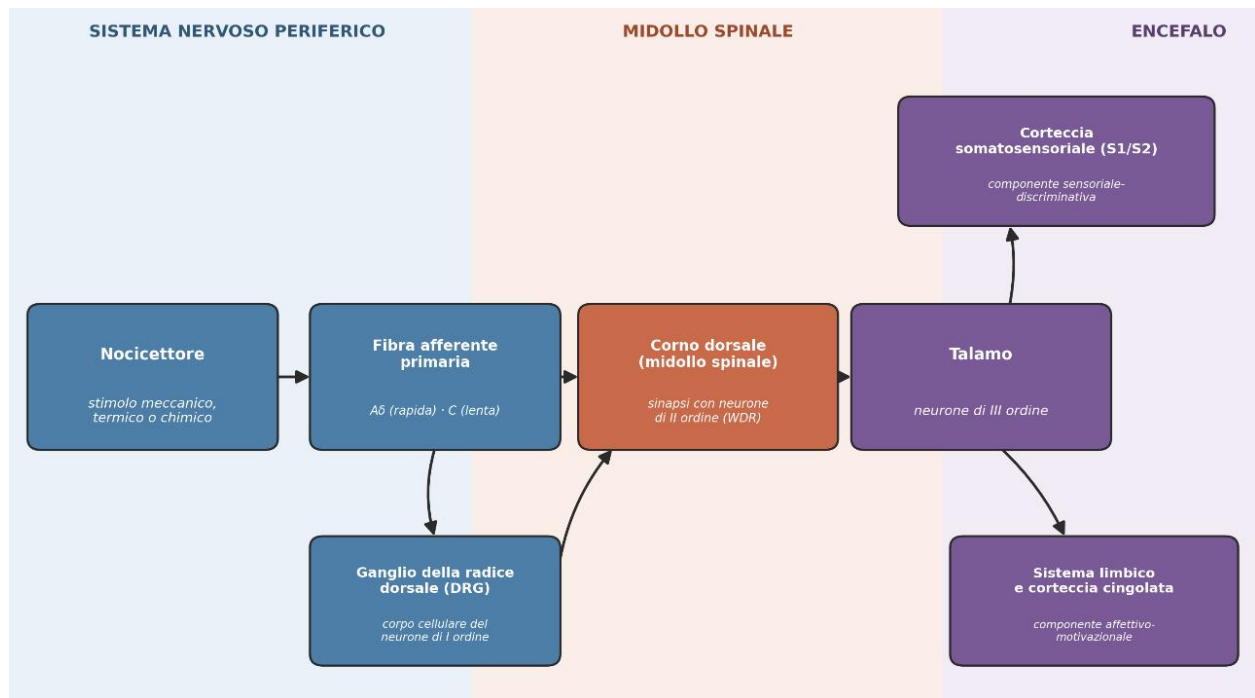


Figura 1. Schema semplificato della via nocicettiva ascendente, dalla periferia alla percezione corticale del dolore. Il segnale nocicettivo attraversa tre neuroni di ordine successivo (I ordine: dal nocicettore al ganglio della radice dorsale (dorsal root ganglion, DRG); II ordine: dal corno dorsale al talamo; III ordine: dal talamo alla corteccia), con una biforcazione finale tra le componenti sensoriale-discriminativa (corteccia somatosensoriale) e affettivo-motivazionale (sistema limbico) del dolore.

Con il termine nocicezione si intende l'elaborazione di stimoli nocivi - meccanici, termici o chimici - da parte del sistema nervoso periferico e centrale, in associazione ad un danno tissutale reale o potenziale. L'attivazione dei nocicettori (figura 1), terminazioni libere dei neuroni sensoriali primari, dà avvio ai processi di trasduzione, trasmissione, integrazione e percezione del segnale doloroso, modulati ad ogni livello delle vie nocicettive fino a dare origine ad un'esperienza soggettiva (Frézier et al., 2025). Le fibre afferenti primarie che trasportano questo segnale si suddividono in due categorie principali. Le fibre Aδ, mieliniche e di diametro intermedio, conducono rapidamente i segnali dolorosi di natura termica e meccanica, fungendo da sistema di allarme precoce e producendo la componente rapida e "pungente" del dolore acuto. Le fibre C, amieliniche e di diametro inferiore, sono invece polimodali: veicolano circa il 70% dell'input nocicettivo complessivo e generano la sensazione di dolore "urente" e prolungata (Mathews et al., 2014).

In seguito ad un trauma tissutale, anche le fibre A β - normalmente dedicate al tatto e alla vibrazione - possono contribuire alla trasmissione del segnale doloroso, mentre una popolazione di nocicettori "silenti" può attivarsi in presenza di infiammazione, come accade ad esempio nella cistite (Pedersen et al., 2025).

I corpi cellulari di queste fibre si localizzano nel DRG (per gli stimoli provenienti dal corpo) o nel ganglio trigeminale (per quelli originati a livello del volto), da cui il segnale raggiunge il corno dorsale del midollo spinale. Qui le fibre afferenti primarie sinaptano con interneuroni, che modulano localmente l'intensità del segnale in ingresso, o con neuroni di proiezione, i cui lunghi assoni trasportano l'informazione verso l'encefalo attraverso il tratto spino-talamico e il tratto spino-reticolare. A questo livello converge anche il controllo discendente dell'encefalo, che può amplificare il segnale - utile per percepire un pericolo e allontanarsene - oppure attenuarlo, permettendo all'animale di affrontare una situazione rischiosa senza esserne sopraffatto. Giunta al talamo, principale stazione di smistamento dell'informazione nocicettiva, la via si biforca in due componenti funzionalmente distinte:

- Il tratto spino-talamico proietta verso le cortecce somatosensoriali primaria e secondaria (S1/S2), dove vengono codificate localizzazione, intensità e durata dello stimolo: è la componente sensoriale-discriminativa del dolore, quella in cui si realizza la sua percezione cosciente (Frézier et al., 2025).
- Il tratto spino-reticolare proietta invece verso la sostanza grigia peri-acqueduttale e le aree limbiche (amigdala, corteccia cingolata, insula), generando la componente affettivo-motivazionale, l'aspetto emotivo e comportamentale dell'esperienza dolorosa (Frézier et al., 2025).

Un dolore di origine centrale, legato ad una lesione corticale o sottocorticale, può risultare di grande intensità pur in assenza di qualunque patologia periferica identificabile: la corteccia, in altre parole, non si limita a trasmettere il dolore, ma può essa stessa generarlo. Questo sistema non va inteso come un semplice canale di trasmissione passiva: ad ogni livello, dal corno dorsale alla corteccia, il segnale nocicettivo può essere modulato, amplificato o attenuato. Quando questa modulazione si traduce in un cambiamento duraturo dell'eccitabilità del sistema nervoso - in seguito ad una lesione, ad uno stimolo persistente o a fattori esterni - si parla di neuroplasticità (Pedersen et al., 2025), un fenomeno che il paragrafo 1.2 approfondisce nelle sue due principali manifestazioni patologiche: la sensibilizzazione periferica e quella centrale.

Se questi meccanismi neuroanatomici spiegano come il segnale doloroso venga generato, trasmesso e modulato a livello del sistema nervoso, resta da chiarire come tale segnale si traduca, nella pratica clinica, in conseguenze osservabili sul benessere e sul comportamento dell'animale.

1.1.6 CONSEGUENZE DEL DOLORE CRONICO SULL'ANIMALE E RICONOSCIMENTO CLINICO

L'IASP considera il dolore una delle condizioni principali capaci di incidere sui cinque ambiti del benessere animale (Raja et al., 2020) poiché determina una diminuzione dell'assunzione di cibo e delle interazioni sociali con i conspecifici, un aumento del tempo trascorso dormendo o in posizione distesa, e modificazioni posturali (Monteiro et al., 2023). Tali manifestazioni variano in funzione del tempo trascorso dall'insorgenza della lesione tissutale, permettendo di distinguere il dolore in acuto o cronico. Alla luce di queste conseguenze fisiologiche, risulta plausibile collegare il dolore cronico ad un peggioramento della qualità di vita degli animali. Tale concetto è strettamente collegato al benessere animale, definito come "la condizione fisica e mentale di un animale in rapporto alle circostanze in cui vive e muore" (World Organization for Animal Health, 2025), da non confondere con la qualità di vita legata allo stato di salute, intesa invece come "una valutazione multidimensionale degli effetti che la malattia e il trattamento producono sulla percezione generale di funzionalità e benessere del paziente" (Belshaw et al., 2015).

Per contenere la percezione del dolore, gli animali adottano diverse strategie comportamentali, tra cui la diminuzione dell'attività generale, alterazioni del ritmo del sonno, riduzione dell'appetito, comportamenti aggressivi e anomalie nell'andatura (Belshaw et al., 2015). Sebbene tali manifestazioni e la loro intensità possano fungere da indicatori della qualità di vita o del benessere complessivo dell'animale, molte di queste alterazioni comportamentali risultano difficili da cogliere, complicando il compito del clinico nel riconoscere e classificare correttamente il dolore. Ciononostante, gli effetti più riconoscibili del dolore cronico si osservano soprattutto a livello comportamentale, coerentemente con la sua natura maladattiva. A titolo esemplificativo, Demirtas et al. (2023), analizzando un campione di 124 proprietari di cani, hanno individuato come le variazioni comportamentali più ricorrenti fossero rappresentate da una riduzione dell'attività generale, riluttanza a camminare o a rialzarsi, difficoltà nel cambiare posizione

da sdraiati, e rigidità durante il movimento. Proprio per questo, le modificazioni comportamentali vengono considerate l'elemento fondamentale per identificare sia il dolore acuto sia quello cronico. Tali cambiamenti comportamentali producono effetti negativi anche su altri ambiti, come quello alimentare e quello psicologico. Ne è un esempio lo studio di Littlewood e Mellor (2016), i quali hanno osservato come cani affetti da lesioni croniche assumessero quantità di cibo pari ad un terzo del fabbisogno previsto per un animale attivo, dato riflesso in una condizione corporea insufficiente, coerente con prestazioni fisiche non ottimali. Le difficoltà motorie possono quindi tradursi anche in problematiche legate all'alimentazione, e secondo gli autori l'insieme di questi fattori compromette la capacità dell'animale di relazionarsi con l'ambiente circostante, impedendogli di cercare riparo in condizioni sfavorevoli. Questa ridotta capacità di risposta ambientale può a sua volta ripercuotersi sullo stato psicologico dell'animale, favorendo l'insorgenza di emozioni negative quali paura, ansia o frustrazione (Monteiro et al., 2023).

Il dolore cronico si configura quindi come un fattore determinante nella compromissione della qualità di vita, tanto che è possibile ipotizzare un legame stretto tra questo segno clinico e la qualità di vita stessa. Uno degli esempi più chiari di questo legame riguarda probabilmente i cani affetti da osteoartrosi: secondo quanto riportato dai rispettivi proprietari, il 97% di questi animali (D. C. Brown, 2017), presenta modificazioni comportamentali quali riduzione dell'attività, zoppia e limitazioni funzionali. Questi risultati, insieme alle alterazioni comportamentali osservate, confermano dunque come la qualità di vita risulti effettivamente compromessa dalla presenza di dolore (Hernández-Avalos et al., 2026).

Rispetto alla valutazione del dolore acuto, quella del dolore cronico rappresenta una sfida ancora più impegnativa. Questo dipende dal fatto che nel dolore acuto si manifestano cambiamenti molto più evidenti, sia a livello fisiologico sia comportamentale (si pensi, ad esempio, all'aumento di determinati parametri fisiologici, accompagnato da modificazioni posturali o vocalizzazioni, indicativi di una sensazione dolorosa da moderata a severa nell'animale). Nel caso del dolore cronico, invece, la situazione è diversa: le alterazioni a esso associate risultano generalmente meno marcate, e possono addirittura passare inosservate sia al proprietario sia al clinico. In un'indagine condotta online da Bell et al. (2014), sono stati raccolti i pareri di 215 medici veterinari, 48 specialisti in anestesiologia e 37 specialisti in oncologia riguardo al loro approccio al dolore cronico nel cane. Gli

autori hanno rilevato che il 92,1% delle condizioni associate al dolore cronico era attribuibile all'osteoartrosi, mentre il 21,4% era legato a problematiche oncologiche. È emerso inoltre che il 54% degli anestesisti, il 55% degli oncologi e il 33% dei veterinari generalisti riscontravano difficoltà nel riconoscere e valutare il dolore cronico (Hernández-Avalos et al., 2026).

1.2 SENSIBILIZZAZIONE CENTRALE (SC) E SENSIBILIZZAZIONE PERIFERICA (SP)

1.2.1 SC E SP COME FORME DI NEUROPLASTICITA'

Il fenomeno della neuroplasticità già citato nel paragrafo 1.1.5 costituisce il meccanismo alla base della cronicizzazione della sensazione dolorosa, e viene qui approfondito nelle sue componenti patologiche principali: la SP e la SC. Il fenomeno della sensibilizzazione interessa l'intero sistema nervoso, comprendendo una SP a livello dei nocicettori dei nervi periferici e una SC che interessa il midollo spinale e l'encefalo, attraverso un'alterazione dell'elaborazione a livello delle regioni corticali coinvolte nel dolore, oppure mediante modificazioni delle vie discendenti. Tali alterazioni derivano da modificazioni a livello molecolare, come un aumento dell'espressione di neurotrasmettitori eccitatori quali il glutammato, e una riduzione dei mediatori inibitori come il GABA. I meccanismi spinali e sovra-spinali svolgono un ruolo determinante nel controllo degli input nocicettivi diretti verso l'encefalo. All'interno del midollo spinale, gli interneuroni svolgono un ruolo chiave nella modulazione locale, influenzando in maniera diretta o indiretta i neuroni di proiezione tramite il rilascio di diversi neurotrasmettitori (Pedersen et al., 2025).

L'ossido nitrico (NO) rappresenta una molecola di segnalazione fondamentale, coinvolta nella modulazione della nocicezione a livello spinale. La sua produzione viene innescata principalmente dall'afflusso di calcio attraverso i recettori N-metil-D-aspartato (NMDA), che attivano a loro volta l'ossido nitrico sintasi (NOS). Tuttavia, l'NO può essere prodotto anche in risposta a un danno tissutale e a processi infiammatori, poiché mediatori pro-nocicettivi - tra cui ioni idrogeno (H⁺), ioni potassio (K⁺) e adenosina trifosfato (ATP) - sono in grado di attivare la NOS. Il coinvolgimento dell'NO nella nocicezione risulta particolarmente rilevante nel dolore di origine infiammatoria e neuropatica. Gli stati

infiammatori determinano infatti il rilascio di citochine e prostaglandine, capaci di indurre la produzione di NO in specifici neuroni e cellule gliali presenti nel corno dorsale del midollo spinale. L'NO favorisce la trasmissione pro-nocicettiva sensibilizzando i neuroni del corno dorsale, potenziando il rilascio di neurotrasmettitori eccitatori dalle fibre nocicettive afferenti primarie, e promuovendo la sintesi di prostaglandine e citochine (Pedersen et al., 2025).

La SC si può definire come un'amplificazione della segnalazione neurale all'interno del Sistema Nervoso Centrale (SNC), capace di determinare ipersensibilità dolorosa (Woolf, 2011). Il meccanismo alla base di questo fenomeno comporta un'eccessiva trasmissione ascendente (sensoriale) del segnale nocicettivo, unita ad un'insufficiente attività inibitoria discendente (Ohashi et al., 2023), (Mease et al., 2011).

La SP, per contro, è la conseguenza delle modificazioni che si verificano nell'ambiente circostante le terminazioni dei nocicettori, a seguito di un danno tissutale o di un processo infiammatorio. Le cellule danneggiate rilasciano mediatori chimici che possono attivare direttamente i nocicettori oppure sensibilizzare le terminazioni nervose, determinando modificazioni durature nelle proprietà funzionali dei nocicettori periferici (Mathews et al., 2014).

Mentre la SP riguarda quindi un abbassamento della soglia di attivazione dei nocicettori stessi, la SC riguarda un cambiamento nell'eccitabilità dei neuroni del SNC che li ricevono, una distinzione che tornerà utile nel seguito del capitolo, poiché le due condizioni, pur spesso coesistenti, si differenziano per sede, meccanismo e implicazioni diagnostiche.

1.2.2 CENNI STORICI SULLA SCOPERTA DELLA SC

Prima di questa scoperta, l'elaborazione del dolore nel SNC era concepita come un sistema di trasmissione essenzialmente passivo: una "via del dolore" che si limitava a trasferire, tramite connessioni anatomiche dedicate (midollo spinale, tronco encefalico, talamo, corteccia), le informazioni codificate dagli stimoli nocivi periferici fino alla loro percezione consapevole. La teoria del "gate control" (controllo a cancello spinale) di Melzack e Wall (1965) fu la prima ad ipotizzare che questo sistema potesse essere modulato a livello spinale da circuiti inibitori.

Un primo tassello venne dalla scoperta, negli anni Settanta, della sensibilizzazione periferica: le terminazioni dei nocicettori, individuati da Iggo (A. G. Brown & Iggo, 1967) e Perl (Burgess & Perl, 1967) come neuroni ad alta soglia dedicati agli stimoli nocivi, si dimostrarono capaci di "sensibilizzarsi" dopo una lesione, abbassando la propria soglia di attivazione nella sola zona colpita (la "zona di iperalgesia primaria"). Questo meccanismo, tuttavia, non riusciva a spiegare fenomeni come l'allodinia tattile dinamica, la sommazione temporale del dolore o l'iperalgesia secondaria, segno che doveva esistere un meccanismo distinto, di natura centrale. La risposta arrivò dalla scoperta della plasticità sinaptica attività-dipendente: dopo le prime osservazioni di potenziamento sinaptico nei motoneuroni, Mendell e Wall (1965) descrissero il fenomeno del "windup" nei neuroni del corno dorsale, mentre Bliss e Lomo (1973) descrissero per la prima volta il potenziamento a lungo termine (long-term potentiation, LTP) nell'ippocampo, fenomeno poi registrato anche a livello del midollo spinale nel 1993, dove rappresenta oggi una componente specifica della SC (Woolf, 2011).

Il windup fa sì che la percezione del dolore risulti significativamente influenzata dai neuroni del corno dorsale del midollo spinale e del midollo allungato. Questo fenomeno si caratterizza per un progressivo e prolungato aumento dell'eccitabilità neuronale, conseguente ad una stimolazione ripetuta delle fibre C ad intensità costante, che determina un progressivo aumento della scarica dei potenziali d'azione nel corso dello stimolo. Il processo coinvolge neurotrasmettitori quali la sostanza P e il glutammato, che agiscono rispettivamente sul recettore per la neurochinina-1 (NK1) e su NMDA. In condizioni fisiologiche, i canali del recettore NMDA risultano bloccati da ioni magnesio, impedendo l'afflusso di calcio nonostante il legame con il glutammato. Tuttavia, la depolarizzazione della membrana postsinaptica - determinata dall'attivazione dei recettori NK1 da parte della sostanza P, oppure dal legame del glutammato con i recettori AMPA - rimuove tale blocco da magnesio, consentendo così l'attivazione del recettore NMDA. L'attivazione ripetuta di questo recettore, insieme a un aumento dell'afflusso di glutammato e all'attività dei canali del calcio voltaggio-dipendenti, innesca una serie di cascate di segnalazione intracellulare, che determinano un progressivo incremento sia della frequenza sia dell'intensità della scarica neuronale, anche in presenza di una stimolazione a bassa frequenza. Questo processo favorisce la plasticità sinaptica e aumenta l'eccitabilità dei neuroni delle corna dorsali, rendendoli maggiormente reattivi ai segnali dolorosi in arrivo. Il windup rappresenta una tappa iniziale fondamentale nello sviluppo della SC. Quest'ultima è sostenuta da neurotrasmettitori chiave, tra cui oltre al

glutammato, la sostanza P ed il fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF), interagiscono con recettori quali NMDA, recettore metabotropico del glutammato (mGluR), NK1 e recettore tirosin-chinasico B correlato alla tropomiosina (TrkB). Tali interazioni determinano un aumento dei livelli intracellulari di calcio e l'attivazione di specifiche vie di segnalazione intracellulare, con conseguente potenziamento della funzionalità recettoriale e un maggiore reclutamento di recettori sulla superficie cellulare, amplificando in definitiva la reattività sinaptica. Tra gli altri meccanismi che contribuiscono alla SC figurano la generazione ectopica di potenziali d'azione, la facilitazione e la disinibizione della trasmissione sinaptica, le interazioni con le cellule del sistema immunitario, e modificazioni strutturali a carico delle sinapsi. Il risultato finale è un'amplificazione dei segnali dolorosi e un incremento della percezione del dolore, che possono persistere ben oltre la risoluzione della lesione o del processo infiammatorio iniziale (Pedersen et al., 2025).

La SC si distingue dal windup per un aspetto concettuale importante: mentre il windup rappresenta un progressivo aumento della risposta nel corso di una serie di stimoli identici (potenziamento omosinaptico), la SC riguarda la facilitazione che si manifesta dopo la conclusione dello stimolo condizionante, quando l'input proveniente da un insieme di fibre sensoriali amplifica le risposte successive di altre fibre non stimulate (potenziamento eterosinaptico). Anche la LTP classica dell'ippocampo è di tipo omosinaptico, con modificazioni limitate alle sole sinapsi attivate; la SC, invece, deve gran parte delle sue manifestazioni clinicamente rilevanti proprio alla componente eterosinaptica divergente. Il fondamento neurobiologico di questo fenomeno risiede nel fatto che, nella maggior parte dei circuiti centrali, gran parte dell'input sinaptico ai neuroni si trova normalmente al di sotto della soglia di attivazione, agendo in modo subliminale. Un aumento della forza sinaptica - tramite maggior rilascio presinaptico di neurotrasmettitore eccitatorio, maggiore risposta postsinaptica, riduzione dell'inibizione, o aumento dell'eccitabilità di membrana - può reclutare questi input sottosoglia, trasformandoli in potenziali d'azione sopra soglia. Più recentemente si è compreso che, oltre alla plasticità sinaptica attività-dipendente, anche modificazioni a carico di microglia, astrociti, giunzioni comunicanti, eccitabilità di membrana e trascrizione genica, contribuiscono al mantenimento della SC (Woolf, 2011).

Un'importante implicazione di questi primi studi di scienza di base fu la possibilità che il dolore non rifletta necessariamente la presenza di uno stimolo nocivo periferico. La nostra

esperienza quotidiana di interazione con l'ambiente esterno ci porta a interpretare il dolore come indicativo della presenza di uno stimolo dannoso periferico, e questo aspetto risulta essenziale per la sua funzione protettiva. La SC introduce tuttavia una dimensione ulteriore, in cui il SNC può modificare, distorcere o amplificare il dolore, aumentandone l'intensità, la durata e l'estensione spaziale, in un modo che non riflette più direttamente le caratteristiche specifiche degli stimoli nocivi periferici, ma piuttosto i particolari stati funzionali dei circuiti del SNC. Con la scoperta della SC, il dolore è diventato, almeno concettualmente, un fenomeno "centralizzato", piuttosto che esclusivamente determinato dalla periferia. In questo senso, la SC rappresenta una scissione della chiara relazione stimolo-risposta che caratterizza il dolore nocicettivo. Il dolore nocicettivo riflette infatti la percezione di stimoli nocivi: in assenza di tali stimoli potenzialmente dannosi, non si verifica dolore nocicettivo. Tuttavia, dopo la scoperta della SC, divenne chiaro che uno stimolo nocivo, sebbene sufficiente, non fosse necessario per produrre dolore. Se il "guadagno" dei neuroni della via del dolore, a livello del SNC, fosse risultato aumentato, questi avrebbero potuto essere attivati anche da input a bassa soglia, di per sé non dolorosi. Di conseguenza, in tali circostanze, il dolore poteva assumere le caratteristiche di una percezione illusoria. Un dolore di questo tipo non può più essere definito nocicettivo, ma riflette piuttosto uno stato di ipersensibilità dolorosa indotta, con un profilo "sintomatologico" quasi identico a quello riscontrato in numerose condizioni cliniche (Woolf, 2011).

1.2.3 MANIFESTAZIONI CLINICHE DELLA SENSIBILIZZAZIONE: IPERALGESIA E ALLODINIA

I segni clinici distintivi della sensibilizzazione del sistema nocicettivo sono l'iperalgesia e l'allodinia (figura 2). L'iperalgesia consiste in una risposta esagerata e prolungata ad uno stimolo nocivo, mentre l'allodinia rappresenta una risposta dolorosa ad uno stimolo di lieve intensità, normalmente non doloroso, come un tocco leggero sulla pelle o una pressione delicata. Entrambi i fenomeni derivano dai processi di SP e SC, responsabili di un'attivazione prolungata dei neuroni sensoriali in risposta a stimoli nocivi, che contribuisce al mantenimento della condizione dolorosa nel tempo. Questi meccanismi possono comportare tre principali modificazioni a carico dei neuroni periferici - ipereccitabilità, riduzione dei processi inibitori e riorganizzazione strutturale - che rendono i neuroni sensoriali capaci di reagire in modo esagerato a stimoli dolorosi - iperalgesia -

oppure di percepire come dolorosi stimoli normalmente privi di tale caratteristica - allodinia - (Hernández-Avalos et al., 2026).

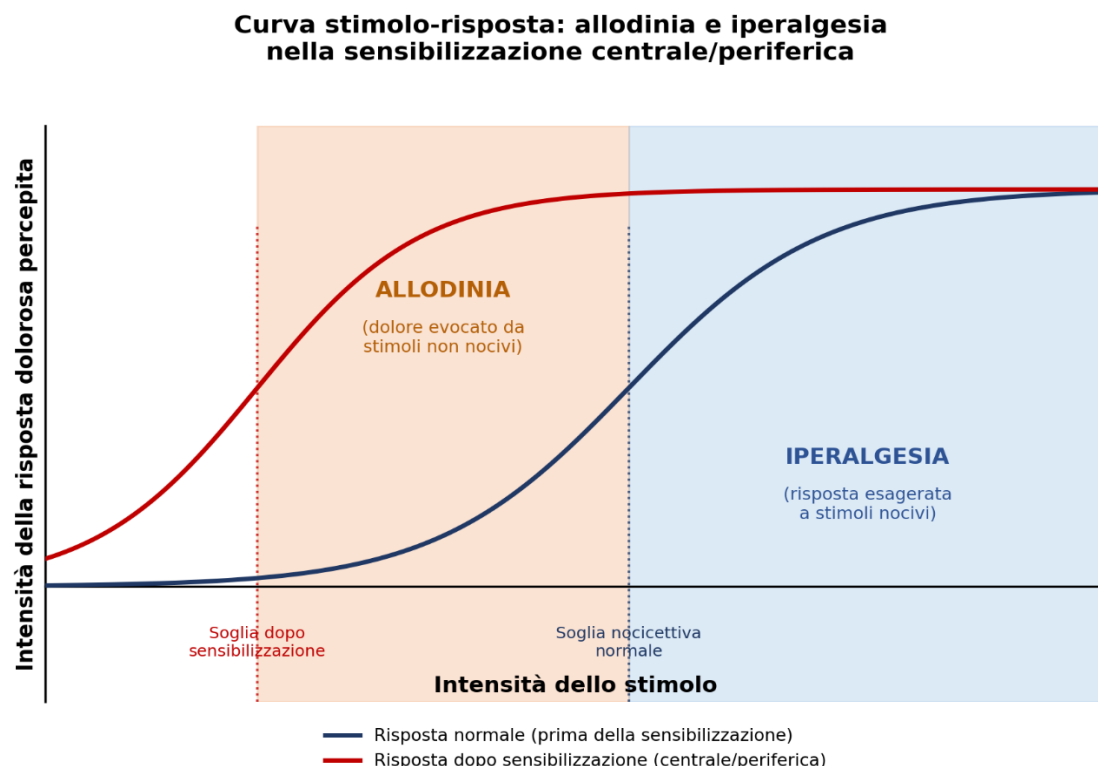


Figura 2. Rappresentazione schematica della curva stimolo-risposta nella sensibilizzazione del sistema nocicettivo. Lo spostamento verso sinistra e l'aumento di pendenza della curva, rispetto alla condizione normale, determinano rispettivamente allodinia (dolore evocato da stimoli normalmente non nocivi) e iperalgesia (risposta dolorosa esagerata a stimoli già nocivi).

Poiché non è possibile misurare direttamente l'afflusso sensoriale, e poiché anche le modificazioni periferiche possono contribuire all'amplificazione della sensibilità, come accade appunto nella SP, la sola presenza di ipersensibilità dolorosa non è sufficiente per formulare una diagnosi certa di SC. Un'ulteriore complicazione deriva dal fatto che, poiché l'input periferico rappresenta spesso il fattore scatenante della SC, una riduzione della sensibilità dolorosa ottenuta agendo sul trigger periferico con un anestetico locale non esclude la presenza di un'amplificazione centrale, ma può piuttosto indicare che l'input periferico contribuisce al suo mantenimento (Koltzenburg et al., 1994).

Ciononostante, esistono alcune caratteristiche sintomatologiche che risultano più indicative di un contributo centrale, piuttosto che periferico, all'ipersensibilità dolorosa. Tra queste figurano: un dolore mediato da fibre A β a bassa soglia (identificabile tramite

blocco nervoso o stimolazione elettrica), un'estensione della sensibilità dolorosa ad aree prive di patologia dimostrabile, la presenza di sensazioni post-stimolo persistenti, un'aumentata sommazione temporale, e il mantenimento del dolore da parte di stimoli a bassa frequenza che normalmente non provocherebbero alcun dolore persistente. Per comprendere in che modo la SC possa manifestarsi nei pazienti, è necessaria una caratterizzazione fenotipica dettagliata di diverse coorti di pazienti, così da individuare con precisione quali modificazioni della sensibilità si verifichino, dove e quando. Idealmente, tale approccio dovrebbe essere integrato con misure oggettive dell'attività centrale, come la risonanza magnetica funzionale (fMRI), al fine di poter stabilire criteri diagnostici chiari per determinare la presenza di SC nei pazienti. L'utilità di tali criteri diagnostici non risiederebbe soltanto in una migliore comprensione dei meccanismi fisiopatologici responsabili della produzione del dolore, ma soprattutto nella possibilità di definire strategie terapeutiche più appropriate. Se il dolore di un determinato paziente deriva principalmente da un'attività anomala a livello dei nocicettori, la terapia più indicata sarà probabilmente diversa da quella necessaria per un paziente la cui allodinia tattile e iperalgesia secondaria siano invece interamente sostenute dalla SC, conseguente a modificazioni dell'efficacia sinaptica a livello del midollo spinale. È proprio questo il razionale alla base di un approccio alla diagnosi e al trattamento del dolore basato sui meccanismi fisiopatologici sottostanti (Woolf, 2011). Un esempio concreto di questa distinzione meccanicistica, e della sua rilevanza clinica, è offerto dall'osteoartrosi.

1.2.4 DALLA SC ALL'OSTEOARTROSI

Nei pazienti con osteoartrosi, la SC appena descritta trova un preciso riscontro clinico: il Central Sensitization Inventory (CSI), questionario validato per la valutazione dei suoi sintomi, ha mostrato una correlazione positiva con il dolore a riposo e con l'estensione spaziale del dolore riferito dai pazienti con osteoartrosi di ginocchio e d'anca, mentre il dolore notturno è risultato più frequente e disabilitante nei pazienti classificati come sensibilizzati rispetto a quelli non sensibilizzati. Tra i mediatori molecolari chiamati in causa in entrambi i processi di SC e SP, figura il nerve growth factor (NGF), la cui produzione risulta aumentata nei tessuti articolari colpiti da osteoartrosi e il cui legame con il recettore TrkA contribuisce sia alla sensibilizzazione dei nocicettori periferici sia, indirettamente, al mantenimento della SC (Ohashi et al., 2023).

Il ruolo del NGF in questi meccanismi di sensibilizzazione trova un preciso riscontro clinico nell'osteoartrosi, condizione in cui SC e SP coesistono e si alimentano reciprocamente: il paragrafo seguente ne descrive definizione, eziologia e specificità di specie, prima di analizzare nel dettaglio l'attivazione dei nocicettori articolari.

1.3 OSTEOARTROSI (OA)

Tra le condizioni croniche in cui i meccanismi di dolore nociplastico e di sensibilizzazione descritti nel paragrafo precedente si manifestano più frequentemente figura l'OA, che rappresenta pertanto un caso di studio privilegiato per comprendere l'interazione tra danno strutturale e sensibilizzazione del sistema nervoso.

1.3.1 DEFINIZIONE ED EPIDEMIOLOGIA

Si tratta di una malattia multifattoriale, progressiva e degenerativa delle articolazioni sinoviali, che colpisce non solo la cartilagine articolare ma anche altre strutture all'interno della specifica articolazione sinoviale. La degradazione della cartilagine articolare, la sclerosi dell'osso subcondrale, l'osteofitosi, vari gradi di sinovite e la degenerazione meniscale e legamentosa (figura 3) sono tutte caratteristiche del processo patologico (Pye et al., 2022). Questa patologia articolare degenerativa, caratterizzata da una progressiva distruzione della cartilagine e da alterazioni ossee, rappresenta una causa estremamente comune di dolore cronico, in particolare nella popolazione anziana (Bajaj et al., 2001). Colpisce sia l'uomo sia gli animali da compagnia, con una prevalenza stimata tra il 15% e il 25% della popolazione adulta, destinata ad aumentare in modo esponenziale con l'avanzare dell'età (Frézier et al., 2025). Tale condizione comporta una riduzione della mobilità articolare, una compromissione funzionale e lo sviluppo di dolore cronico (Yan H et al., 2022).

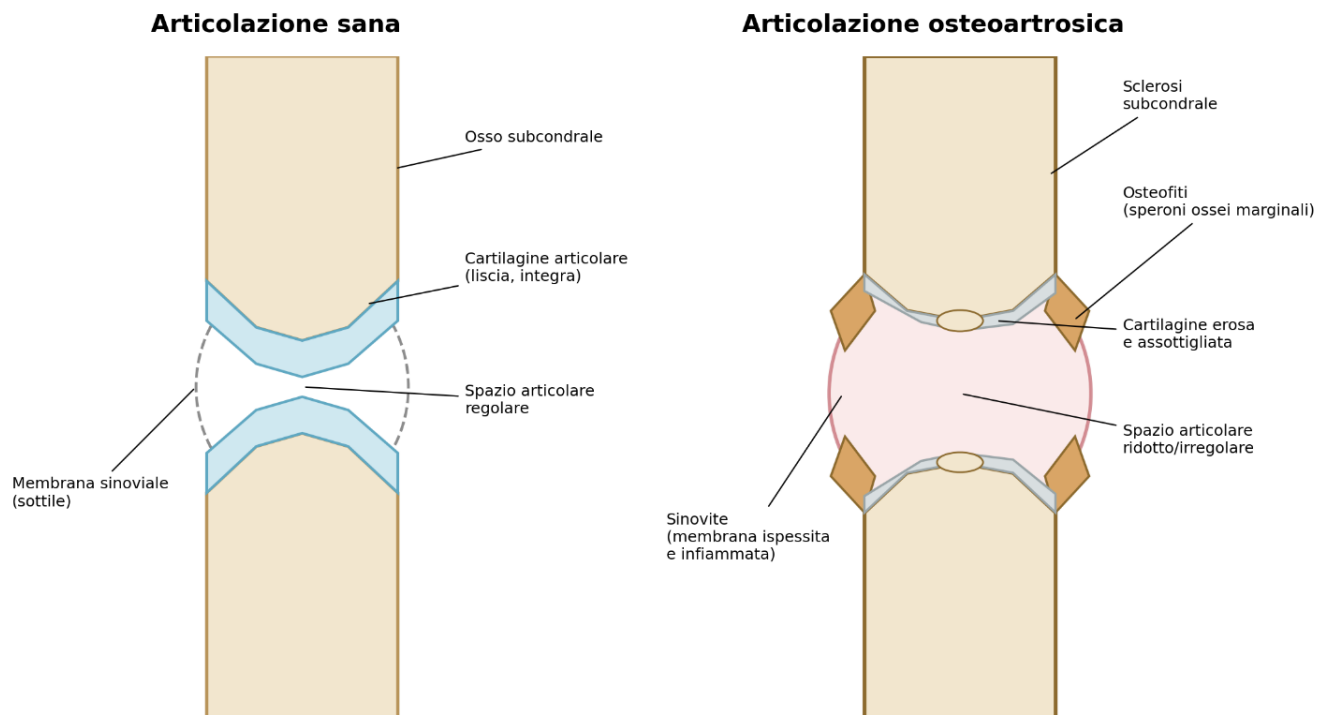


Figura 3. Confronto schematico tra un'articolazione sinoviale sana e un'articolazione affetta da osteoartrosi. Si osservano, nella condizione patologica, l'assottigliamento e l'erosione della cartilagine articolare, la riduzione e l'irregolarità dello spazio articolare, la formazione di osteofiti marginali, la sclerosi dell'osso subcondrale e l'ispessimento infiammatorio della membrana sinoviale (sinovite).

Inizialmente, questa patologia veniva definita come una malattia di natura infiammatoria, incentrata sulla degenerazione cartilaginea, il rimodellamento osseo, l'infiammazione sinoviale e le alterazioni dei tessuti molli. Un numero crescente di evidenze scientifiche sostiene tuttavia come l'OA non si limiti alla sola articolazione, ma possa manifestarsi anche a livello sistemico, coinvolgendo in particolare il sistema nervoso. Il dolore cronico da OA è infatti caratterizzato da un'attivazione infiammatoria di basso grado, che contribuisce a fenomeni di sensibilizzazione neurale e neuroplasticità, portando infine a un profilo di dolore di tipo nociplastico (Frézier et al., 2025). Comprendere appieno il dolore legato all'OA risulta complicato dal fatto che la sua intensità o cronicità non dipendono necessariamente dall'entità delle alterazioni strutturali presenti: numerosi studi documentano infatti come la correlazione tra le modificazioni strutturali visibili alla radiografia e il livello di dolore riferito risulti spesso debole (Ohashi et al., 2023a), e come l'intensità del dolore percepito non sia proporzionale all'estensione del danno articolare né alla presenza di un processo infiammatorio attivo. A conferma di questa ipotesi, i pazienti affetti da OA manifestano, rispetto ai controlli, un dolore e un'iperalgisia

secondaria di maggiore intensità e durata in seguito a un'iniezione intramuscolare di soluzione salina ipertonica (Bajaj et al., 2001). Il dolore da OA ha dunque carattere soggettivo e coinvolge meccanismi neurali tanto periferici quanto centrali, capaci di influenzare la cronicizzazione del dolore e la sua resistenza ai trattamenti, inoltre la modulazione dipende non soltanto da un'ampia varietà di fattori neurochimici, ma anche da elementi di natura ambientale, psicologica e genetica. Nonostante ciò, i meccanismi che sottendono il dolore osteoartrosico rimangono tuttora poco chiariti (Ohashi et al., 2023). I meccanismi generali della SC e SP sono stati approfonditi nel paragrafo precedente 1.2, mentre nel prosieguo di questo paragrafo ci si concentra sulle evidenze specifiche relative all'articolazione osteoartrosica. Sebbene questi dati derivino principalmente da studi condotti sull'uomo, si ritiene che meccanismi analoghi di SC e SP siano alla base del dolore da OA anche nelle specie veterinarie, con specificità eziologiche e cliniche proprie di ciascuna specie, discusse di seguito.

1.3.2 OSTEOARTROSI NEL CANE: EZIOLOGIA, FATTORI DI RISCHIO, PREVALENZA

L'OA canina insorge più comunemente a causa di fattori scatenanti, quali la displasia dell'articolazione coxofemorale (anca), la displasia del gomito, la malattia del legamento crociato craniale (CCL), la lussazione della rotula, le malformazioni degli arti e le fratture articolari. Sono stati identificati diversi fattori di rischio per l'OA canina, tra cui predisposizioni genetiche, dieta e obesità, che possono svolgere un ruolo nella progressione della malattia. Uno studio precedente condotto su cani che si sono rivolti a ospedali di riferimento negli Stati Uniti ha riportato una prevalenza stimata di OA fino al 20% nei cani di età superiore a 1 anno. La reale prevalenza della malattia, tuttavia, è probabile sia più elevata se si prendono in considerazione i casi non segnalati e le discrepanze nei sistemi di registrazione. I segni clinici dell'OA canina comprendono tipicamente zoppia, rigidità articolare - più evidente al risveglio o dopo il riposo - riduzione dell'attività generale, difficoltà nel salire le scale o nel saltare, e riluttanza al movimento (Pye et al., 2022b). Questi segni, già descritti nel paragrafo 1.1.6 come manifestazioni comportamentali del dolore cronico, trovano nell'OA uno dei loro esempi clinici più rappresentativi.

1.3.3 OSTEOARTROSI NEL GATTO

Anche nel gatto l'OA rappresenta la principale causa di dolore cronico articolare, con una prevalenza clinica stimata intorno al 25,6% della popolazione adulta, dato però probabilmente sottostimato, poiché studi post-mortem suggeriscono una prevalenza reale fino al 20% già a partire dall'inizio della vita adulta dell'animale. A differenza del cane, nel gatto l'OA è considerata prevalentemente una patologia idiopatica o primaria, sebbene possano contribuire anche malformazioni articolari congenite, condizioni dello sviluppo (come la displasia dell'anca o del gomito) ed eventi traumatici a carico dell'articolazione. Fattori quali dieta, obesità, sterilizzazione, genetica, razza e ambiente sono generalmente considerati fattori di rischio, sebbene la loro influenza non sia stata dimostrata nel gatto con la stessa chiarezza riscontrata nel cane. La presentazione clinica dell'OA felina si differenzia in modo significativo da quella canina: zoppia e rigidità non rappresentano i segni clinici primari nella maggior parte dei gatti, verosimilmente a causa della natura bilaterale della malattia, dell'agilità del gatto e della sua capacità di adattare la propria mobilità, oltre alla tendenza specie-specifica a mascherare il dolore come meccanismo di protezione dai predatori. In assenza di zoppia evidente, sono più spesso i cambiamenti comportamentali - alterazioni nell'attività di salto o nell'uso delle scale, riduzione della mobilità, aumento del riposo, isolamento sociale e aggressività - a motivare la visita veterinaria; tuttavia, i proprietari tendono spesso a percepire questi cambiamenti come normale invecchiamento, contribuendo alla mancata diagnosi della patologia nonostante la sua elevata prevalenza (Lefort-Holguin et al., 2025).

Sul piano fisiopatologico, le fibre nervose sensoriali e simpatiche, insieme ai loro neurotrasmettitori, giocano un ruolo cruciale nella genesi del dolore da OA; l'innervazione delle diverse componenti articolari (periostio, osso subcondrale, legamenti, menischi, sinovia) è modulata dal rilascio locale di neuropeptidi sensoriali da parte dei neuroni afferenti, dando origine al fenomeno dell'infiammazione neurogena, che a sua volta amplifica il rilascio di mediatori infiammatori dal danno cellulare - tra cui il NGF, che contribuisce all'aumento della crescita e della responsività delle fibre nocicettive. Sebbene livelli elevati di NGF nel liquido sinoviale siano già stati documentati nel cane con zoppia cronica da OA, questo dato non è stato ancora dimostrato nel gatto (Lefort-Holguin et al., 2025). Nonostante la letteratura resti controversa riguardo alle modificazioni delle fibre nervose durante lo sviluppo dell'OA, sia la SP (caratterizzata da allodinia e iperalgesia) sia la SC (manifestata dal fenomeno del windup spinale), già trattata nel paragrafo 1.2, sono state dimostrate anche nel gatto, confermando come la

plasticità del sistema nervoso, insieme alle alterazioni strutturali (figura 4), sia implicata in modo determinante nella patogenesi dell'OA felina (Lefort-Holguin et al., 2025).

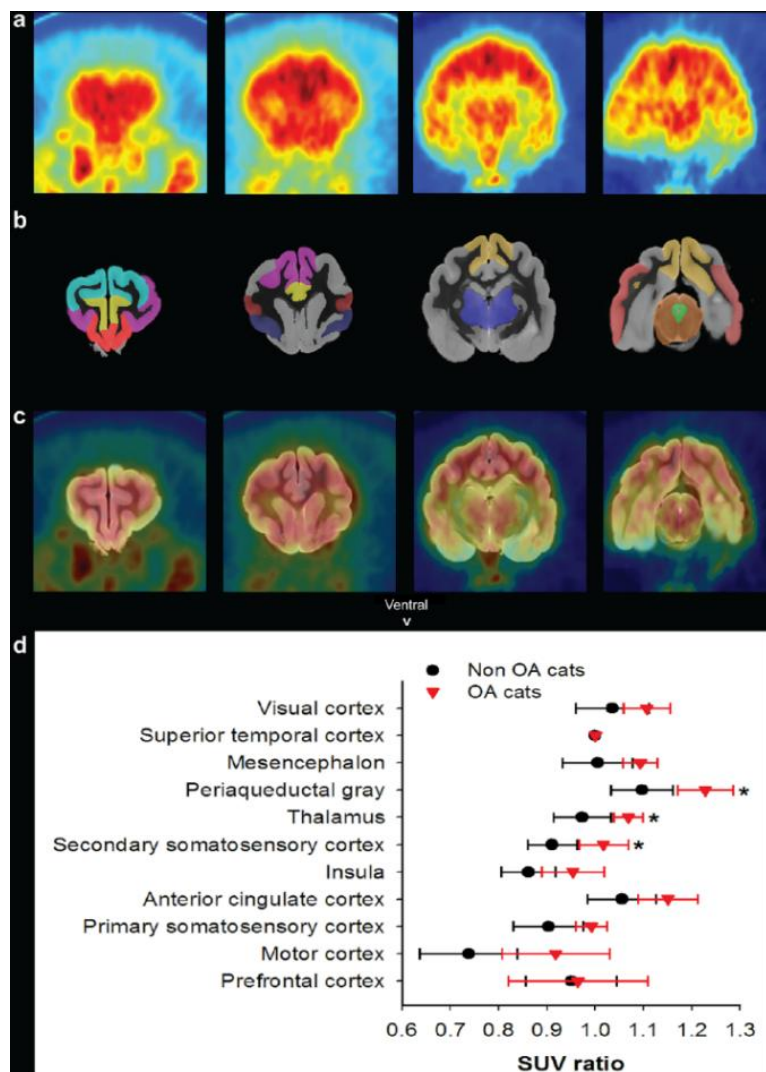


Figura 4. Immagini di neuroimaging funzionale del cervello felino a confronto tra gatti con OA e gatti senza OA, con quantificazione dell'attività metabolica per regione cerebrale.

(a) Sezioni coronali di imaging funzionale a livelli rostro-caudali progressivi, con mappa a falsi colori dell'attività metabolica (dal blu, valori bassi, al rosso/giallo, valori elevati). **(b)** Atlante anatomico segmentato delle stesse sezioni, con le regioni di interesse codificate a colori per l'identificazione anatomica. **(c)** Sovrapposizione delle immagini funzionali (a) sulle mappe anatomiche (b), per correlare i segnali funzionali alle rispettive strutture. **(d)** Rapporto SUV medio ($\pm$ intervallo di confidenza) nelle undici regioni cerebrali analizzate, a confronto tra gatti non-OA (cerchi neri) e gatti OA (triangoli rossi); gli asterischi indicano le differenze statisticamente significative, riscontrate nella sostanza grigia periacqueduttale e nella corteccia somatosensoriale secondaria, entrambe con valori più elevati nei gatti OA (Lefort-Holguin et al., 2025, adattata da Guillot et al.).

1.3.4 ATTIVAZIONE DEI NOCICETTORI ARTICOLARI NELL'OA

I nocicettori articolari risultano normalmente inattivi, ma si attivano nel corso dell'artrite in seguito al danno cartilagineo o alla sinovite, contribuendo così ad accentuare il dolore articolare. Nei tessuti sinoviali colpiti, il sistema nocicettivo entra in uno stato di ipereccitabilità, potendo così essere attivato anche da irritazioni che sarebbero altrimenti considerate normali, di lieve entità o del tutto innocue (Ohashi et al., 2023b). Studi di natura elettrofisiologica condotti su modelli di OA nel ratto e nella cavia hanno dimostrato che i nocicettori a livello dei tessuti intra-articolari vanno incontro a sensibilizzazione. In particolare, in un modello di OA indotta tramite monoiodoacetato di sodio (MIA) nel ratto, è stato osservato un aumento della frequenza di scarica delle fibre nervose afferenti (Schuelert & McDougall, 2009).

Analogamente, in un modello di OA spontanea nella cavia, tale frequenza di scarica risultava incrementata con l'avanzare dell'età; inoltre, in questo stesso modello, la soglia meccanica necessaria per attivare le fibre nervose afferenti risultava significativamente più elevata negli animali anziani rispetto a quelli più giovani (McDougall et al., 2009).

Diverse molecole associate al processo infiammatorio (figura 5) - quali prostaglandine, bradichinina, fattore di necrosi tumorale (TNF)- α , interleuchina (IL)-1 β , IL-6, e i pattern molecolari associati al danno (DAMP) - mediante il legame con i rispettivi recettori stimolano le fibre nervose sensoriali favorendo l'attivazione del Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1) e dei canali voltaggio dipendenti del sodio. Questo determina un abbassamento della soglia di eccitazione nei neuroni ad alta soglia, rendendo i nocicettori articolari maggiormente predisposti a scaricare in risposta a stimoli dolorosi, sia di natura nociva sia non nociva (Ohashi et al., 2023).

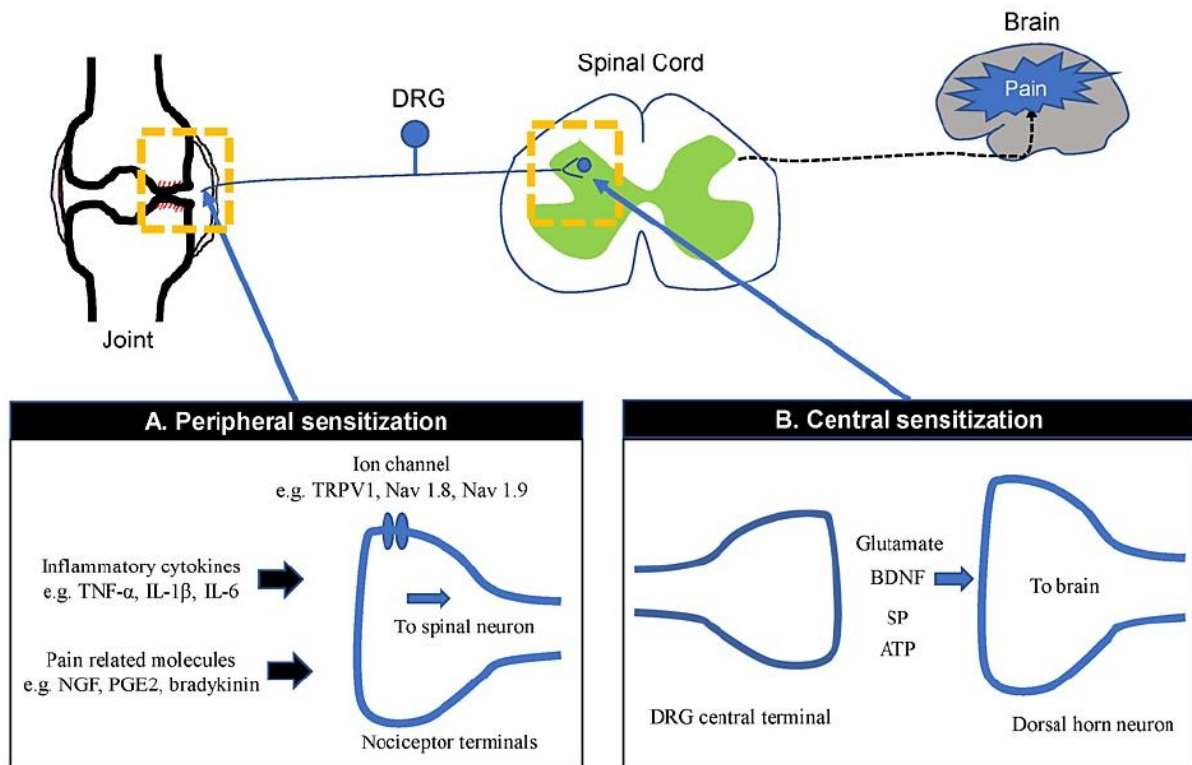


Figura 5. Meccanismi di SP (A) e SC (B) nell'OA. Mediatori rilasciati dai tessuti articolari - citochine infiammatorie e molecole algogene come NGF, PGE_2 e bradichinina - attivano le terminazioni periferiche dei nocicettori tramite canali ionici quali TRPV1 e Nav1.8/1.9 (SP). Il dolore persistente o l'infiammazione causano un'attivazione e una scarica ripetuta delle fibre C afferenti, che innescano il rilascio di neurotrasmettitori quali glutammato, ATP, sostanza P e citochine a livello delle terminazioni centrali nel corno dorsale, mediando la trasmissione ai neuroni postsinaptici di secondo ordine diretti all'encefalo (SC), adattata da (Ohashi et al., 2023).

Questi meccanismi di SP e SC a livello articolare vedono nel NGF uno dei principali mediatori molecolari coinvolti: proprio per il ruolo cruciale che questo fattore di crescita riveste, il capitolo seguente ne approfondisce la biologia e la funzione, come premessa necessaria alla comprensione del meccanismo d'azione degli anticorpi monoclonali anti-NGF oggetto di questa tesi.

2. II FATTORE DI CRESCITA NERVOSO COME TARGET TERAPEUTICO

2.1 DEFINIZIONE DEL FATTORE DI CRESCITA NERVOSO E RUOLO NELLA NOCICEZIONE

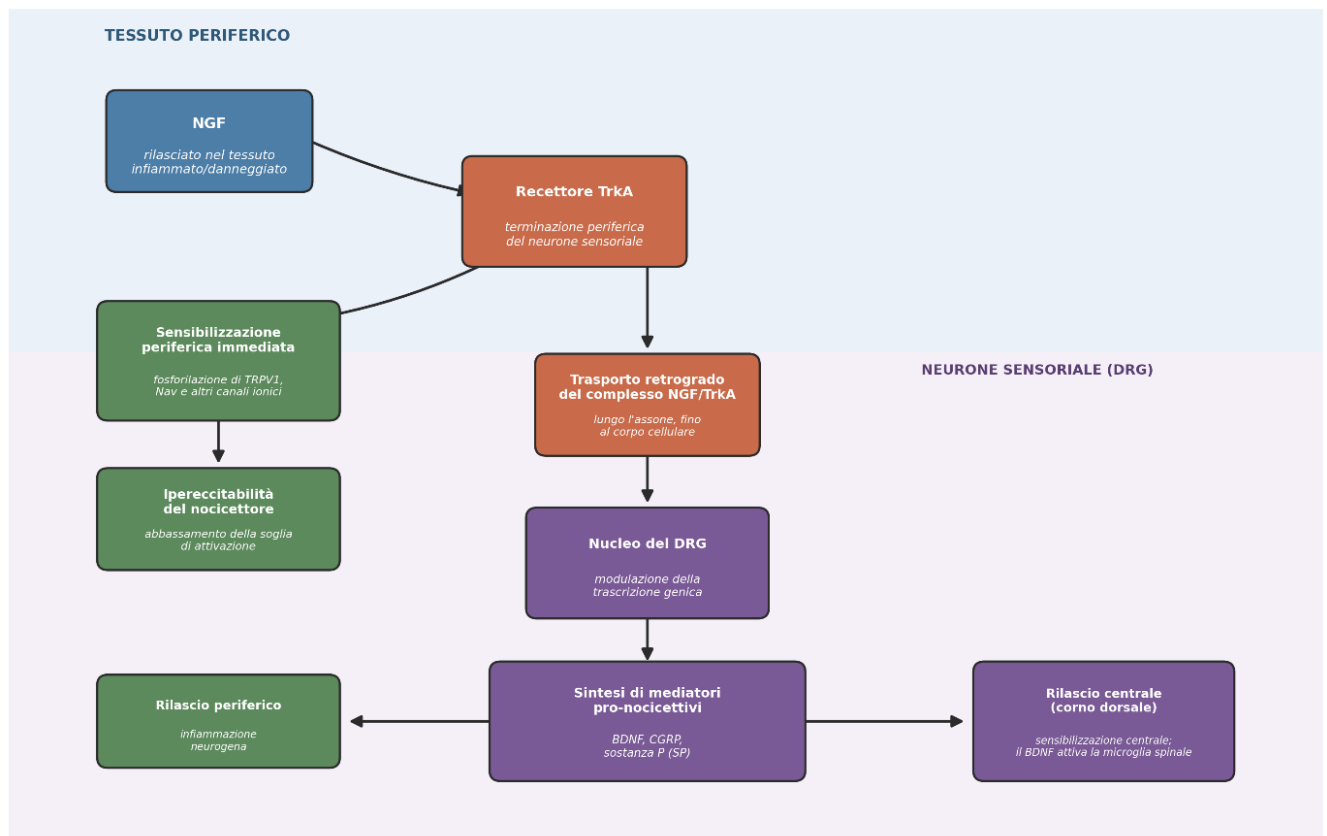


Figura 6. Meccanismo d'azione del NGF sul neurone sensoriale primario. Il legame con il recettore TrkA attiva due vie parallele: una SP immediata, mediata dalla fosforilazione di canali ionici come TRPV1, e un trasporto retrogrado del complesso NGF/TrkA fino al DRG, dove modula la trascrizione genica inducendo la sintesi di BDNF, Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) e sostanza P, mediatori rilasciati sia perifericamente (infiammazione neurogena) sia a livello centrale, dove contribuiscono alla sensibilizzazione del corno dorsale.

Il NGF fa parte delle neurotrofine, una classe di proteine prodotte dai tessuti bersaglio con il compito di governare lo sviluppo, la vitalità e l'attività di determinati gruppi di neuroni simpatici e sensoriali. Nei mammiferi, questo gruppo include anche il BDNF, la neurotrofina-3 e la neurotrofina-4/5. La selettività biologica di tali fattori dipende dalla loro capacità di legarsi in modo mirato ai recettori Trk (Tropomyosin receptor kinase); nello specifico, il NGF mostra una preferenza per il recettore TrkA. Il TrkB interagisce sia con il BDNF sia con la neurotrofina-4/5, mentre il TrkC è deputato al legame con la neurotrofina-3. In parallelo, le neurotrofine possono associarsi ad un secondo tipo di recettore, denominato p75NTR (p75 Neurotrophin Receptor); quest'ultimo, legandosi indistintamente a tutti i membri della famiglia, mostra una selettività molto ridotta. Sebbene i recettori Trk e p75NTR vengano tradizionalmente distinti sulla base di una presunta "alta" o "bassa" affinità, la reale linea di demarcazione tra le due classi non è legata all'affinità di legame, ma alle differenze nelle loro proprietà cinetiche. Il processo di trasduzione del segnale del NGF inizia con il suo legame al recettore TrkA; il complesso NGF-TrkA viene poi internalizzato nella cellula e convogliato in direzione retrograda dalle terminazioni nervose periferiche fino al soma dei neuroni sensoriali situati nei DRG. Diversi dati sperimentali indicano che il NGF, da solo, non è in grado di far partire la cascata di segnali all'interno del corpo cellulare, è invece il complesso NGF-TrkA ad attivare i fattori di trascrizione responsabili della regolazione genica a valle. La risposta cellulare al NGF viene inoltre modulata da fenomeni di interazione reciproca tra i recettori TrkA e p75NTR. Infine, è stato dimostrato che l'azione combinata di NGF e BDNF sui recettori p75NTR può aumentare la frequenza di scarica dei neuroni sensoriali, aumentandone la sensibilità (Mantyh et al., 2011).

Il NGF è stato originariamente identificato come cruciale per la sopravvivenza e la specificazione fenotipica di determinati cluster neuronali durante lo sviluppo del sistema nervoso, con particolare riferimento ai neuroni sensoriali periferici, ai neuroni simpatici e ai nuclei colinergici del prosencefalo basale. Nel soggetto adulto, tuttavia, il NGF perde la sua funzione primaria di fattore di sopravvivenza per assumere un ruolo neuromodulatore nella fisiologia delle fibre sensoriali e nocicettive. In quest'ottica, la molecola si configura come un elemento chiave nella patogenesi del dolore e dell'iperalgesia sia in contesti acuti che cronici. L'espressione di NGF risulta infatti significativamente up-regolata in presenza di insulti tissutali e processi infiammatori; il conseguente legame con il TrkA - espresso sia sulle terminazioni nocicettive sia su

popolazioni cellulari non neuronali - attiva cascate di segnalazione intracellulare che amplificano la percezione dolorosa, guidando i fenomeni di SP e SC (Levi-Montalcini et al., 1996).

La secrezione di NGF è mediata da una molteplicità di cellule immunitarie ed infiammatorie, tra cui mastociti, macrofagi, linfociti, eosinofili e cellule di Schwann. Una volta legato al recettore TrKA, il NGF scatena una risposta biologica complessa ascrivibile a quattro meccanismi principali:

- SP immediata: induce modificazioni post-traduzionali a carico del recettore canale TRPV1, incrementando l'eccitabilità intrinseca delle terminazioni nocicettive periferiche.
- Modulazione trascrizionale a lungo termine: altera il profilo d'espressione genica del nocicettore, inducendo la sovra regolazione di recettori implicati nella recezione del dolore quali lo stesso TRPV1, il recettore delle purine P2X3 e il canale ASIC3 (Acid-Sensing Ion Channel3), e di specifici canali ionici voltaggio-dipendenti del sodio e del calcio.
- Amplificazione del loop infiammatorio: interagendo con i recettori TrkA presenti sulla membrana dei mastociti, stimola la degranulazione e il rilascio di mediatori pro-infiammatori e pro-nocicettivi (istamina, prostaglandina E2, serotonina, ioni H⁺, bradichinina e lo stesso NGF), alimentando un circuito di feedback positivo.
- Rimodellamento strutturale: promuove lo “sprouting”, germogliazione assonale delle fibre nervose, un fenomeno strutturale che contribuisce alla cronicizzazione e alla genesi del dolore neuropatico.

L'insieme di questi eventi biochimici e strutturali determina un aumento della suscettibilità agli stimoli dolorosi sia nel breve che nel lungo termine, sostenendo lo sviluppo di fenomeni di iperalgesia (Mantyh et al., 2011).

2.2 LA TRASMISSIONE DEL DOLORE

Il contributo del NGF si estende sia ai fenomeni nocicettivi di natura acuta e temporanea, sia alle manifestazioni dolorose croniche e persistenti nel tempo. La scoperta che questo fattore agisca sui mastociti ha evidenziato come le sue funzioni biologiche vadano ben oltre i processi di maturazione e crescita del sistema nervoso (Leon & LEVIMONTALCINI, 1994). Un aspetto rilevante è che il NGF inizi a partecipare alla nocicezione e a indurre la sensibilizzazione dei nocicettori soltanto in una fase successiva, ossia quando la sopravvivenza dei neuroni sensoriali non dipende più in modo vitale da esso. L'asse molecolare composto da NGF e TrKA si configura quindi come un pilastro centrale nell'innescare e nella persistenza - a breve, medio e lungo termine - di svariate tipologie di dolore acuto e cronico. Quando si analizza il peso della via di trasduzione del segnale di NGF/TrKA nello sviluppo di una specifica condizione di dolore cronico, un elemento chiave è rappresentato dal tipo di fibre nervose sensoriali afferenti primarie che distribuiscono i propri terminali nel tessuto danneggiato o patologico. All'interno dei DRG si distinguono quattro macro-sottogruppi di neuroni sensoriali primari; tra questi, tre specifiche classi svolgono un ruolo attivo nella trasmissione degli stimoli dolorosi in condizioni fisiologiche normali: le fibre A δ provviste di una sottile guaina mielinica, le fibre amieliniche C di tipo peptidergico, e le fibre amieliniche C di tipo non peptidergico. Il recettore TrKA è presente sulla superficie delle fibre C peptidergiche e sulla maggior parte delle fibre A δ , arrivando a coprire circa il 40% della popolazione neuronale totale del DRG nell'adulto, rendendo tali popolazioni sensibili all'azione del NGF. Questo contingente di fibre TrKA-positive proietta le proprie terminazioni verso la pelle, le strutture viscerali, i muscoli e il tessuto osseo. Al contrario, i nocicettori C non peptidergici non possiedono né il TrKA né il p75NTR, risultando di conseguenza del tutto insensibili agli stimoli del NGF (TrKA-negativi); queste specifiche fibre raggiungono la cute, ma non l'apparato scheletrico. Alla luce di queste evidenze, per stimare il potenziale terapeutico e l'efficacia analgesica derivanti dall'inibizione della via NGF-TrKA in un quadro di dolore acuto o cronico, il parametro più importante da monitorare è la percentuale di nocicettori reattivi al NGF (TrKA+) che si distribuiscono nell'organo o nel tessuto da cui si irradia il dolore. Poiché la densità e la composizione di questa rete nervosa cambiano in modo significativo a seconda del distretto anatomico considerato, anche il beneficio clinico ottenuto bloccando il segnale NGF-TrKA mostrerà variazioni considerevoli in base al tessuto coinvolto (Mantyh et al., 2011).

La sintesi periferica di NGF riveste un ruolo funzionale in età adulta, nel contesto dei processi infiammatori caratterizzati tipicamente da dolore e iperalgesia, in tali processi, i mediatori flogistici riducono la soglia di attivazione dei nocicettori ad alta soglia (SP), tale fenomeno, vede nel NGF uno dei principali motori molecolari (Levi-Montalcini et al., 1996). I fenomeni di plasticità neuronale, sia a livello periferico sia centrale, costituiscono i pilastri su cui si fonda la cronicizzazione del dolore. Molteplici riscontri indicano che il NGF agisca come un fattore chiave nel guidare tali rimodellamenti in entrambi i comparti del sistema nervoso. L'introduzione di esigue quantità di NGF esogeno direttamente nei DRG o per via intratecale nei ratti ha infatti indotto uno stato di iperalgesia duraturo, espressione rispettivamente di una SP e sensibilizzazione spinale (Enomoto et al., 2019).

L'importanza di questo asse è confermata da studi in vivo, in cui la somministrazione di anticorpi anti-NGF o di proteine di fusione ricombinanti TrKA-IgG ha determinato una marcata riduzione della responsività agli stimoli termici e meccanici nocicettivi. Sotto il profilo strutturale, è interessante notare come persino la sequenza ottapeptidica N-terminale del NGF, pur priva di proprietà neurotrofiche, sia da sola capace di evocare iperalgesia. Sul piano funzionale, i quattro meccanismi descritti nel paragrafo precedente si riconducono a due modalità d'azione complementari: da un lato, un'azione diretta sul neurone sensoriale: la neurotrofina si lega al recettore TrKA localizzato sulle terminazioni periferiche dei neuroni sensoriali primari, attivando cascate chinasiche che portano alla fosforilazione di canali ionici e proteine di trasduzione chiave - un meccanismo che coincide con la SP immediata e la modulazione trascrizionale già discusse. Dall'altro, un'azione indiretta, immunomediata: il NGF stimola le cellule immunitarie residenti a rilasciare ulteriori citochine neuro-attive e mediatori infiammatori, inducendo un'ipereccitabilità acuta delle terminazioni nocicettive, in linea con l'amplificazione del loop infiammatorio via degranulazione mastocitaria descritta poc'anzi (Levi-Montalcini et al., 1996). Resta invece un fenomeno a sé, di natura più propriamente strutturale, il rimodellamento assonale (sprouting) descritto in precedenza (Mantyh et al., 2011). I neurotrasmettitori proinfiammatori inducono la sovraespressione di NGF, un fenomeno che può dare origine a un meccanismo cronico di dolore che si auto-perpetua, inoltre, il NGF può indurre direttamente l'infiammazione attivando la chemiotassi nei leucociti polimorfonucleati e aumentando la permeabilità vascolare. E' stato dimostrato che il NGF media l'iperestesia meccanica e termica in seguito a somministrazione sistemica sia negli animali che nell'uomo (Seidel et al., 2013).

2.3 L'ASSE NEURO-IMMUNITARIO NELLA MODULAZIONE DEL DOLORE

L'elevata densità di fibre nervose simpatiche riscontrabile a livello dei tessuti linfoidei depone a favore di un preciso substrato anatomico e strutturale che interconnette il sistema nervoso a quello immunitario. Tale network consente la trasduzione di impulsi neurogeni in segnali biochimici in grado di modulare selettivamente specifiche popolazioni immunitarie. In contesti di iperreattività tissutale e flogosi, il NGF assume una posizione gerarchica cruciale nella modulazione della risposta immunitaria. La neurotrofina, infatti, stimola la proliferazione dei linfociti B e T, agisce come fattore autocrino di sopravvivenza per i linfociti B di memoria, promuove la sintesi di immunoglobuline e sostiene la proliferazione e il differenziamento delle colonie emopoietiche umane. Ad integrazione del profilo immuno-modulatorio, al NGF è riconosciuta anche un'attività chemiotattica verso i leucociti neutrofili, documentata sia in contesti sperimentali in vitro che in vivo. Il riscontro che i linfociti T CD4⁺ attivati non solo presentino il recettore TrKA, ma siano essi stessi in grado di sintetizzare e secernere NGF biologicamente attivo, evidenzia il ruolo di questa neurotrofina come mediatore chiave nelle interazioni tra le cellule del sistema immunitario.

Questo network bidirezionale tra sistema nervoso e immunitario è ulteriormente implementato dal circuito delle citochine infiammatorie, tra cui spiccano;

IL-1, l'IL-6, l'interferone gamma (IFN γ) e il TNF- α . All'interno di questa rete di segnalazione, mediatori chiave della risposta flogistica quali l'IL-1 e il TNF- α si configurano come potenti induttori della trascrizione e sintesi di NGF, mentre le citochine stesse possono esercitare effetti biologici diretti sui compartimenti nervoso ed endocrino. Le analogie funzionali tra il NGF e il network citochinico superano la mera condivisione dei target cellulari, riflettendo un sistema integrato di omeostasi biologica essenziale per l'integrità e la sopravvivenza degli organismi complessi (Levi-Montalcini et al., 1996).

All'interno del sistema nervoso, alcuni mediatori sinaptici associati alla nocicezione, quali la Sostanza P e il CGRP, possiedono la capacità di scatenare un processo infiammatorio locale a livello dei terminali nocicettivi periferici, attraverso un meccanismo di trasporto assonale in direzione antidromica. In contesti sperimentali, tali molecole si sono dimostrate in grado di promuovere anche la trasudazione di fluido sinoviale nel quadro dell'infiammazione neurogenica. In modo analogo, ulteriori ricerche condotte su modelli animali hanno evidenziato come la Sostanza P possa fungere da fattore innescante o di progressione per i processi artritici. Pertanto, questi neurotrasmettitori operano mediante

una duplice modalità d'azione: da un lato mediano la conduzione del potenziale d'azione verso il SNC, dall'altro partecipano attivamente all'induzione e alla cronicizzazione della risposta infiammatoria in periferia. E' stato evidenziato che il NGF induca l'aumento dell'espressione sia della Sostanza P che del CGRP (Seidel et al., 2013).

Le citochine infiammatorie sono in grado di modulare l'attività neuronale attraverso *vie* dipendenti dal NGF; questo network biochimico determina l'ipersensibilizzazione delle fibre nocicettive, stimolando il rilascio di neuropeptidi algogeni come la Sostanza P e alimentando un circuito a feedback positivo (figura 7) che sostiene e cronicizza la neuroinfiammazione (Duh et al., 2018), (Della Rocca et al., 2025).

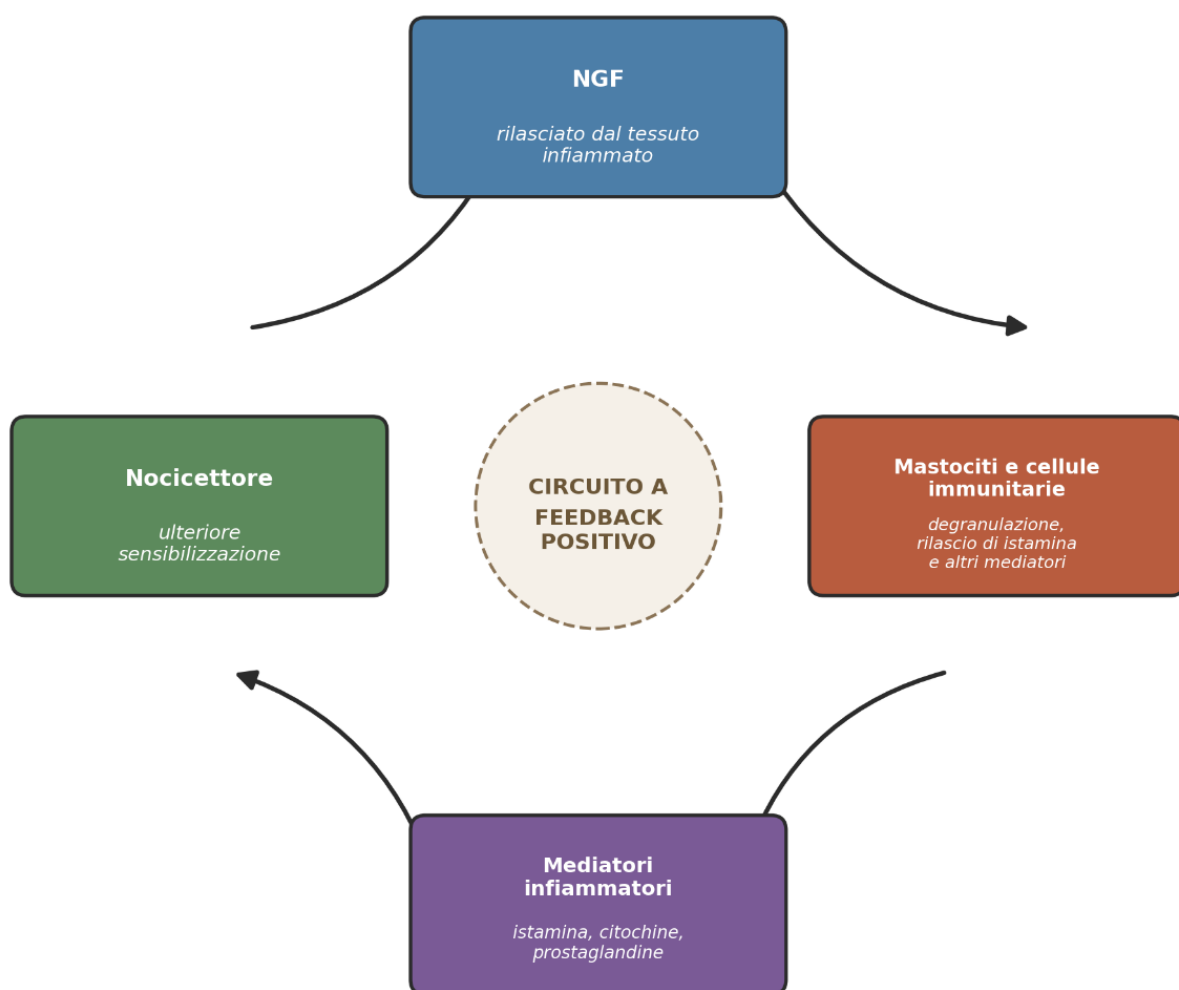


Figura 7. Circuito neuro-immunitario a feedback positivo innescato dal NGF. Il rilascio di NGF nel tessuto infiammato stimola mastociti e altre cellule immunitarie a degranulare, rilasciando mediatori infiammatori (istamina, citochine, prostaglandine) che sensibilizzano ulteriormente il nocicettore - il quale, a sua volta, contribuisce al rilascio di ulteriore NGF, alimentando il circuito.

2.4 NGF NEL DOLORE OSTEOARTROSICO: EVIDENZE SPECIFICHE

Il paragrafo 1.3.4 ha già anticipato come la produzione di NGF risulti aumentata nei tessuti articolari colpiti da OA, e come il suo legame con TrkA contribuisca sia alla SP sia, indirettamente, alla SC. Questa sezione ne approfondisce le basi cellulari e le evidenze cliniche a supporto.

A livello articolare, il NGF viene prodotto da condrociti, macrofagi sinoviali e fibroblasti (figura 8), e la sua produzione da parte dei condrociti in presenza di OA risulta stimolata dal fattore di crescita trasformante (TGF)- β ; i fibroblasti sinoviali mostrano inoltre una capacità di produzione di NGF superiore rispetto ai macrofagi in seguito a stimolazione con TNF- α (Ohashi et al., 2023). Tra le citochine già discusse nel contesto dei nocicettori articolari nel paragrafo 1.2.4, un ruolo di regolazione specifico spetta ai macrofagi CD14-positivi, che controllano la produzione di NGF a livello della membrana sinoviale; nell'OA del ginocchio, le concentrazioni di TNF- α , IL-6 e IL-8 risultano inoltre associate al dolore durante il movimento, con il solo TNF- α coinvolto nell'aggravamento del dolore a riposo, caratteristica tipica del dolore sensibilizzato (Supadej et al., 2017).

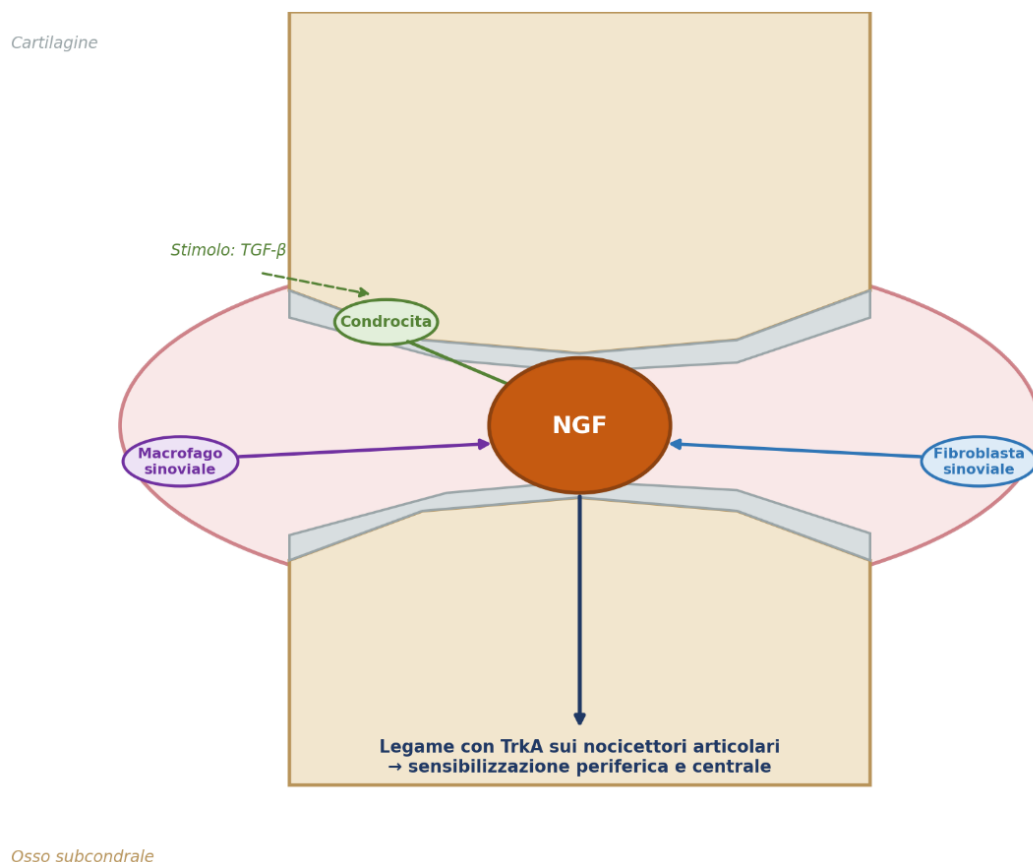


Figura 8. Principali fonti cellulari di NGF nell'articolazione osteoartrosica. Condrociti, macrofagi sinoviali e fibroblasti sinoviali contribuiscono alla produzione di NGF nel tessuto articolare, che si lega al recettore TrkA sui nocicettori articolari contribuendo alla SP e alla SC.

Il rilascio di NGF durante i processi di degradazione cartilaginea, rimodellamento osseo e infiammazione sinoviale sembra svolgere un ruolo determinante nell'iperalgesia meccanica riscontrata nei pazienti con OA sintomatica. I risultati ottenuti nei modelli animali risultano illustrativi al riguardo: in modelli murini di OA l'iniezione intra-articolare di NGF ha determinato, in uno studio, una riduzione dose-dipendente della soglia di ritiro meccanico della zampa posteriore in ginocchia sane (Ashraf et al., 2014), e, in un altro, condotto su un modello di OA indotta, sembrerebbe contribuire alla sensibilizzazione nocicettiva a livello spinale (Sagar et al., 2015).

Un precedente studio ha inoltre descritto una correlazione positiva tra i livelli di espressione dell'mRNA per il NGF nella membrana sinoviale e i punteggi ottenuti utilizzando il CSI, oltre che con il dolore riferito, in pazienti con osteoartrosi d'anca (Ohashi et al., 2023). Questi risultati confermano evidenze precedenti secondo cui gli anticorpi monoclonali diretti contro il NGF sarebbero in grado di ridurre i sintomi dolorosi legati all'OA. Mancano tuttavia ancora evidenze dirette a sostegno di un'associazione tra SP e SC nell'OA umana e i livelli di NGF nei tessuti intra-articolari (membrana sinoviale, liquido sinoviale, cartilagine), aspetto che richiede ulteriori approfondimenti in studi futuri (Ohashi et al., 2023).

Applicato allo specifico contesto dell'OA, questo quadro meccanicistico assume dunque un significato clinico concreto: è proprio la centralità dell'asse NGF/TrkA nella genesi e nel mantenimento del dolore articolare a rendere questo fattore di crescita un bersaglio terapeutico di elezione, e a giustificare lo sviluppo di una nuova classe di farmaci biologici in grado di intervenire direttamente su questa via - gli anticorpi monoclonali anti-NGF, oggetto del capitolo che segue.

3. LA FARMACOLOGIA DEGLI ANTICORPI MONOCLONALI

Gli anticorpi monoclonali (monoclonal Antibodies, mAbs) hanno rivoluzionato la medicina umana e sono stati introdotti in seguito con successo anche in medicina veterinaria, offrendo opzioni terapeutiche mirate per diverse patologie negli animali da compagnia. Il mercato è costantemente rimodellato dall'ingresso di nuovi prodotti caratterizzati da approcci terapeutici innovativi. Tra questi si annoverano il lokivetmab (Cytopoint® di Zoetis), il frunevetmab (NV-02, commercializzato come Solensia® di Zoetis), il bedinvetmab (Librela® di Zoetis), il Gilvetmab® (Merck Animal Health) e il CPMA (Trutect®, Elanco), (Wang et al., 2025).

3.1 DEFINIZIONE E FARMACODINAMICA

3.1.1 DEFINIZIONE, STRUTTURA E PRODUZIONE DEI MABS

I farmaci proteici dotati di un'azione mirata comprendono sia i mAbs sia ulteriori proteine di legame, tra cui spiccano le proteine di fusione Fc. La peculiarità dei mAbs risiede nella loro derivazione da un unico clone di linfociti B, fattore che ne garantisce l'omogeneità e la monospecificità. È proprio questa uniformità a decretare la loro superiorità terapeutica rispetto agli anticorpi policlonali (pAb) ottenuti *in vivo*. Infatti, in seguito ad uno stimolo immunogeno, ciascuna cellula B produce anticorpi rivolti verso una specifica porzione dell'antigene (epitopo), generando così lievi variazioni nella specificità di legame. Di conseguenza, i pAb non si prestano all'uso clinico: pur legandosi saldamente al bersaglio, costituiscono un insieme eterogeneo di anticorpi neutralizzanti e non neutralizzanti con differenti gradi di affinità. Tale variabilità ne ostacola la standardizzazione terapeutica a causa dei diversi profili di attività intrinseca, configurando una sfida molto più complessa rispetto, ad esempio, ad una miscela racemica in cui un enantiomero risulta semplicemente molto più attivo dell'altro (Castelli et al., 2019).

La produzione di anticorpi prevede inizialmente l'immunizzazione di modelli animali, il monitoraggio dei tassi anticorpali per svariati mesi e l'estrazione delle cellule spleniche per isolare i linfociti B idonei. In questa fase, è il sistema immunitario dell'animale stesso a creare e perfezionare queste molecole "guida". La svolta nello sviluppo dei mAbs è avvenuta nel 1975 grazie a Kohler e Milstein, i quali misero a punto la tecnica dell'ibridoma. Questo metodo, basato sulla fusione tra linfociti e cellule di mieloma, ha permesso di immortalare i cloni di cellule B, i quali potevano poi essere selezionati in virtù

della forza di legame del loro secreto, portando così all'isolamento di mAbs estremamente specifici e affini. Dal punto di vista strutturale, gli anticorpi sono macromolecole proteiche eterodimeriche con una massa molecolare di circa 150 kDa. Sono formati da due catene leggere e due catene pesanti tra loro speculari, a loro volta organizzate in moduli distinti. La tipica conformazione a "Y" è garantita da ponti disolfuro che tengono unite le catene pesanti a quelle leggere. L'identità delle sequenze amminoacidiche delle catene pesanti permette di suddividere gli anticorpi in cinque classi principali: IgM, IgD, IgG, IgE e IgA. Ciascuna di esse si articola poi in ulteriori sottoclassi; le IgG, per esempio, comprendono i sottotipi IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Proprio le IgG costituiscono la totalità dei mAbs oggi impiegati nella pratica clinica, una scelta dettata dalla loro spiccata stabilità nel torrente circolatorio (lunga emivita) e da una produzione industriale più accessibile. La regione deputata al riconoscimento dell'antigene, definita Fab (*Fragment antigen-binding*), è composta dalle regioni variabili di entrambe le catene. All'interno di queste ultime, le anse ipervariabili o CDR (*Complementarity-Determining Regions*) plasmano il sito d'attracco specifico del monoclonale (paratopo) predisposto a incastrarsi con l'epitopo del target. La singolarità del paratopo di ogni specifico mAb è la chiave della loro straordinaria selettività d'azione, che riduce al minimo l'insorgenza di interazioni aspecifiche fuori bersaglio. La porzione costante dell'anticorpo, o frammento Fc (*Fragment crystallizable region*), ne governa invece l'attività effettrice, legandosi ai recettori Fc gamma (FcγR) presenti sulle cellule dell'organismo. Questa interazione tra il segmento Fc del mAb e i recettori FcγR dei leucociti innesca due importanti risposte immunitarie:

- la citotossicità mediata da anticorpi (Antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC)
- la citotossicità dipendente dal complemento (Complement-dependent cytotoxicity, CDC)

Pur essendo l'attività effettrice una prerogativa biologica condivisa, gli isotipi IgG1 e IgG3 spiccano come i più energici attivatori della cascata classica del complemento. Le IgG1, in modo particolare, dimostrano una spiccata attitudine nello stimolare l'ADCC, inducendo la distruzione per lisi delle cellule bersagliate dall'anticorpo. Per tale ragione, le IgG1 rappresentano il sottotipo d'elezione in campo oncologico, dove l'obiettivo primario è l'eliminazione delle cellule tumorali. Al contrario, le varianti IgG2 e IgG4 esibiscono

un'attività effettrice attenuata, che può essere persino azzerata ricorrendo a modifiche di ingegneria genetica (Castelli et al., 2019).

Nelle varianti chimeriche, i mAbs combinano le porzioni variabili di origine murina con le regioni costanti di origine umana, laddove nei mAbs umanizzati, caninizzati o felinizzati vengono preservate soltanto le CDR murine. Al contrario, gli anticorpi interamente umani, non presentano alcuna sequenza derivata da roditori; l'ottenimento di immunoglobuline specie-specifiche può inoltre essere guidato da metodiche come la "PETizzazione" (*PETization*), una tecnologia che adatta la sequenza proteica convertendola sulla base delle librerie anticorpali della specie target (Wang et al., 2025).

3.1.2 SPECIAZIONE E INGEGNERIZZAZIONE

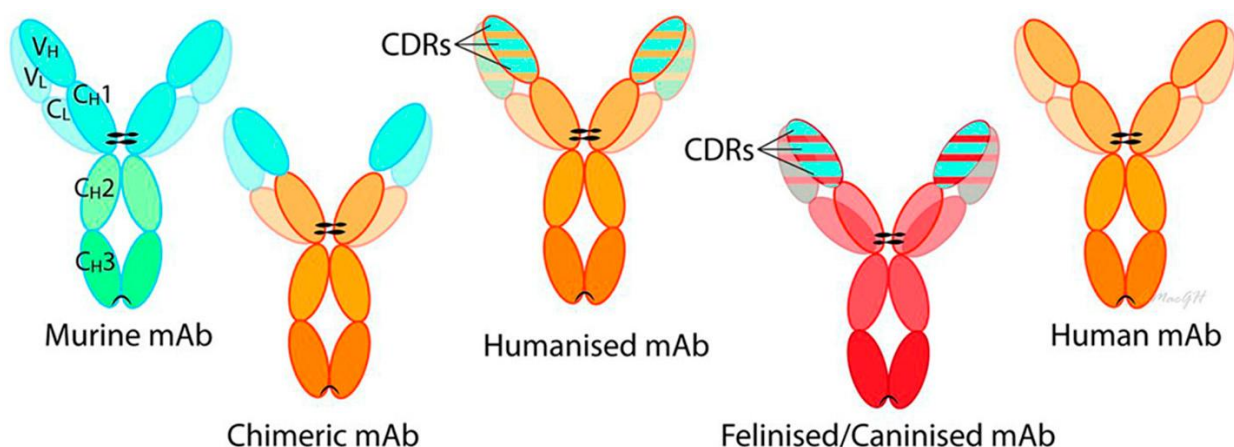


Figura 9. Composizione strutturale degli anticorpi e livelli di speciazione. Gli anticorpi sono glicoproteine eterodimeriche costituite da due catene pesanti e due catene leggere, ciascuna organizzata in domini variabili (V_H, V_L) e costanti (C_H, C_L). Il dominio variabile contiene le sei anse ipervariabili (CDR) che determinano la specificità di legame verso l'antigene, mentre il dominio costante - identico all'interno della stessa classe anticorpale (es. IgG, IgM) ma differente tra le classi - ospita nella porzione Fc il sito responsabile dell'attivazione delle risposte immunitarie effettrici. Gli anticorpi murini derivano da cloni di linfociti B di topo; gli anticorpi chimerici combinano le regioni variabili murine con le regioni costanti della specie target (umana, canina o felina); gli anticorpi umanizzati/caninizzati/felinizzati conservano delle sequenze murine solo le CDR, innestate su un'impalcatura pressoché interamente specie-specifica; gli anticorpi completamente umani, caninizzati o felinizzati non contengono più alcuna sequenza di origine murina. Adattata da Wang et al., 2025.

Le molecole possono derivare da roditori o ulteriori modelli di laboratorio sottoposti a immunizzazione con l'antigene target. Qualora l'animale non sia stato geneticamente modificato per ospitare il sistema immunitario di un altro organismo, i prodotti estratti dovranno essere sottoposti ad un processo di "speciazione" (figura 9). Gli anticorpi possono essere prelevati direttamente dalla specie di destinazione: in questa circostanza, la tecnica del phage display permette di isolare la molecola d'interesse partendo dall'ampia varietà immunitaria presente nell'animale. I prodotti così ingegnerizzati prenderanno il nome di anticorpi "umanizzati", "caninizzati" e così via. Attualmente, diverse realtà biofarmaceutiche possiedono o stanno perfezionando piattaforme tecnologiche volte alla sintesi di anticorpi specie-specifici per il settore veterinario, sfruttando il confronto - tramite librerie di DNA complementare - delle discrepanze nelle sequenze delle catene leggere e pesanti tra i mAbs della specie donatrice (uomo o roditore) e quelli della specie ricevente. Una volta stabilito il minor numero possibile di variazioni amminoacidiche da applicare in ogni singola posizione, i segmenti delle regioni variabili del donatore vengono convertiti in sequenze anticorpali che presentano esclusivamente amminoacidi propri della specie target, riducendo così il rischio di immunogenicità nel paziente veterinario (Wang et al., 2025). Accanto alla speciazione, l'ingegneria molecolare consente di sviluppare varianti strutturalmente più complesse - anticorpi bispecifici, coniugati anticorpo-farmaco (ADC) e molecole con Fc modificato - pensate soprattutto per potenziare la citotossicità mirata in ambito oncologico. Queste piattaforme non trovano tuttavia applicazione negli anticorpi anti-NGF attualmente in uso in medicina veterinaria, il cui meccanismo d'azione, come descritto nel paragrafo seguente, non richiede attività effettrice Fc-mediata né citotossicità cellulare (Gearing et al., 2013).

3.1.3 FARMACODINAMICA

L'elevatissima affinità e la spiccata selettività d'azione dei mAbs verso il proprio target molecolare riducono drasticamente il rischio di effetti aspecifici fuori bersaglio (off-target). Questa peculiarità li rende alleati preziosi, soprattutto nei modelli sperimentali, per decifrare il ruolo biologico di un recettore nella patogenesi di una malattia. Al contrario, i farmaci a base di piccole molecole tendono a interagire con molteplici bersagli, sia previsti sia imprevisti, esponendo al rischio di tossicità intrinseche legate alla natura chimica del

composto. Nel caso specifico dei mAbs anti-NGF, l'attività farmacodinamica non si fonda su meccanismi citotossici Fc-mediati (ADCC, CDC), bensì su un meccanismo di neutralizzazione per sequestro dell'antigene circolante: il mAb si lega con alta affinità e specificità al NGF libero, prevenendone il legame con il recettore TrkA espresso sulle terminazioni nocicettive periferiche. Questo sequestro impedisce l'attivazione della cascata di segnalazione intracellulare TrkA-mediata, bloccando sia la sensibilizzazione acuta dei canali e recettori di membrana (TRPV1, ASIC3, canali del Na voltaggio-dipendenti), sia le modificazioni trascrizionali a lungo termine a carico del neurone sensoriale, sia infine anche il fenomeno dello sprouting assonale patologico che si osserva nei quadri di dolore cronico (Mantyh et al., 2011). A differenza dei mAbs oncologici, dunque, l'anticorpo anti-NGF non necessita di attivare risposte effettrici del sistema immunitario per esercitare il proprio effetto terapeutico: la sua efficacia dipende unicamente dalla capacità di formare un complesso stabile e stechiometricamente saturante con l'antigene bersaglio. Gli animali trattati con anticorpi anti-NGF o con proteine di fusione TrkA-IgG mostrano una sensibilità sostanzialmente ridotta agli stimoli nocicettivi meccanici e termici (Mantyh et al., 2011). Tali evidenze indicano che l'inibizione dell'asse NGF/TrkA, a prescindere dal momento in cui viene attuata, rappresenta una strategia valida per arginare la proliferazione neuronale e alleviare la sofferenza associata alla sensazione dolorifica (Jimenez-Andrade et al., 2011).

Un recente lavoro scientifico ha indagato l'impatto della terapia anti-NGF proprio sulle alterazioni plastiche neuro-centrali e sull'iperalgia correlata: le valutazioni comportamentali hanno documentato un decremento significativo delle risposte algiche e dell'iperalgia da artrosi nei topi sottoposti a trattamento con il mAb, suggerendo che l'approccio anti-NGF possa contrastare ambedue le componenti (periferica e centrale) della plasticità alla base del dolore cronico. È importante sottolineare che, contrariamente ai farmaci antidolorifici classici come gli analgesici oppioidi, l'attenuazione della sensibilizzazione ottenuta interrompendo il segnale del NGF non dovrebbe compromettere i normali meccanismi di nocicezione protettiva dell'organismo (Enomoto et al., 2019). Proprio perché il meccanismo d'azione si fonda sul semplice sequestro molecolare piuttosto che su attività effettrici complesse, il comportamento farmacocinetico di questi anticorpi - descritto nel paragrafo che segue - risulta particolarmente favorevole alla loro applicazione clinica in medicina veterinaria, consentendo schemi posologici mensili ben tollerati dal paziente.

3.2 FARMACOCINETICA

Il comportamento farmacocinetico (PK) dei mAbs si discosta nettamente da quello dei farmaci tradizionali a base di piccole molecole. I mAbs di interesse terapeutico appartengono ad una categoria di agenti biologici contraddistinti da una spiccata omogeneità e da un'azione farmacologica mirata, diretta verso un unico epitopo e ottenuta grazie alle metodiche della biologia molecolare. Rispetto alle molecole di sintesi, i mAbs presentano una polarità e una massa molecolare di gran lunga superiori, da cui derivano dinamiche PK del tutto peculiari. Di norma, l'iniezione di un mAb genera un profilo PK di tipo bifasico, caratterizzato da una prima e rapida fase di distribuzione a cui segue una fase di eliminazione più lenta. Altre peculiarità cinetiche dei mAbs risiedono nel loro confinamento all'interno dei distretti vascolari e interstiziali (dovuto proprio alla combinazione di polarità e ingombro sterico), in una persistenza ematica molto prolungata (con un'emivita che nell'uomo oscilla tra gli 11 e i 30 giorni) garantita dal riciclo mediato dal recettore Fc neonatale (FcRn), e in una PK di tipo non lineare causata dai processi di eliminazione guidati dal target biologico (Wang et al., 2025).

3.2.1 MODALITA' DI INOCULO E ASSORBIMENTO

A causa delle loro proprietà fisiche, i mAbs mostrano una biodisponibilità per via orale estremamente bassa (<1–2%) (Renukuntla et al., 2013). Questo limite invalicabile è dettato da molteplici fattori:

- La perdita della struttura nativa (denaturazione) della proteina nell'ambiente gastrico acido
- L'azione degradativa degli enzimi idrolitici nel canale intestinale
- Le difficoltà di transito attraverso le membrane causate dall'elevato peso molecolare e dalla natura polare delle proteine (Singh et al., 2008).

Di conseguenza, la somministrazione orale viene generalmente evitata a favore di quella parenterale, che si avvale soprattutto di iniezioni endovenose (IV), sottocutanee (SC) e intramuscolari (IM). Nel caso delle vie IM e SC, il farmaco si muove dal sito di inoculo attraversando l'interstizio per poi immettersi nella rete linfatica, da cui raggiungerà infine il torrente circolatorio. Sebbene l'assorbimento tramite via IM e SC sconti una minore

biodisponibilità - dovuta alla degradazione da parte delle proteasi nell'ambiente linfatico o interstiziale - la via SC resta la più diffusa in ambito clinico per via della sua praticità e poiché consente al paziente stesso di gestirsi la terapia a domicilio. Per queste ultime due modalità terapeutiche, il picco di concentrazione nel plasma si osserva soltanto dopo 3-7 giorni dall'iniezione, una tempistica legata proprio alla lentezza del passaggio nella circolazione generale. Tra le altre possibili opzioni di somministrazione si annoverano anche la via intravitreale, quella intraperitoneale e quella polmonare (Castelli et al., 2019).

Se paragonati ai farmaci di piccole dimensioni, i mAbs vantano un'emivita ematica notevolmente prolungata (solitamente compresa tra 11 e 30 giorni nei soggetti umani), il che permette di ridurre sensibilmente la frequenza delle somministrazioni. Questa stabilità si deve alla porzione Fc delle IgG, la quale presenta un sito di legame per il recettore FcRn. Questo recettore, espresso in modo continuo a livello dell'endotelio vascolare, recupera le IgG attraverso un meccanismo di endocitosi mediata da recettore, sottraendole alla distruzione nei lisosomi e favorendone il ricircolo e il successivo rilascio nel sangue. È importante sottolineare che tale processo non va facilmente incontro a saturazione con i dosaggi terapeutici standard ed è stato ampiamente sfruttato per prolungare ulteriormente la persistenza dei mAbs in circolo (Castelli et al., 2019).

3.2.2 DINAMICHE DI DISTRIBUZIONE DEI MABS

In condizioni di equilibrio (*steady state*), i calcoli di popolazione relativi ai volumi di distribuzione sia nel compartimento centrale (V_c) sia in quello periferico (V_p) evidenziano valori piuttosto contenuti. Nella specie umana, le medie si attestano rispettivamente intorno ai 3,1 L (con una variabilità tra 2,4 e 5,5 L) e ai 2,8 L (con una variabilità tra 1,3 e 6,8 L). Questa scarsa propensione a diffondere al di fuori dei vasi e dell'interstizio è legata alle dimensioni macromolecolari e alla polarità dei mAb, proprietà che ostacolano il loro passaggio oltre l'endotelio vascolare. Tra i fattori che regolano la penetrazione dei mAbs nei tessuti si annoverano i processi diffusivi, la rimozione distrettuale e variabili biofisiche quali l'idrofilia e la carica elettrica della molecola. In aggiunta, l'ancoraggio specifico dell'anticorpo al rispettivo antigene, insieme a parametri quali l'affinità di legame, i livelli di espressione del recettore, la velocità di turnover recettoriale e la natura stessa dell'interazione antigene-mAb, possono influenzare sensibilmente la distribuzione (Wang et al., 2025).

Una volta immessi nel flusso sanguigno, i mAbs fuoriescono dai vasi per distribuirsi nello spazio interstiziale dei tessuti, dove si legano ai rispettivi target prima di essere eliminati. Questo stravasamento è guidato principalmente dal trasporto convettivo e da fenomeni di transitosi attraverso le cellule endoteliali. Allo stato stazionario, i mAbs presentano un volume di distribuzione ridotto (pari a circa 3-8 L), segno del loro confinamento quasi esclusivo nel compartimento vascolare. Di conseguenza, laddove i bersagli biologici si trovino in profondità nei tessuti (come nel caso delle masse tumorali), la lentezza con cui il farmaco vi si distribuisce può limitarne l'efficacia terapeutica. Una strategia per ovviare a questo limite consiste nell'impiegare frammenti Fab o frammenti variabili a catena singola (scFv), che penetrano più agevolmente nelle strutture tissutali. La capacità di un anticorpo di distribuirsi in contesti specifici dipende anche da parametri intrinseci alla molecola stessa, quali la carica elettrica, l'idrofilia, la rapidità di internalizzazione del target e l'affinità di legame con l'antigene; ottimizzando queste variabili si può indirizzare in modo più efficiente il farmaco verso gli organi bersaglio (Castelli et al., 2019).

3.2.3. PROCESSI METABOLICI E VIE DI ELIMINAZIONE DEI MABS

Diversamente dai farmaci classici, gli anticorpi monoclonali non necessitano di biotrasformazioni enzimatiche per essere disattivati o escreti. Inoltre, poiché il loro peso molecolare (~150 kDa) supera di molto la soglia di sbarramento per la filtrazione renale (~55 kDa), essi non possono essere eliminati intatti tramite le urine, né subiscono il metabolismo dei complessi enzimatici epatici. Il loro destino ricalca invece le normali vie di degradazione delle proteine fisiologiche. Il catabolismo intracellulare dei mAbs si compie nei lisosomi, dove la struttura proteica viene scissa in singoli amminoacidi, pronti per essere riutilizzati nella sintesi di nuove catene peptidiche o per essere escreti dai reni. Questo percorso di inattivazione conferisce ai mAbs un enorme vantaggio rispetto alle piccole molecole, poiché riduce drasticamente il rischio di interazioni farmacologiche pericolose in caso di terapie concomitanti (Wang et al., 2025).

Il fatto che gli anticorpi non utilizzino la via metabolica dei CYP450 (Citocromo P450) riduce inoltre il rischio di tossicità epatica. Vi sono tuttavia delle eccezioni: il tocilizumab, ad esempio, stimola l'espressione degli enzimi CYP450, accelerando così lo smaltimento di altri medicinali che dipendono da queste vie metaboliche (Castelli et al., 2019).

Le principali vie deputate alla rimozione dei mAbs includono:

- l'eliminazione guidata dall'antigene
- la pinocitosi
- la clearance mediata dai recettori Fc-gamma (FcγR)
- l'intercettazione da parte di anticorpi antifarmaco (ADA)

Tra questi meccanismi, l'intercettazione da parte di ADA merita un approfondimento specifico, poiché rappresenta una delle principali variabili cliniche nella risposta a lungo termine alla terapia con mAbs. Gli ADA sono immunoglobuline prodotte dal sistema immunitario dell'ospite contro la proteina terapeutica stessa; un sottoinsieme di questi, definito anticorpi neutralizzanti (NAb), può legarsi direttamente all'anticorpo terapeutico riducendone l'efficacia, accelerando la clearance dall'organismo e, nei casi più severi, inducendo reazioni anafilattiche. Nonostante gli sforzi di speciazione volti a minimizzare l'immunogenicità descritti nel paragrafo precedente, fattori quali la via di somministrazione, lo schema terapeutico e l'eventuale co-somministrazione di farmaci immunosoppressori possono comunque influenzare la risposta immunitaria nella pratica clinica (Wang et al., 2025).

Va inoltre considerato che il legame altamente specifico tra il mAb e il suo target proteico può rallentare notevolmente l'eliminazione dell'anticorpo terapeutico stesso. La durata dell'emivita di ciascun anticorpo stabilisce la frequenza delle somministrazioni e la strategia terapeutica; nei pazienti umani, l'emivita di eliminazione oscilla tra i 7 e i 28 giorni (fissandosi il più delle volte intorno ai 21 giorni). Tuttavia, in ambito veterinario, gli anticorpi anti-NGF attualmente disponibili mostrano emivite leggermente più brevi rispetto a quelle riportate nell'uomo, pur rimanendo nello stesso ordine di grandezza. Nel gatto, il frunevetmab presenta un'emivita di eliminazione di circa 10 giorni (Walters et al., 2021); nel cane, il bedinvetmab mostra un'emivita di circa 9,5 giorni in condizioni di laboratorio su beagle sani (Krautmann et al., 2021), valore che sale a circa 19 giorni in condizioni di campo su cani con OA (Michels et al., 2023), una differenza attribuita dagli stessi autori alla maggiore variabilità intrinseca di una popolazione clinica reale rispetto a beagle di laboratorio.

I mAbs presenti nel sangue che riescono a legarsi all'FcRn sulle cellule endoteliali vengono sottratti all'azione distruttiva delle idrolasi lisosomiali, potendo così essere

reimmessi integri nel compartimento plasmatico. Questo circuito di salvataggio gioca un ruolo cardine nel garantire la straordinaria persistenza in circolo degli anticorpi monoclonali (Walters et al., 2021).

L'FcRn è un eterodimero non covalente formato da una catena alfa e dalla β_2 -microglobulina (β_2m), localizzato principalmente sulle membrane endoteliali. Il recettore possiede una caratteristica cruciale: lega i suoi ligandi naturali - le IgG e l'albumina - con alta affinità solo in presenza di pH acido (tipico dell'ambiente endosomiale). Quando il farmaco viene internalizzato, l'FcRn lo intercetta e lo devia dal percorso lisosomiale (figura 10), trasportandolo verso la membrana plasmatica per il riciclo attivo o la transitosi nel flusso ematico. Questo meccanismo di salvataggio estende notevolmente l'emivita sierica dei mAbs rispetto ad altre proteine di peso molecolare simile (Bryniarski et al., 2024).

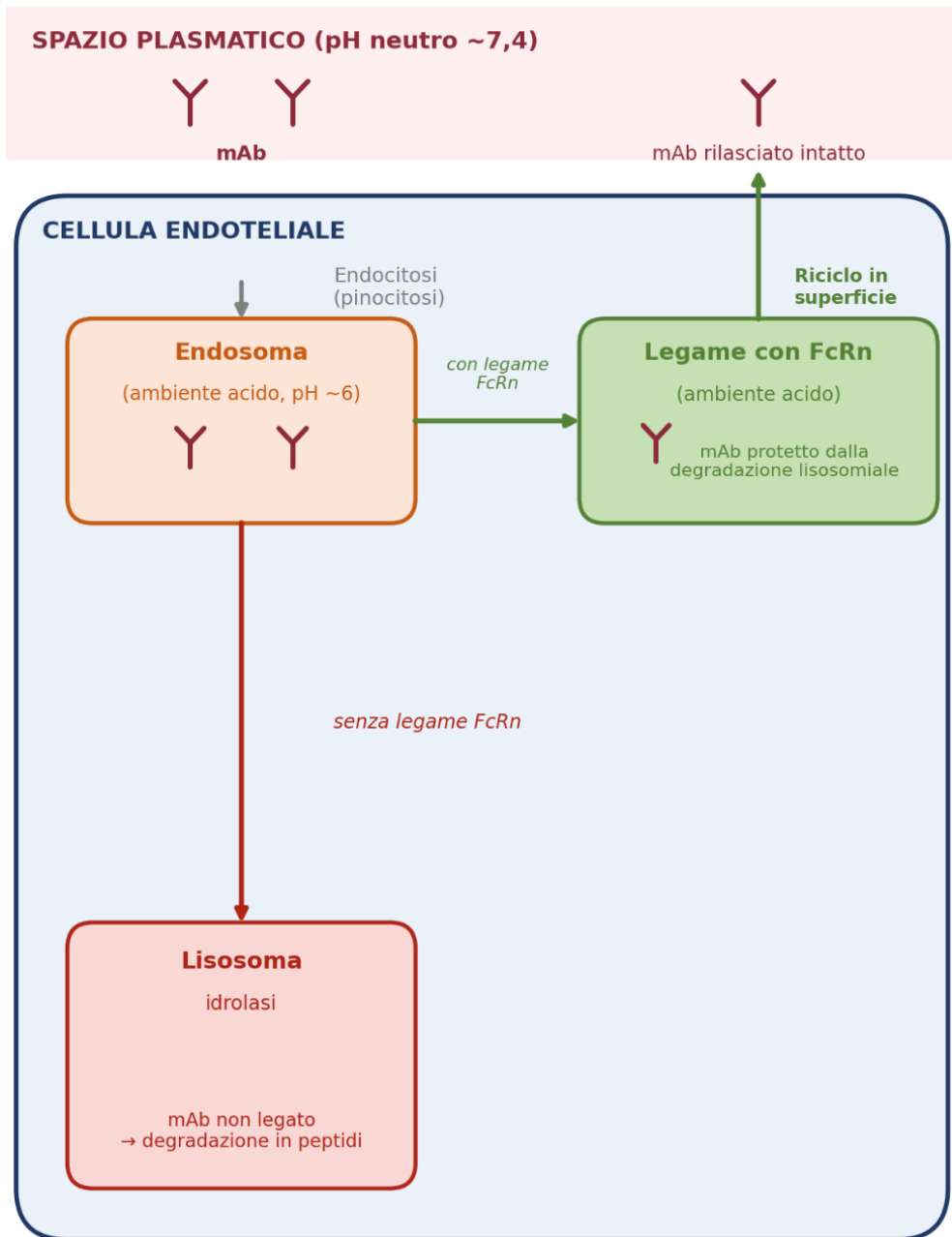


Figura 10. Meccanismo di salvataggio dei mAbs mediato dal recettore FcRn. Il mAb internalizzato per pinocitosi, se legato a FcRn nell'ambiente acido dell'endosoma, viene sottratto alla degradazione lisosomiale e reimmesso intatto nel compartimento plasmatico; il mAb non legato viene invece degradato per via lisosomiale.

Il profilo di eliminazione (clearance, CL) degli anticorpi mAb e delle varianti multi-specifiche è regolato da due meccanismi paralleli:

- CL bersaglio-dipendente (non lineare): È legata al fenomeno della disposizione del farmaco mediata dal bersaglio (TMDD). Si innesca quando il mAb si lega con alta affinità al suo antigene sulla superficie cellulare, portando all'internalizzazione e alla

degradazione biologica del complesso. Questo meccanismo è saturabile e ha un impatto preponderante sulla CL complessiva soprattutto a bassi dosaggi.

- CL bersaglio-indipendente (lineare): Segue una cinetica matematica di primo ordine ed è slegata dal legame con il target. L'entità di questa clearance è determinata dal bilanciamento dinamico tra due processi opposti: la captazione endocitica aspecifica (NSE), che distrugge il farmaco, e il recupero cellulare mediato dal recettore FcRn, che lo salva.

L'NSE determina la quota di farmaco che entra nelle cellule per essere degradata, si compone di due vie:

- Pinocitosi in fase fluida: consiste nell'inglobamento passivo del farmaco insieme al liquido extracellulare circostante. La sua velocità è costitutiva e costante tra i diversi mAbs all'interno dello stesso gruppo cellulare, variando solo in modo direttamente proporzionale alla concentrazione del farmaco nel fluido.
- Endocitosi adsorbente aspecifica: mostra tassi differenti da un anticorpo all'altro. Questa variabilità dipende dalle caratteristiche della carica elettrica superficiale delle singole molecole, che possono accelerare o rallentare la quantità di farmaco internalizzata nel tempo.

Anche tra mAbs diretti contro lo stesso bersaglio si osservano fluttuazioni nella clearance aspecifica. Fattori chimico-fisici nelle regioni variabili (Fv) possono infatti alterare l'interazione con l'FcRn o accentuare la NSE (Bryniarski et al., 2024).

Il profilo farmacocinetico appena descritto - caratterizzato da un'eliminazione lenta, indipendente dalla funzionalità epatica o renale e governata da meccanismi propri delle immunoglobuline - distingue nettamente i mAbs dai farmaci di sintesi impiegati da decenni nella gestione del dolore da OA. Dopo aver descritto il meccanismo d'azione, la farmacocinetica e le proprietà biologiche che distinguono gli anticorpi monoclonali dalle terapie farmacologiche tradizionali, resta da verificare come queste caratteristiche si traducano in un reale beneficio clinico. Il capitolo che segue analizza dunque l'efficacia e la sicurezza dei due anticorpi anti-NGF attualmente disponibili in medicina veterinaria - il bedinvetmab nel cane e il frunevetmab nel gatto - così come documentate dagli studi registrativi e dalle evidenze cliniche raccolte successivamente alla loro commercializzazione.

4. APPLICAZIONI CLINICHE DEI MABS ANTI-NGF

Bedinvetmab e frunevetmab sono anticorpi monoclonali anti-NGF recentemente autorizzati per il controllo del dolore associato all'OA, rispettivamente nei cani e nei gatti. Queste molecole si legano al NGF e ne prevengono l'interazione con i relativi recettori, interrompendo così la via di segnalazione NGF/TrkA e riducendo la risposta iperalgesica associata all'OA (Enomoto et al., 2019). I mAbs anti-NGF rappresentano il progresso clinico più significativo nella gestione del dolore da OA in medicina veterinaria dall'approvazione del primo farmaco antinfiammatorio non steroideo, avvenuta 25 anni fa (Michels et al., 2023).

4.1 BEDINVETMAB, EFFICACIA CLINICA NEL CANE

Il bedinvetmab è un anticorpo monoclonale con attività antagonista nei confronti del NGF: si tratta di una IgG nativa di origine canina, sviluppata per contrastare la sintomatologia dolorosa dell'OA nel cane. Diversamente dal frunevetmab felinizzato, il bedinvetmab è una molecola caninizzata al 100%, ingegnerizzata per essere priva delle funzioni effettrici tipiche delle immunoglobuline. Una volta inoculato per via SC, il farmaco viene assorbito e si unisce alla quota endogena di anticorpi in circolo. Legandosi al NGF, il bedinvetmab genera complessi formati da uno o due mAbs uniti ad un singolo dimero di NGF; tali complessi mostrano un profilo farmacocinetico e di eliminazione analogo a quello del bedinvetmab in forma libera. Come per le altre proteine terapeutiche, l'immunogenicità del farmaco non è prevedibile a priori (Krautmann et al., 2021) - il dato concreto sullo sviluppo di anticorpi anti-farmaco (ADA) riscontrato nello studio clinico è riportato più avanti, nel paragrafo dedicato a farmacocinetica e risposta immunogenica.

Il bedinvetmab sequestra il NGF, riducendo di conseguenza la quota disponibile per il legame con i recettori TrkA e p75NTR, il che si traduce in una minore trasduzione del segnale nei tipi cellulari coinvolti nella percezione del dolore. Il farmaco viene eliminato dall'organismo con modalità analoghe a quelle delle proteine endogene, con un coinvolgimento minimo di fegato o reni (Gildea et al., 2024).

Per verificare l'efficacia terapeutica e il profilo di sicurezza del bedinvetmab nel ridurre la sintomatologia dolorosa legata all'OA canina, è stato condotto lo studio di Michels et al. (2023), impostato a supporto dell'iter di registrazione del farmaco negli Stati Uniti, con un

protocollo speculare alla fase controllata con placebo descritta da Corral et al. (2021) in Europa.

Lo studio, multicentrico prospettico, randomizzato in doppio cieco e controllato con placebo, ha coinvolto 272 cani reclutati tra marzo e luglio 2018 in 24 strutture di medicina veterinaria generale distribuite in 11 stati americani, assegnati in rapporto 1:1 a ricevere bedinvetmab (Librela™, 0,5-1,0 mg/kg SC) o placebo con cadenza mensile.

L'endpoint primario, valutato al giorno 28 tramite il Canine Brief Pain Inventory (CBPI), richiedeva un calo di almeno un punto nella gravità del dolore e di almeno due punti nella sua interferenza sulle attività quotidiane. Il bedinvetmab ha superato il placebo in modo statisticamente significativo a partire da questo endpoint (47% di successo contro 37%), con un vantaggio che si è consolidato nelle settimane successive fino a un plateau stabile dal giorno 42. Il gruppo placebo, al contrario, ha mostrato un calo di efficacia a partire dal giorno 84, un andamento compatibile con un effetto placebo transitorio, frequente negli studi con outcome valutato dal proprietario. Sul piano della sicurezza, i tassi di eventi avversi sono risultati sovrapponibili tra i due gruppi (86 cani nel placebo, 79 nel bedinvetmab), riconducibili prevalentemente a problematiche dermatologiche e urogenitali legate all'età avanzata della popolazione in esame piuttosto che al farmaco stesso. Si sono registrati due decessi per eutanasia in ciascun braccio, tutti attribuiti a cause indipendenti dal trattamento. Dal punto di vista farmacocinetico, il bedinvetmab ha raggiunto lo stato stazionario dopo la seconda dose mensile, con un'emivita media di 19,1 giorni, un valore superiore a quello osservato in condizioni di laboratorio (Krautmann et al., 2021).

Lo studio conferma la superiorità del bedinvetmab rispetto al placebo nel controllo del dolore da OA canina, con un profilo di sicurezza complessivamente rassicurante nel breve-medio termine dello studio registrativo. Un limite intrinseco di questo disegno sperimentale - comune a tutti gli studi registrativi di fase III - è il confronto esclusivo con il placebo, che non permette di collocare l'efficacia del bedinvetmab rispetto allo standard of care rappresentato dai FANS. Questa lacuna è stata colmata solo successivamente da Innes et al. (2025), primo trial randomizzato a confrontare direttamente bedinvetmab e meloxicam nel cane: i due farmaci hanno mostrato un'efficacia sovrapponibile sulla riduzione del dolore (misurata tramite il Canine Orthopaedic Index), senza differenza statisticamente significativa tra i gruppi, sebbene il bedinvetmab abbia mostrato un trend di miglioramento leggermente superiore. Il profilo di sicurezza comparato emerso dallo

stesso studio verrà discusso nel dettaglio nel capitolo 5. I dati qui riportati, inoltre, sono precedenti alle segnalazioni di farmacovigilanza post-marketing più recenti (Farrell et al., 2025, su eventi avversi muscoloscheletrici, e ulteriori casistiche del 2026 relative a osteoartrite rapidamente progressiva), che saranno discusse nel 4.3 dedicato al profilo di sicurezza.

4.2 FRUNEVETMAB, EFFICACIA CLINICA NEL GATTO

Il frunevetmab è un anticorpo monoclonale con attività antagonista nei confronti del NGF, sviluppato per contrastare la sintomatologia dolorosa dell'OA nel gatto. Diversamente dal bedinvetmab, interamente caninizzato, il frunevetmab è una molecola felinizzata: le sequenze amminoacidiche delle catene pesanti e leggere derivano dalla felinizzazione di un mAb murino anti-NGF di ratto (denominato α D11), le cui regioni CDR sono state innestate su un'impalcatura costante e variabile di origine felina. Analogamente a quanto visto per il bedinvetmab, uno degli scopi della felinizzazione è evitare che il farmaco venga riconosciuto come "estraneo" dal sistema immunitario del gatto, riducendo così il rischio di una risposta anticorpale anti-farmaco, oltre a permettere il riciclo del mAb tramite il recettore FcRn, che ne prolunga l'emivita e ne migliora la biodisponibilità (Walters et al., 2021).

Il frunevetmab sequestra il NGF, riducendo la quota disponibile per il legame con i recettori TrkA e p75, con conseguente riduzione della trasduzione del segnale nocicettivo: si tratta dello stesso meccanismo d'azione già descritto per il bedinvetmab, qui applicato al NGF felino anziché canino. L'efficacia preliminare del frunevetmab era già stata suggerita da uno studio pilota multisito (Gruen, Myers, & Lascelles, 2021), condotto su 126 gatti trattati con due sole dosi a 28 giorni di distanza, che aveva mostrato un miglioramento significativo nelle valutazioni del proprietario ai giorni 42 e 56 rispetto al placebo. Sulla base di questi risultati preliminari è stato disegnato lo studio registrativo di (Gruen, Myers, Tena, et al., 2021) condotto specificamente a fini di registrazione e volto a confermare, su una popolazione più ampia e con un regime posologico esteso a tre dosi, la superiorità del frunevetmab rispetto al placebo.

Lo studio registrativo è stato impostato come uno studio multicentrico prospettico, randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco a gruppi paralleli, con disegno statistico di superiorità. Ha coinvolto 382 gatti sottoposti a screening in 21 cliniche

veterinarie di medicina generale negli Stati Uniti; 275 hanno ricevuto almeno un trattamento (182 frunevetmab, 93 placebo, randomizzazione 2:1), con tre dosi mensili di Solensia™ (dose nominale 1,0 mg/kg SC) o placebo, e valutazioni fino al giorno 84.

L'endpoint primario, stabilito al giorno 56 tramite il Client Specific Outcome Measure (CSOM), richiedeva una riduzione di almeno due punti rispetto al basale senza peggioramento di alcuna attività valutata. Il frunevetmab ha superato il placebo in modo statisticamente significativo ai giorni 28 (66,7% contro 52,1%) e 56 (75,9% contro 64,7%, endpoint primario), mentre al giorno 84 la differenza non ha più raggiunto la significatività statistica. Anche la valutazione globale del proprietario e l'esame ortopedico veterinario hanno confermato il vantaggio del frunevetmab, sebbene con pattern temporali lievemente diversi tra i due strumenti. Sul piano della sicurezza, sono stati registrati complessivamente 354 eventi avversi in 158 gatti, prevalentemente disturbi gastrointestinali con incidenza sovrapponibile tra i gruppi. I disturbi cutanei - alopecia, dermatite e prurito - sono invece risultati significativamente più frequenti nel gruppo frunevetmab (32/182 contro 8/93, $p < 0,0001$), nella maggior parte dei casi lievi e risolti senza trattamento o con terapia standard. Dieci eventi avversi gravi sono stati classificati come tali (7 nel gruppo frunevetmab, 3 nel placebo), quattro dei quali esitati in eutanasia nel gruppo trattato, attribuiti prevalentemente a neoplasie e insufficienza renale cronica, giudicati nella quasi totalità dei casi non correlati al trattamento. Dal punto di vista farmacocinetico, il frunevetmab ha mostrato un'emivita di circa 10 giorni per via endovenosa e una biodisponibilità sottocutanea del 60%, raggiungendo lo stato stazionario dopo la seconda dose mensile; l'immunogenicità è risultata contenuta (1,5% dei gatti trattati), senza impatto clinico rilevante.

Lo studio conferma la superiorità del frunevetmab rispetto al placebo nel ridurre dolore e compromissione della mobilità nel gatto con OA, misurata attraverso strumenti indipendenti convergenti. L'effect size (0,3) è risultato tuttavia più contenuto rispetto al precedente studio pilota (0,65), un calo attribuito dagli autori ad un effetto placebo più marcato nella coorte più ampia dello studio registrativo, coerentemente con quanto osservato anche per il bedinvetmab nel cane, sebbene nel gatto il margine di superiorità sul placebo risulti mediamente meno netto.

Alcuni aspetti meritano una lettura critica, in modo analogo a quanto già evidenziato per il bedinvetmab: l'outcome primario (CSOM) è owner-assessed e quindi soggetto all'effetto placebo del caregiver, qui particolarmente marcato; l'effect size, pur statisticamente

significativo, risulta modesto e nettamente inferiore a quello del precedente studio pilota, il che invita a una lettura prudente della reale rilevanza clinica del beneficio nella pratica quotidiana; la maggiore incidenza di eventi cutanei nel gruppo trattato, sebbene di entità lieve in questo studio, meriterà un confronto con eventuali segnalazioni di farmacovigilanza post-marketing più ampie, da trattare nel 4.3 dedicato al profilo di sicurezza comparato di bedinvetmab e frunevetmab.

4.3 PROFILO DI SICUREZZA EFFETTI AVVERSI E CONTROINDICAZIONI

4.3.1 DATI REAL-WORLD SULLA QUALITÀ DELLA VITA

I capitoli precedenti hanno esaminato l'efficacia e la sicurezza di bedinvetmab e frunevetmab sulla base dei rispettivi studi registrativi, condotti in condizioni sperimentali controllate. Per completare il quadro è tuttavia necessario considerare come i due farmaci si comportino nella pratica clinica quotidiana: i dati real-world, raccolti su popolazioni non selezionate e al di fuori del contesto di un trial, permettono di verificare se i benefici osservati in condizioni controllate si confermino nella realtà clinica, e di far emergere eventuali segnali di sicurezza non rilevabili nei trial registrativi a causa delle loro dimensioni e durata limitate.

A questo scopo, Reid et al. (2024) hanno condotto uno studio osservazionale real-world su 75 proprietari di cani e 56 di gatti nel Regno Unito, per misurare l'effetto di bedinvetmab e frunevetmab sulla qualità della vita tramite VetMetrica™, uno strumento validato che gli studi registrativi (Corral et al., 2021 per il cane; Gruen et al., 2021 per il gatto) non avevano indagato, essendosi limitati a strumenti di funzionalità e dolore quali il CBPI e il CSOM.

Già entro il giorno 14 si è osservato un miglioramento statisticamente significativo del benessere sia fisico sia emotivo in entrambe le specie, proseguito fino al giorno 70. Sul piano della rilevanza clinica, il beneficio ha superato la soglia clinicamente rilevante in tutti i domini nel gatto, mentre nel cane ciò è avvenuto solo parzialmente, con gli altri domini che hanno mancato la soglia di poco. È emerso inoltre un pattern temporale coerente in entrambe le specie: il miglioramento della componente emotiva tende a manifestarsi più rapidamente rispetto a quello della componente fisica, che cresce più lentamente nel corso dello studio.

Un dato interessante riguarda il rapporto tra benessere fisico ed emotivo al basale, opposto tra le due specie - un pattern che gli autori attribuiscono non a una vera differenza di specie, ma alla maggiore prevalenza di comorbidità (ipertiroidismo, insufficienza renale cronica, diabete) nei gatti anziani rispetto ai cani.

Va segnalato, per trasparenza, che due dei cinque autori dello studio sono dipendenti Zoetis e un terzo ne è consulente - lo stesso schema di finanziamento già osservato per gli studi di Michels, Corral, Gruen e Walters citati in precedenza.

Nel complesso, lo studio conclude che il trattamento con bedinvetmab e frunevetmab produce un miglioramento significativo e, in gran parte, clinicamente rilevante della qualità della vita (Reid et al., 2024) - un dato, l'impatto sul benessere globale dell'animale e non solo sulla sua funzionalità o sul dolore, che mancava negli studi registrativi.

I dati real-world sulla qualità della vita descritti finora offrono un quadro incoraggiante per entrambi i farmaci, ma riguardano un follow-up relativamente breve (70 giorni) e non erano stati disegnati per rilevare eventi avversi rari o a lunga latenza. Un quadro complementare, e per certi versi opposto, emerge dall'analisi di farmacovigilanza di Farrell et al. (2025), che si concentra specificamente sul bedinvetmab e solleva interrogativi sulla sicurezza articolare a lungo termine che meritano un'analisi approfondita.

4.3.2 SEGNALI DI FARMACOVIGILANZA SUL BEDINVETMAB

Mentre lo studio di Reid et al. (2024) descrive l'effetto positivo dei due farmaci sulla qualità della vita in un follow-up di 70 giorni, Farrell et al. (2025) adottano una prospettiva radicalmente diversa: un'analisi di farmacovigilanza estesa a vent'anni di dati, condotta specificamente sul bedinvetmab, che solleva interrogativi importanti sulla sicurezza articolare a lungo termine. Lo studio nasce come approfondimento indipendente di una segnalazione della FDA (dicembre 2024), che aveva già individuato 18 segnali di sicurezza distinti nei cani trattati con Librela, inclusi eventi neurologici, urinari e muscoloscheletrici, con un tasso di segnalazione di zoppia sproporzionatamente elevato. Gli autori richiamano a questo proposito un precedente rilevante: nel 2012 i trial clinici sugli anti-NGF mAb sviluppati per l'uomo (tanezumab, fulranumab, fasinumab) avevano già rivelato casi di osteoartrite rapidamente progressiva (RPOA), inducendo la FDA a sospendere per due anni i trial clinici e ad imporre un piano di gestione del rischio per tutti gli studi successivi; il rischio di RPOA è persistito anche con dosaggi ridotti e divieto

di co-somministrazione di FANS, e la sua causa esatta resta oggetto di studio. Per l'analisi di disproporzionalità, un singolo specialista veterinario in chirurgia ha revisionato manualmente tutte le segnalazioni di eventi avversi muscoloscheletrici (MSAER) presenti nel database europeo EudraVigilance dal 2004 al 2024, confrontando il bedinvetmab con sei farmaci antinfiammatori comparatori con la stessa indicazione (Rimadyl, Metacam, Previcox, Onsior, Galliprant, Daxocox). Su un totale di 878 segnalazioni ritenute analizzabili dopo esclusione dei casi con diagnosi confondenti, il 90% era attribuito al bedinvetmab. Lesioni tendinee/legamentose, poliartrite, fratture, neoplasie muscoloscheletriche e artrite settica sono state riportate circa 9 volte più frequentemente nei cani trattati con bedinvetmab rispetto al totale combinato dei farmaci comparatori, e le segnalazioni accumulate per il bedinvetmab in 45 mesi hanno superato di circa 20 volte quelle del farmaco comparatore più segnalato e di circa 3 volte il totale combinato di tutti i comparatori, misurato su un periodo di vent'anni. Un sottogruppo di 19 cani con sospetti eventi avversi muscoloscheletrici è stato inoltre sottoposto a valutazione clinica, radiografica e in alcuni casi istopatologica da parte di un panel indipendente di 18 esperti (chirurghi ortopedici veterinari, uno specialista in neuro-osteoartropatia umana, specialisti di diagnostica per immagini, anestesisti veterinari e un ricercatore esperto in terapie anticorpali monoclonali), nessuno dei quali con legami finanziari con aziende farmaceutiche veterinarie. L'articolazione più frequentemente coinvolta è stata il gomito (68% dei casi); il 37% dei cani ha sviluppato fratture patologiche e il 10,5% lussazioni articolari. In due casi, articolazioni del tarso clinicamente normali prima del trattamento hanno sviluppato una grave distruzione articolare non correlata al sito originario di somministrazione (il gomito). L'esame istopatologico condotto su quattro cani ha escluso artropatia infiammatoria, malattie trasmesse da zecche o neoplasia, riscontrando caratteristiche patologiche assimilabili alla RPOA descritta nell'uomo, e la totalità dei 18 membri del panel ha giudicato "molto sospetta" una relazione causale tra il trattamento con bedinvetmab e la distruzione articolare osservata. A questo si aggiunge un ulteriore elemento critico: in 9 dei 19 casi (47%) è stata rilevata una discrepanza clinicamente rilevante tra la segnalazione depositata dal veterinario curante e quella successivamente registrata dal titolare dell'autorizzazione all'immissione in commercio, riguardante la diagnosi, la gravità o l'esito riportato; in due casi, dosaggi rientranti nel range raccomandato sono stati classificati come "sovradosaggio". Sul piano della discussione critica, gli autori sviluppano un'analogia con i FANS per sostenere che la scarsità di segnalazioni non equivale automaticamente a sicurezza: il danno gastrointestinale

subclinico da FANS è ben documentato ma sistematicamente sottostimato dalle sole segnalazioni spontanee, e un ragionamento analogo potrebbe applicarsi al danno cartilagineo da inibizione del NGF, con l'aggravante che, a differenza della mucosa gastrointestinale (dotata di capacità rigenerativa), il danno cartilagineo è in gran parte irreversibile. Gli autori criticano inoltre direttamente lo studio di sicurezza di laboratorio di Krautmann et al. (2021) - già citato nel 4.1 a proposito dell'immunogenicità del bedinvetmab - per aver classificato come "lieve" un'erosione cartilaginea riscontrata in due beagle su cinque, nonostante l'erosione sia per definizione una forma severa di danno cartilagineo, e segnalano che Zoetis, invitata a fornire immagini annotate per chiarire la discrepanza, ha declinato di farlo. Viene infine sottolineato un limite strutturale del sistema di farmacovigilanza: l'assenza del termine "RPOA" nel vocabolario ufficiale (VeDDRA) utilizzato per classificare le segnalazioni, che può portare a codificare questi eventi semplicemente come "artrite" o "zoppia", sottostimandone la reale incidenza, gli autori hanno formalmente richiesto l'introduzione del termine. Gli stessi autori riconoscono, come limiti dello studio, la soggettività intrinseca del giudizio degli esperti, l'impossibilità di rispondere con questo disegno a domande specifiche come l'impatto della co-somministrazione di FANS sul rischio di eventi avversi, e la natura "generatrice di ipotesi" piuttosto che probatoria di un'analisi di farmacovigilanza descrittiva, una limitazione esplicitamente riconosciuta anche dalla FDA per il proprio impianto analitico. Va infine segnalato, per completezza e correttezza scientifica, un elemento che distingue questa fonte da tutte le altre citate finora in questa tesi (Michels, Corral, Gruen, Walters, Reid - tutte con autori dipendenti o consulenti Zoetis): gli autori di questo studio dichiarano l'assenza di qualunque legame finanziario con aziende farmaceutiche veterinarie. Esiste tuttavia una risposta pubblicata da autori affiliati Zoetis (Monteiro et al., 2025) che difende il profilo di sicurezza del bedinvetmab sulla base dei dati di farmacovigilanza globale - un contributo che sarà utile discutere nel 4.3.3 per bilanciare il quadro presentato in questa sezione.

4.3.3 DISCUSSIONE CRITICA E BILANCIAMENTO DELLE EVIDENZE

Monteiro et al. (2025) presentano un'analisi di farmacovigilanza globale sul bedinvetmab, condotta da un gruppo di autori in gran parte affiliati a Zoetis (Global Medical Affairs e Global Pharmacovigilance), con la collaborazione di ricercatori accademici della North Carolina State University in qualità di consulenti. Lo studio raccoglie tutte le segnalazioni di eventi avversi presenti nel database aziendale (Zoetis Global Pharmacovigilance Database, ZGPVDB) tra il lancio europeo del farmaco, nel febbraio 2021, e il giugno 2024, indipendentemente dalla causalità sospetta o dall'uso off-label. Ogni segnalazione è stata codificata secondo la terminologia standardizzata VeDDRA (Veterinary Dictionary for Drug Related Affairs).

Nel periodo considerato risultano vendute 18.102.535 dosi di bedinvetmab a livello globale, con 17.162 eventi avversi segnalati in 17.775 cani, per un tasso complessivo di 9,48 eventi ogni 10.000 dosi. Applicando la classificazione di frequenza proposta dal CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences), la quasi totalità dei segni clinici rilevati rientra nelle categorie "raro" (1-10 eventi/10.000 dosi) o "molto raro" (<1 evento/10.000 dosi); il segno più frequente è risultato la mancanza di efficacia (1,70/10.000), seguito da polidipsia, atassia, poliuria/pollachiuria, anoressia, letargia, morte ed emesi.

Un dato demografico che gli autori sottolineano è l'età elevata della popolazione coinvolta nelle segnalazioni: età media 11,4 anni, con quasi l'80% dei cani di età ≥10 anni o non nota, e condizione clinica pretrattamento prevalentemente classificata come "discreta", un profilo sensibilmente diverso da quello medio dell'intero database canino Zoetis (età media 4,7 anni, condizione "buona"). Gli autori usano questo confronto per sostenere che gran parte degli eventi avversi osservati possa essere influenzata da comorbidità tipiche dell'invecchiamento, piuttosto che essere direttamente attribuibile al farmaco.

Il punto di maggiore interesse per la presente tesi riguarda l'approfondimento dedicato agli eventi muscoloscheletrici, motivato - dichiarano gli stessi autori - da segnalazioni aneddotiche di un'artropatia non classificata in un piccolo numero di cani trattati. Interrogando il database con parole chiave quali "RPOA (rapidly progressive osteoarthritis)", "rapid", "progress", "fracture", "radiograph" e i termini VeDDRA "arthritis", "bone and joint disorder NOS" e "joint pain NOS", gli autori identificano 2.404 casi complessivi che coinvolgono il sistema muscoloscheletrico o includono un referto radiografico (pari a 1,33 eventi/10.000 dosi). Di questi, il 69% viene descritto come non

correlato a problematiche ortopediche (radiografie eseguite per altre ragioni) e il 6% presenta informazioni insufficienti per una valutazione; il restante 25% viene classificato come mancanza di efficacia o normale progressione dell'OA. La conclusione degli autori è netta: nessuno dei casi musculoscheletrici esaminati soddisfa i criteri diagnostici della RPOA come descritta in medicina umana.

A supporto di questa conclusione, gli autori richiamano inoltre l'evidenza disponibile sui modelli animali: nei roditori sono stati riportati effetti sia neutri che negativi sulla progressione dell'OA in seguito a inibizione del NGF, ma la RPOA non è mai stata descritta in un modello animale; uno studio più recente su conigli ha osservato un'artropatia progressiva associata ad anticorpi anti-NGF, ma gli autori ne sottolineano la scarsa comparabilità con la RPOA umana e l'impossibilità di estrapolarne le conclusioni a cani con OA spontanea.

Un secondo segnale discusso è l'atassia, per la quale gli autori riconoscono un pattern temporale più articolato: le segnalazioni, molto rare fino a marzo 2023, aumentano sensibilmente dopo il lancio in Canada e, soprattutto, dopo il lancio statunitense (settembre 2023), in coincidenza con un aumento della discussione pubblica online, inclusa la pubblicazione di un articolo del Wall Street Journal nell'aprile 2024. A differenza della RPOA, qui gli autori adottano un tono più cauto, ammettendo esplicitamente che "una relazione causale potrebbe esistere" e che sono in corso ulteriori valutazioni, pur suggerendo che l'aumento delle segnalazioni possa essere in parte spiegato dal notoriety bias (l'aumento delle segnalazioni spontanee successivo alla pubblicazione di un allarme di sicurezza).

Sul piano dei limiti, gli stessi autori riconoscono le criticità intrinseche dei dati di farmacovigilanza spontanea: la dipendenza da segnalazioni non sistematiche, soggette a bias di sotto-segnalazione, notoriety bias e "Weber effect"; la frequente incompletezza delle informazioni cliniche disponibili; la presenza di fattori confondenti come comorbidità e farmaci concomitanti; e l'impossibilità - riconosciuta anche dal CIOMS - di stimare un'incidenza reale in assenza di certezza sia sul numeratore (eventi effettivamente segnalati) sia sul denominatore (numero di animali realmente esposti).

I dati presentati da Farrell et al. (2025) e da Monteiro et al. (2025) affrontano la stessa domanda - esiste un rischio di danno articolare accelerato associato al bedinvetmab? - partendo da basi metodologiche difficilmente comparabili, e questo spiega buona parte

della loro apparente contraddizione più di quanto non lo faccia una reale discrepanza sui fatti.

Prima di entrare nel confronto specifico, va ricollocato anche il dato di Reid et al. (2024) presentato in apertura del capitolo. Il miglioramento della qualità di vita osservato in quello studio si basa su un follow-up di 70 giorni, una finestra temporale non disegnata per rilevare eventi rari o a lunga latenza come quelli discussi da Farrell. I due studi, quindi, non sono realmente in competizione: rispondono a domande diverse - l'uno sull'effetto percepito nel breve termine, l'altro sul rischio articolare accumulato nell'arco di anni - e il quadro incoraggiante del primo non può essere usato per attenuare le preoccupazioni sollevate dal secondo, né viceversa. Il punto di massima divergenza tra Farrell e Monteiro riguarda la RPOA. Farrell riporta il giudizio di un panel di 18 esperti indipendenti, che ha giudicato "molto sospetta" la relazione causale in un sottogruppo di 19 cani selezionati proprio perché già clinicamente sospetti per un quadro di distruzione articolare; Monteiro, facendo uno screening dell'intero database aziendale con parole chiave (2.404 casi totali), non identifica alcun caso che soddisfi i criteri di RPOA. Le due cifre non sono in reale contraddizione statistica: descrivono popolazioni diverse per definizione. Farrell parte da un campione arricchito di casi sospetti e li sottopone a revisione clinica, radiografica e istopatologica indipendente; Monteiro parte da uno screening testuale su un database che - come la stessa Farrell fa notare - non dispone nemmeno del termine "RPOA" nel vocabolario VeDDRA, classificando questi eventi sotto etichette generiche come "artrite" o "zoppia". Un metodo di ricerca per parole chiave che non include il termine specifico della condizione che vuole escludere è strutturalmente meno sensibile di una revisione radiografica caso per caso: la discrepanza numerica è quindi almeno in parte un artefatto della sensibilità diagnostica dei due metodi, non necessariamente un'evidenza a favore dell'assenza di rischio. Detto questo, anche l'analisi di Farrell ha limiti che vanno riconosciuti con lo stesso rigore. Il sottogruppo sottoposto a revisione istopatologica è di 19 casi, e l'intera analisi di disproporzionalità sulle 878 segnalazioni EudraVigilance è stata condotta da un singolo specialista veterinario, senza una seconda revisione indipendente che ne verificasse la classificazione. Un giudizio "molto sospetta" espresso all'unanimità da un panel è un segnale forte, ma resta un giudizio qualitativo su un campione piccolo e preselezionato, non una stima di incidenza; la solidità del segnale sta nella convergenza del panel, non nella sua rappresentatività numerica.

Un secondo elemento di squilibrio riguarda cosa Monteiro non affronta. La risposta aziendale offre un contro-quadro aggregato e solido su scala globale, ma non risponde punto per punto alle criticità più specifiche sollevate da Farrell: non commenta la discrepanza di classificazione riscontrata in 9 dei 19 casi (47%) tra la segnalazione del veterinario curante e quella depositata dall'azienda, né la critica diretta allo studio di sicurezza di Krautmann et al. (2021) per aver definito "lieve" un'erosione cartilaginea in 2 beagle su 5, già citata nel paragrafo 4.3.2. Il silenzio su questi punti specifici non equivale a una loro refutazione, e resta un vuoto nel dibattito che la letteratura attuale non ha ancora colmato.

Un terzo elemento utile al confronto è l'atteggiamento diverso che gli stessi autori di Monteiro adottano verso due segnali distinti: sull'atassia, riconoscono esplicitamente che "una relazione causale potrebbe esistere" e che sono in corso ulteriori valutazioni; sulla RPOA, invece, la conclusione è di assenza di casi confermati. Questa asimmetria suggerisce che l'azienda stessa considera i segnali con soglie di cautela diverse, un dato che vale la pena notare, senza necessariamente attribuirgli un significato univoco.

Resta il limite comune ad entrambe le fonti, esplicitamente riconosciuto anche dagli autori di Monteiro: i dati di farmacovigilanza spontanea non permettono di stimare un'incidenza reale, per l'incertezza sia sul numeratore (segnalazioni, soggette a notoriety bias e Weber effect) sia sul denominatore (numero di animali realmente esposti). Questo limite metodologico si applica con uguale forza all'analisi di disproporzionalità di Farrell, anch'essa costruita su dati di sorveglianza spontanea e non su uno studio prospettico controllato.

Va infine segnalato un limite di ordine più generale, che riguarda l'intero quadro di sicurezza presentato in questo capitolo: sia Farrell che Monteiro si concentrano esclusivamente sul bedinvetmab. Non esiste, ad oggi, un'analisi equivalente sul frunevetmab, né sull'eventuale rischio articolare nel gatto, un limite che va segnalato esplicitamente, non colmato per analogia tra le due specie o tra i due farmaci.

Per concludere, le due fonti non sono conciliabili su un piano puramente quantitativo, ma la loro giustapposizione permette di isolare i punti realmente aperti nel dibattito: l'assenza di un termine di classificazione dedicato nel vocabolario di farmacovigilanza veterinaria, la mancanza di una risposta puntuale alle criticità di classificazione, e - più in generale - l'impossibilità, con i soli dati oggi disponibili, di escludere o confermare con certezza un

segnale raro ma potenzialmente grave. Uno studio prospettico indipendente con follow-up radiografico programmato, e l'introduzione del termine RPOA nel VeDDRA (già richiesta da Farrell et al.), sembrano i passi più concreti per superare l'attuale situazione di stallo interpretativo.

In sintesi, bedinvetmab e frunevetmab hanno dimostrato, nei rispettivi studi registrativi e nei dati real-world, un'efficacia superiore al placebo nel controllo del dolore da OA, con un profilo di sicurezza complessivamente favorevole. Restano tuttavia, per il solo bedinvetmab, i dubbi sollevati da Farrell et al. (2025) su un possibile rischio di danno articolare accelerato, nonostante i risultati incoraggianti dello studio di Monteiro et al. (2025). Definito così il profilo dei due anticorpi monoclonali considerati singolarmente, il capitolo seguente ne ricolloca il ruolo all'interno del più ampio panorama terapeutico dell'OA.

5. DALLA MONOTERAPIA ALLA POLITERAPIA MULTIMODALE CON MABS NEL DOLORE OSTEOARTROSICO

5.1 LIMITI DELLE TERAPIE TRADIZIONALI

I FANS e gli analgesici oppioidi rappresentano da decenni i due cardini farmacologici della gestione del dolore osteoartrosico, agendo rispettivamente come inibitori delle cicloossigenasi e quindi della sintesi dei prostanoidi e come agonisti dei recettori oppioidi (μ , κ , δ) distribuiti nel SNC e periferico. Entrambe le classi presentano degli svantaggi che ne condizionano l'impiego a lungo termine nella gestione di una patologia cronica come l'OA.

I FANS, pur efficaci, comportano un rischio intrinseco di effetti avversi gastroenterici, renali ed emostatici che possono frequentemente riscontrarsi anche utilizzando farmaci inibitori selettivi o preferenziali della COX-2, e richiedono un'attenta selezione del paziente in presenza di comorbidità o terapie concomitanti - una condizione tutt'altro che infrequente nella popolazione geriatrica maggiormente colpita da OA (B. Monteiro & Steagall, 2019). Gli oppioidi, dal canto loro, mostrano una marcata variabilità di risposta individuale, in parte su base genetica (come nel caso del deficit del gene *MDR1* in alcune razze canine), necessitano di somministrazioni ripetute e frequenti per mantenere l'efficacia analgesica, causano rapidamente tolleranza e dipendenza e presentano il rischio, ancora poco caratterizzato in clinica veterinaria, di iperalgesia indotta da oppioidi (OIH) (Simon & Steagall, 2017).

Se da un lato i FANS uniscono l'azione analgesica a quella antinfiammatoria, dall'altro inibendo la sintesi delle PG deprimono anche l'azione omeostatica che i prostanoidi svolgono in tutto l'organismo. Gli analgesici oppioidi invece sono molto efficaci nel sopprimere le sensazioni dolorifiche ma non hanno effetti antinfiammatori di rilievo. Questi limiti delle terapie tradizionali del dolore da OA hanno progressivamente orientato la ricerca verso approcci innovativi in grado di colpire in modo specifico un singolo target molecolare della cascata nocicettiva, presupposto concettuale su cui si fonda l'introduzione dei farmaci biologici anti-NGF nella pratica clinica, e la conseguente evoluzione verso una gestione multimodale del dolore osteoartrosico.

5.2 INTEGRAZIONE DEI MABS NEI PROTOCOLLI DI TERAPIA MULTIMODALE

5.2.1 DALLA MONOTERAPIA AL PARADIGMA MULTIMODALE

La gestione del dolore osteoartrosico nel cane ha tradizionalmente fatto perno sui FANS come opzione di prima linea, spesso utilizzati come monoterapia. Tuttavia, la natura cronica, progressiva e multifattoriale dell'OA - caratterizzata da componenti infiammatorie periferiche, SC e comorbidità legate all'età - ha reso evidente il limite di un approccio farmacologico singolo. Le linee guida COAST (Canine OsteoArthritis Staging Tool) - un sistema di classificazione della gravità dell'OA canina in quattro stadi progressivi, sviluppato da un gruppo internazionale di esperti con l'obiettivo di guidare scelte terapeutiche stage-specifiche - (Cachon et al., 2023), sanciscono esplicitamente questo cambio di paradigma, raccomandando un modello "base and build": una base comune di elementi fondazionali (educazione del proprietario, gestione del peso, esercizio fisico modificato, fisioterapia/riabilitazione, modifiche ambientali) su cui si innestano, in maniera progressiva e stage-specifica, gli interventi farmacologici e biologici. È in questa cornice, dove il controllo farmacologico del dolore ha la funzione di rendere possibile, e non di sostituire, il recupero funzionale attraverso le componenti non farmacologiche, in particolare il mantenimento del tono muscolare e della mobilità, che va inquadrata l'introduzione dei mAbs anti-NGF (bedinvetmab e frunevetmab), i quali non hanno sostituito il paradigma multimodale, ma vi si sono inseriti come nuova classe terapeutica affiancabile - e non necessariamente alternativa - ai FANS, aprendo la possibilità di combinazioni razionali basate sui differenti meccanismi d'azione. Il documento di consenso COAST Development Group (Cachon et al., 2023) colloca i mAbs anti-NGF, insieme ai FANS, come opzione unanimemente raccomandata (9/9) per il controllo del dolore negli stadi clinici COASTeR 2, 3 e 4, riconoscendo ai due farmaci "dataset comparabili" e "approvazioni simili per l'uso". È interessante notare che, per lo stadio 2 (OA lieve), il consenso non è stato unanime sulla scelta del farmaco di prima linea: 3 membri su 9 del panel consideravano i FANS come opzione preferenziale, mentre 6 su 9 ritenevano equivalenti FANS e anti-NGF mAb come prima linea.

5.2.2 ASSOCIAZIONE DEI MABS CON ADIUVANTI ANALGESICI E NUTRACEUTICI

Il razionale dell'associazione tra mAbs e altri agenti analgesici risiede nella molteplicità dei bersagli molecolari coinvolti nel dolore osteoartrosico cronico. Mentre i mAbs anti-NGF agiscono a livello periferico, sequestrando il NGF circolante e impedendone il legame ai recettori TrkA/p75NTR, la componente di SC e di dolore neuropatico che caratterizza gli stadi avanzati di OA coinvolge prevalentemente vie a livello spinale e del SNC: i canali del calcio voltaggio-dipendenti presinaptici (target dei gabentinoidi quale gabapentin o pregabalin), i recettori NMDA (target dell'amantadina) e il sistema endocannabinoide, distribuito sia perifericamente sia a livello centrale (target del cannabidiolo o CBD). Questa complementarità periferico-centrale tra il meccanismo d'azione del mAb e quello degli adiuvanti costituisce il fondamento razionale, sul piano farmacologico, dell'associazione tra le due categorie di farmaci quando la sola terapia primaria non sia sufficiente a garantire un controllo adeguato del dolore.

Per gli stadi COASTeR 3 e 4, le linee guida COAST (Cachon et al., 2023) raccomandano, con supporto di maggioranza, l'aggiunta di analgesici adiuvanti (amantadina, gabapentin, paracetamolo) al trattamento primario - FANS o mAb - nei pazienti che, pur rispondendo al trattamento di base, richiedono un ulteriore controllo del dolore, in particolare in presenza di una componente di SC o sospetto dolore neuropatico. Un principio cardine ribadito nel documento è che l'adiuvante si aggiunge alla terapia primaria senza sostituirla, e va introdotto solo dopo la conferma dell'efficacia del trattamento primario (tipicamente alla prima rivalutazione, a un mese dall'inizio della terapia). Le linee guida canadesi (Mosley et al., 2022) confermano un approccio concettualmente analogo - gabapentin o pregabalin come opzione di seconda linea, amantadina come terza linea - pur non includendo ancora, all'epoca della loro stesura, il mAb come raccomandazione core per mancata disponibilità del prodotto in Canada.

Sul versante dei nutraceutici, lo studio di (Brioschi et al., 2020) ha valutato l'aggiunta di CBD (cannabinoide privo di effetti psicotropi) per via transmurale orale (2 mg/kg ogni 12 h) a un protocollo multimodale già comprendente un antinfiammatorio (firocoxib o prednisone), gabapentin e amitriptilina, in cani con OA spontanea. I risultati hanno mostrato una riduzione significativa del Pain Severity Score e del Pain Interference Score (CBPI) nel gruppo CBD rispetto al gruppo di controllo, con miglioramento anche della Quality of Life Index, senza eventi avversi rilevanti oltre a lieve ptialismo transitorio. Va sottolineato che questo studio non ha coinvolto direttamente i mAbs anti-NGF: il suo

valore per il presente capitolo è quindi indiretto, e risiede nel dimostrare la fattibilità farmacologica dell'aggiunta di un nutraceutico ad un regime multimodale già articolato, un principio estendibile, per analogia meccanicistica più che per evidenza diretta, a protocolli comprendenti i mAbs. Coerentemente, le linee guida COAST (Cachon et al., 2023) collocano il CBD come raccomandazione di maggioranza (6/9) per lo stadio COASTeR 4, ipotizzandone un ruolo di potenziamento dell'effetto analgesico dei farmaci concomitanti nel dolore cronico maladattivo, pur segnalando che la base di evidenza resta limitata ed eterogenea tra i prodotti disponibili in commercio.

5.2.3 SICUREZZA DELL'ASSOCIAZIONE MAB-FANS

Un aspetto centrale per la pratica clinica riguarda la sicurezza dell'associazione tra mAb anti-NGF e FANS, le due classi di farmaci raccomandati come prima linea negli stadi clinici di OA. Le linee guida COAST (Cachon et al., 2023) segnalano esplicitamente l'assenza di dati robusti sull'uso concomitante a lungo termine delle due classi nel cane, pur non escludendo, negli stadi più avanzati (COASTeR 3-4), una valutazione rischio:beneficio individuale che giustifichi l'associazione quando il controllo del dolore risulti refrattario alla monoterapia. Il documento richiama, a titolo cautelativo, il precedente umano sul rischio di RPOA associato all'uso combinato di anti-NGF e FANS per periodi prolungati, già discusso nel paragrafo 4.3.2; tuttavia, nel cane non è stato fino ad oggi descritto un corrispettivo clinico di tale evento avverso. Su questo specifico punto, il contributo di (Mobasheri et al., 2025) - un commento critico pubblicato su *Frontiers in Veterinary Science*, che non presenta dati originali ma sintetizza le evidenze di farmacovigilanza disponibili - offre un aggiornamento rilevante e più recente rispetto al documento COAST. Gli autori discutono le segnalazioni, emerse dalla sorveglianza post-marketing, di eventi avversi neurologici (atassia, convulsioni, paresi) e muscoloscheletrici (zoppia) in cani trattati con bedinvetmab, e la loro possibile - seppur non dimostrata - associazione con la RPOA. Gli autori sottolineano con chiarezza che i case report finora pubblicati non stabiliscono un nesso di causalità, e che l'identificazione stessa della RPOA nel cane è resa difficile dall'assenza di criteri diagnostici standardizzati e dalla variabilità della presentazione clinica, che rende arduo distinguerla dalla naturale progressione della malattia. Ciò nonostante, proprio sulla base dell'esperienza maturata in medicina umana, gli autori raccomandano un atteggiamento prudente riguardo alla associazione tra bedinvetmab e FANS, suggerendo di limitarne o monitorarne

strettamente l'uso concomitante fino alla disponibilità di dati più definitivi, posizione che rafforza, con evidenze più aggiornate, la cautela già espressa dalle linee guida COAST.

Sul fronte della sicurezza del mAb come agente singolo, il confronto diretto randomizzato tra bedinvetmab e meloxicam condotto da Innes et al. (2025) offre un dato rilevante: nel gruppo bedinvetmab sono stati riportati 4 eventi avversi su 52 cani, contro 17 su 49 nel gruppo meloxicam (per lo più disturbi gastrointestinali). Da questi tassi di eventi avversi, gli autori hanno calcolato un number needed to harm (NNH) per meloxicam, rispetto a bedinvetmab, pari a 5 (IC 95%: 2,8–27,2): in altre parole, occorrerebbe trattare in media cinque cani con meloxicam perché uno sviluppi un danno aggiuntivo rispetto a quanto osservato con bedinvetmab. Va precisato che l'NNH è per definizione una misura comparativa direzionale - non esiste un "NNH del bedinvetmab" isolato - poiché il farmaco funge qui da braccio di riferimento con il tasso di eventi avversi più basso, non da braccio sperimentale rispetto al quale calcolare un danno aggiuntivo. Lo stesso studio segnala inoltre che, a seguito dell'approvazione regolatoria di bedinvetmab, i dati di farmacovigilanza post-marketing hanno evidenziato la poliuria (e la conseguente polidipsia) come evento avverso raro (1-10 casi su 10.000 animali trattati) associato al farmaco, non emerso come tale negli studi registrativi iniziali, un esempio di come il profilo di sicurezza di una molecola di recente introduzione continui ad affinarsi nel tempo grazie alla sorveglianza post-marketing su larga scala. Questi elementi, pur non risolvendo la questione della sicurezza dell'associazione con i FANS, indicano nel complesso un profilo di tollerabilità favorevole del mAb come componente di un eventuale regime multimodale, dato che può orientare la scelta clinica su quale farmaco utilizzare per il protocollo di base a cui affiancare eventuali adiuvanti.

5.2.4 EVIDENZE REAL-WORLD: RIDUZIONE DELLA POLITERAPIA DOPO INTRODUZIONE DEL MAB

Un contributo particolarmente rilevante per illustrare l'impatto pratico dell'integrazione dei mAbs nella terapia multimodale viene dallo studio osservazionale multicentrico di Gildea et al. (2024), condotto su 1932 patient record forms raccolti da 375 veterinari in Francia, Germania, Italia, Spagna e Regno Unito nel primo anno di commercializzazione del bedinvetmab. Prima dell'introduzione del mAb, il 62% dei pazienti aveva già ricevuto un trattamento farmacologico per l'OA, con una media di 1,9 farmaci per paziente (1,5 nei casi lievi, 1,8 nei moderati, 2,2 nei gravi). Dopo l'introduzione di bedinvetmab, la

proporzione di pazienti che necessitava di più di un farmaco è scesa dal 47% al 31% ($p < 0,05$), e il numero medio di farmaci per paziente si è ridotto a 1,3 ($p < 0,05$), con una monoterapia raggiunta nel 75% dei casi (contro il 46% osservato prima della disponibilità del mAb). Solo una minoranza di pazienti (14,5%) ha necessitato dell'aggiunta di ulteriori terapie dopo l'avvio di bedinvetmab, principalmente nutraceutici (63,6% delle aggiunte) e tramadolo (13,2%). Questi dati suggeriscono che, nella pratica clinica reale, l'introduzione del mAb non si configura necessariamente come l'ennesimo tassello di un protocollo multimodale sempre più complesso, ma può in molti casi semplificarlo, riducendo il carico farmacologico complessivo, con potenziali ricadute positive sulla compliance del proprietario e sul rischio di eventi avversi dovuti all'utilizzo di più farmaci. L'integrazione dei mAbs anti-NGF nei protocolli multimodali per il dolore osteoartrosico canino si configura quindi su più livelli complementari: un razionale farmacologico fondato sulla complementarità periferico-centrale dei bersagli molecolari coinvolti nel dolore cronico, una cornice di raccomandazioni cliniche stadio-specifiche (linee guida COAST), la necessità - solo parzialmente risolta in letteratura - di definire i limiti di sicurezza dell'associazione con i FANS, e infine un riscontro pratico, su dati di utilizzo reale su larga scala, di un effetto complessivamente semplificante sul carico terapeutico piuttosto che di un suo ulteriore aggravamento. Restano tuttavia aperte questioni rilevanti - in particolare l'assenza di studi randomizzati a lungo termine sull'associazione mAb-FANS e la scarsità di dati specifici sull'integrazione con i nutraceutici, che rappresentano altrettanti terreni di ricerca ancora da esplorare, e che verranno ripresi nel paragrafo successivo dedicato alle prospettive future.

Caratteristica	mAb anti-NGF	FANS	Opioidi
Meccanismo d'azione	Sequestro dell'NGF, blocco TrkA/p75NTR	Inibizione COX-1/COX-2	Agonisti recettori μ , κ , δ
Via e frequenza	SC, mensile	Orale, giornaliera	Orale/iniettabile, più volte/die
Eliminazione	Catabolismo proteico, minimo epato-renale	Epatica e renale	Prevalentemente epatica
Effetti avversi principali	Lievi nel real-world; segnali aperti su bedinvetmab	Gastroenterici, renali, emostatici	Variabilità individuale, iperalgesia da oppioidi
Tolleranza/dipendenza	Assente	Assente	Presente
Comorbidità geriatriche	Impatto epato-renale minimo	Richiede selezione attenta	Rischio da accumulo/variabilità
Efficacia vs placebo	47% vs 37% (bedi); 75,9% vs 64,7% (frune)	Non testata in questi RCT	Non testata in questi RCT
Ruolo multimodale	Trattamento di base	Prima linea storica	Aggiuntivo per breakthrough pain
Nodo aperto sicurezza	Dibattito RPOA non risolto	Ben caratterizzata	Dipendenza/tolleranza note

Figura 11. Confronto tra mAb anti-NGF, FANS e oppioidi rispetto alle principali caratteristiche farmacologiche e cliniche rilevanti per la gestione del dolore osteoartrosico: meccanismo d'azione, via e frequenza di somministrazione, eliminazione, effetti avversi principali, tolleranza/dipendenza, gestibilità nel paziente geriatrico con comorbidità, efficacia dimostrata negli studi registrativi, ruolo all'interno della terapia multimodale e principali nodi aperti sulla sicurezza a lungo termine.

5.3 NUOVE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE E ORIZZONTI FUTURI DI RICERCA

5.3.1 IL NODO IRRISOLTO DELLA RPOA: VERSO UNA STANDARDIZZAZIONE DIAGNOSTICA

Il capitolo 4 ha già presentato in dettaglio il dibattito aperto tra Farrell et al. (2025) e la risposta di Monteiro et al. (2025) sul possibile legame tra bedinvetmab e RPOA, evidenziando come le due fonti, pur muovendo da basi metodologiche diverse, convergano su un punto: l'assenza, nel vocabolario di farmacovigilanza veterinaria, di un termine dedicato per classificare in modo standardizzato questi eventi. Mobasheri et al. (2025) offrono un aggiornamento più recente a questo dibattito, spostando l'attenzione dalla discussione sui singoli casi già esaminata al problema, ancora irrisolto, della

standardizzazione diagnostica necessaria per superare lo stallo interpretativo descritto nel paragrafo 4.3.3.

Il termine RPOA è diventato recentemente un tema centrale nello sviluppo dei farmaci per l'OA, soprattutto in seguito alla sua associazione con la classe degli analgesici anti-NGF. Mobasheri et al. (2025), riprendendo il quadro già discusso nel paragrafo 4.3.2, sottolineano come l'identificazione della RPOA nel cane resti complicata dalla mancanza di criteri diagnostici standardizzati e dalla variabilità dei quadri clinici - lo stesso vuoto terminologico VeDDRA discusso nel capitolo precedente. In medicina veterinaria, la comparsa di RPOA nei cani trattati con bedinvetmab rimane oggetto di indagine, sorveglianza e attenzione clinica. Mobasheri et al. (2025) richiamano gli stessi casi di deterioramento articolare al gomito già descritti da Farrell et al. (2025) e discussi nel paragrafo 4.3.2, sottolineando come, pur non permettendo di stabilire un nesso causale, essi impongano vigilanza clinica e ulteriori controlli di sicurezza. Tecniche di imaging avanzato e studi strutturali longitudinali sono indispensabili per distinguere la RPOA dalla naturale evoluzione dell'OA e per chiarire eventuali legami con le terapie anti-NGF. Ciò richiama alla mente il lavoro fondamentale svolto quasi trent'anni fa dalla premio Nobel Rita Levi-Montalcini e dai suoi collaboratori, i quali, dopo la scoperta del NGF, avvertirono che questa molecola va considerata un mediatore multifunzionale, capace di influenzare non solo la percezione del dolore ma anche funzioni neuro-immuno-endocrine di fondamentale importanza per la regolazione dell'omeostasi fisiologica, con un possibile coinvolgimento nei processi patologici derivanti dallo squilibrio dell'omeostasi locale o sistemica. Qualsiasi trattamento in grado di bloccare la produzione e la trasmissione del segnale di questo importante fattore di crescita richiede quindi un monitoraggio di sicurezza a lungo termine, sia nell'uomo sia negli animali da compagnia. La proposta più concreta emersa da questo confronto - già anticipata nel sottocapitolo 4.3.3 - resta l'introduzione di un termine diagnostico dedicato nel vocabolario VeDDRA, condizione necessaria prima ancora di poter progettare lo studio prospettico indipendente auspicato da entrambe le fonti. Fino ad allora, la vigilanza clinica sui segni di rapido deterioramento articolare e la sistematica segnalazione ai sistemi di farmacovigilanza restano gli unici strumenti concretamente disponibili per colmare, caso dopo caso, il vuoto di dati che oggi impedisce di stabilire con certezza incidenza, fattori di rischio e patogenesi della RPOA nei pazienti canini (Mobasheri 2025).

5.3.2 OLTRE L'OA: NUOVE INDICAZIONI CLINICHE IN ESPLORAZIONE

Se il paragrafo precedente ha messo in luce come la ricerca sui mAbs anti-NGF debba ancora consolidare le basi metodologiche della farmacovigilanza nell'ambito consolidato dell'OA, un secondo fronte di sviluppo riguarda l'ampliamento stesso del campo di applicazione di questi farmaci. Il razionale biologico che ha guidato l'introduzione di bedinvetmab e frunevetmab nell'OA - il ruolo del NGF come mediatore centrale della SP e SC nel dolore cronico - non è infatti specifico del tessuto articolare, ma è condiviso da numerose altre condizioni patologiche caratterizzate da dolore persistente. Della Rocca et al. (2025) hanno recentemente sistematizzato le evidenze precliniche e cliniche, in gran parte mutate dalla medicina umana e da modelli murini, che indicano nell'asse NGF-TrkA un bersaglio terapeutico plausibile anche in condizioni di natura oncologica, viscerale e neuropatica nel cane e nel gatto. Sebbene per la maggior parte di queste indicazioni manchino ancora studi clinici veterinari controllati - e il grado di solidità del razionale vari sensibilmente da una condizione all'altra - il quadro complessivo suggerisce che l'impiego dei mAbs anti-NGF possa, nel prossimo futuro, estendersi ben oltre il perimetro per cui sono stati originariamente registrati.

Le principali applicazioni potenziali individuate sono:

- Osteosarcoma (OSA): numerosi studi in vitro e in vivo (sia murini che su linee cellulari umane e canine) dimostrano che la via NGF-TrkA promuove proliferazione, sopravvivenza e metastatizzazione delle cellule tumorali, oltre a mediare il dolore oncologico. Studi preliminari su cani con tumori ossei trattati con bedinvetmab in associazione a zoledronato e analgesici hanno mostrato benefici clinici significativi, aprendo la strada a un possibile duplice effetto analgesico e potenzialmente antitumorale.
- Cistite idiopatica felina (FIC): il NGF è aumentato nella vescica di pazienti (umani e felini) con cistite interstiziale/FIC e contribuisce alla sensibilizzazione neurale e all'iperattività vescicale. Studi sull'uomo con tanezumab e altri mAb antinfiammatori mostrano risultati incoraggianti; un solo studio felino conferma l'aumento di NGF nell'urotelio, ma mancano ancora dati clinici sull'efficacia del blocco del NGF nel gatto.
- Malattia infiammatoria intestinale (IBD): il NGF è implicato nella sensibilità viscerale e nel dolore associato a IBD/IBS nell'uomo, con risultati preclinici contrastanti (sia protettivi che aggravanti a seconda del modello). Mancano

studi veterinari specifici, ma l'uso di mAbs anti-NGF disponibili potrebbe rappresentare un'opzione adiuvante.

- Dolore orofacciale: ipotesi di coinvolgimento del NGF nella gengivostomatite cronica felina e nella sindrome del dolore orofacciale felino (FOPS), per analogia con condizioni umane (nevralgia del trigemino, burning mouth syndrome), sebbene manchino ancora dati specifici in medicina veterinaria.
- Dolore neuropatico e dolore cronico post-chirurgico (CPSP): il NGF è un mediatore chiave della SP e SC nel dolore neuropatico, agendo anche tramite la regolazione dei canali del sodio Nav1.7. Il blocco del NGF ha mostrato effetti analgesici in modelli animali, suggerendo un potenziale ruolo anche nella prevenzione del CPSP (Della Rocca 2025).

5.3.3 DALL'ANALGESIA ALLA MODIFICA DELLA MALATTIA: L'IPOTESI DMOAD E ALTRI BERSAGLI MOLECOLARI PER IL DOLORE CRONICO

Per concludere questa sezione, va sottolineato che il NGF, oltre a svolgere un ruolo centrale nell'insorgenza e nel mantenimento del dolore da OA, potrebbe essere coinvolto anche nella patogenesi stessa della malattia: un'aumentata espressione di NGF è stata infatti collegata all'angiogenesi osteocondrale e ad una maggiore densità di osteoclasti, associata a lesioni midollari dell'osso subcondrale. L'angiogenesi e le lesioni midollari subcondrali non sono solo all'origine del dolore, ma contribuiscono anche alla progressione della malattia: secondo alcuni ricercatori, l'angiogenesi favorirebbe infiammazione e danno tissutale, alimentando così la patogenesi dell'OA. Altri ricercatori ipotizzano invece che sia possibile prevenire o attenuare la malattia articolare e il dolore ad essa correlato riducendo l'angiogenesi e la formazione di terminazioni nervose provenienti dall'osso subcondrale verso la cartilagine articolare. Sono necessari ulteriori studi per verificare se i mAbs anti-NGF possano configurarsi non soltanto come farmaci analgesici, ma anche come veri e propri farmaci modificanti il decorso dell'OA (Disease Modifying Osteoarthritis Drugs, DMOADs) (Della Rocca 2025). Se da un lato si apre l'ipotesi di un ruolo disease-modifying per i mAbs anti-NGF specificamente nell'OA, dall'altro la letteratura sulla classe dei mAbs nel dolore cronico in generale sta esplorando bersagli molecolari alternativi (CGRP, IL-6, TNF, MMP9, HMGB1) che potrebbero in futuro affiancare o integrare l'approccio anti-NGF anche in veterinaria.

Coerentemente con quanto esplicitato nel paragrafo precedente (5.3.2), i mAbs risultano pertanto estremamente utili in numerose patologie:

- Malattie autoimmuni: queste condizioni sono caratterizzate da proliferazione, migrazione e attivazione dei linfociti B e T, con conseguente secrezione di citochine e molecole proinfiammatorie che determinano danno cellulare. In questo contesto, i mAbs hanno il compito di sopprimere le risposte eccessive, inibendo il reclutamento cellulare o l'interazione tra cellule presentanti l'antigene e linfociti T, oltre a bloccare l'attivazione e la deplezione dei linfociti B e T, inibendo così il rilascio di citochine proinfiammatorie.
- Malattie infettive: i mAbs possono legarsi direttamente ai virus, inibendone la replicazione, oppure, come nel caso dell'HIV, legarsi ai recettori CD4 delle cellule immunitarie, impedendo l'ingresso del virus all'interno della cellula ospite.
- Oncologia: in ambito oncologico, i mAbs mirano a inibire la tumorigenesi e la migrazione delle cellule tumorali attraverso diverse vie d'azione. Il primo approccio consiste nell'uccisione diretta della cellula tumorale, tramite gli anticorpi coniugati già introdotti nel sottocapitolo 3.1.2 - coniugati a farmaci citotossici o a radionuclidi - utilizzati come vettori specifici del trattamento verso il tumore. Il secondo approccio prevede il legame a specifici recettori, tramite l'induzione della cascata apoptotica cellulare mediante agonismo recettoriale, oppure tramite antagonismo recettoriale specifico che inibisce la dimerizzazione del recettore o il legame con il ligando, determinando cascate a valle che portano ad una ridotta proliferazione o all'apoptosi. Inoltre, un'ulteriore strategia consiste nel dirigere le cellule immunitarie verso le cellule tumorigeniche affinché ne effettuino l'attacco, sfruttando gli stessi meccanismi ADCC e CDC già descritti nel paragrafo 3.1.1, oppure tramite l'inibizione della via di fuga dai checkpoint immunitari (inattivazione dei recettori inibitori dei linfociti T). Le cellule tumorali si legano, tramite PD-L1 (programmed death-ligand 1), ai recettori PD-1 (programmed death-protein 1) dei linfociti T per inibire la risposta immunitaria che altrimenti distruggerebbe la proliferazione maligna; pertanto, il legame dei mAbs a PD-1 e PD-L1 blocca questa inibizione. Inoltre, le cellule cancerogene possono essere colpite in modo specifico tramite l'ablazione delle cellule vascolari e stromali, ottenuta mediante il rilascio mirato di tossine, l'inibizione di agonisti a livello vascolare, o l'inibizione specifica delle

cellule stromali. L'ultima strategia riguarda i mAbs bispecifici (già menzionati nel paragrafo 3.1.2), qui applicati specificamente per far convergere l'attacco immunitario sul tumore: un braccio riconosce le cellule tumorali, mentre l'altro attivi antigeni sulle cellule effettrici del sistema immunitario, incluso il CD3.

Se l'ipotesi di un ruolo disease-modifying resta per ora circoscritta al solo bersaglio NGF nel contesto specifico dell'OA, una prospettiva complementare emerge guardando alla classe dei mAbs per il dolore cronico nel suo complesso, (Sánchez-Robles et al., 2021) sottolineano come il NGF sia solo uno dei numerosi bersagli molecolari coinvolti nella genesi e nel mantenimento del dolore cronico, accanto a mediatori come il TNF, il CGRP, le interleuchine IL-6 e IL-20, le metalloproteinasi di matrice (in particolare MMP9) e la proteina HMGB1 - tutti implicati, con meccanismi diversi ma spesso convergenti sulla stessa cascata MAPK, nella SP e SC che sostiene la cronicizzazione del dolore. Per alcuni di questi bersagli esistono già mAbs approvati o in sperimentazione in medicina umana per altre condizioni dolorose croniche (ad esempio gli anti-CGRP nell'emicrania o gli anti-IL-6 nell'artrite reumatoide), il che apre uno scenario, ancora del tutto inesplorato in campo veterinario, di una possibile futura diversificazione dei bersagli molecolari anche per il dolore cronico del cane e del gatto, oltre al solo asse NGF-TrkA. Questa prospettiva di ampliamento incontra tuttavia un limite strutturale comune a tutta la classe dei mAbs, che vale la pena richiamare in chiusura: le loro caratteristiche molecolari - dimensioni elevate e idrofilicità - ne impediscono il passaggio attraverso la barriera emato-encefalica, confinandone l'azione alla sola componente periferica del dolore. Poiché il SNC svolge un ruolo determinante nella percezione e nel mantenimento del dolore cronico, in particolare nelle fasi in cui la SC è già instaurata, questo rappresenta un limite intrinseco della monoterapia con mAb, indipendentemente dal bersaglio molecolare specifico. Gli stessi autori suggeriscono che una strategia combinata - un mAb ad azione periferica affiancato da farmaci convenzionali capaci di penetrare a livello centrale - possa rivelarsi più efficace della sola monoterapia nella gestione del dolore cronico. Si tratta di un principio che richiama direttamente quanto già discusso a proposito degli adiuvanti analgesici nel sottocapitolo 5.2.2, e che suggerisce come la ricerca futura sui mAbs anti-NGF in medicina veterinaria non possa prescindere da un ripensamento della loro collocazione all'interno di protocolli multimodali strutturati, piuttosto che come alternativa esclusiva ad essi (Sánchez-Robles et al., 2021).

6. CONCLUSIONI

Il percorso tracciato in questa tesi restituisce un quadro in cui gli anticorpi monoclonali anti-NGF non rappresentano semplicemente un nuovo farmaco all'interno di una classe terapeutica già affollata, ma un cambio di paradigma nel modo di concepire il trattamento del dolore cronico da OA: dal controllo farmacologico ad ampio spettro, tipico di FANS e oppioidi, ad un'azione mirata su un singolo mediatore molecolare - il NGF - che si colloca a monte dei processi di SP e SC responsabili della cronicizzazione del dolore.

Le evidenze raccolte nel corso della tesi delineano un profilo terapeutico solido ma non privo di zone d'ombra. Gli studi registrativi controllati con placebo hanno dimostrato un'efficacia analgesica significativa sia per il bedinvetmab nel cane sia per il frunevetmab nel gatto, confermata dai dati real-world sulla qualità della vita raccolti successivamente alla commercializzazione. Il confronto diretto con lo standard of care rappresentato dai FANS, reso disponibile solo di recente da Innes et al. (2025), ha mostrato un'efficacia sovrapponibile a quella del meloxicam, ma con un profilo di sicurezza a breve termine più favorevole ed un risultato che rafforza la collocazione clinica del bedinvetmab, pur trattandosi ancora di un singolo studio, con un follow-up limitato a due mesi. Parallelamente, le segnalazioni di farmacovigilanza relative al rischio di osteoartrosi rapidamente progressiva (RPOA) impongono cautela, e sottolineano quanto sia necessario un monitoraggio continuativo nel tempo, soprattutto per un trattamento destinato, per definizione, ad un uso cronico e prolungato.

È proprio questa combinazione - efficacia consolidata nel breve-medio periodo e incertezza residua sul lungo termine - a suggerire la collocazione più corretta di questi farmaci: non come sostituti delle terapie tradizionali, ma come componente di un approccio multimodale alla gestione del dolore osteoartrosico, da calibrare caso per caso in base al profilo del paziente, alle comorbidità presenti e alla tollerabilità individuale ai FANS. In questa prospettiva, l'introduzione dei mAbs anti-NGF amplia in modo significativo le opzioni terapeutiche disponibili al clinico, senza tuttavia esaurire il bisogno di ulteriori studi comparativi a lungo termine, in grado di chiarire definitivamente il reale rapporto rischio-beneficio di un trattamento che, ad oggi, rappresenta senza dubbio la più importante innovazione nella gestione del dolore cronico osteoartrosico in medicina veterinaria dall'introduzione dei FANS, oltre vent'anni fa.

A conclusione di questo lavoro, il valore di questa nuova classe di farmaci sembra doversi collocare proprio nella sua capacità di ampliare, più che sostituire, l'arsenale terapeutico a disposizione del clinico. Un meccanismo d'azione mirato, alternativo a quello dei FANS,

appare particolarmente rilevante per quei pazienti - non infrequenti nella pratica clinica quotidiana - per cui le terapie tradizionali risultano controindicate o scarsamente tollerate a causa di comorbidità renali, gastroenteriche o epatiche. Resta tuttavia aperta una questione che non può essere elusa: i dati di sicurezza disponibili coprono orizzonti temporali ancora limitati rispetto a quelli, spesso pluriennali, della pratica clinica reale. Prima di poter affermare con certezza che gli anticorpi monoclonali anti-NGF costituiscano un reale punto di svolta nella gestione del dolore cronico in medicina veterinaria, sarà necessario attendere i risultati della farmacovigilanza post-marketing e di studi comparativi disegnati su periodi di trattamento più estesi, un passaggio imprescindibile per valutare con rigore un rapporto rischio-beneficio che, ad oggi, può dirsi solidamente promettente, ma non ancora del tutto consolidato.

BIBLIOGRAFIA

- Bajaj, P., Bajaj, P., Graven-Nielsen, T., & Arendt-Nielsen, L. (2001). Osteoarthritis and its association with muscle hyperalgesia: An experimental controlled study. *Pain*, 93(2), 107–114. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(01\)00300-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(01)00300-1)
- Bedson, J., & Croft, P. R. (2008). The discordance between clinical and radiographic knee osteoarthritis: A systematic search and summary of the literature. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 9(1), 116. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-9-116>
- Belshaw, Z., Asher, L., Harvey, N. D., & Dean, R. S. (2015). Quality of life assessment in domestic dogs: An evidence-based rapid review. *The Veterinary Journal*, 206(2), 203–212. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.07.016>
- Brioschi, F. A., Di Cesare, F., Gioeni, D., Rabbogliatti, V., Ferrari, F., D'Urso, E. S., Amari, M., & Ravasio, G. (2020). Oral Transmucosal Cannabidiol Oil Formulation as Part of a Multimodal Analgesic Regimen: Effects on Pain Relief and Quality of Life Improvement in Dogs Affected by Spontaneous Osteoarthritis. *Animals*, 10(9), 1505. <https://doi.org/10.3390/ani10091505>
- Brown, A. G., & Iggo, A. (1967). A quantitative study of cutaneous receptors and afferent fibres in the cat and rabbit. *The Journal of Physiology*, 193(3), 707–733. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1967.sp008390>
- Brown, D. C. (2017). What can we learn from osteoarthritis pain in companion animals? *Clinical and Experimental Rheumatology*.
- Bryniarski, M. A., Tuhin, M. T. H., Acker, T. M., Wakefield, D. L., Sethaputra, P. (Gemy), Cook, K. D., Soto, M., Ponce, M., Primack, R., Jagarapu, A., LaGory, E. L., & Conner, K. P. (2024). Cellular Neonatal Fc Receptor Recycling Efficiencies can Differentiate Target-Independent Clearance Mechanisms of Monoclonal

- Antibodies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 113(9), 2879–2894.
<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2024.06.013>
- Burgess, P. R., & Perl, E. R. (1967). Myelinated afferent fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin. *The Journal of Physiology*, 190(3), 541–562.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.1967.sp008227>
- Castelli, M. S., McGonigle, P., & Hornby, P. J. (2019). The pharmacology and therapeutic applications of monoclonal antibodies. *Pharmacology Research & Perspectives*, 7(6), e00535. <https://doi.org/10.1002/prp2.535>
- Della Rocca, G., Coaccioli, S., & Di Salvo, A. (2025). Beyond Osteoarthritis: Emerging Applications of Anti-NGF Monoclonal Antibodies in Pain Management in Dogs and Cats. *Animals*, 15(22), 3243. <https://doi.org/10.3390/ani15223243>
- Duh, K., Funaro, M.G., DeGouveia, W., Bahlani, S., Pappas, D., Najjar, S., Tabansky, I., Moldwin, R., Stern, J.N.H. (2018). Crosstalk between the immune system and neural pathways in interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Discover Medicine*. 25(139), 243-250. PMID: 29906407
- Enomoto, M., Mantyh, P. W., Murrell, J., Innes, J. F., & Lascelles, B. D. X. (2019). Anti-nerve growth factor monoclonal antibodies for the control of pain in dogs and cats. *Veterinary Record*, 184(1), 23–23. <https://doi.org/10.1136/vr.104590>
- Frézier, M., Delsart, A., Lefort-Holguin, M., Lachapelle, S., Otis, C., Lussier, B., Beaudry, H., Castel, A., & Troncy, E. (2025). Translational validity of quantitative sensory testing in chronic pain neuro-sensitization: Guide of use and interpretation in osteoarthritis animal models. *Frontiers in Pain Research*, 6, 1709275.
<https://doi.org/10.3389/fpain.2025.1709275>
- Gearing, D. P., Virtue, E. R., Gearing, R. P., & Drew, A. C. (2013). A fully caninised anti-NGF monoclonal antibody for pain relief in dogs. *BMC Veterinary Research*, 9(1), 226. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-226>

- Gildea, E., North, C., Walker, K., Adriaens, F., & Lascelles, B. D. X. (2024). Use of Bedinvetmab (Librela®) for Canine Osteoarthritis in France, Germany, Italy, Spain, and the UK: Quantitative Analysis of Veterinarian Satisfaction and Real-World Treatment Patterns. *Animals*, 14(15), 2231.
<https://doi.org/10.3390/ani14152231>
- Gruen, M. E., Myers, J. A. E., & Lascelles, B. D. X. (2021). Efficacy and Safety of an Anti-nerve Growth Factor Antibody (Frunevetmab) for the Treatment of Degenerative Joint Disease-Associated Chronic Pain in Cats: A Multisite Pilot Field Study. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 610028.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.610028>
- Gruen, M. E., Myers, J. A. E., Tena, J.-K. S., Becskei, C., Cleaver, D. M., & Lascelles, B. D. X. (2021). Frunevetmab, a felinized anti-nerve growth factor monoclonal antibody, for the treatment of pain from osteoarthritis in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 35(6), 2752–2762.
<https://doi.org/10.1111/jvim.16291>
- Hernández-Avalos, I., Martínez-Burnes, J., Mora-Medina, P., Olmos-Hernández, A., Lezama-García, K., Domínguez-Oliva, A., Miranda-Cortes, A., Casas-Alvarado, A., & Mota-Rojas, D. (2026). A narrative review on canine chronic pain: Neurobiological insights and assessment methods to establish quality of life. *Frontiers in Animal Science*, 7, 1751141.
<https://doi.org/10.3389/fanim.2026.1751141>
- Koltzenburg, M., Torebjörk, H. E., & Wahren, L. K. (1994). Nociceptor modulated central sensitization causes mechanical hyperalgesia in acute chemogenic and chronic neuropathic pain. *Brain*, 117(3), 579–591. <https://doi.org/10.1093/brain/117.3.579>
- Krautmann, M., Walters, R., Cole, P., Tena, J., Bergeron, L. M., Messamore, J., Mwangi, D., Rai, S., Dominowski, P., Saad, K., Zhu, Y., Guillot, M., & Chouinard, L. (2021).

- Laboratory safety evaluation of bedinvetmab, a canine anti-nerve growth factor monoclonal antibody, in dogs. *The Veterinary Journal*, 276, 105733.
<https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2021.105733>
- Lefort-Holguin, M., Delsart, A., Frézier, M., Martin, L., Otis, C., Moreau, M., Castel, A., Lussier, B., Martel-Pelletier, J., Pelletier, J.-P., & Troncy, E. (2025). Osteoarthritis in cats: What we know, and mostly, what we don't know. . . yet. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 27(7), 1098612X251347999.
<https://doi.org/10.1177/1098612X251347999>
- Leon, A., & Levi-Montalcini, R. (1994). Mast cells synthesize, store, and release nerve growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
- Levi-Montalcini, R., Skaper, S. D., Dal Toso, R., Petrelli, L., & Leon, A. (1996). Nerve growth factor: From neurotrophin to neurokinin. *Trends in Neurosciences*, 19(11), 514–520. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(96\)10058-8](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(96)10058-8)
- Loeser, J. D., & Treede, R.-D. (2008). The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology ☆. *Pain*, 137(3), 473–477. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.04.025>
- Mantyh, P. W., Koltzenburg, M., Mendell, L. M., Tive, L., Shelton, D. L., & Warner, D. S. (2011). Antagonism of Nerve Growth Factor-TrkA Signaling and the Relief of Pain. *Anesthesiology*, 115(1), 189–204.
<https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e31821b1ac5>
- Mathews, K., Kronen, P. W., Lascelles, D., Nolan, A., Robertson, S., Steagall, P. V., Wright, B., & Yamashita, K. (2014). Guidelines for Recognition, Assessment and Treatment of Pain: WSAVA Global Pain Council members and co-authors of this document: *Journal of Small Animal Practice*, 55(6).
<https://doi.org/10.1111/jsap.12200>

- McDougall, J. J., Andruski, B., Schuelert, N., Hallgrímsson, B., & Matyas, J. R. (2009). Unravelling the relationship between age, nociception and joint destruction in naturally occurring osteoarthritis of Dunkin Hartley guinea pigs. *Pain*, 141(3), 222–232. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2008.10.013>
- Mease, P. J., Hanna, S., Frakes, E. P., & Altman, R. D. (2011). Pain Mechanisms in Osteoarthritis: Understanding the Role of Central Pain and Current Approaches to Its Treatment: Figure 1. *The Journal of Rheumatology*, 38(8), 1546–1551. <https://doi.org/10.3899/jrheum.100759>
- Michels, G. M., Honsberger, N. A., Walters, R. R., Kira S. Tena, J., & Cleaver, D. M. (2023). A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled multisite, parallel-group field study in dogs with osteoarthritis conducted in the United States of America evaluating bedinvetmab, a canine anti-nerve growth factor monoclonal antibody. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 50(5), 446–458. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2023.06.003>
- Mobasheri, A., Hanson, P., & Larkin, J. (2025). Rapidly progressive osteoarthritis (RPOA) in companion animals treated with bedinvetmab (Librela™): An expected pathophysiological phenomenon or a cause for concern? *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1640217. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1640217>
- Monteiro, B. P., Lascelles, B. D. X., Murrell, J., Robertson, S., Steagall, P. V. M., & Wright, B. (2023). 2022 WSAVA guidelines for the recognition, assessment and treatment of pain. *Journal of Small Animal Practice*, 64(4), 177–254. <https://doi.org/10.1111/jsap.13566>
- Monteiro, B. P., Simon, A., Knesl, O., Mandello, K., Nederveld, S., Olby, N. J., Innes, J. F., & Lascelles, B. D. X. (2025). Global pharmacovigilance reporting of the first monoclonal antibody for canine osteoarthritis: A case study with bedinvetmab

- (Librela™). *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1558222.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1558222>
- Mosley, C., Edwards, T., Romano, L., Truchetti, G., Dunbar, L., Schiller, T., Gibson, T., Bruce, C., & Troncy, E. (2022). Proposed Canadian Consensus Guidelines on Osteoarthritis Treatment Based on OA-COAST Stages 1–4. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 830098. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.830098>
- Ohashi, Y., Uchida, K., Fukushima, K., Inoue, G., & Takaso, M. (2023). Mechanisms of Peripheral and Central Sensitization in Osteoarthritis Pain. *Cureus*.
<https://doi.org/10.7759/cureus.35331>
- Pedersen, T. R., Berendt, M., & Rusbridge, C. (2025). Neuroanatomy of spinal nociception and pain in dogs and cats: A practical review for the veterinary clinician. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1534685.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1534685>
- Pye, C., Bruniges, N., Peffers, M., & Comerford, E. (2022). Advances in the pharmaceutical treatment options for canine osteoarthritis. *Journal of Small Animal Practice*, 63(10), 721–738. <https://doi.org/10.1111/jsap.13495>
- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X.-J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: Concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976–1982.
<https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>
- Renukuntla, J., Vadlapudi, A. D., Patel, A., Boddu, S. H. S., & Mitra, A. K. (2013). Approaches for enhancing oral bioavailability of peptides and proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, 447(1–2), 75–93.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.02.030>

- Sánchez-Robles, E. M., Girón, R., Paniagua, N., Rodríguez-Rivera, C., Pascual, D., & Goicoechea, C. (2021). Monoclonal Antibodies for Chronic Pain Treatment: Present and Future. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10325. <https://doi.org/10.3390/ijms221910325>
- Schuelert, N., & McDougall, J. J. (2009). Grading of monosodium iodoacetate-induced osteoarthritis reveals a concentration-dependent sensitization of nociceptors in the knee joint of the rat. *Neuroscience Letters*, 465(2), 184–188. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.08.063>
- Seidel, M. F., Wise, B. L., & Lane, N. E. (2013). Nerve growth factor: An update on the science and therapy. *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(9), 1223–1228. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2013.06.004>
- Simon, B. T., & Steagall, P. V. (2017). The present and future of opioid analgesics in small animal practice. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 40(4), 315–326. <https://doi.org/10.1111/jvp.12377>
- Singh, R., Singh, S., & Lillard, J. W. (2008). Past, Present, and Future Technologies for Oral Delivery of Therapeutic Proteins. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(7), 2497–2523. <https://doi.org/10.1002/jps.21183>
- Supadej, K., Khamrin, P., Kumthip, K., Kochjan, P., Yodmeeklin, A., Ushijima, H., & Maneekarn, N. (2017). Wide variety of recombinant strains of norovirus GII in pediatric patients hospitalized with acute gastroenteritis in Thailand during 2005 to 2015. *Infection, Genetics and Evolution*, 52, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.025>
- Treede, R.-D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Finnerup, N. B., First, M. B., Giamberardino, M. A., Kaasa, S., Kosek, E., Lavand'homme, P., Nicholas, M., Perrot, S., Scholz, J., Schug, S., Smith, B.

- H., ... Wang, S.-J. (2015). A classification of chronic pain for ICD-11. *Pain*, 156(6), 1003–1007. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000000160>
- Yan, H., Guo, J., Zhou, W., Dong, C., Liu, J. (2022). Health-related quality of life in osteoarthritis patients: a systematic review and meta-analysis. *Psychology, Health and Medicine*, 27, 1859-1874. doi: 10.1080/13548506.2021.1971725
- Walters, R. R., Boucher, J. F., & De Toni, F. (2021). Pharmacokinetics and Immunogenicity of Frunevetmab in Osteoarthritic Cats Following Intravenous and Subcutaneous Administration. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 687448. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.687448>
- Wang, J., Zhou, X., Elazab, S. T., Huang, J., & Hsu, W. H. (2025). Current Review of Monoclonal Antibody Therapeutics in Small Animal Medicine. *Animals*, 15(4), 472. <https://doi.org/10.3390/ani15040472>
- Woolf, C. J. (2011). Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*, 152(3), S2–S15. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.09.030>