

# The role of the CGRP in the pathogenesis and treatment of migraine

## Znaczenie CGRP w patogenezie i leczeniu migreny

Olga Kuzawińska, Krzysztof Lis, Grzegorz Cessak, Ewa Bałkowiec-Iskra

### ABSTRACT

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is a 37-amino acid neuropeptide. It has two forms:  $\alpha$  and  $\beta$ . CGRP is widely expressed in the central and peripheral nervous systems. Great attention is paid to examining the role of CGRP in pain transmission, including modulation of the function of other neurotransmitters. CGRP is regarded as a key mediator in pain response; it is released

from the trigeminovascular system after stimulation of sensory nerve endings. It is well documented that CGRP has a very important role in the pathogenesis of migraine. The concentration of CGRP increases in response to stimulation of the trigeminal ganglion. CGRP may affect the activity of sensory neurons by direct control of the pain response in the course of a migraine attack. Therefore, trials are being conducted to develop effective medicines, which could block CGRP's activity or decrease its concentration. The efficacy of a few CGRP receptor antagonists in the treatment of migraine has been demonstrated in clinical trials. The potential use of monoclonal antibodies directed against CGRP or its receptors is also highlighted. They should decrease severity and frequency of migraine attacks by reducing the levels of CGRP or block its action. These drugs can become an effective alternative to triptans in migraine treatment and to other medicines used in the treatment of disorders associated with dysfunction of the trigeminal nerve.

### STRESZCZENIE

Peptyd pochodny genu kalcytoniny (*calcitonin gene-related peptide*, CGRP) jest neuropeptydem złożonym z 37 aminokwasów. CGRP występuje w dwóch izoformach:  $\alpha$  i  $\beta$ . Jego obecność stwierdzono zarówno w ośrodkowym, jak i obwodowym układzie nerwowym. Największą uwagę poświęca się badaniu roli CGRP w przekaźnictwie bólowym, w tym w modulacji funkcji neurotransmiterów. CGRP uważany jest za główny mediator reakcji bólowej, uwalniany w układzie trójdzielnym w wyniku stymulacji zakończeń nerwowych. Wiele



Received 22.09.2015

Accepted 10.10.2015

### AFFILIATION / AFILIACJA

Medical University of Warsaw, Department of Experimental and Clinical Pharmacology

### KEYWORDS

- calcitonin gene-related peptide (CGRP)
- migraine
- trigeminal nerve
- CGRP antagonists
- antibodies

### SŁOWA KLUCZOWE

- peptyd pochodny genu kalcytoniny CGRP
- migrena
- nerw trójdzielny
- antagoniści CGRP
- przeciwciała

### CORRESPONDENCE ADDRESS / ADRES DO KORESPONDENCJI

Ewa Bałkowiec-Iskra

Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, ul. Banacha 1b, 02-097 Warszawa, Poland

phone: +48 22 116 61 16, email: ebalkowiec@wum.edu.pl

danych wskazuje na kluczową rolę CGRP w patogenezie migreny. Stwierdzono, że stężenie CGRP wzrasta w odpowiedzi na pobudzenie zwoju trójdzielnego. CGRP może wpływać na aktywność neuronów czuciowych, bezpośrednio regulując reakcję bólową w przebiegu napadu migreny. W związku z tym trwają badania mające na celu opracowanie skutecznych leków blokujących jego działanie lub obniżających stężenie. W badaniach klinicznych wykazano skuteczność w leczeniu migreny kilku

antagonistów receptora CGRP. Zwrócono także uwagę na potencjalne zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko CGRP lub jego receptorom. Mają one zmniejszać nasilenie napadów migreny oraz ich częstość poprzez obniżenie stężenia CGRP lub blokowanie jego działania. Leki te mogą stać się skuteczną alternatywą nie tylko dla tryptanów w leczeniu migreny, ale także innych leków stosowanych w leczeniu schorzeń związanych z zaburzeniami funkcji nerwu trójdzielnego.

## Introduction

Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is a 37-amino acid neuropeptide. It belongs to the calcitonin family of proteins, which also includes calcitonin, amylin, adrenomedullin and adrenomedullin-2 (Poyner 1997).

CGRP exists in two forms  $\alpha$  and  $\beta$ , which differ in three amino acids (Noguchi *et al.* 1990).  $\alpha$ -CGRP isoform is the most widespread one and its presence is confirmed both in the central and peripheral nervous systems.  $\beta$ -CGRP is mainly present in the nerve endings within intestines (Mulder *et al.* 1985).

The presence of  $\alpha$ -CGRP, hereinafter referred to as CGRP, was confirmed within striatum, amygdala, superior colliculi of the tectum and cerebellum (van Rossum *et al.* 1997). Together with other peptides, it is present in sensory fibres C and A $\delta$ , which participate in pain transmission. Release of CGRP from nerve endings takes place mainly during pain response, which is accompanied by an inflammatory reaction (Donnerer and Stein 1992).

CGRP reveals activity in the alimentary, respiratory and nervous tracts. CGRP release from the nerve endings leads to vasodilatation and development of an inflammatory reaction. Endothelial cells, mastocytes and thrombocytes are activated, which in turn leads to an increase of extracellular levels of amines, peptides and ions (Moskowitz 1993). It has been postulated that CGRP may also support the gastro-protective role of prostaglandins (Brzozowski *et al.* 2005). However, great attention is paid to examining the role of CGRP in pain transmission, including modulation of the function of other neurotransmitters (Benarroch 2011). The role of CGRP in pathogenesis of trigeminal nerve disorders is shown by the increase of CGRP concentration in response to stimulation of the trigeminal ganglion cells in vitro (Bałkowiec-Iskra 2010). Fibers containing this peptide are located in the ganglion, nerve and the trigeminal nerve nucleus (Tarsa *et al.* 2010). It was shown that approximately 50% of neurons of human trigeminal ganglion contain CGRP (van Rossum *et al.* 1997).

It has been shown in the animal model that in female mice the expression of CGRP in the trigeminal nerve ganglion is statistically significantly higher than in male mice (Kuzawińska *et al.* 2014). This may explain the differences in the frequency of diseases induced by disorders of the trigeminal nerve function between females and males. It is extremely important due to the fact that the changeability of pain perception in individuals of both sexes still remains unexplained (Romanowska 2009).

## CGRP synthesis and distribution

Forms  $\alpha$  and  $\beta$  — being in 90% similar in structural terms — originate from different genes, which are situated in different places of chromosome 11. Due to the alternative splicing, calcitonin or CGRP originate from the CALC-I gene and  $\beta$ -CGRP from CALC-II (Streenbergh *et al.* 1986). Both forms contain 4 domains. The first seven amino acids at the end of NH<sub>2</sub> create a domain of annular structure maintained by the disulphide bond.

The regulation mechanisms of CGRP and  $\beta$ -CGRP-synthesis are still poorly understood. Synthesis increase in inflammatory tissue may be connected with a local release of the nerve growth factor (NGF) from cells such as macrophages and keratinocytes (Donnerer, Stein 1992). Increased concentrations of both NGF and CGRP are observed in patients suffering from migraine (Jang *et al.* 2011). The increase of both the intracellular concentration and the release of CGRP in neurones of trigeminal ganglion in vitro is influenced by the tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Moreover, the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) has an effect on the release and activity of CGRP. The presence of BDNF was shown in a considerable population of the trigeminal ganglion neurons revealing the CGRP expression (Bałkowiec-Iskra 2011).

The CGRP release from the sensory neurons may be the effect of activation of the capsaicin receptor TRPV 1 (transient receptor potential-voltage-dependent type 1).

The presence of CGRP was confirmed both in the central and peripheral nervous system (Rosenfeld *et al.* 1983).

It is believed that the main activity of CGRP is exerted locally, within the vessel walls. The release of CGRP from the perivascular nerves leads to the vasodilatation and — if it takes place within innervation by the trigeminal nerve — may provoke a migraine attack. CGRP concentration increase in the external cervical vein is observed in the course of a migraine attack. Cerebral vessels are innervated with fibres containing CGRP (Olesen and Edvinsson 1991).

### CGRP receptors

Initially, two types of receptors were described, i.e. 1-CGRP and 2-CGRP. According to IUPHAR, it is assumed that there is only one CGRP receptor, while other CGRP “receptors” are in fact the receptors of other peptides from the calcitonin family, to which CGRP shows affinity (Hay *et al.* 2008).

The CGRP receptor is in fact a complex comprising of the following: calcitonin receptor-like receptor (CLR), built-up of 461 amino acids and 7 transmembrane domains, receptor activity modifying protein (RAMP) as well as the receptor component protein (RCP) (Lin *et al.* 1991). At present, 3 RAMP sub-types are known (1, 2, 3). They are necessary to transport the CLR receptor to the cytomembrane (Choksi *et al.* 2002).

CLR belongs to the family of G protein-coupled receptors (GPCRs), which also contain the calcitonin receptors, the vasoactive intestine peptide (VIP), pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and parathyroid hormone (PTH). The CLR/RAMP1 complex may be antagonised by CGRP<sub>8-37</sub> as well as the non-peptide molecules, which are the subject of various clinical studies.

It was shown that CGRP also reveals affinity to the receptor for adrenomedullin-2 (AM2), created by the CLR and RAMP3 binding (Hay *et al.* 2003).

Proper functioning of the CGRP receptor is conditioned by the presence of the constituent protein of the RCP receptor. It is a protein connected with cytomembrane binding only with CGRP. RCP co-operate with the CLR protein, ensuring the optimal work of the complex (Evans *et al.* 2000).

Once CGRP is released from the cell, it binds with the CLR/RAMP1 receptor on the target cells, causing activation of various pathways which modulate the gene expression and the activity of ionic channels (Walker *et al.* 2010).

### The activity of CGRP

#### Vasodilatation activity

It is estimated that the CGRP potential to cause dilation of vessels of the microcirculation region is 10 times higher than that of prostaglandins and 10–100 times higher

than other substances, which have the same activity as acetylcholine and substance P. Moreover, the effect of CGRP activity is longer than in other vasodilating substances. Erythema resulting from cutaneous injection of CGRP remains for up to 5–6 hours (Brain *et al.* 1986). The vasodilation activity of CGRP was confirmed in the brain, coronary vessels and kidneys (Brain and Grant 2004). It can be inhibited by the selective antagonist of the CGRP receptor.

CGRP-mediated vasodilation is both dependent and independent of the endothelium. The endothelium – independent is best known. Once CGRP is administered, cAMP level increases, and — since relaxation may take place in the absence of endothelium — it is suggested that CGRP directly stimulates adenylyl cyclase in the smooth muscle cells, causing the increase of cAMP concentration. A later activation of protein kinase A by cAMP leads to phosphorylation and opening of the ATP-dependent potassium channels, which causes relaxation. It was shown that the antagonist of the ATP-depending potassium channels may inhibit this process (Nelson *et al.* 1900).

Also, the endothelium – dependent pathway may be stimulated by CGRP. CGRP acts by the endothelium cells receptor, which activation results in the cAMP increase and NO secretion. NO diffusion in the smooth muscle cells causes the activation of guanylyl cyclase, which leads to cGMP secretion and muscle relaxation (Gray and Marshall 1992).

#### Cardiovascular system regulation

CGRP is released as a response to a sudden increase of arterial blood pressure in humans, which points to its role in the processes of arterial blood pressure regulation. However, in patients with the primary arterial hypertension, it was observed that CGRP concentrations are lower or unchanged in serum as compared with the control group. It is assumed that CGRP release takes place at early stages of hypertension development. Similarly, CGRP concentration increase in serum is observed in patients after myocardial infarction (Mair *et al.* 1990).

Administration of CGRP antagonist did not influence the heart rate or arterial blood pressure in humans (Olesen *et al.* 2004). This property is believed to be the main advantage of CGRP antagonists as compared with triptans, which are widely used in migraine treatment.

#### Neurogenous inflammation and pain

Depending on the situation, CGRP may have a pro-inflammatory or anti-inflammatory activity (cAMP concentration increase may lead to inhibition of TNF- $\alpha$  release) (Pociecha *et al.* 2015).

Neurogenous inflammation is induced by the release of neuropeptides from the nerve endings. CGRP and substance P (SP) are believed to be the neuropeptides, which

play the most important role in an inflammatory reaction. SP increases permeability of minor blood vessels, and CGRP is a substance, which intensely dilates the vessels. The release of these peptides leads to an increased blood flow, inflow of inflammatory cells and emergence of oedema. It can also inhibit the differentiation and proliferation of lymphocytes. It has an effect on the activity of other inflammatory cells, e.g. macrophages (Russel *et al.* 2014).

The role of CGRP in pain is still the subject of research. It was observed that a peripheral injection of CGRP causes hyperaesthesia in the rat's posterior leg; however, it is much weaker than upon administration of SP (Nakamura-Craig and Gill 1991). Administration of CGRP onto human skin does not invoke hyperalgesia (Weidner *et al.* 2000). Probably, CGRP plays a more significant role in the central than in the peripheral regulation of pain response.

### The role of CGRP in the pathogenesis of migraine

Scientific interest in CGRP started over 20 years ago when it was observed that its concentration increases in the external cervical vein in the course of migraine and cluster headaches (Goadsby *et al.* 1990). Furthermore, it was observed that intravenous administration of CGRP to migraine patients induces its attacks (Lassen *et al.* 2002).

Approximately, 11% of adult population worldwide suffers from migraine; however, it occurs twice more often in females than in males. 13% of patients experience more than one migraine episode a week, which may lead to an inability to work and may result in considerable economic loss (Natoli *et al.* 2010). The symptoms mainly include headache, hypersensitivity to light and sound, nausea, vomiting, fatigue and dizziness.

Advancement in research on pathogenesis of migraine, which took place in the 1990s, revealed that during an episode some neuropeptides — including CGRP — are released from the sensory endings of the trigeminal nerve to the cerebral vessels. They cause what is called neurogenous inflammation, which is believed to play a key role in the development of an attack. The research conducted so far has revealed that the anti-inflammatory activity of CGRP antagonists is not associated with their vessel shrinking activity (Petersen *et al.* 2003).

The fibres releasing CGRP innervate mainly the posterior part of cranial cavity. The CGRP immunoreactive fibres (40% of all neuronal cells) dominate in the trigeminal ganglia. The fibres containing substance P (SP), nitric oxide synthase and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) constitute 18%, 15% and 20% fibres, respectively. Their activation results in dilatation of blood vessels, in the increase of cerebral blood flow and thrombocyte activation. Clinical studies have revealed that during a migraine episode, the increase of

CGRP concentration in the cervical vein takes place parallel to the intensification of pain (Cernuda- -Morollón *et al.* 2013).

An increased release of CGRP was observed both during a migraine episode and in cluster headaches as well as in experimental studies — as a result of electric stimulation of the trigeminal nerve neurons (Bałkowiec-Iskra *et al.* 2011). It can also be reduced by anti-migraine medicines, triptans (5-HT<sub>1B/1D</sub> antagonists) (Stępień *et al.* 2003). An increased level of CGRP was also observed in patients suffering from migraine in the period between episodes (Ashina *et al.* 2000).

Using triptans — the most effective medicines recommended in migraine treatment so far available on the market — is limited due to its negative effect on the cardiovascular system resulting from vasoconstriction. The side-effects caused by triptans include dizziness, hypersomnia, weakness or paraesthesia (Dodick *et al.* 2004). Triptans are contraindicated in patients with coronary disease in the history, with cerebral or peripheral vessels disease or other serious conditions of the cardio-vascular system. Administration of these medicines may lead to cardiologic disorders, such as coronary arterial spasm or transient myocardial ischaemia. Efficacy of triptans in acute treatment of migraine is higher than ergot alkaloids, and it is comparable or higher than in non-steroid anti-inflammatory medicines and paracetamol (Cameron *et al.* 2015).

Due to the fact that various proofs suggest a significant role of CGRP in migraine pathogenesis, there have been continuous studies aimed at developing effective medicines inhibiting its activity. The anti-CGRP antibodies and CGRP antagonists are to decrease both the intensification and frequency of migraine episodes by either reducing the CGRP concentration or inhibiting its activity. The efficacy of the antibodies is limited to the peripheral action but the CGRP antagonists — due to their capability to cross the blood-brain barrier — may also act centrally.

### CGRP antagonists/anti-CGRP antibodies and anti-CGRP receptor antibodies

Studies on medicines inhibiting the action of CGRP currently include both the antagonists of CGRP receptor and the antibodies directed against CGRP and its receptors.

Clinical studies revealed the effectiveness of a few antagonists of CGRP receptors (CGRP-RA) in migraine treatment. These substances compete with CGRP in terms of the place of binding on the receptor. Due to issues related to the toxic effect on the liver as well as difficulties with obtaining an oral form of the medicine, some studies have been discontinued.

**Olcegepant (BIBN4096BS)** was the first studied CGRP antagonist. It was shown that it causes a considerable reduction of pain intensification and prevents



recurrence of headaches, relieves nausea and photophobia. Olcegepant was applied only intravenously. The onset of its action was observed 30 minutes upon medicine administration. The response percentage in the treated group was 60% as compared with 27% in the placebo group. Side-effects occurred in 20% of olcegepant-treated patients and in 12% of patients in placebo group. The most frequent side effects were paraesthesias, far less frequent — nausea, headache, xerostomia and vision disturbances. Response to the medicine was comparable to that of triptans (Olsen *et al.* 2004). Despite the fact that the medicine was well-tolerated and did not cause any serious side-effects, the research on the development of olcegepant was discontinued, probably due to the difficulties in formulation of an oral form of the medicine. A high molecular mass limited the possibilities only to intravenous administration. Owing to the fact that migraine treatment should be carried out mainly in an out-patient clinic, and the CGRP antagonist — to be effective — should be administered directly upon the appearance of migraine symptoms, such a pharmaceutical form made it impossible to apply olcegepant.

**Telcagepant (MK-0974)** was the first CGRP-RA available in the oral form. In clinical studies, it was characterised by higher efficacy than placebo; yet, comparable with triptans. In the 2nd stage of the clinical research, after 2 hours upon administration, reduction of pain intensification was observed respectively in 68.1%, 48.2%, and 67.5% of patients treated with the doses of 300 mg, 400 mg, and 600 mg, respectively, as compared with 69.5% (10 mg of rizatriptan) and 46.3% (placebo). Tolerance to the medicine was better than to rizatriptan and comparable to placebo. Telcagepant caused fewer side effects than triptans and seemed to be safer in patients with cardio-vascular diseases (Ho *et al.* 2008). The main side-effect of triptans is a painful sensation in the chest, weakness, paresthesias, xerostomia, nausea, muscle pains, dizziness, drowsiness and discomfort in the throat.

On the basis of the results of stage 2, doses of 150 mg and 300 mg of telcagepant were used in stage 3 of the research. Telcagepant (300 mg) revealed a similar efficacy to zolmitriptan (5 mg). Tolerance was similar to placebo; undesirable effects were observed in 31% of subjects taking 150 mg of telcagepant, 37% — 300 mg of telcagepant, 51% — 5 mg of zolmitriptan and 32% — placebo, respectively (Ho *et al.* 2008).

Despite promising clinical data regarding the efficacy of the research on the development of telcagepant, the study was discontinued due to concerns on its toxic effect on the liver. Upon the analysis of collected data, it was stated that there was an increase of liver enzymes action in some participants of the 2nd stage of the study who were receiving telcagepant twice daily in order to prevent migraine.

Another studied CGRP antagonist was **MK-3207**. The strength of its action was defined to be from 50 to 100 times higher than telcagepant. Upon administration of the doses of 100 and 200, regression of pain was observed in 23.7% and 36.2% (placebo = 9.8%) and reduction of pain in 52.5% and 69% (placebo = 36.1%). The developmental research was discontinued as in the case of telcagepant, due to the suspected hepatotoxicity (Hewitt *et al.* 2011; Salvatore *et al.* 2010).

**BI44370A** is a CGRP-RA, which in the 2nd stage of the clinical study, was studied in 342 patients. Doses ranging from 50 to 400 mg were compared with placebo and 40 mg of eletriptan. The main end-point, a 2-hour lack of pain, was achieved far more frequently in patients receiving the 400 mg dose (27.4%) and eletriptan (34.8%) than in the placebo group (8.6%). Other doses were no more effective than placebo. The tolerance to the medicine was defined to be excellent. Medicine safety will be assessed in the 3rd stage of the research (Diener *et al.* 2011).

**BMS927711** is still being tested (finished stage 2); in the doses ranging from 75 to 300 mg, it has caused the pain relieve after 2 hours upon administration of the medicine in more patients than in placebo group, similarly to other CGRP-RAs and triptans (the response in 30%). Undesirable events and toxic effect on liver were not reported (Marcus *et al.* 2014).

**BMS742413** is still in the pre-clinical study stage. The medicine is available to be administered in a nasal manner, which ensures a faster onset of its action and as a result – a faster relief of pain. This compound shows a good bioavailability. Contrary to sumatriptan, which is administered in the same manner, it does not cause vasodilatation (Chaturvedula *et al.* 2013).

MK 2918 is also during the process of pre-clinical study. It is a derivative of telcagepant (Paone *et al.* 2011).

Data obtained so far show that a long-term antagonising of CGRP action in physiologic conditions may result in a series of potential side-effects. CGRP plays a role in dilating vessels influenced by various stimuli in reactions such as wound healing or a response to ischaemia. It was shown that many vascular complications may result from a chronic antagonising of CGRP action (e.g. a local ischaemia of tissues during a physiological stress). Conducted clinical research will help assess the benefits and risks ratio as well as the clinical role of a long-term administration of CGRP antagonists.

Due to a considerable toxicity of CGRP-RAs and problems with their pharmaceutical form, a potential application of the monoclonal antibodies against CGRP or its receptors (CGRP-mAbs) has been noted. Their advantages include selectivity and a lower risk of inducing hepatotoxic adverse effects. At present, there is an on-going developmental research over at least 4 monoclonal antibodies which are to be applied in the acute treatment of migraine episodes as well as in the prevention of chronic migraine.

**LY2951742** (humanised CGRP antibodies) is a monoclonal anti-CGRP antibody which strongly and selectively binds with CGRP. In the placebo-controlled studies of the 2nd stage, its efficacy was observed in the reducing the attacks frequency in the dose of 150 mg administered every 2 weeks in patients suffering from episodic migraine. In patients who received the medicine, there was a 63% drop of the number of days with migraine (on average, by 4.2 days less per month), while in the control group this drop equalled 42% (on average, 3 days with migraine less per month). In subjects receiving LY2951742, an increase in side-effects frequency was observed, including the pain in the injection site, infections of upper airways and stomach aches. However, there were no cases of severe side-effects (Dodick *et al.* 2014). At the moment, the 2nd stage of research is being conducted to assess safety and efficacy of the medicine in preventing migraine episodes.

The safety and efficacy of the second humanised antibody against CGRP, i.e. **ALD403**, in preventing frequent episodic migraine attacks was assessed in a 24-week study. In persons receiving ALD403, the number of days with migraine symptoms decreased on average by 5.6% days per month (66% of the subjects), and in those who received placebo, it decreased by 4.6 days (52% of the subjects). In 16% of the participants from the studied group, there was not a single migraine episode for 12 weeks, which was not observed in the control group patients. Side-effects occurred in 57% of the patients taking ALD403 and 52% of the placebo patients. The most frequent side-effects included infections of the upper airways, infections of the urinary tract, weariness, backache, arthralgia, nausea and vomiting (Bigal *et al.* 2015). It should be stressed that ALD403 is manufactured with the use of yeast. This facilitates a faster and cheaper production process.

Contrary to other discussed antibodies, **AMG 334** is a human antibody directed against the complex of CGRP receptor but not the free peptide molecule. This is to prevent the episodic and chronic migraine. In the 1st stage of the research, a statistically significant reduction of migraine pains was observed (dose of 70 mg) (Wrobel Goldberg and Silberstein 2015). In the currently on-going study of the 2nd stage, the long-term safety and efficacy of the medicine in migraine prevention will be assessed.

**LBR-101** (previously known as RN-307 or PF-04427429) is a humanised mAb which strongly and selectively inhibits the binding of human CGRP with its receptor. LBR-101 is studied particularly towards preventive treatment of chronic migraine. In the 1st stage of the research, the doses ranging from 0.2 mg to 2000 mg were studied, however, the maximum tolerated dose has not been determined yet. It was stated that LBR-101 has no effect on arterial blood pressure, temperature or pulse. Furthermore, it did not invoke any liver function disorders. No problems with safety were reported and the tolerance is acceptable in various doses (Walter *et al.* 2014). The results of the 2nd stage, which ended in 2015, are still not available.

At present, triptans are frequently used in the treatment of migraine headaches. These medicines are effective, available in various forms and manners of administration. However, an optimal response is not obtained in as many as 40% of patients who are treated with triptans, and in 20–30% of them recurring migraine episodes which require dose changes or acute treatment are observed. Patients with a partial response to triptans require increasing analgesic doses, which may lead to the increase of the abuse risk. Despite the fact that triptans help control the pain, in some patients they produce side-effects, such as a painful sensation in the chest and neck, drowsiness, dizziness and paresthesias, which preclude their administration. Using the well-tolerated CGRP-RAs would be recommended in such cases. Another group of patients (particularly with co-existing cardiovascular risk factors) who could use CGRP-RAs are those who cannot take triptans or other medicines with vasoconstriction potential due to its action on the circulatory system. Providing an effective alternative to an acute treatment of migraine is a recommendation for using CGRP-RAs.

Anti-CGRP antibodies are developed in order to prevent migraine episodes. A chronic migraine is less prevailing than episodic migraine; however, due to the frequency of pain and a significant deterioration of life quality all patients qualify to preventive treatment. At present, the botulinum toxin A is registered to prevent headaches in adult patients suffering from a chronic migraine. A probable mechanism of preventive action consists in blocking the peripheral signals to the central nervous system, which inhibits central sensitisation. In the clinical studies regarding chronic migraine the frequency of occurrence of side-effects (headache, itching, rash) was 26% during the first therapy and 11% during the second therapy (ChPL Botox).

For the benefit of the patients, it is necessary to introduce additional therapeutic options to the preventive treatment of chronic migraine. The medicines used off-label in this disease have the same limitations as those used in episodic migraine (the need of everyday use and undesirable events). Two of the above-mentioned monoclonal antibodies are studied towards safety and efficacy in chronic migraine (LBR-101 and AMG-334). The LBR-101 antibody is characterised by a long half-life time. Available so far data show a positive safety profile. If its efficacy is confirmed, it is probable that it will become a medicine used in the prevention of headaches, including migraine.

---

## Conclusions

Various sources point to the key role of CGRP in the pathogenesis of migraine. It has been showed that CGRP may have an effect on the activity of sensory neurons, directly regulating the response to pain in the course of

a migraine episode (Olesen *et al.* 2004). There is evidence that CGRP may play a certain role in the treatment of pain resulting from arthritis and skin diseases.

The role of CGRP in the regulation of circulatory system has not been determined yet. Undoubtedly, CGRP is one of the strongest substances dilating the peripheral vessels. Studies on animal models revealed that blocking of CGRP action has a negative effect on the circulatory

system. Possible therapeutic use of CGRP antagonists is being considered.

There are high hopes related with the use of the antagonists of the CGRP receptors and the monoclonal antibodies against CGRP and its receptors. These medicines may become an effective alternative for triptans in the treatment of not only migraine, but also other diseases resulting from trigeminal nerve dysfunction. ■

## Wstęp

Peptyd pochodny genu kalcytoniny (*calcitonin gene-related peptide*) jest neuropeptydem złożonym z 37 aminokwasów. Należy do białek z rodziny kalcytoniny, do której zaliczane są także kalcytonina, amylna, adrenomedulina i adrenomedulina-2 (Poyner 1997).

CGRP występuje w dwóch izoformach:  $\alpha$  i  $\beta$ , które różnią się od siebie trzema aminokwasami (Noguchi i wsp. 1990). Najpowszechniej występuje izoforma CGRP $\alpha$ , której obecność stwierdza się zarówno w ośrodkowym, jak i obwodowym układzie nerwowym. CGRP $\beta$  znajduje się głównie w zakończeniach nerwowych w obrębie jelit (Mulder i wsp. 1985).

Obecność CGRP $\alpha$ , dalej nazywanego w tekście CGRP, potwierdzono w obrębie prądkowia, jądra migdałowego, wzgórków czworaczych pokrywy i mózdzku (van Rossum i wsp. 1997). Wraz z innymi peptydami występuje we włóknach czuciowych C oraz A $\delta$ , które biorą udział w przewodzeniu bólu. Do uwolnienia CGRP z zakończeń nerwowych dochodzi głównie w przebiegu reakcji bólowej, której towarzyszy reakcja zapalna (Donnerer i Stein 1992).

CGRP wykazuje aktywność w przewodzie pokarmowym, układzie oddechowym i układzie nerwowym. Uwolnienie CGRP z zakończeń nerwowych powoduje rozszerzenie naczyń i rozwój stanu zapalnego. Aktywne są komórki śródbłonna, komórki tuczne i płytki krwi, co z kolei powoduje wzrost zewnątrzkomórkowego poziomu amin, peptydów i jonów (Moskowitz 1993). Postuluje się, iż CGRP może też wspomagać gastroprotekcijną rolę prostaglandyn (Brzozowski i wsp. 2005). Największą uwagę poświęca się jednak badaniu funkcji CGRP w przekazywaniu bólowym, w tym w modulacji funkcji neurotransmiterów (Benarroch 2011). Na rolę CGRP w patogenezie schorzeń nerwu trójdzielnego wskazuje wzrost stężenia CGRP wskutek pobudzenia zwoju trójdzielnego (Bałkowiec-Iskra 2010). Włókna zawierające ten peptyd zlokalizowane są zarówno w zwoju, nerwie, jak i jądrze nerwu trójdzielnego (Tarsa i wsp. 2010). Wykazano, że około 50% neuronów ludzkiego zwoju trójdzielnego zawiera CGRP (van Rossum i wsp. 1997).

W modelu zwierzęcym wykazano, że u samic myszy ekspresja CGRP w zwoju nerwu trójdzielnego jest istotnie

statystycznie wyższa niż u samców (Kuzawińska i wsp. 2014). Może to wyjaśniać różnice w częstości występowania schorzeń spowodowanych zaburzeniem funkcji nerwu trójdzielnego między kobietami a mężczyznami. Jest to niezwykle istotne ze względu na fakt, że zmienność percepcji bólowej u osobników obojga płci nadal pozostaje niewyjaśniona (Romanowska 2009).

## Synteza i dystrybucja CGRP

Podobnie strukturalnie w ponad 90% formy  $\alpha$  i  $\beta$  powstają z różnych genów, zlokalizowanych w różnych miejscach chromosomu 11. Wskutek alternatywnego splicingu z genu CALC I powstaje kalcytonina lub CGRP, a z genu CALC II CGRP $\beta$  (Steenbergh i wsp. 1986). Obie formy zawierają 4 domeny. Pierwsze siedem aminokwasów na końcu NH<sub>2</sub> tworzy domenę o strukturze pierścieniowej utrzymywaną przez mostek dwusiarczkowy.

Mechanizmy regulacji syntezy CGRP i CGRP $\beta$  pozostają słabo poznane. Zwiększenie syntezy w tkankach objętych procesem zapalnym może być związane z miejscowym uwalnianiem czynnika wzrostu nerwów (*nerve growth factor*, NGF) z komórek, takich jak makrofagi i keratynocyty (Donnerer, Stein 1992). U pacjentów cierpiących na migrenę obserwowane są zwiększone stężenia zarówno NGF, jak i CGRP (Jang i wsp. 2011). Do wzrostu zarówno wewnątrzkomórkowego stężenia, jak i uwalniania CGRP w neuronach zwoju trójdzielnego *in vitro*, dochodzi pod wpływem czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Także czynnik neurotroficzny pochodzenia mózgowego (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) wpływa na uwalnianie i aktywność CGRP. Obecność BDNF wykazano w znacznej populacji neuronów zwoju trójdzielnego wykazujących ekspresję CGRP (Bałkowiec-Iskra 2011).

Do uwalniania CGRP z neuronów czuciowych może dochodzić pod wpływem aktywacji receptora dla kapsaicyny TRPV1 (*transient receptor potential-voltage-dependent type 1*).

Obecność CGRP stwierdzono zarówno w ośrodkowym, jak i obwodowym układzie nerwowym (Rosenfeld i wsp. 1983). Uważa się, że główne działanie CGRP wywierane jest miejscowo, w obrębie ścian naczyń. Uwolnienie CGRP



z nerwów okołonaczyniowych powoduje rozszerzenie naczyń i, o ile ma to miejsce w obrębie unerwienia przez nerw trójdzielny, może wywołać napad migreny. Wzrost stężenia CGRP w żyłce szyjnej zewnętrznej stwierdza się w przebiegu napadu migreny. Naczynia mózgowe posiadają unerwienie włóknami zawierającymi CGRP (Olesen i Edvinsson 1991).

## Receptory CGRP

Początkowo wskazywano na istnienie dwóch typów receptorów: CGRP1 i CGRP2. Zgodnie z IUPHAR, przyjmuje się, że istnieje tylko jeden receptor CGRP, natomiast inne „receptory” CGRP są w rzeczywistości receptorami innych peptydów z rodziny kalcytoniny, do których CGRP wykazuje powinowactwo (Hay i wsp. 2008).

Receptor CGRP jest w rzeczywistości kompleksem składającym się z: receptora typu kalcytoniny (*calcitonin receptor-like receptor*, CLR) zbudowanego z 461 aminokwasów i 7 domen przezbłonowych, przezbłonowego białka modyfikującego aktywność receptora (*receptor activity modifying protein*, RAMP) oraz białka składowego receptora (*receptor component protein*, RCP) (Lin i wsp. 1991). Obecnie znane są 3 podtypy RAMP (1, 2 i 3). Są one niezbędne do transportu receptora CLR do błony komórkowej (Choksi i wsp. 2002).

CLR należy do rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G (*protein-coupled receptors*, GPCRs), do których zalicza się także receptory kalcytoniny, naczynioaktywnego peptydu jelitowego (VIP), przysadkowego polipeptydu aktywującego cyklazę adenylanową (PACAP) i hormonu przytarczyc (PTH). Kompleks CLR/RAMP1 może być antagonizowany przez CGRP<sub>8-37</sub> oraz cząsteczki niepeptydowe, będące przedmiotem licznych badań klinicznych.

Wykazano, że CGRP ma powinowactwo także do receptora dla adrenomeduliny 2 (AM2), utworzonego przez połączenie CLR i RAMP3 (Hay i wsp. 2003).

Do prawidłowego funkcjonowania receptora CGRP niezbędne jest występowanie białka składowego receptora RCP. Jest to proteina związana z błoną komórkową wiążąca się jedynie z CGRP. RCP współdziała z białkiem CLR, zapewniając optymalne działanie kompleksu (Evans i wsp. 2000).

Po uwolnieniu z komórki CGRP wiąże się z receptorem CLR/RAMP1 na komórkach docelowych, powodując aktywację różnych szlaków, które modulują ekspresję genów i aktywność kanałów jonowych (Walker i wsp. 2010).

## Działanie CGRP

### Działanie rozszerzające naczynia

Szacuje się, iż siła rozszerzania przez CGRP naczyń obszaru mikrokrążenia jest 10 razy większa niż prostaglandyn i 10–100 razy większa niż innych substancji mających takie działanie jak acetylocholina i substancja P.

Co więcej, efekt działania CGRP jest trwalszy niż innych substancji rozszerzających naczynia. Rumień w wyniku wstrzyknięcia do skóry CGRP utrzymuje się do 5–6 godzin (Brain i wsp. 1986). Działanie wazodylatacyjne CGRP potwierdzono w mózgu, naczyniach wieńcowych i nerkach (Brain i Grant 2004). Może ono zostać zahamowane poprzez selektywnego antagonistę receptora CGRP.

Zależne od CGRP rozszerzenie naczyń przebiega zarówno w sposób zależny, jak i niezależny od śródbłonna. Najlepiej poznana jest droga niezależna od śródbłonna. Po podaniu CGRP obserwowany jest wzrost cAMP, a ponieważ relaksacja może zachodzić w nieobecności śródbłonna, sugeruje się, że CGRP bezpośrednio stymuluje cyklazę adenylanową w komórkach mięśni gładkich, powodując wzrost stężenia cAMP. Późniejsza aktywacja kinazy białkowej A przez cAMP prowadzi do fosforylacji i otwarcia kanałów potasowych ATP-zależnych, co powoduje relaksację. Wykazano, że antagonisty kanałów potasowych ATP-zależnych może hamować ten proces (Nelson i wsp. 1990).

Również szlak zależny od śródbłonna może być stymulowany przez CGRP. CGRP działa poprzez receptor komórek śródbłonna, co skutkuje wzrostem cAMP i wytwarzaniem NO. Dyfuzja NO w komórkach mięśni gładkich powoduje aktywację cyklazy guanylanowej, co prowadzi do wytwarzania cGMP, a tym samym relaksacji (Gray i Marshall 1992).

### Regulacja układu sercowo-naczyniowego

CGRP jest uwalniane w odpowiedzi na nagły wzrost ciśnienia tętniczego u ludzi, co wskazuje na jego rolę w procesach regulacji ciśnienia tętniczego. Jednakże u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym stwierdzono obniżone lub niezmiennione stężenia CGRP w surowicy w porównaniu do grupy kontrolnej. Przypuszcza się, że uwalnianie CGRP ma miejsce we wczesnych etapach rozwoju nadciśnienia. Podobnie, podwyższenie stężenia CGRP w surowicy stwierdza się u pacjentów po zawale mięśnia sercowego (Mair i wsp. 1990).

Podanie antagonisty CGRP nie wpływało na częstość akcji serca lub ciśnienie tętnicze u ludzi (Olesen i wsp. 2004). Właściwość tę uznaje się za główną zaletę antagonistów CGRP w porównaniu z szeroko stosowanymi w leczeniu migreny tryptanami.

### Neurogeny stan zapalny i ból

W zależności od sytuacji CGRP może działać prozapalnie (rozszerzanie naczyń) lub przeciwzapalnie (wzrost stężenia cAMP może prowadzić do hamowania uwalniania TNF- $\alpha$ ) (Pociecha i wsp. 2015).

Zapalenie neurogenne jest wywoływane przez uwalnianie neuropeptydów z zakończeń nerwowych. CGRP i substancja P (SP) zaliczane są do neuropeptydów o największej roli w reakcji zapalnej. SP zwiększa



przepuszczalność drobnych naczyń krwionośnych, a CGRP jest substancją bardzo silnie rozszerzającą naczynia. Uwolnienie tych peptydów prowadzi do zwiększenia przepływu krwi, napływu komórek zapalnych oraz wytworzenia obrzęku. Może także hamować różnicowanie i proliferację limfocytów. Ma wpływ na aktywność innych komórek zapalnych, np. makrofagów (Russell i wsp. 2014).

Rola CGRP w bólu jest wciąż przedmiotem badań. Stwierdzono, że obwodowa iniekcja CGRP powoduje przeculicę w tylnej łapie szczura, jednak o wiele słabszą niż po podaniu SP (Nakamura-Craig i Gill 1991). Podanie CGRP na ludzką skórę nie wywołuje hiperalgezji (Weidner i wsp. 2000). Prawdopodobnie CGRP odgrywa istotniejszą rolę w ośrodkowej niż w obwodowej regulacji reakcji bólowej.

### Rola CGRP w patogenezie migreny

CGRP zainteresowano się ponad 20 lat temu, gdy stwierdzono, że jego stężenie wzrasta w żyłce szyjnej zewnętrznej w przebiegu migreny i klastrowych bólów głowy (Goatsby i wsp. 1990). Ponadto stwierdzono, że dożylnie podanie CGRP chorym na migrenę wywołuje jej napad (Lassen i wsp. 2002).

Migrena jest schorzeniem, które dotyka około 11% populacji dorosłych na świecie, przy czym u kobiet stwierdzana jest dwukrotnie częściej niż u mężczyzn. 13% chorych doznaje więcej niż jednego napadu w tygodniu, co może powodować niezdolność do pracy i pociągać za sobą duże straty ekonomiczne (Natoli i wsp. 2010). Objawy obejmują głównie ból głowy, nadwrażliwość na światło i dźwięki, nudności, wymioty, uczucie zmęczenia i zawroty głowy.

Postęp w badaniach nad patogenezą migreny, jaki dokonał się w latach dziewięćdziesiątych XX wieku ujawnił, że w trakcie napadu z zakończeń czuciowych nerwu trójdzielnego uwalniane są do naczyń mózgowych neuropeptydy, w tym CGRP. Powodują one wystąpienie tzw. zapalenia neurogennego, któremu przypisywana jest kluczowa rola w rozwoju napadu. Dotychczasowe badania wykazały, że przeciwmigrenowe działanie antagonistów CGRP nie jest związane z ich działaniem obkurczającym naczynia (Petersen i wsp. 2003).

Włókna uwalniające CGRP unerwiają głównie tylną część jamy czaszki. W zwojach trójdzielnych dominują włókna CGRP – immunoreaktywne (40% wszystkich komórek neuronalnych). Włókna zawierające substancję P (SP), syntazę tlenku azotu (NOS) i przysadkowy polipeptyd aktywujący cyklazę adenylanową (PACAP) stanowią odpowiednio 18%, 15% i 20%. Ich pobudzenie skutkuje rozszerzeniem naczyń krwionośnych, zwiększeniem przepływu mózgowego oraz aktywacją płytek krwi. W badaniach klinicznych odnotowano, że w czasie napadu migreny wzrost stężenia CGRP w żyłce szyjnej

następuje równolegle z narastaniem bólu (Cernuda-Morollón i wsp. 2013).

Wzmożone uwalnianie CGRP stwierdzono zarówno podczas napadu migreny, jak i klastrowych bólów głowy, a w badaniach doświadczalnych w następstwie elektrycznej stymulacji nerwu trójdzielnego (Bałkowiec-Iskra i wsp. 2011). Może ono zostać ograniczone przez leki przeciwmigrenowe, tryptany (agoniści 5-HT<sub>1B/1D</sub>) (Stępień i wsp. 2003). Podwyższony poziom CGRP odnotowuje się także u osób chorujących na migreny okresie pomiędzy napadami (Ashina i wsp. 2000).

Stosowanie tryptanów, najskuteczniejszych dotychczas leków wskazanych w leczeniu migreny dostępnych obecnie na rynku, jest ograniczone ze względu na negatywny wpływ na układ krążenia (działanie naczynioobkurczające). Działania niepożądane powodowane przez tryptany to zawroty głowy, senność, osłabienie, parestezje (Dodick i wsp. 2004). Tryptany są przeciwwskazane u pacjentów z chorobą wieńcową w wywiadzie, z chorobami naczyń mózgowych lub obwodowych oraz innymi poważnymi chorobami układu sercowo-naczyniowego. Ich podawanie może powodować zaburzenia kardiologiczne, takie jak skurcz tętnic wieńcowych, przemijające niedokrwienie mięśnia sercowego, zawał mięśnia sercowego. Skuteczność tryptanów w doraźnym leczeniu migreny jest większa niż alkaloidów sporyszu, porównywalna lub większa niż niesteroidowych leków przeciwzapalnych i paracetamolu (Cameron i wsp. 2015).

W związku z tym, że wiele dowodów wskazuje na istotną rolę CGRP w patogenezie migreny, trwają badania mające na celu opracowanie skutecznych leków blokujących jego działanie. Przeciwciała antyCGRP i antagoniści CGRP mają zmniejszać nasilenie napadów migreny oraz ich częstość poprzez obniżenie stężenia CGRP lub blokowanie jego działania. Skuteczność przeciwciał jest ograniczona do działania obwodowego, antagoniści CGRP, dzięki możliwości przechodzenia przez barierę krew-mózg, mogą wywierać też działanie ośrodkowe.

### Antagoniści CGRP/receptora CGRP i przeciwciała antyCGRP

Badania nad lekami hamującymi działanie CGRP obejmują obecnie zarówno antagonistów receptora CGRP, jak i przeciwciała skierowane przeciwko CGRP i jego receptorom.

W badaniach klinicznych wykazano skuteczność w leczeniu migreny kilku antagonistów receptora CGRP (CGRP-RA). Substancje te konkurują z CGRP o miejsce wiązania na receptorze. Ze względu na problemy związane z toksycznym wpływem na wątrobę oraz trudnościami z uzyskaniem postaci doustnej niektóre z badań zostały przerwane.

**Olcgepant (BIBN4096BS)** był pierwszym badanym antagonistą CGRP. Wykazano, że powoduje on znaczne

zmniejszenie nasilenia bólu i zapobiega nawrotom bólów głowy, łagodzi nudności i światłowstręt. Olcegepant był stosowany jedynie dożylnie. Początek działania obserwowano 30 minut po podaniu leku. Odsetek odpowiedzi w grupie leczonej wyniósł 60% w porównaniu z 27% w grupie otrzymującej placebo. Działania niepożądane wystąpiły u 20% leczonych olcegepantem i u 12% przyjmujących placebo. Najczęściej występowały parestezje, znacznie rzadziej nudności, bóle głowy, suchość w ustach, zaburzenia widzenia. Odpowiedź na lek była porównywalna do tryptanów (Olesen i wsp. 2004). Pomimo iż lek był dobrze tolerowany i nie powodował poważnych działań niepożądanych, prace nad rozwojem olcegepantu przerwano prawdopodobnie ze względu na trudności w formulacji postaci doustnej leku. Duża masa cząsteczkowa powodowała, że olcegepant mógł być podawany jedynie drogą dożylną. W związku z tym, że leczenie migreny powinno być prowadzone głównie ambulatoryjnie, a antagonistą CGRP, aby być skuteczny, powinien zostać podany natychmiast po wystąpieniu objawów ataku migreny, taka postać farmaceutyczna praktycznie uniemożliwiała stosowanie olcegepantu.

**Telcagepant (MK-0974)** był pierwszym CGRP-RA dostępnym w postaci doustnej. W badaniach klinicznych charakteryzował się skutecznością wyższą niż placebo, ale porównywalną z tryptanami. W fazie 2 badania klinicznego, po 2 godzinach po podaniu zmniejszenie nasilenia dolegliwości bólowych stwierdzono odpowiednio u 68,1%, 48,2% i 67,5% pacjentów leczonych dawkami 300 mg, 400 mg i 600 mg, w porównaniu z 69,5% (10 mg rizatryptanu) i 46,3% (placebo). Tolerancja leku była lepsza niż rizatryptanu i porównywalna z placebo. Telcagepant powodował mniej działań niepożądanych niż tryptany i wydawał się bezpieczniejszy u pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi (Ho i wsp. 2008). Główne działania niepożądane tryptanów to dyskomfort w klatce piersiowej, osłabienie, parestezje, suchość w ustach, nudności, bóle mięśni, zawroty głowy, senność i ucisk w gardle.

Na podstawie wyników fazy 2, dawki 150 mg i 300 mg telcagepantu zastosowano w fazie 3 badań. Telcagepant (300 mg) miał podobną skuteczność jak zolmitryptan (5 mg). Tolerancja była podobna do placebo: zdarzenia niepożądane odnotowano u 31% osób przyjmujących telcagepant 150 mg, 37% – telcagepant 300 mg, 51% – zolmitryptan 5 mg oraz 32% przyjmujących placebo (Ho i wsp. 2008).

Pomimo obiecujących danych klinicznych dotyczących skuteczności badania nad rozwojem telcagepantu przerwano z powodu obaw dotyczących toksycznego działania na wątrobę. Po przeanalizowaniu zgromadzonych danych stwierdzono zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych u niektórych uczestników badania fazy 2, którym telcagepant był podawany dwa razy dziennie w celu zapobiegania migrenie.

Innym badanym antagonistą CGRP był **MK-3207**. Siłę jego działania określono jako 50- do 100-krotnie większą

niż telcagepantu. Po zastosowaniu dawek 100 i 200 mg ustąpienie bólu odnotowano u 23,7% i 36,2% (placebo = 9,8%), a zmniejszenie dolegliwości bólowych u 52,5% i 69% (placebo = 36,1%). Badania rozwojowe zostały wstrzymane, podobnie jak w przypadku telcagepantu, z powodu podejrzenia hepatotoksyczności (Hewitt i wsp. 2011; Salvatore i wsp. 2010).

**BI44370A** to CGRP-RA, który w fazie 2 badania klinicznego badano u 341 pacjentów. Dawki w zakresie od 50 do 400 mg porównywano z placebo i 40 mg eletriptanu. Główny punkt końcowy, 2-godzinny brak bólu, osiągnęto znacznie częściej u pacjentów otrzymujących dawkę 400 mg (27,4%) i eletriptan (34,8%) niż w grupie placebo (8,6%). Inne dawki nie były bardziej skuteczne niż placebo. Tolerancję leku określono jako doskonałą. Bezpieczeństwo leku zostanie poddane ocenie w fazie 3 badania (Diener i wsp. 2011).

Będący w trakcie badań (zakończona faza 2) **BMS927711** w dawkach od 75 do 300 mg powodował zwiększenie liczby pacjentów, u których ból ustępował 2 godziny po podaniu leku w porównaniu z placebo, podobnie jak inne CGRP-RA oraz tryptany (odsetek odpowiedzi 30%). Nie zaobserwowano zdarzeń niepożądanych ani objawów toksycznego wpływu na wątrobę (Marcus i wsp. 2014).

W badaniach przedklinicznych znajduje się **BMS742413**. Lek dostępny jest w postaci do podawania donosowego, co zapewnia szybszy początek działania i tym samym szybsze łagodzenie bólu. Związek ten wykazuje dobrą biodostępność. W odróżnieniu od podawanego w ten sam sposób sumatryptanu nie powoduje zwężania naczyń (Chaturvedula i wsp. 2013).

W trakcie badań przedklinicznych jest też związek **MK 2918**, który jest pochodną telcagepantu (Paone i wsp. 2011).

Dotychczasowe dane wskazują, że długotrwałe antagonizowanie działania CGRP w warunkach fizjologicznych niesie ze sobą szereg potencjalnych działań niepożądanych. CGRP odgrywa rolę w rozszerzeniu naczyń pod wpływem różnych bodźców w reakcjach takich jak np. gojenie się ran lub odpowiedź na niedokrwienie. Wykazano, że wiele powikłań naczyniowych może wynikać z przewlekłego antagonizowania działania CGRP (np. miejscowe niedokrwienie tkanek podczas stresu fizjologicznego). Prowadzone badania kliniczne pozwolą na ocenę stosunku korzyści do ryzyka i znaczenia klinicznego długotrwałego stosowania antagonistów CGRP.

Z powodu znacznej toksyczności CGRP-RA i problemów z postacią farmaceutyczną, zwrócono uwagę na potencjalne zastosowanie przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko CGRP lub jego receptorom (dalej: CGRP-mAbs). Ich przewagą jest wybiórczość i mniejsze ryzyko indukowania działań hepatotoksycznych. Obecnie trwają prace rozwojowe nad co najmniej 4 przeciwciałami monoklonalnymi, które stosowane mają być w leczeniu doraźnym napadów migreny, jak i w zapobieganiu przewlekłej migrenie.

**LY2951742** (humanizowane przeciwciało CGRP) jest przeciwciałem monoklonalnym anty-CGRP silnie i selektywnie wiążącym się z CGRP. W badaniach fazy 2 kontrolowanym placebo wykazano jego skuteczność w zmniejszaniu częstości napadów w dawce 150 mg, podawanej co 2 tygodnie, u chorych cierpiących na migrenę epizodyczną. U pacjentów otrzymujących lek nastąpił 63-procentowy spadek liczby dni z migreną (o średnio 4,2 dnia mniej na miesiąc), podczas gdy u osób z grupy kontrolnej spadek ten wyniósł 42% (średnio 3 dni z migreną mniej w miesiącu). U otrzymujących LY2951742 odnotowano zwiększenie częstości występowania działań niepożądanych, w szczególności bólu w miejscu wstrzyknięcia, infekcji górnych dróg oddechowych i bólów brzucha, jednak nie odnotowano przypadków ciężkich działań niepożądanych (Dodick i wsp. 2014). Aktualnie w toku jest badanie fazy 2b mające na celu ocenę bezpieczeństwa i skuteczności leku w zapobieganiu napadom migreny.

Bezpieczeństwo i skuteczność drugiego humanizowanego przeciwciała skierowanego przeciwko CGRP, **ALD403**, w zapobieganiu częstym atakom migreny epizodycznej były oceniane w 24-tygodniowym badaniu. U osób przyjmujących ALD403 liczba dni, w których występowały objawy migreny, zmniejszyła się średnio o 5,6 dnia na miesiąc (66% badanych), a u tych, którzy zażywali placebo spadła o 4,6 dnia (52% badanych). U 16% uczestników z grupy badanej przez 12 tygodni nie wystąpił napad migreny, czego nie obserwowano u pacjentów z grupy kontrolnej. Działania niepożądane wystąpiły u 57% pacjentów przyjmujących ALD403 oraz 52% otrzymujących placebo. Najczęściej były to zakażenia górnych dróg oddechowych, zakażenia układu moczowego, zmęczenie, ból pleców, bóle stawów oraz nudności i wymioty (Bigal i wsp. 2015). Warto podkreślić, iż ALD403 jest produkowane przy użyciu drożdży. Pozwala to na szybszą i tańszą niż tradycyjna produkcję.

W odróżnieniu od innych omawianych przeciwciał **AMG 334** jest przeciwciałem ludzkim skierowanym przeciwko kompleksowi receptora CGRP, a nie wolnej cząsteczce peptydu. Ma ono zapobiegać epizodycznej i przewlekłej migrenie. W fazie 1 badania zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie bólów migrenowych (dawka 70 mg) (Wrobel Goldberg i Silberstein 2015). W trwających badaniach fazy 2 ocenione zostaną długoterminowe bezpieczeństwo i skuteczność leku w profilaktyce migreny.

**LBR-101** (wcześniej znany jako RN-307 lub PF-04427429) to humanizowane mAb, które silnie i selektywnie blokuje wiązanie ludzkiego CGRP z jego receptorem. LBR-101 badane jest w szczególności w kierunku leczenia zapobiegawczego przewlekłej migreny. W fazie 1 badano dawki w zakresie od 0,2 mg do 2000 mg; maksymalna tolerowana dawka nie została ustalona. Stwierdzono, że LBR-101 nie wpływał na ciśnienie tętnicze krwi, temperaturę czy tętno. Nie powodował także nieprawidłowości w pracy wątroby. Nie zgłaszano

problemów związanych z bezpieczeństwem stosowania, a tolerancja jest akceptowalna w wielu dawkach (Walter i wsp. 2014). Wyniki zakończonej w 2015 roku fazy 2 nie są jeszcze dostępne.

Obecnie w leczeniu migrenowych bólów głowy stosowane są często tryptany. Są to leki skuteczne, dostępne w wielu postaciach i drogach podania. Jednakże u nawet 40% pacjentów otrzymujących tryptany nie uzyskuje się optymalnej odpowiedzi, a u 20–30% z nich pojawiają się nawracające napady migreny wymagające zmiany dawkowania lub leczenia doraźnego. Pacjenci z niepełną odpowiedzią na tryptany wymagają stosowania wzrastających dawek przeciwbólowych, co prowadzić może do wzrostu ryzyka ich nadużywania. U niektórych pacjentów, mimo iż tryptany pozwalają osiągnąć kontrolę nad bólem, działania niepożądane, takie jak dyskomfort w klatce piersiowej i szyi, senność, zawroty głowy i parestezje, uniemożliwiają ich stosowanie. Wskazane mogłoby być u nich stosowanie dobrze tolerowanych CGRP-RA. Inną grupą pacjentów, która mogłaby korzystać z CGRP-RA, są ci, którzy nie mogą przyjmować tryptanów lub innych leków obkurczających naczynia z powodu ich działania na układ krążenia, zwłaszcza przy współistnieniu czynników ryzyka sercowo-naczyniowego. Wskazaniem do stosowania CGRP-RA jest zapewnienie skutecznej alternatywy dla doraźnego leczenia migreny.

Przeciwciała przeciwko CGRP są opracowywane w celu leczenia zapobiegawczego epizodów migreny. Przewlekła migrena jest mniej rozpowszechniona niż migrena epizodyczna, ale ze względu na częstotliwość bólu i znaczne pogorszenie jakości życia, wszyscy chorzy kwalifikują się do leczenia zapobiegawczego. Obecnie zarejestrowana w celu profilaktyki bólów głowy u pacjentów dorosłych cierpiących na przewlekłą migrenę jest toksyna botulinowa typu A. Przypuszczalny mechanizm działania profilaktycznego polega na blokowaniu przekazywania sygnałów obwodowych do ośrodkowego układu nerwowego, co hamuje uwrażliwienie ośrodkowe. W badaniach klinicznych dotyczących przewlekłej migreny częstość występowania działań niepożądanych (ból głowy, świąd, wysypka) wyniosła 26% podczas pierwszej terapii i 11% podczas drugiej terapii (ChPL Botox).

Dla dobra pacjentów konieczne jest wprowadzenie do leczenia profilaktycznego przewlekłej migreny dodatkowych opcji terapeutycznych. Leki stosowane *off-label* w tym schorzeniu mają takie same ograniczenia, jak wykorzystywane w przypadku migreny epizodycznej (konieczność codziennego przyjmowania i zdarzenia niepożądane). Dwa z wyżej wymienionych przeciwciał monoklonalnych są badane pod kątem bezpieczeństwa i skuteczności w przewlekłej migrenie (LBR-101 oraz AMG 334). Przeciwciało LBR-101 ma długi okres półtrwania, a dostępne dotychczas dane wskazują na pozytywny profil bezpieczeństwa. Jeśli jego skuteczność zostanie potwierdzona, jest szansa, że stanie się lekiem stosowanym w profilaktyce dolegliwości bólowych głowy, w tym migren.



## Podsumowanie

Wiele danych wskazuje na kluczową rolę CGRP w patogenezie migreny. Wykazano, że CGRP może wpływać na aktywność neuronów czuciowych, bezpośrednio regulując reakcję bólową w przebiegu napadu migreny (Olesen i wsp. 2004). Istnieją dowody, że CGRP może odgrywać pewną rolę w leczeniu bólu związanego z zapaleniem stawów i chorób skóry.

Rola CGRP w regulacji układu krążenia jest jeszcze niewyjaśniona. Niewątpliwie jednak CGRP jest jedną z najsilniejszych substancji rozszerzających naczynia

obwodowe. Badania na modelach zwierzęcych wykazały, że zablokowanie CGRP działa negatywnie na układ krążenia. Rozważane są możliwości terapeutycznego stosowania agonistów CGRP.

Wielkie nadzieje związane są z zastosowaniem antagonistów receptora CGRP oraz przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko CGRP oraz jego receptorom. Leki te mogą stać się skuteczną alternatywą dla tryptanów w leczeniu nie tylko migreny, ale także innych schorzeń związanych z zaburzeniami funkcji nerwu trójdzielnego. ■

## Acknowledgements / Podziękowania

This project has been supported by the Polish National Science Center, based on the Decision no. DEC-2012/05/B/NZ4/02385. / Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji nr DEC-2012/05/B/NZ4/02385.

Conflict of interest non declared. / Nie zgłoszono konfliktu interesów.

The work described in this article has been carried out in accordance with The Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, and Uniform Requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. / Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

## References / Piśmiennictwo

- Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J. Evidence for increased plasma levels of calcitonin gene related peptide in migraine outside of attacks. *Pain* 2000; 86: 133–138.
- Bałkowiec-Iskra E. Influence of peripheral inflammatory reaction on neurochemical properties of trigeminal ganglia neurons [in Polish]. Postdoctoral Dissertation. 2011. Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland.
- Bałkowiec-Iskra E. Nerw trójdzielnny – budowa i funkcje. *Postępy Psychiatrii i Neurologii* 2010; 19: 283–286.
- Bałkowiec-Iskra E, Vermehren-Schmaedick A, Balkowiec A. Tumor necrosis factor- $\alpha$  increases brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal ganglion neurons in an activity-dependent manner. *Neuroscience* 2011; 180: 322–333.
- Benarroch EE. CGRP: sensory neuropeptide with multiple neurologic implications. *Neurology* 2011; 77(3): 281–287.
- Bigal ME, Walter S, Rapoport AM. Therapeutic antibodies against CGRP or its receptor. *Br J Clin Pharmacol* 2015; 79: 886–895.
- Brain SD, Grant AD. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev* 2004; 84: 903–934.
- Brain SD, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I, Williams TJ. Potent vasodilator activity of calcitonin gene-related peptide in human skin. *J Invest Dermatol* 1986; 87: 533–536.
- Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *J Phys Pharmacol* 2005; 5: 33–55.
- Cameron C, Kelly S, Hsieh SC, Murphy M, Chen L, Kotb A *et al.* Triptans in the Acute Treatment of Migraine: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Headache* 2015; 55 Suppl 4: 221–235.
- Cernuda-Morollón E, Larrosa D, Ramón C, Vega J, Martínez-Cambor P, Pascual J. Interictal increase of CGRP levels in peripheral blood as a biomarker for chronic migraine. *Neurology* 2013; 81: 1191–1196.
- Charakterystyka Produktu Leczniczego Botox. [www.pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl](http://www.pub.rejestrymedyczne.csioz.gov.pl) (31.07.2015)
- Chaturvedula PV, Mercer SE, Pin SS, Thalody G, Xu C, Conway CM *et al.* Discovery of (R)-N-(3-(7-methyl-1H-indazol-5-yl)-1-(4-(1-methylpiperidin-4-yl)-1-oxopropan-2-yl)-4-(2-oxo-1,2-dihydroquinolin-3-yl) piperidine-1-carboxamide (BMS-742413): a potent human CGRP antagonist with superior safety profile for the treatment of migraine through intranasal delivery. *Bioorg Med Chem Lett* 2013; 23: 3157–3161.
- Choksi T, Hay DL, Legon S, Poyner DR, Hagner S, Bloom SR *et al.* Comparison of the expression of calcitonin receptor-like receptor (CRLR) and receptor activity modifying proteins (RAMPs) with CGRP and adrenomedullin binding in cell lines. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 784–792.
- Diener HC, Barbanti P, Dahlof C, Reuter U, Habeck J, Podhorna J. BI 44370 TA, an oral CGRP antagonist for the treatment of acute migraine attacks: results from a phase II study. *Cephalgia* 2011; 3: 573–584.
- Dodick D, Lipton RB, Martin V, Papademetriou V, Rosamond W, MaassenVanDenBrink A *et al.* Consensus statement: cardiovascular safety profile of triptans (5-HT agonists) in the acute treatment of migraine. *Headache* 2004; 44: 414–425.
- Dodick DW, Goadsby PJ, Spierings SD, Scherer JC, Sweeney SP, Grayzel DS. Safety and efficacy of LY2951742, a monoclonal antibody to calcitonin gene-related peptide, for the prevention of migraine: a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Lancet Neurol* 2014; 13: 885–892.
- Donnerer J, Stein C. Evidence for an increase in the release of CGRP from sensory nerves during inflammation. *Ann NY Acad Sci* 1992; 657: 505–506.

19. Evans BN, Rosenblatt MI, Mnayer LO, Oliver KR, Dickerson IM. CGRP-RCP, a novel protein required for signal transduction at calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin receptors. *J Biol Chem* 2000; 275: 31438–31443.
20. Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 1990; 28: 183–187.
21. Gray DW, Marshall I. Human alpha-calcitonin gene-related peptide stimulates adenylate cyclase and guanylate cyclase and relaxes rat thoracic aorta by releasing nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 691–696.
22. Hay DL, Poyner DR, Quirion R. International Union of Pharmacology. LXIX. Status of the calcitonin gene-related peptide subtype 2 receptor. *Pharmacol Rev* 2008; 60: 143–145.
23. Hay DL, Poyner DR, Smith DM. Desensitisation of adrenomedullin and CGRP receptors. *Regul Pept* 2003; 112: 139–145.
24. Hewitt DJ, Aurora SK, Dodick DW, Goadsby PJ, Ge YJ, Bachman R *et al*. Randomized controlled trial of the CGRP receptor antagonist MK-3207 in the acute treatment of migraine. *Cephalgia* 2011; 31: 712–722.
25. Ho TW, Ferrari MD, Dodick DW, Galet V, Kost J, Fan X *et al*. Efficacy and tolerability of MK-0974 (telcagepant), a new oral antagonist of calcitonin gene-related peptide receptor, compared with zolmitriptan for acute migraine: A randomised, placebo-controlled, parallel-treatment trial. *Lancet* 2008; 372: 2115–2123.
26. Ho TW, Mannix LK, Fan X, Assaid C, Furtek C, Jones CJ *et al*. MK-0974 Protocol 004 study group. Randomized controlled trial of an oral CGRP receptor antagonist, MK-0974, in acute treatment of migraine. *Neurology* 2008; 70: 1304–1312.
27. Jang MU, Park JW, Kho HS, Chung SC, Chung JW. Plasma and saliva levels of nerve growth factor and neuropeptides in chronic migraine patients. *Oral Dis* 2011; 17: 187–193.
28. Kuzawińska O, Lis K, Cudna A, Bałkowiec-Iskra E. Gender differences in the neurochemical response of trigeminal ganglion neurons to peripheral inflammation in mice. *Acta Neurobiol Exp* 2014; 74(2): 227–232.
29. Lassen LH, Haderslev PA, Jacobsen VB, Iversen HK, Sperling B, Olesen J. CGRP may play a causative role in migraine. *Cephalgia* 2002; 22: 54–61.
30. Lin HY, Harris TL, Flannery MS, Aruffo A, Kaji EH, Gorn A *et al*. Expression cloning of an adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor. *Science* 1991; 254: 1022–1024.
31. Mair J, Lechleitner P, Langle T, Wiedermann C, Dienstl F, Saria A. Plasma CGRP in acute myocardial infarction. *Lancet* 1990; 335: 168.
32. Marcus R, Goadsby PJ, Dodick D, Stock D, Manos G, Fischer TZ. BMS-927711 for the acute treatment of migraine: a double-blind, randomized, placebo controlled, dose-ranging trial. *Cephalgia* 2014; 34: 114–125.
33. Moskowitz MA. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine. *Neurology* 1993; 43: 16–20.
34. Mulderry PK, Ghatei MA, Bishop AE, Allen YS, Polak JM, Bloom SR. Distribution and chromatographic characterisation of CGRP-like immunoreactivity in the brain and gut of the rat. *Regul Pept* 1985; 12: 133–143.
35. Nakamura-Craig M, Gill BK. Effect of neurokinin A, substance P and calcitonin gene related peptide in peripheral hyperalgesia in the rat paw. *Neurosci Lett* 1991; 124: 49–51.
36. Natoli JL, Manack A, Dean B, Butler Q, Turkel CC, Stovner L *et al*. Global prevalence of chronic migraine: a systematic review. *Cephalgia* 2010; 30: 599–609.
37. Nelson MT, Huang Y, Brayden JE, Hescheler J, Standen NB. Arterial dilations in response to calcitonin gene-related peptide involve activation of K<sup>+</sup> channels. *Nature* 1990; 344: 770–773.
38. Noguchi K, Senba E, Morita Y, Sato M, Tohyama M. Alpha-CGRP and beta-CGRP mRNAs are differentially regulated in the rat spinal cord and dorsal root ganglion. *Brain Res Mol Brain Res* 1990; 7: 299–304.
39. Olesen J, Diener HC, Husstedt IW, Goadsby PJ, Hall D, Meier U *et al*. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonist BIBN 4096 BS for the acute treatment of migraine. *N Engl J Med* 2004; 350: 1104–1110.
40. Olesen J, Edvinsson L. Migraine: a research field matured for the basic neurosciences. *Trends Neurosci* 1991; 14: 3–5.
41. Paone DV, Nguyen DN, Shaw AW, Burgey CS, Potteiger CM, Deng JZ *et al*. Orally bioavailable imidazoazepanes as calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonists: discovery of MK-2918. *Bioorg Med Chem Lett* 2011; 21: 2683–2686.
42. Petersen KA, Birk S, Lassen LH, Kruuse C, Jonassen O, Olesen J. The novel CGRP-antagonist, BIBN4096BS does not affect cerebral hemodynamics in healthy volunteers. *Cephalgia* 2003; 23: 729.
43. Pocięcha K, Przejczowska-Pomierny K, Cios A, Wyska E. Contemporary concepts in studies on cyclic AMP and its role in the inflammatory reaction. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2015; 69: 777–798.
44. Poyner DR. Molecular pharmacology of receptors for calcitonin-gene-related peptide, amylin and adrenomedullin. *Biochem Soc Trans* 1997; 25(3): 1032–1036.
45. Romanowska K. Ból, analgezyja, płęć [Pain, analgesia, and sex]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2009; 63: 296–302. [Article in Polish].
46. Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, Swanson LW, Sawchenko PE, Rivier J *et al*. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature* 1983; 304: 129–135.
47. Russell FA, King R, Smillie SJ, Kodji X, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2014; 94: 1099–1142.
48. Salvatore CA, Moore EL, Calamari A, Cook JJ, Michener MS, O'Malley S *et al*. Pharmacological properties of MK-3207, a potent and orally active calcitonin gene-related peptide receptor antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 333: 152–160.
49. Steenbergh PH, Hoppener JW, Zandberg J, Visser A, Lips CJ, Jansz HS. Structure and expression of the human calcitonin/CGRP genes. *FEBS Lett* 1986; 209: 97–103.
50. Stępień A, Jagustyn P, Trafny A, Widerkiewicz K. Hamujący wpływ agonistów receptora serotoninowego 5HT1B/D na stężenie peptydu zależnego od genu kalcytoniny w napadzie migreny. *Neurol Neurochir Pol* 2003; 5: 1013–1023.
51. Tarsa L, Bałkowiec-Iskra E, Kratochvil FJ 3rd, Jenkins VK, McLean A, Brown AL *et al*. Tooth pulp inflammation increases brain-derived neurotrophic factor expression in rodent trigeminal ganglion neurons. *Neuroscience* 2010; 167: 1205–1215.
52. van Rossum D, Hanisch UK, Quirion R. Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 1997; 21(5): 649–78.
53. Walker CS, Conner AC, Poyner DR, Hay DL. Regulation of signal transduction by calcitonin gene-related peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci* 2010; 10: 476–483.
54. Walter S, Alibhoy A, Escandon R, Bigal ME. Evaluation of cardiovascular parameters in cynomolgus monkeys following IV administration of LBR-101, a monoclonal antibody against calcitonin gene-related peptide. *MAbs* 2014; 6: 871–878.

55. Weidner C, Klede M, Rukwied R, Lischetzki G, Neisius U, Skov PS *et al.* Acute effects of substance P and calcitonin gene-related peptide in human skin—a microdialysis study. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 1015–1020.
56. Wrobel Goldberg S, Silberstein SD. Targeting CGRP: A new era for migraine treatment. *CNS Drugs* 2015; 29: 443–452.