



FONDAZIONE ISTUD

Terapia genica: passi avanti o indietro....?

Programma Scienziati in Azienda - XI Edizione
Stresa, 27 settembre 2010 – 12 luglio 2011

Project Work

A cura di: Francesca Maria Alvino, Elvira Avilla, Roberta Fusco, Marta Mancuso, Valentina Marinaccio

INDICE

SINOSSI E OBIETTIVI	1
CAPITOLO 1- INTRODUZIONE	2
1.1 La terapia genica	2
1.2 La storia	3
1.3 Cos'è una sperimentazione clinica?	6
1.4 Quadro normativo	7
1.4.1 <i>Iter autorizzativo</i>	7
1.4.2 <i>Normativa di riferimento</i>	8
CAPITOLO 2 - RISULTATI	10
2.1 Stato dell'arte delle sperimentazioni di terapia genica	10
2.1.1 <i>Numero di studi clinici tra il 1989 e il 2010</i>	10
2.1.2 <i>Patologie trattate con la terapia genica</i>	11
2.1.3 <i>Fasi degli studi clinici</i>	14
2.2 Testimonianze dirette	14
2.2.1 <i>ADA-SCID</i>	15
2.2.2 <i>AMAUROSIS CONGENITA DI LEBER</i>	17
2.2.3 <i>ISCHEMIA CRITICA DELL' ARTO INFERIORE (ICAI)</i>	20
2.2.4 <i>Aspetti regolatori: la testimonianza del dottor XX (MolMed S.p.a)</i>	21
2.2.5 <i>Il Signor M: il paziente</i>	22
2.2.6 <i>Il punto di vista della popolazione e dei medici</i>	23
CAPITOLO 3 - DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	27
CAPITOLO 4 - STRUMENTI UTILIZZATI	31
BIBLIOGRAFIA	33
APPENDICE	35
RINGRAZIAMENTI	48

SINOSSI E OBIETTIVI

La terapia genica rappresenta una metodologia di medicina molecolare che consiste nell'inserimento di materiale genico in cellule dell'organismo allo scopo di correggere difetti genetici e curare patologie di diversa natura. Questo approccio terapeutico, nato ormai da tre decenni, ha incontrato innumerevoli difficoltà e, nonostante le aspettative che in essa sono state riposte, la terapia genica non ha ancora espresso appieno tutte le sue potenzialità. Tuttavia molti progressi sono stati fatti e risultati positivi sono stati raggiunti.

Obiettivo di questo *Project Work* è raccogliere informazioni sull'applicabilità e sulle potenzialità delle tecniche di terapia genica. A tale scopo, abbiamo innanzitutto deciso di ripercorrere la storia di questo approccio terapeutico dalla sua nascita fino ai giorni nostri, valutandone sia i limiti tecnici, economici, regolatori e sociali sia i suoi potenziali vantaggi. Per avvalorare quanto riportato in questo lavoro, abbiamo poi ascoltato i punti di vista dei principali *stakeholders* coinvolti in questa metodologia: i ricercatori, impegnati nella progettazione della strategia molecolare; i clinici, coinvolti sia nell'attuazione dei protocolli di sperimentazione clinica che nel supporto dei pazienti durante tutto il percorso terapeutico; le associazioni di pazienti, attive nel sostenere questi ultimi e le loro famiglie; le grandi multinazionali e le aziende biotecnologiche più piccole, deputate al sovvenzionamento della ricerca di base e clinica. Abbiamo, infine, sondato l'opinione pubblica riguardo la terapia genica e verificato come i mezzi di comunicazione ed il tipo di istruzione dei singoli influenzino la conoscenza di questo approccio.

CAPITOLO 1- INTRODUZIONE

1.1 La terapia genica

Con il termine “terapia genica” si intendono quegli interventi medici che si basano sull’inserimento di materiale genetico all’interno di cellule vitali allo scopo di prevenire, curare o diagnosticare situazioni patologiche nell’uomo. La terapia genica è una forma di medicina molecolare che inizia a svilupparsi a partire dagli anni ‘80, in seguito all’incremento delle conoscenze e delle nuove tecnologie di biologia molecolare e ingegneria genetica.

Due principali metodi possono essere utilizzati per il trasferimento di geni: *ex vivo* e *in vivo*. Nel trasferimento *ex vivo* si trasferiscono geni clonati in cellule in coltura. Normalmente si usano cellule autologhe, ovvero dello stesso individuo, per evitare che esse vengano rigettate dal sistema immunitario del paziente trattato. In particolare le cellule vengono espianate, selezionate per l’espressione del gene inserito, amplificate ed infine reintrodotte nel paziente. Questo metodo è applicabile ai soli tessuti che possono essere prelevati dal corpo, modificati geneticamente e reintrodotti nel paziente, dove attecchiscono e sopravvivono per un lungo periodo di tempo, come ad esempio le cellule del sistema ematopoietico e della pelle. Tale procedura è sicuramente lunga e costosa ma permette di selezionare ed amplificare le cellule d’interesse e gode di una elevata efficienza. La terapia genica *in vivo* viene attuata in tutti quei casi in cui le cellule non possono essere messe in coltura o prelevate e reimpiantate, come quelle del cervello o del cuore e della maggior parte degli organi interni. Inoltre, rappresenta un modello terapeutico con elevata *compliance* e più economico del precedente ma, attualmente, di più difficile applicazione. In questo caso il gene d’interesse viene inserito nell’organismo, tramite un opportuno vettore, direttamente per via locale o sistemica.

La parte fondamentale della terapia genica è rappresentata dalla metodica adottata per effettuare il trasferimento del gene terapeutico all’interno della cellula bersaglio. I sistemi utilizzati per realizzare questo processo sono distinti in virali e non virali. Questi ultimi sono formati da nanoparticelle cariche positivamente che formano interazioni elettrostatiche con il DNA carico negativamente. Il trasferimento virale si basa sull’utilizzo di opportuni vettori virali che hanno la capacità di infettare le cellule e inserire il proprio DNA all’interno del loro genoma; rispetto ai sistemi non virali, quindi, hanno un’efficienza nettamente maggiore. I vettori virali da utilizzare devono possedere alcune caratteristiche: essere difettivi della capacità di replicazione; essere incapaci di attivare il sistema immunitario del paziente trattato; essere grandi a sufficienza per contenere il gene terapeutico. Quelli attualmente studiati sono retrovirus, lentivirus, adenovirus, herpesvirus e adenoassociati.

La terapia genica trova applicazione in diversi tipi di patologie:

- le malattie ereditarie, dovute a deficienze genetiche di un singolo prodotto genico o all’errata espressione di un gene, come l’ImmunoDeficienza Severa

- Combinata associata a deficienza di Adenosina Deaminasi (ADA-SCID) e l'Amaurosi Congenita di Leber (LCA);
- malattie cardiovascolari;
 - malattie infettive, causate dall'infezione di un singolo agente patogeno sia batterico che virale, come ad esempio l'AIDS;
 - malattie del sistema immunitario, che comprendono le infiammazioni e le malattie autoimmuni;
 - malattie neurodegenerative, come Morbo di Alzheimer e Morbo di Parkinson;
 - i tumori, causati da un'alterazione della divisione e della proliferazione cellulare a seguito dell'attivazione di un oncogene o dell'inattivazione di un oncosoppressore.

1.2 La storia

L'idea della terapia genica è nata verso la fine degli anni '70 quando per la prima volta è stato clonato il gene codificante per la β -globina, una proteina che da sola costituisce circa il 97% del globulo rosso maturo e che, se espressa in modo errato o in quantità ridotta, causa talassemia. La possibilità di intervenire su questo gene in modo da ottenere globuli rossi sani ha dato il via ai primi numerosi tentativi di terapia genica.

Nel 1983, un gruppo di scienziati del *Baylor College of Medicine* a Houston, in Texas, propose, per la prima volta, la terapia genica come valido approccio per il trattamento della malattia di Lesch-Nyhan, una malattia neurologica rara.

Gli anni '90 hanno visto, spinti dai risultati incoraggianti ottenuti, un proliferare di ricerche e di sperimentazioni sulla terapia genica nell'uomo. Per la prima volta nel 1992 il dottor Claudio Bordignon, medico presso il San Raffaele di Milano, riportava il risultato positivo della prima procedura di terapia genica con cellule staminali ematopoietiche per curare malattie ereditarie. Nel 1999 la terapia genica ha subito, tuttavia, una battuta d'arresto drammatica e assai pubblicizzata dai media. Jesse Gelsinger, un diciottenne coinvolto nella sperimentazione di un nuovo trattamento per la cura di una malattia rara del sistema immunitario, ebbe una reazione fatale al virus utilizzato per inoculargli il gene. In seguito a questo tragico evento, il settore della terapia genica ha impiegato molto tempo per riprendersi.

Nel 2002, il lavoro del dottor Bordignon sulle cellule staminali ematopoietiche ha portato alla pubblicazione del primo trattamento di successo della terapia genica per la carenza di adenosina deaminasi (SCID). Il successo di uno studio multicentrico per il trattamento di bambini affetti da SCID (grave deficit combinato immunitario o malattia "bubble boy") effettuato dal 2000 al 2002 fu sospeso quando due dei dieci bambini trattati presso il centro di Parigi svilupparono una condizione di simil-leucemia. Le sperimentazioni cliniche sono state sospese temporaneamente nel 2002, ma sono riprese dopo la revisione normativa del protocollo negli Stati Uniti, Regno Unito, Francia, Italia e Germania.

Nel 2006, gli scienziati del *National Institutes of Health (Bethesda)* hanno trattato con successo due pazienti affetti da melanoma metastatico. Il protocollo consisteva nell'utilizzo delle cellule T killer geneticamente riprogrammate per attaccare le sole

cellule tumorali. Questo studio ha costituito la prima dimostrazione che la terapia genica può essere efficace nel trattamento del cancro. Nel marzo 2006 un gruppo internazionale di scienziati ha annunciato il successo della terapia genica nel trattamento di due pazienti adulti affetti da una malattia che colpisce le cellule mieloidi. Lo studio, pubblicato su *Nature Medicine*, è il primo a dimostrare che la terapia genica possa curare le malattie del sistema mieloidi. Nello stesso anno un gruppo di scienziati guidati dal dottor Luigi Naldini e dal dottor Brian Brown dell'Istituto San Raffaele-Telethon per la Terapia Genica (HSR-TIGET) di Milano hanno sviluppato un protocollo per prevenire il rigetto da parte del sistema immunitario dei vettori più comuni usati nella terapia genica. In maniera simile al trapianto d'organo, infatti, anche la terapia genica è stata afflitta dal problema del rigetto immunitario. Nel novembre 2006 i ricercatori della *School of Medicine* dell'Università della Pennsylvania hanno riferito che tutti i pazienti, sottoposti ad una sperimentazione di fase I per il trattamento dell'infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV), hanno riportato la carica virale stabile o ridotta. Tuttavia, lo studio non ha evidenziato in maniera inequivocabile se tali risultati potessero essere imputati alla terapia genica o dipendessero dalle terapie farmacologiche somministrate in associazione.

Nel 2007 due gruppi di ricercatori del *Moorfields Eye Hospital* e dell'*UCL (University College of London) Institute of Ophthalmology* hanno annunciato il primo trial di terapia genica per le malattie retiniche ereditarie. La prima sperimentazione è stata condotta su un ragazzo di 23 anni britannico, Robert Johnson, affetto da Amaurosi Congenita di Leber, una malattia ereditaria caratterizzata da ipovisione. I risultati riportati hanno indicato un modesto aumento della capacità visiva e nessun apparente effetto collaterale.

Nel settembre del 2009, la rivista *Nature* ha riferito che due gruppi di ricercatori dell'Università di Washington e dell'Università della Florida, tramite una tecnica di terapia genica, sono riusciti ad osservare una visione tricromatica in scimmie scoiattolo. La pubblicazione di questo lavoro ha rappresentato un passo fondamentale nell'applicazione della terapia genica per il trattamento del daltonismo nell'uomo. Attualmente è in corso la sperimentazione clinica.

Nonostante i risultati positivi e il gran numero di progetti di terapia genica iniziati, la maggioranza dei protocolli non arrivano alla fase di sperimentazione umana (Figura 1).

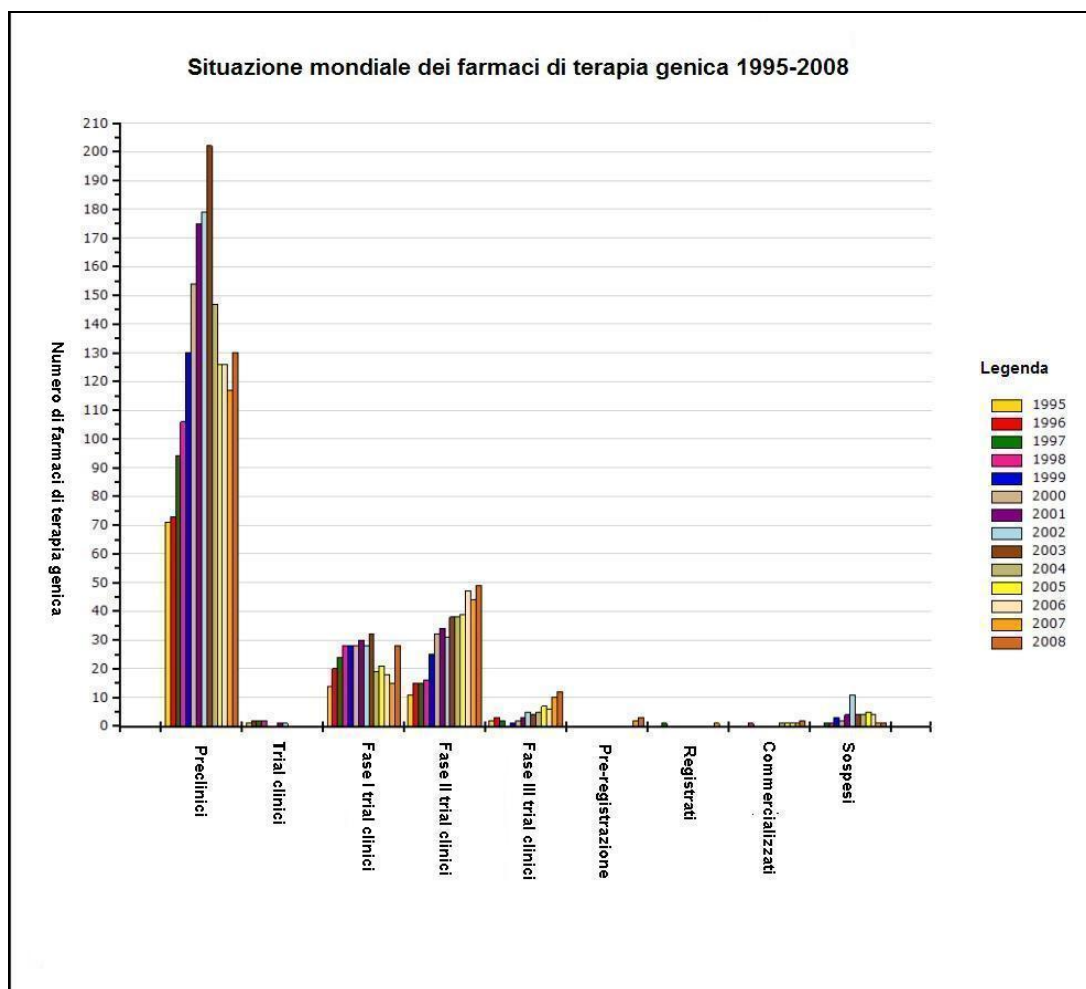


Figura 1. Grafico rappresentante il numero di prodotti di terapia genica, nel corso degli anni dal 1998 al 2008, diviso per le diverse fasi di sviluppo delle sperimentazioni cliniche.

Fino al 2008, solo due terapie geniche hanno effettivamente raggiunto il mercato. Il primo di questi è stato Gendicine, sviluppato da SiBiono GeneTech, lanciato in Cina nel 2004, dopo 14 anni di sviluppo, per il trattamento del carcinoma squamoso della testa e del collo. Gendicine consiste nel gene onco-soppressore p53 inserito all'interno di un vettore adenovirale. Uno studio di fase III, eseguito su 120 pazienti terminali affetti da carcinoma squamoso della testa e del collo, mostra un aumento dell'efficacia di oltre tre volte in seguito a trattamento con Gendicine associato a chemioterapia e radioterapia. Inoltre, i pazienti non terminali non presentano recidive per i successivi tre anni di *follow up*. Il secondo caso di lancio sul mercato di una terapia genica avviene nel 2007, quando Rexin-G, sviluppato da Biotecnologie Epeius, è stato lanciato nelle Filippine per un ampio spettro di tumori metastatici intrattabili. Analogamente a Gendicine, Rexin-G è stato progettato per legarsi alle cellule cancerose in cui determina l'espressione di un gene oncosoppressore. Nel caso di Rexin-G questo risultato si ottiene utilizzando il gene della ciclina-G1 inserito in un vettore retrovirale. Un vantaggio di questo farmaco è che non deve essere iniettato nelle cellule tumorali ma può essere somministrato per via

endovenosa. Vista la sua efficacia, è stato classificato come farmaco orfano ed è disponibile per uso compassionevole in Giappone dal 2007.

Anche l'Italia risulta essere un Paese molto impegnato nel campo della terapia genica. Nell'ultimo decennio, sono state avviate diverse sperimentazioni, alcune delle quali tuttora in corso. Questo *excursus* storico dimostra che la terapia genica sta muovendo i suoi primi passi con una velocità impensabile fino a pochi anni fa; tuttavia, numerose difficoltà dovranno essere ancora superate.

1.3 Cos'è una sperimentazione clinica?

Uno studio clinico (o comunemente detto *trial* clinico) è un tipo di ricerca condotto per raccogliere dati sulla sicurezza e sulla efficacia di farmaci sperimentali o di nuovi dispositivi medici.

Lo sviluppo di un nuovo farmaco nell'uomo viene condotto secondo una metodologia codificata internazionalmente, in accordo alla normativa regolatoria nazionale ed europea. Secondo tale metodologia, uno studio clinico si articola in quattro fasi:

- studi di fase I - primo studio condotto nell'uomo, solitamente in volontari sani o, nel caso di alcuni farmaci, su pazienti senza alternativa terapeutica. Definisce la tollerabilità del nuovo farmaco, allo scopo di identificarne il dosaggio e di studiarne la farmacocinetica (cioè lo studio degli effetti che i processi dell'organismo, quali assorbimento, distribuzione, metabolismo ed eliminazione, hanno sul farmaco) e la farmacodinamica (cioè lo studio degli effetti biochimici e fisiologici dei farmaci sull'organismo ed il loro meccanismo d'azione);
- studi di fase II - sono studi condotti in un numero limitato di pazienti, con lo scopo di valutare l'attività terapeutica del nuovo principio attivo sulla patologia considerata, definirne la posologia e ottenerne una prima verifica di tollerabilità e sicurezza nel paziente;
- studi di fase III - sono condotti in un numero elevato di pazienti, con l'obiettivo di confermare le informazioni sull'efficacia e sicurezza ottenute negli studi di fase II; inoltre, in questa fase, si ottengono informazioni sulle eventuali interazioni con altri farmaci ed alimenti e sull'insorgenza di eventi avversi;
- studi di fase IV - sono studi condotti dopo l'immissione in commercio del farmaco. Questi studi consentono di confermare la validità del farmaco nella sua reale applicazione nella pratica clinica quotidiana e di confrontarne il rapporto rischio/beneficio rispetto agli altri farmaci utilizzati nella patologia in questione.

Per garantire che i diritti dei pazienti siano salvaguardati e, soprattutto, che i pazienti non incorrano in alcun tipo di rischio, prima di attuare qualsiasi sperimentazione clinica, ogni protocollo sperimentale viene accuratamente valutato dalle autorità competenti composte sia da personale medico che non medico (avvocati, rappresentanti dei diritti dei malati, religiosi, laici, psicologi, infermieri, ecc.). È indispensabile che ogni paziente, prima di partecipare ad uno studio clinico, firmi il Consenso Informato, documento che contiene tutte le informazioni riguardanti il farmaco sperimentale, le modalità in cui sarà condotta la sperimentazione e i diritti dei pazienti stessi.

Anche nel caso della terapia genica, le fasi della sperimentazione clinica sono le medesime.

1.4 Quadro normativo

Lo sviluppo delle biotecnologie e l'avvento delle prime applicazioni cliniche di trattamenti che implicano modificazioni deliberate di materiale genetico umano ha posto il problema di adattare le procedure che regolano l'utilizzo di sostanze farmacologicamente attive sull'uomo, alle specificità dei prodotti utilizzati per tali trattamenti, usualmente definiti come "terapia genica". Infatti, anche se la definizione di medicinale, da tempo adottata dall'Unione Europea e valida per tutti i paesi che ne fanno parte, comprende certamente anche i prodotti per terapia genica, è anche vero che le disposizioni regolatorie valide per la maggior parte degli agenti terapeutici sono state nella maggior parte dei paesi europei ritenute inadeguate rispetto all'esigenza, ad esempio, di privilegiare gli aspetti relativi alla sicurezza e quelli etici e di garanzia per i soggetti coinvolti nelle sperimentazioni e nei trattamenti. Si spiega perciò lo sforzo di adeguamento normativo che, dopo gli Stati Uniti, ha interessato e sta ancora interessando anche i più importanti paesi europei, che stanno operando un progressivo adeguamento alle nuove norme che vengono emanate a livello europeo. Ci troviamo, quindi, di fronte ad una normativa complessa ed in continua trasformazione, per il coesistere di norme generali europee e di disposizioni nazionali specifiche e spesso transitorie.

1.4.1 Iter autorizzativo

L'Autorità Competente per lo svolgimento di sperimentazioni cliniche di terapia genica in Italia è l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), che fa parte del Ministero della Salute. Per ottenere l'autorizzazione per uno studio clinico è necessario avere l'approvazione di un Comitato Etico Locale per gli aspetti etici e scientifici ed un riesame amministrativo. L'autorizzazione amministrativa è rilasciata dal direttore dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per gli studi di fase I, dall'AIFA per la terapia genica e dal Direttore Generale della ASL per tutti gli altri studi clinici. L'ISS è responsabile per la valutazione scientifica delle richieste per la terapia genica e cellulare. Per quanto riguarda l'autorizzazione alla produzione di medicinali ad uso umano è necessario inviare all'Ufficio Autorizzazioni Officine - AIFA un modello di domanda di attivazione per una *Cell Factory*, ovvero un sito produttivo di medicinali per terapie avanzate. Inoltre verrà richiesta dall'AIFA una serie di documenti prima dell'ispezione:

- una relazione tecnica aggiornata sull'Officina, ai sensi del D.M. 18/03/1996;
- la lista dei medicinali fabbricati nell'Officina, con l'indicazione degli estremi delle autorizzazioni;
- la lista dei reclami ricevuti negli ultimi due anni con schema riassuntivo delle tipologie e dell'esito;
- la descrizione dei sistemi informatici con impatto *Good Manufacturing Practice (GMP)* utilizzati in Officina e relativo piano di convalida.

1.4.2 Normativa di riferimento

L'utilizzo di prodotti per terapia genica è regolamentato da normative nazionali ed internazionali, che riguardano la produzione, la sperimentazione e la registrazione dei medicinali.

Normativa Nazionale

L'Italia ha regolamentato l'utilizzo, la produzione e la sperimentazione clinica di farmaci di terapia genica con le seguenti normative:

- Decreto 18 Maggio 2010: attuazione della direttiva 2009/120/CE della Commissione del 14 settembre 2009 che modifica la direttiva 2001/83/CE del Parlamento europeo e del consiglio per quanto riguarda i medicinali per terapia avanzata. Il presente decreto sostituisce l'allegato I, parte IV, della direttiva 2001/83/CE; contiene inoltre la definizione di medicinale di terapia genica, indicazioni sui requisiti tecnico-scientifici, specifici per i medicinali di terapie avanzate e relativi ai moduli 3, 4, 5 del dossier di registrazione.
- Il Decreto Legislativo 24 Aprile 2006 n.219 del Codice Comunitario sui Medicinali per uso umano: costituisce l'attuazione della direttiva 2001/83/CE (e successive direttive di modifica), nonché della direttiva 2003/94/CE e regola tutto il ciclo di vita dei prodotti farmaceutici dalla produzione alla commercializzazione, ad eccezione della sperimentazione clinica. La parte IV dell'allegato 1 del suddetto D.Lgs è dedicata specificamente ai medicinali per terapie avanzate.
- Decreto 2 marzo 2004: istituzione di una banca dati per il monitoraggio della terapia genica e la terapia cellulare somatica. Il suddetto decreto, costituito da 9 articoli, riguarda l'istituzione presso l'Istituto Superiore di Sanità di una banca dati per il monitoraggio dei pazienti sottoposti a sperimentazione clinica con preparazioni per terapia genica e cellulare somatica. Il decreto tratta anche la descrizione del tipo di dati che devono essere contenuti nella banca nonché la tempistica di aggiornamento dei dati stessi. Nel decreto viene specificato anche l'obbligo da parte delle istituzioni di ricerca clinica di comunicare tutti i dati relativi ai pazienti pregressi, a qualunque titolo trattati con prodotti per terapia genica e cellulare somatica, nonché di comunicare la comparsa di reazioni ed eventi avversi.
- Decreto legislativo 24 giugno 2003, n. 211: con tale decreto è stata attuata la direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico.
- Decreto 26 Aprile 2002: riguarda l'accertamento della composizione e innocuità dei farmaci di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo. Questo decreto elenca la documentazione necessaria per la richiesta dell'autorizzazione ad una sperimentazione di fase I.

In aggiunta a queste vanno tenute in considerazione anche tutte le normative che regolano le terapie avanzate (D.L. 18 Marzo 1996, D.P.R. n.439 del 21 Settembre 2001, D.Lgs 6 Novembre 2007 n.191, D.Lgs 6 Novembre 2007 n.200, D.Lgs 25 Gennaio 2010 n.16).

Normativa Internazionale

In ambito internazionale valgono le seguenti normative:

- Direttiva 2009/120/CE della Commissione del 14 settembre 2009: modifica della direttiva 2001/83/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, recante un codice comunitario relativo ai medicinali per uso umano per quanto riguarda i medicinali per terapie.
- Regolamento (CE) n. 1394/2007 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 13 novembre 2007 sui medicinali per terapie avanzate: modifica della direttiva 2001/83/CE e del regolamento (CE) n. 726/2004 (applicabile dal 30 dicembre 2008).
- Direttiva 2003/63/CE della Commissione del 25 giugno 2003: modifica della direttiva 2001/83/CE del Parlamento europeo e del Consiglio.
- Direttiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 6 novembre 2001: l'allegato I di tale direttiva contiene la definizione dei medicinali di terapia genica.

Insieme a queste vanno, inoltre, tenute in considerazione anche tutte le normative che regolano le terapie avanzate (Direttiva 2003/94/CE dell'8 Ottobre 2003, Direttiva 2004/23/CE del 31 Marzo 2004, Direttiva 2006/17/CE dell'8 Febbraio 2006, Direttiva 2006/86/CE del 24 Ottobre 2006, Regolamento (CE) n.668/2009 del Luglio 2009).

Linee Guida

Sono disponibili linee guida che regolano i medicinali per le terapie avanzate, come terapia genica, terapia cellulare somatica e ingegneria tissutale. In particolare riguardano tutte le procedure da adottare in merito a produzione, sperimentazione preclinica e clinica, farmacovigilanza, valutazione dei rischi, della sicurezza e della efficacia dei medicinali di terapie avanzate:

- Linee Guida dell'EMA riviste nel Luglio 2010.
- Linee Guida GMP, in particolare l'Allegato 1 e l'Allegato 2.
- Linea Guida "*Guideline on Safety and Efficacy Follow-up - Risk Management of Advanced Therapy Medicinal Products*".

CAPITOLO 2 - RISULTATI

2.1 Stato dell'arte delle sperimentazioni di terapia genica

Il *Journal of Gene Medicine* rappresenta la fonte di informazione più consistente attualmente disponibile relativamente agli studi clinici di terapia genica. I dati di seguito riportati sono aggiornati al giugno 2010.

2.1.1. Numero di studi clinici tra il 1989 e il 2010

La prima sperimentazione clinica umana di terapia genica è stata approvata nel 1990 e ha coinvolto due bambini affetti da una forma di ImmunoDeficienza Combinata Grave (SCID), risultante dalla carenza di Adenosin DeAminasi (ADA). Da allora fino al 1999, il numero di sperimentazioni avviate è aumentato rapidamente (Figura 2).



Figura 2. Questo diagramma riassume il numero di sperimentazioni cliniche approvate in tutto il mondo dal 1989 al giugno dell'anno in corso.

Durante questo periodo, alcune voci hanno espresso preoccupazione sui potenziali pericoli della procedura e sottolineato il fatto che la terapia genica si è dimostrata di scarso beneficio terapeutico fino ad allora. Nel 1999 il numero di prove ha raggiunto il picco con 116 studi approvati. A seguito degli eventi avversi gravi del 1999 e del 2002 il ritmo è rallentato; la stampa negativa ed il blocco temporaneo posto dalle agenzie regolatorie sulle sperimentazioni nuove o in corso ha scalfito l'entusiasmo per la terapia

genica. Infatti, nel 2003, solo 85 nuovi studi sono stati approvati in tutto il mondo, il numero più basso dal 1998. Tuttavia, dal 2004 il numero di studi è aumentato fino al 2008. Negli ultimi due anni le sperimentazioni sono nuovamente diminuite, ma questo fenomeno potrebbe essere attribuito alla crisi globale piuttosto che ad una nuova ondata di sfiducia verso la terapia genica (Figura 2).

Il numero delle sperimentazioni eseguito in ciascun Paese è riportato nella Tabella 1.

Paesi	Studi sperimentali di Terapia Genica	
	Numero	%
Australia	28	1,7
Austria	2	0,1
Belgio	24	1,5
Canada	22	1,3
Cina	19	1,2
Repubblica Ceca	1	0,1
Danimarca	2	0,1
Egitto	1	0,1
Finlandia	5	0,3
Francia	44	2,7
Germania	79	4,8
Irlanda	1	0,1
Israele	9	0,5
Italia	21	1,3
Giappone	18	1,1
Messico	1	0,1
Paesi Bassi	27	1,6
Nuova Zelanda	2	0,1
Norvegia	4	0,2
Polonia	6	0,4
Russia	1	0,1
Singapore	2	0,1
Sud Corea	13	0,8
Spagna	13	0,8
Svezia	8	0,5
Svizzera	48	2,9
Taiwan	1	0,2
UK	195	11,9
USA	1034	62,9
Multi-paese	13	0,8
Totale	1644	

Tabella 1. Nella tabella, sono riportate le sperimentazioni eseguite per ogni Paese.

2.1.2 Patologie trattate con la terapia genica

La maggior parte delle sperimentazioni cliniche di terapia genica (81.4%) eseguite fino ad oggi hanno riguardato il cancro, le malattie cardiovascolari e le malattie ereditarie

monogeniche (Figura 3). Le prime due a causa della loro enorme diffusione, l'impatto e i potenziali esiti fatali, le ultime perché il concetto di sostituzione di un gene difettoso ben definito con la sua controparte correttamente funzionante rappresenta una notevole attrattiva per la comunità medico-scientifica. E' interessante notare che gli studi per le malattie cardiovascolari sono più numerosi rispetto alle malattie monogeniche, nonostante i più grandi successi della terapia genica ad oggi siano stati raggiunti in quest'ultimo ambito. Il Grafico in Figura 3 mostra come sia diversificata la sperimentazione di terapia genica per le patologie da trattare.

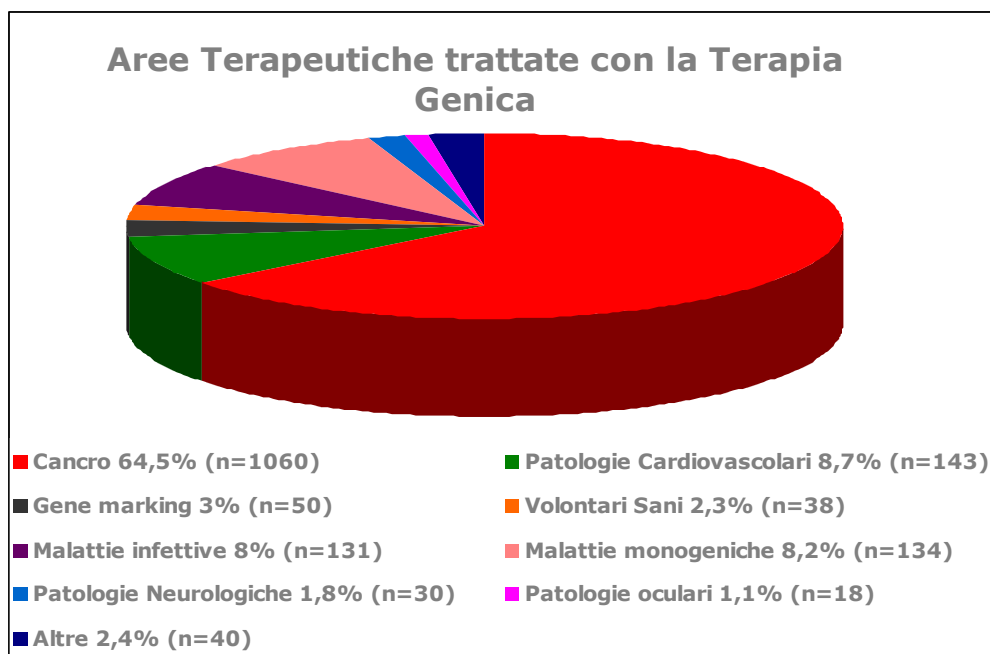


Figura 3. In questo diagramma sono riportate le percentuali di studi clinici effettuati nelle diverse aree terapeutiche indicate.

Cancro

Finora, la maggior parte degli studi clinici di terapia genica sono stati finalizzati alla cura dei tumori (64.5% di tutte le sperimentazioni di terapia genica). Molti tipi di tumori sono stati trattati nel corso degli anni, compresi tumori al polmone, ginecologici, della pelle, urologici, neurologici e gastrointestinali, nonché neoplasie ematologiche e tumori pediatrici.

Strategie diverse sono state applicate alla terapia genica del cancro:

- inserimento di geni oncosoppressori, ossia geni che inibiscono la proliferazione cellulare. E' stato dimostrato che inserendo nel paziente la copia funzionante dell'onco-soppressore p53 si ha una regressione del tumore;
- immunoterapia, che ha lo scopo di intensificare le reazioni del sistema immunitario verso le cellule tumorali. Si attua vaccinando il paziente con cellule modificate o vettori virali che esprimono fattori immunostimolanti;

- *gene-directed enzyme pro-drug therapy* (GDEPT), che consiste nell'introduzione mirata di geni che codificano gli enzimi (spesso chiamati "geni suicidi") in grado di convertire pro-farmaci in farmaci che uccidono selettivamente le cellule tumorali.

Patologie cardiovascolari

Le patologie cardiovascolari rappresentano il secondo ambito di applicazione più importante per la terapia genica. La maggioranza delle sperimentazioni di terapia genica cardiovascolare fino ad oggi si sono focalizzate sull'angiogenesi terapeutica con lo scopo di aumentare il flusso di sangue alle regioni ischemiche. Due categorie dominanti di malattie ischemiche sono state testate in numero approssimativamente uguale, vale a dire ischemia del miocardio, causata da patologie coronariche, e l'ischemia degli arti inferiori, causata da patologie delle arterie periferiche. La famiglia del fattore di crescita dei fibroblasti (FGF) e quella del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) sono state ampiamente utilizzate per il trattamento di ulcere del piede imputabili a malattie vascolari causate dal diabete (Germani A. et al., 2009).

Malattie ereditarie monogeniche

Lo scopo ultimo nel trattamento delle malattie monogeniche mediante terapia genica è la correzione del disturbo mediante il trasferimento stabile del gene funzionante nell'individuo. Sono stati identificati più di 100 studi di malattie ereditarie monogeniche, un terzo dei quali mirati alla fibrosi cistica, la più comune malattia genetica ereditaria in Europa e negli Stati Uniti. L'aspettativa di vita media dei pazienti con fibrosi cistica è minore di 40 anni, da qui l'interesse per questa malattia come un obiettivo primario per la terapia genica (Davies J.C. et al., 2010). Il secondo gruppo più comune di malattie ereditarie trattate è quello delle sindromi di immunodeficienza combinata grave che rappresenta circa il 20% degli studi di terapia genica per malattie monogeniche. Questo è un gruppo di malattie in cui la terapia genica ha dimostrato un significativo beneficio terapeutico che dura nel tempo (Aiuti A. et al., 2009). Anche la sindrome granulomatosa cronica, un'altra immunodeficienza monogenica, è stata trattata con successo (Goebel W.S. et al., 2003). Circa 20 altre malattie monogeniche sono state trattate e la maggior parte degli studi hanno mostrato l'espressione transitoria del gene trasferito, con la proteina rilevabile in alcuni casi, ma ancora nessun evidente beneficio terapeutico (Edelstein M.L. et al., 2007)

Altre indicazioni

Un totale di 131 studi (8% del totale) sono stati effettuati per le malattie infettive. Il virus di immunodeficienza umana (HIV) è l'obiettivo principale di questa categoria, ma sono stati condotti studi anche per il tetano, il citomegalovirus (CMV) e l'infezione da adenovirus. Anche le malattie neurologiche sono state trattate con la terapia genica, con 30 sperimentazioni registrate di fase I e II rivolte ad una varietà di malattie come la sclerosi multipla, la miastenia grave, le complicazioni neurologiche del diabete, il morbo di Alzheimer e, recentemente, il morbo di Parkinson. Per quanto riguarda le patologie oculari sono stati registrati ad oggi 18 studi focalizzati su patologie quali la retinite pigmentosa, il glaucoma e la degenerazione della macula legata

all'invecchiamento. Infine un piccolo numero di studi di fase I hanno affrontato altre malattie tra cui la malattia infiammatoria intestinale.

2.1.3 Fasi degli studi clinici

La stragrande maggioranza degli studi clinici di terapia genica condotti fino ad oggi sono ancora in fase I o I/II (Figura 4).

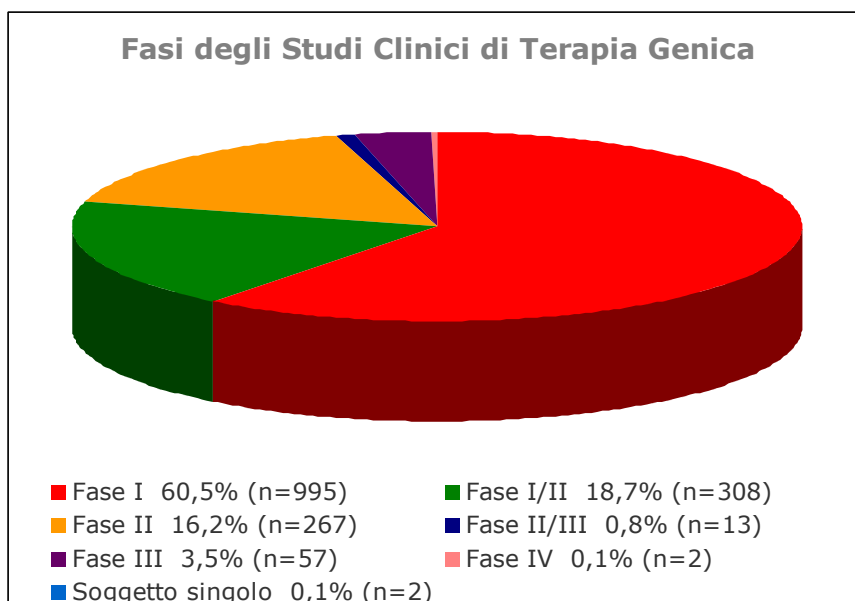


Figura 4. In questo diagramma sono riportate le percentuali di studi clinici nelle diverse fasi di sperimentazione.

Come mostrato in Figura 4, le due categorie rappresentano insieme il 79.2% di tutte le sperimentazioni di terapia genica; il 16.2% è costituito da studi di fase II mentre gli studi di fase II/III e III sono solo il 4.3%. Il numero di studi di fase II, II/III e III è leggermente aumentato rispetto ai dati relativi al 2007 (20.5% nel 2010 rispetto al 19.1% nel 2007) e ciò potrebbe indicare che la terapia genica si sta lentamente avvicinando alla pratica clinica.

2.2 Testimonianze dirette

In questa parte del nostro *Project Work*, riporteremo le testimonianze dirette di persone coinvolte nelle sperimentazioni cliniche di terapia genica applicata a diverse patologie. Abbiamo sentito la voce della “scienza”, della “medicina”, del paziente e dell’opinione pubblica.

2.2.1 ADA-SCID

L'ADA-SCID appartiene al gruppo delle ImmunoDeficienze Combinate Gravi (SCID), malattie in cui il sistema immunitario è gravemente compromesso, al punto che l'organismo è incapace di difendersi da qualsiasi agente infettivo. La malattia si manifesta già nelle prime settimane di vita e, in assenza di trattamento, compaiono ben presto infezioni ricorrenti, soprattutto a carico dell'apparato respiratorio, spesso fatali. Essa è causata dall'alterazione del gene che permette la produzione di un enzima chiamato Adenosin DeAminasi (ADA), importante nella maturazione delle cellule del sistema immunitario. Fino a poco tempo fa, il trattamento di elezione è stato il trapianto di midollo osseo da donatori compatibili. In alternativa, si può fornire al bambino l'enzima ADA purificato, somministrato con iniezioni periodiche. Ad oggi si può intervenire con un protocollo di terapia genica, in quanto la patologia è particolarmente adatta a questo tipo di approccio; infatti, il gene ADA è piccolo, i linfociti sono facilmente ottenibili dal paziente con un semplice prelievo di sangue e sono facilmente coltivabili in modo da permettere una terapia genica *ex vivo*.

Il primo successo è stato ottenuto con un *trial* clinico iniziato il 14 settembre 1990 su una paziente, Ashanthi DeSilva, che aveva solo 4 anni; in questo caso è stato osservato che il trasferimento di geni ADA normali nei linfociti T determina il ripristino del fenotipo normale. In seguito, dal 2002 è stato sviluppato un protocollo di terapia genica da parte dei ricercatori dell'Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica di Milano (Hsr-Tiget) con cui sono stati curati in maniera risolutiva 14 bambini affetti dalla malattia (Aiuti A. et al., 2009; Ferrua F. et al., 2010). La terapia genica per l'ADA-SCID è l'unico *trial* clinico che ha raggiunto fase III e che nel 2005, come protocollo clinico, ha ricevuto la qualifica di "*orfan drug*" dall'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA).

Come testimonianza dell'applicazione della terapia genica per la cura di questa patologia abbiamo ascoltato il parere del professor XX dell'Area Clinica per la Patogenesi e la terapia dell'ADA-SCID presso l'Hsr-Tiget di Milano. In seguito abbiamo intervistato la dottoressa XX, ricercatrice presso l'azienda biotecnologica MolMed s.p.a, responsabile della produzione del farmaco utilizzato nella sperimentazione. Infine, abbiamo raccolto la testimonianza del dottor XX, ricercatore presso il *Centre of Excellence for External Drug Discovery* (CEED), unità specializzata di Ricerca&Sviluppo della GlaxoSmithKline (GSK), una multinazionale farmaceutica impegnata nella ricerca, nata nel dicembre del 2000 dalla fusione di Glaxo Wellcome e SmithKline Beecham e con cui l'Hsr-Tiget ha intrapreso una collaborazione.

Intervista al professor XX (Hsr-Tiget)

Dall'intervista fatta al professor XX, è emerso che non ci sono stati problemi nell'arruolamento dei pazienti, in quanto le famiglie dei bambini affetti da ADA-SCID, dopo essere state messe al corrente di tutti gli aspetti relativi all'efficacia, ai rischi del trattamento e ai suoi potenziali benefici, hanno deciso di firmare il consenso informato, consapevoli che i propri figli fossero affetti da una patologia mortale, per la quale, oggi, non esiste nessuna alternativa terapeutica, se non questo tipo di sperimentazione. I

genitori hanno deciso di affrontare il percorso terapeutico mostrando sempre grande fiducia verso i medici e mantenendo sempre un atteggiamento molto positivo.

Il professor XX ha, poi, sottolineato la necessità che il farmaco concluda il suo percorso di registrazione e che non resti solo una terapia sperimentale, ma entri nella pratica clinica comune. Obiettivo a breve termine, infatti, sarà rendere il farmaco una terapia standard rimborsabile dal Sistema Sanitario Nazionale, per permettere a tutti i pazienti di usufruirne, visti i costi elevatissimi. Tutto ciò sarà possibile grazie al supporto di Telethon e GlaxoSmithKline. Il professor XX ha, poi, evidenziato che diversi accorgimenti hanno permesso il successo della terapia genica, quale l'adeguamento del protocollo sperimentale alla normativa vigente, con la creazione di un database in cui riportare minuziosamente tutti gli eventi avversi.

Il messaggio più incoraggiante emerso da questa intervista è che, in questo momento, sembra non ci siano particolari ostacoli per la terapia genica, che si sta rilevando valida e sicura nei pazienti trattati finora, come dimostrato dal *follow up* a 10 anni dal trattamento per il primo paziente.

Intervista alla dottoressa XX (MolMed S.p.a.)

Dall'intervista alla dottoressa XX sono emerse innanzitutto le difficoltà temporali che la terapia genica per l'ADA-SCID ha incontrato e sta ancora incontrando al fine di essere considerata un vero e proprio farmaco; infatti, le ricerche per la cura della malattia sono cominciate negli anni '90 e solo nel 2005 l'EMA ha rilasciato *l'orfan drug designation* per il protocollo clinico.

Un altro tema affrontato riguarda il costo dell'applicazione di un farmaco di terapia genica rispetto ad un farmaco tradizionale. Secondo la dottoressa XX, la terapia genica è di per sé una terapia costosa ma è una terapia *one shot*, ovvero di singola somministrazione. Quindi per una patologia cronica, come per esempio l'AIDS, sebbene un'ipotetica cura con la terapia genica sarebbe costosa, i pazienti verrebbero trattati una volta sola e non più per tutta la vita come nel caso della terapia farmacologica, e questo potrebbe determinare un vantaggio economico.

Nell'intervista sono state affrontate anche le problematiche legate agli eventi avversi associati all'utilizzo dei vettori virali che si sono verificati per alcuni studi clinici. Nonostante questo, va sottolineato che qualsiasi approccio terapeutico innovativo può causare dei problemi, per cui questo non deve essere motivo di sfiducia. Infatti, la terapia genica ha portato anche a degli ottimi risultati, come nel caso dell'ADA-SCID. Sicuramente c'è ancora da lavorare per ridurre i possibili rischi associati all'uso della terapia e, in tal senso, le analisi condotte sono diventate ancora più sofisticate, proprio per migliorare la qualità dei vettori virali impiegati e garantire la sicurezza dei pazienti.

Infine, la dottoressa XX ha chiarito il motivo per cui la maggior parte degli studi clinici di terapia genica siano fermi alle fasi I e II: ciò è legato alla numerosità dei pazienti richiesta per cominciare la fase III e pertanto, nel caso delle malattie rare, è difficile raggiungere un numero così elevato. Inoltre, i costi relativi alla sperimentazione di fase III sono molto elevati poiché maggiore è il numero di pazienti da trattare, ed essendo il

farmaco di terapia genica di per sé più costoso, risulta difficile sostenere la spesa. Ciò nonostante, sebbene pochi, sono in corso *trial* clinici di fase III: l'ADA-SCID ne è un esempio. Inoltre, la MolMed ha ricevuto l'approvazione per un *trial* clinico di fase III di terapia genica, attualmente in fase di reclutamento, per il trattamento di pazienti affetti da leucemie acute, confermando così l'interesse e l'impegno dell'azienda nell'investire in terapia genica.

Dall'intervista emerge un quadro molto chiaro e obiettivo di quelle che sono le potenzialità della terapia genica e gli ostacoli ancora da superare. Si sta lavorando molto per raggiungere ulteriori risultati, che siano incoraggianti come quelli riscontrati negli ultimi anni per la cura dell'ADA-SCID.

Intervista al dottor XX (GlaxoSmithKline)

La terapia genica, secondo il dottor XX, è solo un ulteriore ambito in cui sta investendo il reparto di Ricerca&Sviluppo della GSK. L'azienda si sta focalizzando sempre di più in aree terapeutiche in cui il bisogno clinico non è ancora stato soddisfatto, come per le malattie rare che possono essere spesso fatali. Questo, insieme ai recenti successi ottenuti nel campo dell'ADA-SCID e MLD (leucodistrofia metacromatica) e le speranze nei vettori lenti virali, indica che l'azienda ha scelto il momento giusto per investire in sperimentazioni di terapia genica.

Oltre che con il professore XX, la GSK collabora con Fondazione Telethon e Fondazione San Raffaele, per altre sei terapie per malattie rare: la leucodistrofia metacromatica (MLD), la sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS), la β -talassemia, la mucopolisaccaridosi di tipo I (MPS), la leucodistrofia globoide (GLD) e i disordini granulomatosi cronici (CGD). Le sperimentazioni cliniche per la sindrome di Wiskott-Aldrich e la mucopolisaccaridosi di tipo I sono partite all'HSR-TIGET la scorsa primavera e sono in fase di arruolamento di pazienti.

Non esiste nulla di certo riguardo alle malattie rare e nulla di realmente riproducibile, riferisce il dottor XX; si tratta di condizioni devastanti dove una nuova tecnica come il trasferimento genico può offrire un appropriato rapporto rischio/beneficio. Il vettore ADA potrebbe essere approvato nel 2013. Sebbene i dati clinici siano promettenti, c'è ancora molto da imparare su come renderli riproducibili senza apportare troppi cambiamenti al procedimento attuale, che è stato provato ad oggi solo su un piccolo numero di pazienti. Se fossero apportati molti cambiamenti, le autorità regolatorie richiederebbero dei nuovi *trial* clinici, anche se non sono particolarmente restrittive in Italia rispetto agli altri paesi europei.

2.2.2 AMAUROSIS CONGENITA DI LEBER

L'Amaurosi Congenita di Leber è la più precoce e la più severa forma di distrofia retinica ereditaria; provoca cecità o grave danneggiamento della vista fin dall'infanzia ed in genere l'esordio è nei primi sei mesi di vita (De Laey et al, 1991). È una malattia genetica rara, descritta per la prima volta nel 1869 da Theodor von Leber, un oftalmologo tedesco (Harris et al, 2001). Si conoscono, oggi, 10-12 geni associati alla patologia; nel 10% dei casi essa è causata da mutazioni del gene RPE65 (Gu et al, 1997;

Marlhens et al, 1997). Non esistono ancora protocolli terapeutici definitivi. Fino ad oggi, sono state prese in considerazione diverse linee di intervento, quali il trapianto di retina e di cellule staminali, nonché diverse terapie farmacologiche, nessuna delle quali rivelatasi efficace. Risultati incoraggianti si sono però ottenuti da sperimentazioni cliniche di terapia genica basata sull'utilizzo di vettori virali contenenti il gene RPE65. Nel 2001, Acland ha dimostrato, per la prima volta, la possibilità di ristabilire la vista mediante la terapia genica in un modello animale di grossa taglia (un cane) di retinopatia umana (Acland et al, 2001). Alla fine del 2007, su tre pazienti italiani è stata eseguita la prima sperimentazione clinica, messa a punto da ricercatori dell'Istituto Telethon di genetica e medicina (Tigem) di Napoli, in collaborazione con il Dipartimento di Oftalmologia della Seconda Università di Napoli (Sun) e il *Children's Hospital* di Philadelphia, dove è stato eseguito l'intervento chirurgico per tutti i pazienti. La terapia, consistente nell'iniezione di una copia corretta del gene RPE65 negli occhi dei pazienti, ha portato a iniziali segni di miglioramento della funzione visiva (Simonelli F. et al., 2007; Maguire A.M. et al, 2008). Questi risultati positivi sono, poi, stati confermati da sperimentazioni condotte a Londra e in Florida. Finora, i pazienti trattati con questo nuovo approccio sono dodici: tutti hanno avuto miglioramenti della funzione visiva e nessuno di essi ha sviluppato effetti tossici (Maguire A.M. et al., 2009). Recentissimo è lo studio che confermerebbe l'efficacia e la sicurezza del trattamento fino a 1 anno e 6 mesi dopo la somministrazione del vettore (Simonelli F. et al., 2010).

Abbiamo deciso di sentire il parere dei principali attori di questa bellissima storia che parla italiano: il professor XX, ricercatore del Tigem, dove è stata ideata la "strategia molecolare" per correggere il difetto del gene responsabile della malattia oculare, RPE65 e il signor XX dell'Associazione Italiana Amaurosi Congenita di Leber - *Italian Association Leber Congenital Amaurosis* (I.A.L.C.A.), fondata a Pavia nel maggio del 1999. L'associazione sostiene le famiglie dei bambini affetti da amaurosi congenita di Leber; mira, inoltre, a costruire una corsia preferenziale di collegamento tra queste ultime e le strutture preposte alla ricerca e alla terapia, verso cui veicolare in tempo reale le loro richieste di aiuto.

Intervista al professor XX (Tigem)

Il professor XX ha affermato che tutti i pazienti ai quali è stato proposto l'arruolamento hanno firmato il consenso informato, mostrando quindi un'opinione positiva e fiduciosa verso questo tipo di trattamento. Inoltre, la diffusione mediatica dei successi ottenuti dalla sperimentazione ha spinto moltissimi pazienti a contattare gli addetti ai lavori per entrare a far parte dello studio, sebbene solo un paio di persone rispettassero le caratteristiche necessarie per essere inserite nella sperimentazione.

Nonostante per lo studio sull'Amaurosi Congenita di Leber non sia stato necessario richiedere finanziamenti esterni, i costi per la terapia genica sono molto alti e difficili da sostenere da parte di un centro di ricerca, per cui in futuro sarà sicuramente necessario richiedere *partnership* con aziende farmaceutiche per sostenere gli studi.

Come ci spiega il professore la normativa e le linee guida da seguire per portare avanti un studio clinico di terapia genica sono ben definite in Italia ed in Europa, ma poiché i

ricercatori non sono abituati a questo tipo di procedure, il Tigem sta istituendo un'unità dedicata esclusivamente agli affari regolatori.

Secondo il ricercatore, la terapia genica è una disciplina di successo e questo è un momento in cui i risultati clinici stanno dando risultati positivi sia in termini di *safety* che in termini di *efficacy* e fanno, quindi, ben sperare. Riguardo ad eventuali ostacoli ancora da superare, il professor XX sostiene che sicuramente ci saranno delle malattie per le quali sarà più complesso stabilire una strategia di terapia genica, come per esempio nel caso di malattie degenerative, rispetto ad altre. Un'ulteriore condizione di cui tener presente è la capacità di traslare rapidamente in clinica studi effettuati su modelli animali, e solo i centri ben organizzati e con fondi sufficienti potranno realizzare ciò. In conclusione, i maggiori impedimenti a che la terapia genica arrivi in clinica sono di tipo organizzativo, burocratico ed economico e, in ogni caso, dipendenti dal tipo di patologie da trattare.

Intervista al signor XX (I.A.L.C.A)

La I.A.L.C.A. è stata una delle prime associazioni in Italia che si è occupata di terapia genica, già dall'inizio degli anni 90.

“Non ci piace illudere i nostri soci - afferma il signor XX – e perciò cerchiamo sempre di essere obiettivi; la terapia genica sta iniziando a muovere i suoi primi passi ed ora sta iniziando a dare dei segnali positivi!”.

Da quanto affermato da XX, tutti i soci dell'associazione stanno vivendo con grande trepidazione e speranza la possibilità di sottoporsi alla sperimentazione. Per questo motivo, l'associazione è sempre più spronata a sponsorizzare la ricerca per far sì che il numero di pazienti, per ora ancora limitato, che potrà usufruire della sperimentazione, aumenti.

I.A.L.C.A. è presente su tutto il territorio nazionale e riesce a fornire aiuto alle famiglie dei pazienti dando loro informazioni il più corrette possibili sugli avanzamenti delle sperimentazioni, indirizzandoli verso i centri di eccellenza. La famiglia non va incontro a nessuna spesa, di cui si fa interamente carico la Fondazione Telethon. Inoltre, l'associazione cerca di sensibilizzare l'opinione pubblica organizzando iniziative per la raccolta fondi per supportare la ricerca nel campo della terapia genica dell'Amaurosi Congenita di Leber, appoggiandosi anche ai loro principali centri di riferimento, quali il Tigem e la Seconda Università di Napoli. I.A.L.C.A. sta, inoltre, organizzando una giornata per definire lo stato dell'arte della terapia genica per l'Amaurosi Congenita di Leber, sia da un punto di vista medico che scientifico. In questo modo, dimostra di essere vicina a tutti i pazienti affetti da questa patologia e alle loro famiglie. Prossimo obiettivo dell'associazione sarà coinvolgere anche le aziende farmaceutiche per finanziare la ricerca.

2.2.3 ISCHEMIA CRITICA DELL'ARTO INFERIORE (ICAI)

Con il termine ischemia critica dell'arto inferiore (ICAI) si definisce l'arteriopatia obliterante periferica cronica (AOPC), caratterizzata clinicamente dalla presenza di forti dolori a riposo, ulcere croniche che non cicatrizzano, mancanza di sensibilità, bruciori e gangrena (Melillo E. et al.; 2006). La terapia tradizionale in questi casi prevede il *bypass* chirurgico o l'angioplastica, mentre non sono disponibili farmaci di provata efficacia. Quando *by-pass* e angioplastica non risultano strade percorribili, spesso l'amputazione diventa l'unica possibilità d'intervento (le amputazioni sono più di 200 mila l'anno tra Europa e Usa).

Sviluppare una sorta di “*bypass* naturale” in pazienti con ischemia critica degli arti inferiori, favorendo la neoangiogenesi con la terapia genica è lo scopo dello studio internazionale di fase II coordinato dall'IDI (Istituto Dermopatico dell'Immacolata) di Roma e dal Centro cardiologico Monzino di Milano, che coinvolge 112 pazienti. La terapia genica costituisce una via alternativa: la formazione di nuovi vasi che possano aumentare il flusso sanguigno locale, riducendo il dolore, favorendo la guarigione delle ulcere e allontanando la gangrena e il rischio di amputazione, inoculando direttamente nei muscoli dell'arto malato un plasmide (e non un vettore virale) portatore del gene che codifica per il fattore di crescita *Fibroblast growth factor-1* (FGF-1), capace di favorire la neoangiogenesi. I risultati dei modelli animali e di uno studio di fase I eseguito su 51 pazienti, oltre all'efficacia, hanno dimostrato la totale assenza di eventi avversi correlati ed una buona tollerabilità del trattamento, sia in dose singola che ripetuta. Ora sono in corso due studi di fase II: il primo è effettuato su 112 pazienti con ischemia critica degli arti inferiori reclutati in vari paesi europei tra cui l'Italia (i dieci centri italiani sono distribuiti in Emilia Romagna, Lazio, Lombardia, Marche, Toscana, Veneto). La seconda indagine, condotta per tutta l'Europa solo dall'IDI di Roma e dal Centro cardiologico Monzino, coinvolgerà 80 pazienti portatori di un'occlusione aterosclerotica degli arti inferiori meno grave, con disturbi che riguardano soprattutto la comparsa di dolori muscolari alle gambe durante la deambulazione (“malattia delle vetrine”).

Per avere maggiori informazioni sulla sperimentazione clinica abbiamo contattato il dottor XX, del laboratorio di Patologia Vascolare dell'IDI di Roma e del Laboratorio di Biologia vascolare e Terapia genica del Centro cardiologico Monzino di Milano.

Intervista al dottor XX

Secondo quanto ci è stato riportato dal dottor XX, molto spesso i pazienti non conoscono la terapia genica e far capire loro in cosa essa consiste è un'operazione abbastanza complessa che richiede molto tempo per spiegare quali possono essere gli eventuali rischi e i possibili benefici. Tuttavia, dice il dottore, i principi della terapia sono abbastanza semplici per cui, dopo la spiegazione, i pazienti hanno un quadro chiaro della terapia e la percepiscono in maniera positiva. La patologia trattata dal dottor XX presenta elevata mortalità e sintomatologia molto dolorosa, pertanto i pazienti sono sensibili alla possibilità di un nuovo trattamento che li possa aiutare. Probabilmente, la reazione potrebbe essere diversa nel caso in cui i pazienti fossero affetti dalla malattia in forma lieve.

Il dottor XX afferma che a livello normativo la situazione in Italia è veramente molto complessa. La parte regolatoria dello studio in questione è stata svolta totalmente dallo *sponsor*, laSanofi Aventis; il dottore ha sottolineato, poi, il fatto che si incontrano maggiori difficoltà nel momento in cui si vanno a proporre, autonomamente, gli studi alle agenzie regolatorie.

“La terapia genica ha delle enormi potenzialità - dice XX - e la difficoltà maggiore è rappresentata dal costo elevato a cui si va incontro per questo tipo di sperimentazione clinica”.

Inoltre, secondo il dottor XX, c'è una certa resistenza da parte della popolazione ad utilizzare la terapia genica in quanto è percepita come una tecnica molto complicata e rischiosa.

2.2.4. Aspetti regolatori: la testimonianza del dottor XX (MolMed S.p.a)

Il dottor XX ha messo a nostra disposizione le sue conoscenze in ambito regolatorio.

Egli sostiene che esistono sia alcune profonde differenze normative tra Europa e Stati Uniti sia importanti analogie. In Europa, gli studi clinici, qualunque sia il farmaco in sperimentazione, sono regolati dalla Direttiva CE 2001/20 che delega l'autorizzazione alla sperimentazione clinica alle singole autorità regolatorie nazionali (ISS e AIFA per l'Italia). Negli Stati Uniti, invece, l'autorizzazione viene richiesta all'autorità regolatoria federale, FDA (*Food and Drug Administration*) e, in particolare, al CDER (*Center for Drug Evaluation and Research*) per i farmaci biotecnologico-chimici e al CBER (*Center for Biologics Evaluation and Research*) per quelli di terapie avanzate, inclusi i farmaci di terapia genica. Questa differenza ha importanti ricadute da un punto di vista pratico e logistico; in Europa, infatti, per attivare studi clinici multinazionali è necessario richiedere autorizzazioni in tutti gli stati europei in cui si intende attivare lo studio clinico e questo comporta un *surplus* di lavoro amministrativo e, quindi, un allungamento dei tempi di autorizzazione. Inoltre, le singole commissioni possono esprimere giudizi diversi, soprattutto per i farmaci di terapia avanzata per i quali non vi è un quadro regolatorio consolidato.

In più, negli Stati Uniti vige la regola del silenzio assenso, che comporta la possibilità di iniziare lo studio clinico entro 30 giorni dalla presentazione della domanda, salvo indicazione contraria da parte dell'FDA. In Europa, invece, la Direttiva CE 2001/20 impone l'emissione di uno specifico parere positivo da parte delle singole autorità nazionali entro 90 giorni, per gli studi di terapia genica, dalla sottomissione della domanda. La documentazione tecnica da sottomettere per l'approvazione di uno studio clinico è sostanzialmente identica tra Europa e Stati Uniti.

Il dottor XX ha sottolineato che il quadro normativo attuale è in rapida evoluzione. Nuove linee guida sono in preparazione ed attese nei prossimi due anni ed altre sono in corso di revisione da parte dell'EMA.

Dall'intervista è emerso che le normative che definiscono i principi tecnici alla base della regolamentazione necessaria per uno studio clinico di terapia genica sono fondate sulle più aggiornate conoscenze scientifiche e sono comunque la sintesi di un dialogo tra le autorità regolatorie e la comunità scientifica ed industriale, e ciò determina un buon accordo tra le diverse parti coinvolte. Per quanto riguarda le normative relative alle procedure di autorizzazione, è abbastanza difficile armonizzarle con quelle per i farmaci di sintesi organica, essendo così diversi i contesti e le esigenze. Tuttavia, tentativi si stanno facendo in quest'ambito, ma la strada da percorrere è ancora lunga.

Secondo il dottor XX, è molto difficile prevedere un arco di tempo entro il quale un farmaco di terapia genica possa ottenere un'autorizzazione all'immissione in commercio, soprattutto considerando che tali farmaci sono per lo più ancora in fase I e fase I/II di sperimentazione. Attualmente, infatti, non ci sono domande per la commercializzazione di farmaci di terapia genica e non ci saranno sul mercato farmaci di questo tipo nei prossimi 1 o 2 anni.

Infine, il dottor XX ha sottolineato, considerando il fattore farmacoeconomico, che le strategie terapeutiche miranti ad una correzione permanente di un difetto genetico richiedono una sola somministrazione del farmaco e si pongono come alternativa a farmaci che devono essere somministrati in modo cronico. Pertanto, da questo punto di vista, anche se il farmaco di terapia genica ha sicuramente un costo maggiore rispetto ad un farmaco convenzionale, questo può essere compensato da un'inferiore richiesta di dosi.

2.2.5 *Il Signor M: il paziente*

Abbiamo avuto la possibilità di porgere alcune domande ad un paziente che qualche anno fa si è sottoposto ad una sperimentale di terapia genica. Per ragioni di *privacy* e di sensibilità, non abbiamo raccolto informazioni riguardo alla patologia di cui è affetta questa persona; sappiamo, però, che la terapia, nel suo caso, non ha avuto l'esito sperato e questa condizione ha reso ancora più preziosa, per noi, la sua testimonianza.

Il Signor M, nonostante non abbia avuto esiti positivi dalla sperimentazione, ha dimostrato di non essersi mai pentito di essersi sottoposto alla terapia genica, consapevole che per lui poteva essere l'unica speranza di guarigione. Ha, inoltre, sottolineato l'importanza di incoraggiare, con tutti i mezzi possibili, questo tipo di approccio in quanto, per alcuni tipi di malattie, quest'ultimo è da considerarsi l'unica alternativa terapeutica.

La cosa che ci ha colpito di più è che il signor M, a distanza di anni, ricorda con grande affetto il personale medico che lo ha seguito durante tutte le fasi della sperimentazione clinica e che è sempre stato pronto e disponibile a chiarire i dubbi che lui e la sua famiglia hanno avuto al momento della scelta e durante tutte le fasi del suo percorso, purtroppo non a lieto fine.

2.2.6 Il punto di vista della popolazione e dei medici.

Sono stati formulati dei questionari per i cittadini, allo scopo di valutare la loro conoscenza della terapia genica e la loro opinione a riguardo. Abbiamo deciso di sottoporre il questionario a medici con diverse specializzazioni, a laureati in materie medico-scientifiche (biotecnologie, biologia, CTF, chimica, farmacia e affini) e alla popolazione, per capire se il tipo di istruzione influenzasse la conoscenza riguardo questo tipo di approccio. Abbiamo anche indagato su come i mezzi di comunicazione possano influire sul grado di conoscenza.

Il questionario è stato somministrato a 25 medici, a 40 laureati in materie medico-scientifiche e a 50 cittadini di entrambi i sessi e di varie età. Dai dati raccolti è emerso che solo il 33% degli intervistati non laureati in materie medico-scientifiche conosce la terapia genica (Figura 5). Nonostante alcuni abbiano un titolo di studio alto (Figura 6), non abbiamo notato correlazione tra livello di istruzione e conoscenza dell'esistenza di questo nuovo approccio terapeutico. Le fonti attraverso cui sono venuti a conoscenza della terapia genica sono internet, TV o riviste scientifiche divulgative (Figura 7) e il 100% di essi ha affermato che considera la fonte attendibile.



Figura 5. Il grafico mostra la percentuale degli intervistati non laureati in materie medico-scientifiche che conosce la terapia genica (in verde) e la percentuale degli intervistati che non la conosce (in rosso).



Figura 6. Il grafico indica la suddivisione degli intervistati non laureati in materie medico-scientifiche in base al titolo di studio.

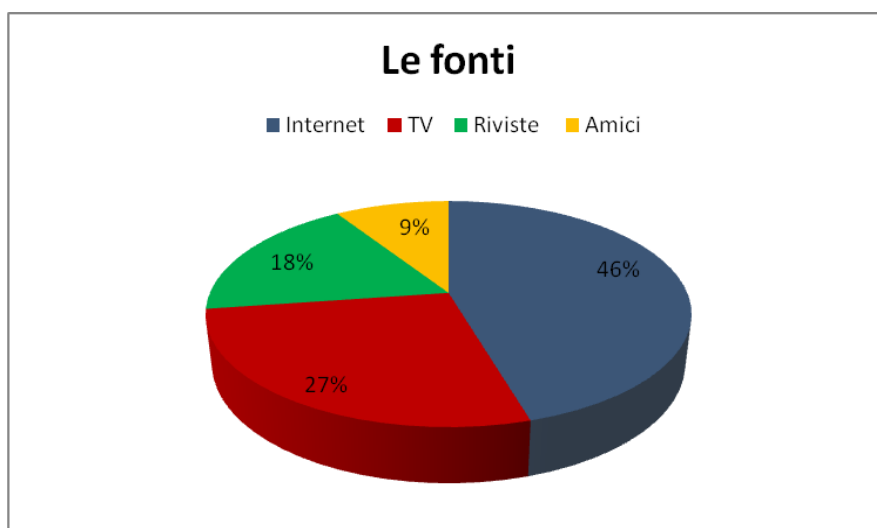


Figura 7. Il grafico indica le fonti da cui gli intervistati sono venuti a conoscenza della terapia genica.

Come atteso, il 100% dei laureati in materie medico-scientifiche e, come riportato in Figura 8, il 96% dei medici intervistati conosce la terapia genica.



Figura 8. Il grafico mostra la percentuale dei medici che conosce la terapia genica (in rosso) e la percentuale che non conosce questo approccio (in giallo).

L'indagine, condotta su coloro che hanno risposto positivamente al primo quesito, ha rivelato un certo grado di fiducia da parte del cittadino riguardo la terapia genica. Tra gli intervistati, infatti, l'89% degli "addetti ai lavori" e l'87% dei "non addetti ai lavori" ritiene utile la terapia genica. Tuttavia, è evidente che il 53% dei "non addetti ai lavori" e il 41% dei laureati in materie medico-scientifiche è consapevole del rischio potenziale di questa terapia (Figura 10). Al contrario, i medici intervistati si sono mostrati meno fiduciosi nella terapia genica: infatti, solo il 68% di essi la reputa utile. Ciò nonostante, l'86% sostiene che consiglierebbe la terapia genica ad un proprio paziente; tuttavia, buona parte di essi lo farebbe solo nel caso in cui questo approccio rappresentasse l'unica alternativa terapeutica disponibile (Figura 9 e 10).



Figura 9. Il grafico mostra la percentuale di medici che consiglierebbe la terapia genica ad un proprio paziente.

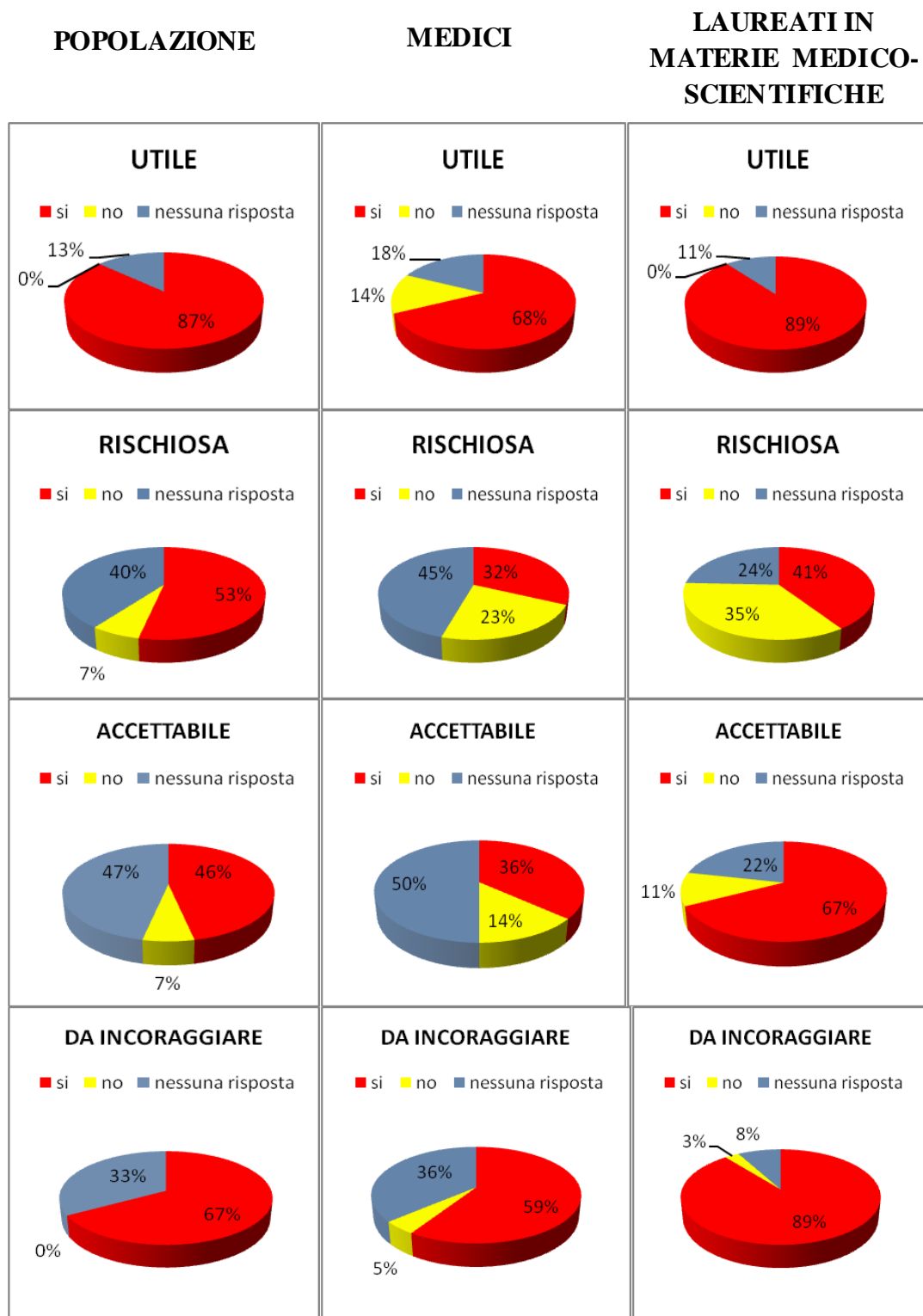


Figura 10. Il pannello mostra le differenze di percezione della terapia genica tra gli intervistati della popolazione, medici e laureati in materie medico-scientifiche.

CAPITOLO 3 - DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

“Terapia genica: un’illusione?”. Così titolava un articolo del Corriere della Sera nel 1997. Già allora, seppur nata da pochi anni, questa tecnica, verso la quale si erano create molte aspettative, suscitava i primi dubbi. Appena 10 anni dopo, in occasione della consegna del premio Nobel al professore Mario Capecchi, padre della metodologia alla base della terapia genica, questo nuovo approccio veniva definito come la nuova frontiera della medicina.

In questo lavoro, abbiamo analizzato lo stato dell’arte della terapia genica, valutando tutti i suoi limiti (tecnico-scientifici, economici, etici e regolatori), ascoltando le voci delle persone direttamente coinvolte in alcuni protocolli di sperimentazione, e raccogliendo il punto di vista della popolazione e degli operatori del settore, quali i laureati in materie medico-scientifiche. Dall’analisi che abbiamo effettuato è emerso chiaramente che le tecnologie usate al momento per la terapia genica non possono ancora essere considerate perfette sebbene molti risultati positivi siano stati raggiunti.

Uno dei principali problemi relativi all’applicazione della terapia genica è legato all’utilizzo dei vettori virali. Il trasferimento di geni esogeni deve essere sicuro per il paziente e per gli operatori, efficiente sia in termini quantitativi sia qualitativi e selettivo per un determinato bersaglio cellulare. L’efficienza della terapia genica dipende dal numero di geni che si riesce a veicolare in un paziente e dalla facilità con cui questi possono venir inseriti stabilmente nelle cellule. Ogni sistema cellulare presenta, sotto quest’aspetto caratteristiche differenti, ma per ora l’efficienza che si riesce ad ottenere, variando la strategia, è ancora troppo bassa rispetto alle ambizioni terapeutiche. Un altro problema è quello della selettività del bersaglio cellulare da modificare; questa è maggiore se si applica la procedura *ex vivo*, mentre è più difficile da ottenere *in vivo*. Al momento sono in studio differenti strategie per permettere l’ingresso del vettore solo in cellule specifiche anche *in vivo*. Un altro aspetto non trascurabile è legato all’immunogenicità che alcuni vettori, o segmenti genici inseriti, potrebbero determinare nell’individuo trattato. Occorre compiere ogni sforzo per garantire la sicurezza dei pazienti soprattutto perché le tecnologie utilizzate al momento per la terapia genica, sono ancora, per la maggior parte dei casi, in fase sperimentale. Dalle interviste effettuate è emerso che molto è stato fatto dal 2002 ad oggi, cioè dopo che si è verificato un evento avverso serio che ha portato allo sviluppo di leucemie in bambini in cura per l’ADA-SCID. Secondo la dottoressa XX della MolMed S.p.a. c’è ancora da lavorare per migliorare la sicurezza dei vettori. Tuttavia come ci è stato detto dal professore XX e dal dottore XX della GlaxoSmithKline questo è un momento in cui i risultati in termini di sicurezza dei vettori virali sono positivi.

Inoltre per garantire la sicurezza del paziente, la comunità scientifica internazionale si è adoperata, sin dalla nascita della terapia genica, attraverso la stesura di linee guida e normative che sono state adattate e adeguate nel tempo a seconda delle necessità sollevate dal numero sempre crescente di sperimentazioni di terapia genica effettuate. Da quanto detto dai diversi ricercatori la situazione normativa sembrerebbe discordante; probabilmente l’incongruenza nasce dal fatto che il ricercatore è per lo più estraneo a

questi aspetti, infatti si appoggia ad eventuali *sponsor* aziendali, a strutture esterne oppure, come nel caso del Tigem di Napoli, si sta provvedendo a creare un'unità interna dedicata all'adempimento degli affari regolatori. Il dottore XX, in qualità di esperto in affari regolatori, ci ha confermato che la legislazione, per quello che riguarda la sperimentazione clinica di farmaci di terapia genica, è abbastanza chiara anche se si in continua revisione da parte dell'EMA. Tuttavia i problemi maggiori che si incontrano e che in parte rallentano il passaggio a fasi successive della sperimentazione sono da imputare soprattutto al fatto che, seppur molto è stato fatto per cercare di rendere europee le regole, di fatto ogni Nazione ha le proprie e questo comporta che nel momento in cui viene presentata la richiesta per l'inizio di una sperimentazione, i promotori devono soddisfare numerose e diverse richieste a seconda dei Paesi coinvolti in tale *trial*.

Un'altra difficoltà di fronte alla quale si trovano spesso gli sperimentatori è che, essendo la terapia genica un approccio estremamente specifico, i criteri di inclusione ed esclusione sono molto stringenti, quindi il numero di pazienti idonei allo studio è spesso limitato e ciò rende più difficile avvalorare i risultati da un punto di vista statistico. Questa è, inoltre, una delle ulteriori motivazioni che rallenta il passaggio degli studi clinici dalla fase II alla fase III, fase che richiede un numero elevato di pazienti, senza considerare che in fase III aumentano notevolmente i costi ed è più difficile raggiungere gli obiettivi di efficacia e sicurezza appropriati. Molto spesso, poi, il problema della bassissima incidenza delle patologie sulla popolazione rappresenta un limite considerevole per l'attuazione della sperimentazione clinica. Inoltre, come detto dal dottore XX, bisogna lavorare per rendere il processo il più riproducibile possibile, anche su larga scala, senza però apportare troppe modifiche al protocollo già approvato, per evitare rallentamenti da parte delle autorità regolatorie.

In generale la sperimentazione di un farmaco di terapia genica è estremamente costosa, dato emerso da tutte le interviste effettuate. Per superare questo limite, gli istituti di ricerca sempre più spesso si rivolgono ad aziende farmaceutiche con cui collaborare per ricercare e sviluppare nuovi trattamenti. Ne è un esempio la collaborazione tra la GlaxoSmithKline, la Fondazione Telethon e la Fondazione San Raffaele di Milano, iniziata nei primi mesi del 2010. Dall'intervista al dottore XX abbiamo avuto l'indicazione che questo è un momento in cui le aziende sono interessate ad investire in tal settore sia per i recenti risultati positivi che sono stati ottenuti sia perché la terapia genica si applica soprattutto a patologie che non hanno ancora una cura. Infatti, dalle varie interviste è emerso che le persone sono più propense a sottoporsi alla terapia genica se per la propria patologia non esiste una valida alternativa farmacologica.

I dati ottenuti dalla distribuzione dei questionari alla popolazione hanno evidenziato che la conoscenza della terapia genica da parte della popolazione non è direttamente correlata al grado d'istruzione ma dipende dalla formazione scientifica. Come traspare dai sondaggi fatti, il principale mezzo di comunicazione attraverso il quale le persone vengono a conoscenza della terapia è il sistema informatico; questo tipo di approccio è, infatti, poco pubblicizzato dalle TV, ad eccezione di pochi programmi che curano argomenti riguardanti la salute e la sanità o in occasioni di campagne di sensibilizzazione per la ricerca scientifica.

Un dato particolarmente interessante emerso dai sondaggi è che la categoria dei medici sembra essere più scettica, rispetto agli “addetti ai lavori” sia riguardo l'utilità della terapia genica sia riguardo la sua sostenibilità, soprattutto relativamente ai rischi cui il paziente potrebbe andare incontro. A tal riguardo, abbiamo chiesto chiarimenti ad un medico che si è dimostrato particolarmente disponibile per cercare di capire il motivo per cui i suoi colleghi hanno un atteggiamento tendenzialmente pessimistico nei confronti di questo approccio:

“Il problema a mio parere è l'età media; molto spesso i medici, soprattutto i medici di medicina generale, o gli specialisti di una certa fama rifiutano di aggiornarsi o di mettere a rischio la propria reputazione cercando strade alternative obiettivamente non sicure al 100%”.

Un ulteriore fattore che secondo noi potrebbe spiegare la poca diffusione della terapia genica è rappresentato da un limite etico. Innanzitutto, c'è la necessità di non causare danni diretti al paziente e al momento non ci sono certezze sull'assenza di rischi relativi a questo approccio a breve, ma soprattutto a lungo termine. Questo aspetto è emerso soprattutto quando sono stati registrati eventi avversi seri, come insorgenza di leucemie causate da inserzione di vettori nel genoma, oppure in caso di reazioni immunitarie. A proposito dell'inserzione dei vettori nel genoma, per ora la maggior parte degli sforzi della terapia genica sono diretti verso la modifica delle cellule somatiche (cioè le cellule che costituiscono il corpo di un individuo e formano tessuti ed organi) e non delle linea germinale (cioè spermatozoi e cellule uovo, deputate alla riproduzione). Molti, infatti, considerano la terapia genica delle cellule somatiche accettabile dal punto di vista etico, almeno quanto i trapianti.

La terapia genica della linea germinale nell'uomo, invece, non viene praticata sia a causa di perplessità di ordine etico sia dei limiti tecnologici della manipolazione delle cellule della linea germinale. Infatti questa tecnologia richiederebbe la modificazione del materiale genetico che costituisce i cromosomi, ad esempio mediante l'integrazione cromosomica del gene introdotto. I sistemi vettoriali che consentono di raggiungere questo risultato però non permettono il controllo accurato del punto d'integrazione. Nella terapia genica somatica l'unica seria preoccupazione riguardo alla mancanza di controllo sul destino dei geni trasferiti è la prospettiva che una o più cellule vadano incontro a trasformazione neoplastica, mentre, la modificazione genetica delle cellule della linea germinale nell'uomo può avere conseguenze non solo per l'individuo le cui cellule siano state originariamente alterate, ma anche e soprattutto per tutti gli individui che ereditano questa modificazione genetica nelle generazioni successive. La terapia genica delle cellule della linea germinale inevitabilmente comporterebbe il non tenere conto del diritto di questi individui di poter scegliere innanzitutto se la loro costituzione genica debba essere modificata.

I numerosi progressi compiuti nel campo delle scienze biomediche, seppur fondamentali per migliorare la qualità di vita delle persone, devono essere regolate da normative e principi etici che impediscano il ripetersi di situazioni drammatiche verificatesi nel corso della storia. E' indispensabile evitare l'insorgenza del pensiero eugenetico, che, in passato, ha enfatizzato doti apprezzate da determinate culture e società che però non costituiscono di per sé lo specifico umano.

E' comunque nostra convinzione considerare non etico il negare un trattamento quale la terapia genica che in alcuni casi rappresenta l'unica, o migliore, possibilità terapeutica per i pazienti.

CAPITOLO 4 - STRUMENTI UTILIZZATI

Questo lavoro è stato fatto raccogliendo testimonianze dirette attraverso interviste telefoniche a professionisti che hanno dedicato tutta la loro carriera alla terapia genica e alle sue applicazioni nella pratica clinica; abbiamo interpellato l'opinione pubblica, la classe medica e i laureati in materie medico-scientifiche (che abbiamo chiamato "addetti ai lavori"), distribuendo loro questionari sia cartacei sia *online* sfruttando *social network*. Infine, abbiamo avuto la testimonianza di un paziente che qualche anno fa si è sottoposto ad una sperimentazione di terapia genica.

Interviste a professionisti del campo

Dalle interviste con esperti di terapia genica, abbiamo cercato di ottenere informazioni innanzitutto riguardo alle difficoltà incontrate nel reclutamento dei pazienti nei protocolli di sperimentazione clinica; sulle modalità con cui i pazienti vengono informati su come verrà effettuata la sperimentazione e sulle reazioni dei pazienti e dei loro familiari, una volta messi al corrente dei rischi e dei benefici che si potrebbero avere da questo tipo di approccio. Abbiamo cercato, inoltre, di avere informazioni riguardo l'interesse mostrato da aziende farmaceutiche nel finanziare progetti di terapia genica. Infine, a tutti sono state rivolte domande riguardo i principali ostacoli, tecnici e soprattutto regolatori, incontrati nelle sperimentazioni e a quelli ancora da superare per far sì che questo approccio terapeutico entri definitivamente nella pratica clinica comune.

Interviste ad aziende farmaceutiche

Alcune aziende ci hanno dato disponibilità per brevissime interviste, telefoniche o via *e mail*, che ci hanno permesso di capire le motivazioni che spingono un'organizzazione ad investire fondi nel sostenere la ricerca nel campo della terapia genica applicata alle malattie rare. Abbiamo chiesto loro una previsione su quando un farmaco di terapia genica potrà diventare una terapia standard rimborsabile dal Sistema Sanitario Nazionale e quali difficoltà si potrebbero incontrare nel processo di commercializzazione. Infine, abbiamo chiesto se sono state incontrate difficoltà normative e, nel caso delle multinazionali, se ci sono particolari differenze tra l'Italia e gli altri paesi europei.

Interviste a pazienti

Abbiamo contattato l'associazione di pazienti per l'Amaurosi Congenita di Leber, malattia per cui oggi è in corso una sperimentazione clinica in terapia genica, per capire come i pazienti e loro famiglie recepiscono questa nuova possibilità di cura. Ci è sembrato rilevante chiedere in che modo l'associazione offra supporto ai pazienti e alle loro famiglie, come cerca di sensibilizzare l'opinione pubblica e se e come stimola le aziende farmaceutiche ad investire in questo tipo di ricerca.

Nel corso della nostra analisi sulla terapia genica, abbiamo coinvolto un paziente, che per motivi di *privacy* abbiamo chiamato signor M e del quale non abbiamo nominato nemmeno la patologia da cui è affetto. Il paziente, che qualche anno fa si è sottoposto ad una sperimentazione che non ha avuto, però, gli esiti sperati, ci ha offerto la sua opinione in merito a questo tipo di terapia e raccontato la sua esperienza.

Interviste alla popolazione, alla classe medica e agli “addetti ai lavori”

Abbiamo sottoposto dei questionari alla popolazione mediante un *social network*. È stato chiesto a queste persone se conoscono la terapia genica come approccio terapeutico, le fonti da cui eventualmente ne sono venute a conoscenza e la relativa attendibilità.

Abbiamo, poi, raccolto il parere di alcuni medici a cui sono state rivolte domande per conoscere la loro opinione sulla terapia genica ed il grado di fiducia verso di essa.

Anche agli “addetti ai lavori” abbiamo chiesto il loro punto di vista sulla terapia genica, valutando se la ritenessero realmente una valida alternativa terapeutica.

BIBLIOGRAFIA

Acland GM, Aguirre GD, Ray J et al. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet.* 2001 May;28(1):92-5.

Aiuti A, Roncarolo MG. Ten years of gene therapy for primary immune deficiencies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009 Dec; 14(5):682-9.

Cotrim AP, Baum BJ. Gene therapy: some history, applications, problems, and prospects. *Toxicol Pathol.* 2008;36(1):97-103.

Couzin-Frankel J. Genetics. The promise of a cure: 20 years and counting. *Science.* 2009 Jun 19;324(5934):1504-7.

Davies JC, Alton EW. Gene therapy for cystic fibrosis. *Proc Am Thorac Soc.* 2010 Nov;7(6):408-14

De Laey JJ. Leber's congenital amaurosis. *Bull Soc Belge Ophtalmol.* 1991 Oct;13(6):241:41-50.

Edelstein ML, Abedi MR, Wixon J. Gene therapy clinical trials worldwide to 2007--an update. *J Gene Med.* 2007 Oct;9(10):833-42.

Ferrua F, Brigida I, Aiuti A. Update on gene therapy for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2010 Dec;10(6):551-6.

Flotte T.R. Gene therapy: the first two decades and the current state-of-the-art. *J Cell Physiol.* 2007 Nov;213(2):301-5.

Germani A, Di Campi C, Pompilio G, Biglioli P, Capogrossi MC. Regenerative therapy in peripheral artery disease. *Cardiovasc Ther.* 2009 Winter;27(4):289-304.

Goebel WS, Dinuer MC. Gene Therapy for chronic granulomatous disease. *Acta Haematol.* 2003 Jun; 110(2-3):86-92.

Gu SM, Thompson DA, Srikumari CR et al. Mutations in RPE65 cause autosomal recessive childhood-onset severe retinal dystrophy. *Nat Genet.* 1997 Oct;17(2):194-7.

Harris D. Gene therapy and molecular biology – International conference 2001. *IDrugs.* 2001 Oct;4(10):1155-8.

Kohn DB, Candotti F. Gene therapy fulfilling its promise. *N Engl J Med.* 2009 Jan 29;360(5):518-21.

Maguire AM et al. Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med* 2008 Jul;5(358):2240-8.

Maguire AM et al. Age-dependent effects of RPE65 gene therapy for Leber's congenital amaurosis: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*. 2009 Nov 7;374(9701):1569-70.

Marlhens F, Bareil C, Griffoin JM et al. Mutations in RPE65 cause Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 1997 Oct;17(2):139-41.

Melillo E, Ferrari M, Balbarini A, Pedrinelli R. Transcutaneous oxygen and carbon dioxide levels with iloprost administration in diabetic critical limb ischemia. *Vasc Endovascular Surg*. 2006 Aug-Sep;40(4):303-11.

Simonelli F, Ziviello C, Testa F et al. Clinical and molecular genetics of Leber's congenital amaurosis: a multicenter study of Italian patients, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(9): 4284-90.

Simonelli F, Maguire AM, Testa F et al. Gene Therapy for Leber's Congenital Amaurosis is Safe and Effective Through 1.5 Years After Vector Administration. *Molecular Therapy* 2010 Nov;18(1): 643–650.

<http://www.pharmaprojects.com>

<http://www.iss.it>

<http://www.agenziafarmaco.it>

<http://www.wiley.com/legacy/wileychi/genmed/clinical/>

APPENDICE

Intervista al signor XX (I.A.L.C.A)

D: Come considerate la terapia genica e come la considerano i pazienti e le loro famiglie?

R: La nostra associazione è molto fiduciosa sui vantaggi che la terapia genica può portare ai pazienti. Negli anni '90, quando sono iniziati i primi studi di terapia genica per la patologia dell'Amaurosi Congenita di Leber, la nostra associazione è stata tra le prime ad attivarsi e alcuni dei nostri soci sono stati arruolati negli studi clinici di terapia genica. La nostra fiducia in questo nuovo approccio è sicuramente rafforzata dai numerosi passi avanti che sono stati fatti e dai numerosi progressi che si stanno facendo in questo campo ma, sia noi, come associazione, sia i pazienti siamo realisti e consci dei limiti di questo approccio terapeutico.

D: Quali sono le speranze dei pazienti e dei loro familiari nei confronti della terapia genica?

R: Da parte dei soci c'è molto interesse, tutti vorrebbero sottoporsi a questa terapia genica e le famiglie stanno vivendo con trepidazione questa possibilità.

D: I pazienti si rivolgono a voi per avere informazioni sulla terapia genica?

R: Sì, l'interesse di tutte le persone, sia i malati che i loro familiari, nei confronti della terapia genica è soprattutto nei riguardi dello sviluppo della ricerca e nel numero di pazienti eventualmente arruolabili per i diversi studi.

D: Che tipo di supporto offrite ai pazienti della vostra associazione sottoposti a terapia genica?

R: Il supporto che noi come associazione offriamo ai nostri soci è sicuramente psicologico. Le numerose collaborazioni che abbiamo stretto con strutture di ricerca, la collaborazione con medici e con centri universitari è fondamentale per fornire ai pazienti le informazioni più chiare e corrette possibili. Inoltre, come associazione finanziamo la ricerca scientifica in questo ambito e cerchiamo di sensibilizzare il più possibile le istituzioni del settore perché queste terapie siano una fonte di spesa per le famiglie dei pazienti.

D: Come riuscite a sensibilizzare la popolazione per sostenere la terapia genica?

R: La nostra associazione si organizza su cinque fronti:

1. Attraverso iniziative specifiche, quest'anno per la prima volta, ad esempio, abbiamo realizzato un calendario con dei disegni fatti da alcuni bambini che sono affetti dalla malattia o dai compagni di scuola di questi bambini.
2. Cerchiamo di sensibilizzare le persone per la destinazione del 5 per mille.
3. Stiamo organizzando qualche iniziativa in occasione della giornata nazionale delle malattie rare, a fine febbraio.
4. Pubblichiamo e distribuiamo alcuni pieghevoli attraverso i nostri centri di riferimento. Lo scopo di questi pieghevoli è soprattutto, vista la bassa incidenza

della patologia, di far conoscere alla popolazione l'esistenza di tale malattia che fino a poco tempo fa era addirittura confusa con una patologia retinica.

5. In primavera è programmata una giornata di studio sull'Amaurosi Congenita di Leber. Questa giornata ha lo scopo di chiarire dove siamo arrivati con la ricerca e quali sono i progressi medico scientifici fatti in questo campo.

D: Le persone si dimostrano sensibili al lavoro svolto dall'Associazione? Per quanto riguarda l'atteggiamento delle aziende farmaceutiche, sono disposte ad investire in questo tipo di ricerca?

R: Ovviamente, le persone più sensibili sono quelle che hanno dei cari affetti da queste patologie. Come dicevo prima l'Amaurosi Congenita di Leber è una patologia molto rara, quindi non tutti la conoscono. Per quello che concerne le aziende, non abbiamo ancora avuto contatti, contiamo di poter interagire con qualche azienda farmaceutica proprio in occasione della giornata di studio in primavera. Un grosso supporto ci viene fornito dalla Federazione Uniamo Firm Onlus di cui facciamo parte insieme ad altre associazioni. Questa Onlus fornisce supporto alle associazioni che ne fanno parte sia dal punto di vista legislativo sia per i problemi connessi ai cosiddetti "farmaci orfani".

Intervista al professore XX (Tigem)

D: I pazienti reclutati nello studio conoscono la terapia genica e che reazione hanno nel momento in cui gli viene spiegato in cosa consiste?

R: Ai pazienti viene spiegato cos'è la terapia genica, e gli viene chiesto di firmare il consenso informato nel quale ci sono delle informazioni piuttosto dettagliate sui vettori e sugli effetti collaterali dei vettori osservati nei modelli animali, quindi capiscono a che tipo di trattamento vanno incontro ed anche i rischi potenziali di questo trattamento. Non sono mai stato presente quando viene presentato il consenso informato quindi non so dire qual è la loro reazione. Le persone alle quali abbiamo proposto l'arruolamento per il trial hanno aderito tutte, quindi immagino che abbiamo avuto tutte un'opinione positiva di trattamento.

D: Dopo la pubblicazione dei risultati del vostro lavoro avete ricevuto richieste da pazienti che volevano partecipare allo studio?

R: Moltissimi. In seguito alla pubblicazione di uno studio e soprattutto quando questo ha un'eco mediatica capita di avere richieste da pazienti i quali, però, non necessariamente sono pazienti idonei a rientrare nei criteri di inclusione.

D: Poiché gli studi di terapia genica sono molto costosi avete provato a chiedere la collaborazione di aziende farmaceutiche?

R: Non per questo studio specifico in quanto questo è uno studio sponsorizzato da Telethon per la parte italiana e dal *Children's Hospital* dell'Università della Pennsylvania per la parte americana quindi non c'è stata necessità di richiedere una sponsorizzazione. Tuttavia man mano che gli studi procedono, e si ottengono buoni risultati il costo aumenta e spesso è necessario iniziare delle collaborazioni con *sponsor* farmaceutici.

D: Dal punto di vista regolatorio, nella sua esperienza, avete avuto difficoltà ad iniziare la fase clinica o comunque avete osservato un rallentamento dello studio da questo punto di vista?

R: Le regole, oggi, sono abbastanza ben definite, è chiaro che si possono apportare delle modifiche. In Europa esistono delle linee guida europee che sono applicate dall'ISS, che sarebbe l'ente nazionale che sovrintende alla sperimentazione di fase I di terapia genica, e che sono simili alle quelle emanate dal FDA negli Stati Uniti. Per quanto riguarda la sperimentazione che abbiamo seguito, la parte regolatoria non è stata gestita dall'Italia ma bensì dall'America. Se fosse stato il contrario, devo ammettere, che probabilmente la parte regolatoria sarebbe stata più lunga e probabilmente più corposa.

D: Quale è la sua opinione sulla terapia genica e quali ostacoli scientifici e non bisogna ancora superare per fare in modo che la terapia genica entri a far parte della normale pratica clinica?

R: Ritengo che questa sia una disciplina di successo, sicuramente non può rappresentare una cura universale ma i risultati ottenuti dagli studi clinici danno risultati positivi sia in termini di sicurezza sia in termini di efficacia. Quali sono gli ostacoli maggiori prima che si arrivi alla pratica clinica? Certamente ci saranno delle malattie per le quali sarà più complesso arrivare a stabilire una strategia di terapia genica rispetto ad altre per esempio le malattie dominanti rispetto alle malattie recessive; le malattie in cui c'è una degenerazione completa, quindi le malattie nelle quali c'è una perdita cellulare importante rispetto a malattie nelle quali non c'è quindi ci sono danni irreversibili rispetto a forme nelle quali invece il danno è reversibile, quindi il tipo di malattia può porre più o meno ostacoli. L'altro tipo di ostacolo è rappresentato dalla capacità di traslare in clinica, in tempi ragionevoli, studi su modelli animali, soprattutto in termini organizzativi ed economici.

Intervista alla dottoressa XX (MolMed S.p.a.)

D: Secondo la sua opinione, è possibile che un farmaco sperimentale di terapia genica diventi una terapia standard rimborsabile dal Servizio Sanitario Nazionale?

R: Posso riassumerle l'iter della nostra terapia. La terapia genica per l'ADA-SCID è stata sviluppata al San Raffaele negli anni '90 ed a oggi è l'unico studio clinico che ha raggiunto fase III. Nel 2005 è stato dichiarato "farmaco orfano", questo è uno *step* essenziale perché si possa arrivare al riconoscimento di questo protocollo come farmaco.

D: Si può fare un paragone tra un farmaco tradizionale e un farmaco di terapia genica?

R: Questo paragone è più teorico che pratico. Perché nonostante si studi l'applicabilità della terapia genica per diverse malattie come l'AIDS, il cancro e altre patologie genetiche, la terapia non è sempre efficace. Per quanto riguarda l'AIDS, ad esempio, non è stato ancora trovato un approccio di terapia genica efficace, ed inoltre se si riuscissero ad ottenere buoni risultati i costi sarebbero molto più elevati rispetto alla somministrazione del farmaco tradizionale. Sicuramente il vantaggio della terapia genica è che essa è una terapia "*one shot*", questo implica che i pazienti non sono

sottoposti a continue somministrazioni del farmaco che necessitano, a volte, lunghe permanenze in ospedale e conseguentemente ci potrebbero essere costi più contenuti.

D: Ci sono stati studi clinici che hanno avuto eventi avversi seri o tossicità tali da fare interrompere lo studio?

R: I problemi maggiori che sono stati riscontrati nella terapia genica riguardano la tollerabilità del sistema immunitario ai vettori usati per i trattamenti. Nel 2002 in Francia, nel protocollo clinico dell'X-SCID ci sono stati dei casi di leucemia e uno dei bambini trattati è morto; questo evento ha indotto una battuta d'arresto di tutte le sperimentazioni in corso e anche di quelle ancora da iniziare. Nel corso di quest'anno c'è stata la registrazione di un altro evento avverso in una sperimentazione clinica di terapia genica ma, secondo il mio parere, gli eventi avversi sono comunque inferiori sia ai casi di successo della terapia sia sono, in parte, dovuto alle patologie che vengono studiate.

D: Per quanto riguarda il rischio associato all'utilizzo di vettori virali, pensa che oggi questo rischio sia superato o c'è ancora da lavorare?

R: Sicuramente c'è ancora da lavorare. Nel caso, per esempio, dei vettori adenovirali il rischio maggiore è quello di una risposta immunitaria; nel caso di vettori retrovirali o lentivirali il problema è stato lo sviluppo di leucemia e l'integrazione del vettore in delle regioni del genoma umano, vicino a oncogeni o *tumor suppressor gene* che possano portare a sviluppo di leucemie. La maggior parte dei trial clinici che utilizzano questo tipo di vettori, da quando si è verificata la morte dei bambini nel 2002 per l'X-SCID, hanno inserito nel protocollo una serie di analisi molto sofisticate prima di reinfondere le cellule staminali geneticamente modificate nei pazienti.

D: In merito al panorama regolatorio italiano, le direttive per la terapia genica sono chiare e uniformi a quelle della Comunità Europea?

R: Purtroppo non esiste uniformità tra la normativa italiana e quella europea, anche se gli organi competenti stanno lavorando per giungere ad una situazione, quantomeno, omogenea.

D: La maggior parte degli studi clinici di terapia genica sono di fase I e di fase II. A questo proposito, ci sono studi clinici di fase III attualmente in corso e quali sono i principali fattori per cui c'è questo divario tra le varie fasi degli studi?

R: Il motivo principale è che la fase III richiede un numero elevato di pazienti e i costi sono alti. In Italia la MolMed S.p.a. ha avuto l'approvazione per uno studio clinico di terapia genica in fase III, per il trattamento di pazienti affetti da leucemie acute.

Intervista al dottore XX (IDI)

D: Avete avuto difficoltà nella fase di arruolamento dei pazienti? Ci sono stati pazienti da voi ritenuti idonei all'arruolamento che non hanno voluto aderire alla terapia?

R: La patologia che noi trattiamo è l'ischemia critica degli arti inferiori, cioè pazienti affetti da una grave vasculopatia periferica che, purtroppo, implica ulcere agli arti inferiori ed espone ad un forte rischio di amputazione. Tenga presente che per questo tipo di patologia non esiste alcun trattamento farmacologico tuttavia la nostra difficoltà nell'arruolamento è dovuta a due fattori principali:

1. I pazienti, spesso, sono in uno stadio molto avanzato della malattia per cui devono subire l'amputazione degli arti.
2. Spesso essi sono sottoposti ad angioplastica che, però, non produce gli effetti duraturi nel tempo.

Questi fattori incidono sulla nostra sperimentazione perché implicano che non vi è uniformità di valutazione dei pazienti che sono arruolati e quindi la popolazione sottoposta alla sperimentazione è piuttosto disomogenea.

D: Quando spiegate ai pazienti, e alle loro famiglie, in cosa consiste la terapia genica, le persone la conoscono? E quale percezione hanno di questo approccio terapeutico?

R: Molto spesso i pazienti non conoscono la terapia genica pertanto il medico, pazientemente, con parole molto chiare e semplici, a volte anche tramite diagrammi, spiega cos'è la terapia genica e quali possono essere gli eventuali rischi e i possibili benefici. Questa è un'operazione abbastanza complessa che richiede tempo perché la terapia genica rappresenta un approccio nuovo in campo medico, perciò bisogna spiegare concetti non familiari ai pazienti con parole semplici e chiare e poi è necessario dare ai pazienti, e ai loro familiari, il tempo necessario per capire la terapia ed inoltre è fondamentale essere disponibile a rispondere alle loro domande. Tuttavia i principi della terapia sono abbastanza semplici, quindi dopo alcuni incontri e le dovute spiegazioni i pazienti capiscono il tipo di terapia a cui vorremmo sottoporli e ne hanno una buona percezione. Devo anche ammettere che probabilmente i nostri pazienti non sono di fronte ad una vera e propria scelta in quanto per l'ischemia critica degli arti inferiori non solo non vi è un'alternativa farmacologica ma essa è, purtroppo, una patologia ad alto tasso di mortalità e caratterizzata da stadi piuttosto dolorosi. Questo implica che i pazienti si trovino di fronte a due possibilità: da un lato affidarsi ad una terapia innovativa e dall'altro rischiare l'amputazione degli arti tra atroci sofferenze.

D: Durante lo studio o comunque dopo la pubblicazione dei dati del vostro studio siete stati contattati da altri pazienti che volevano sottoporsi alla terapia?

R: Questo è un evento che si è verificato piuttosto raramente, soprattutto perché i pazienti che vengono arruolati, normalmente sono indirizzati dai medici che li seguono nella terapia.

D: Durante lo studio avete riscontrato eccessive restrizioni normative che vi hanno ostacolato?

R: A livello normativo la situazione in Italia è veramente molto complessa. Questo ovviamente obbliga o lo *sponsor* o il responsabile della ricerca ad affidarsi a professionisti che curano l'aspetto normativo della sperimentazione.

D: Nella vostra sperimentazione avete contattato voi lo *sponsor* o è successo il contrario?

R: Nel nostro caso lo *sponsor* ci ha contattato anche perché avevamo esperienza con il fattore di crescita angiogenico di cui è proprietario lo *sponsor*.

D: Dottore, qual è la sua opinione sulla terapia genica? E quali sono i principali ostacoli scientifici e non che, secondo lei, devono essere superati per permettere una maggiore diffusione di questo approccio terapeutico?

R: La mia opinione è che la terapia genica ha delle enormi potenzialità, le difficoltà nel dimostrarne l'efficacia risiedono nel fatto che c'è molta differenza e molta difformità nella popolazione arruolata, i pazienti non sono una popolazione omogenea perciò è così difficile mostrare un'efficacia significativa. Inoltre, il costo elevato per intraprendere queste sperimentazioni ha un ruolo importante ed inoltre c'è una certa resistenza da parte del pubblico ad utilizzare una terapia genica perché l'idea diffusa è quella di una manipolazione molto complicata e rischiosa, questa falsa credenza è alimentata anche dalla stampa che spesso influenza negativamente l'opinione pubblica.

Intervista al professor XX (Tiget)

D: Avete avuto difficoltà nella fase di arruolamento dei pazienti? Ci sono stati pazienti da voi ritenuti idonei all'arruolamento che non hanno voluto aderire alla terapia?

R: No, direi di no. Noi ci occupiamo di una patologia pediatrica, perciò abbiamo discusso, in numerosi colloqui, con le famiglie tutti gli aspetti relativi all'efficacia e ai rischi del trattamento.

D: Quando spiegate alle famiglie dei vostri pazienti in cosa consiste la terapia genica, le persone la conoscono? E quale percezione hanno di questo approccio terapeutico?

R: Le famiglie dei bambini sanno benissimo che è una terapia sperimentale. Abbiamo discusso con loro tutto l'iter del percorso terapeutico, le eventuali problematiche e quindi dopo aver fatto molte domande, hanno capito quali erano i potenziali benefici e rischi hanno affrontato il percorso con fiducia nei confronti dei medici e hanno avuto un atteggiamento sempre positivo e costruttivo considerando che è una patologia mortale e che questa terapia poteva rappresentare l'unico trattamento valido per questo tipo di patologia.

D: Dopo che avete avuti questi successi con la terapia genica applicata all'ADA-SCID, siete stati contattati da altri pazienti che volevano sottoporsi alla terapia?

R: Sì, abbiamo avuto altre richieste, nella fase conclusiva del protocollo sperimentale. In questo momento credo sia importante che questa terapia concluda il percorso di approvazione. In questo senso la fondazione Telethon e la GSK hanno iniziato il percorso di registrazione del farmaco e la rimborsabilità così che sia disponibile per tutti i pazienti visto che è una terapia che ha dei costi che la ricerca non può più sostenere e che è giusta sostenga il SSN.

D: Quindi avete pensato di chiedere “finanziamenti” oltre che a Telethon anche ad altre aziende farmaceutiche?

R: Finanziamenti non è il termine corretto, nel senso che Telethon ha iniziato un percorso, ora in collaborazione con un'industria farmaceutica (GSK), per ottenere la rimborsabilità del trattamento per far sì che questa terapia non sia più di tipo sperimentale ma sarà la terapia standard rimborsabile, e quindi non sarà più un farmaco sperimentale ma sarà un farmaco registrato e approvato.

D: Avete riscontrato delle restrizioni della normativa durante la fase clinica dello studio? Ci sono stati problemi visto che la normativa per la terapia genica è in continua evoluzione?

R: Abbiamo adeguato, nel tempo, il nostro protocollo alla normativa, ad esempio è stato introdotto un sistema di monitoraggio degli eventi avversi, per le diverse strutture sanitarie, esiste un database in cui vengono registrati questi eventi avversi. C'è stato un periodo di sospensione della terapia genica in seguito a degli eventi avversi che si sono verificati in Francia per un'altra malattia e quindi un altro protocollo, nel 2002-2003, dopo però la terapia è ripresa normalmente e non ci sono stati più problemi.

D: Quali sono, secondo lei, i principali ostacoli scientifici e non da superare per farla ritenere una valida alternativa alle cure farmacologiche?

R: In questo momento non vedo particolari ostacoli, nel senso che la terapia si è dimostrata valida e sicura nei pazienti che abbiamo trattato, con un *follow-up* di oltre 10 anni per il primo paziente. L'aspetto più importante, secondo me, è farla diventare proprio una terapia standard. Il concetto fondamentale è che non è quello di un farmaco, una pillola che deve essere somministrata continuamente e con dei requisiti diversi, ma il concetto è che dobbiamo trasformare in farmaco un medicinale che è personalizzato e altamente specialistico, perché prodotto in un unico centro al mondo e che richiede delle competenze particolari, sicuramente è un medicinale molto complesso che ha dei requisiti complessi e diversi rispetto agli attuali farmaci.

D: Qual è il centro dove è prodotto il medicinale?

R: Il medicinale è somministrato al centro clinico del San Raffaele - Tiget, il farmaco è prodotto da MolMed S.p.a., una azienda biotecnologica.

Interview to Dr. XX (GSK)

Q: Could you tell us why did GlaxoSmithKline decide to invest funds in sustaining clinical research of gene therapy?

A: GSK is taking a broader approach to R&D, e.g. not just small molecules. We are engaging in more Biopharm (e.g. Antibodies and other constructs such as Domain Antibodies). Vaccines and alternative development technologies such as antisense oligonucleotides, RNAi and exon skipping (Prosensa). Gene therapy is yet another alternative platform that we can support to diversify our R&D platform. I think also that GSK is focussing more on indications with large unmet clinical need, in particular rare diseases which can sadly often be fatal. Couple all these factors to the recent success in ADA and ALD plus the promise of lentiviral vectors and I think we have

timed our investment well. Remember too that GSK invests billions of pounds in R&D each year. The deal with TIGET is only a very small part of the program.

Q: We read on Italian newspaper that GSK is financing 7 clinical studies of gene therapy for genetic diseases promoted by Hsr-Tiget Institute in Milan. But just the drug for ADA-SCID is going to be commercialized. Would you be so kind to inform us about the other 6 studies and how long the other drugs will take to be commercialized?

A: GSK will co-develop with Fondazione Telethon and Fondazione San Raffaele six further applications of *ex vivo* stem cell therapy, using a new gene transfer technology developed by HSR-TIGET scientists, with the potential to treat a range of rare disorders. This first of these will be metachromatic leukodystrophy (MLD) and Wiskott-Aldrich Syndrome (WAS). Others include; beta-thalassemia, mucopolysaccharoidosis type I (MPS); globoid leukodystrophy (GLD); and chronic granulomatous disorder (CGD). Clinical trials for WAS and MLD were initiated at HSR-TIGET last spring and are currently recruiting patients. WAS and MLD lead the lentiviral program with treatments in clinic but we do not expect them to be approved for several years.

Q: In the previous interview with Prof. XX, he told us about the hope to use gene therapy as a standard therapeutic approach. So, according to GSK perspectives, when could this novel therapy become a usual and refundable therapy for the treatment of rare diseases?

A: There is nothing usual about rare diseases, nothing routine. These are devastating conditions where a new technique like gene transfer can be thought of as providing appropriate risk benefit. The ADA vector could be approved by 2013. Although the clinical data are good, we have to learn more about how to make it in a reproducible way without making too many changes to the current process which is only very small scale. If we make too many changes the regulators will ask for new clinical trials.

Q: In your opinion, which are the main difficulties you are having in the process of commercialization?

A: CMC = Clinical Manufacturing and Control. The regulators consider the transduced cells of the patient to be the “drug”, so each hospital that performs the treatment can be considered a manufacturing site. There are strict controls on manufacturing sites that we will have to find a way to implement in the environment of a hospital.

Q: Have you ever supported clinical studies of gene therapy by collaborating with other Italian or worldwide teams and organizations? And if yes, could you tell us in which therapeutic area they have been done?

A: I am not aware of other organizations that we have collaborated with, but there are many people in GSK R&D (>13,000) so there could have been local interactions that I am not aware of.

Q: May we know if are the Italian regulatory procedures particularly restrictive with respect to those of other Countries?

A: The Italian Regulatory agency is probably similar to most others in the EU. They are all slightly different but I do not consider the Italian groups to be more difficult than any other.

Q: Could you tell us if there was the blockade of any clinical trials of gene therapy? If yes, this was due to the presence of serious adverse events or any other causes?

A: Yes, the FDA have blocked clinical research. Donald Kohn was the leader in the field in the US and was broadly in step with the EU investigators, however, when patients in the X-SCID and CGD trials developed leukaemia Don's studies were placed on hold by the FDA (I think for 2 years).

Intervista al dottore XX (MolMed S.p.a.)

D: Ci potrebbe dire se ci sono delle differenze normative tra l'Italia, l'Europa e gli Stati Uniti in ambito di sperimentazioni cliniche di terapia genica?

R: In materia di regolamentazione della sperimentazione clinica esistono alcune profonde differenze ed anche alcune analogie tra gli Stati Uniti e L'Europa. Essenzialmente, in Europa la conduzione di studi clinici, qualunque sia la natura del farmaco in sperimentazione, è regolata dalla direttiva 2001/20 che delega l'autorizzazione alla sperimentazione clinica alle singole autorità regolatorie nazionali (ad esempio in Italia ISS e AIFA) mentre negli Stati Uniti l'autorizzazione viene richiesta e concessa dall' autorità regolatoria federale (FDA ed in particolare CDER ed CBER per i farmaci biotech/chimici e di terapie avanzate inclusi quelli da terapia genica rispettivamente). Questa differenza ha importanti ricadute da un punto di vista pratico e logistico. Innanzitutto, nel panorama europeo, per attivare studi clinici multinazionali è necessario allestire tante singole richieste quanti sono gli stati europei in cui si intende attivare lo studio clinico ed ottenere da esse singole autorizzazioni. E' evidente che questo comporta non solo un aumento di lavoro amministrativo ed un allungamento dei tempi di autorizzazione dipendenti dalle singole sottomissioni indipendenti, ma anche, una variabilità nel giudizio della documentazione e nelle richieste che possono giungere all'organizzazione applicante dalle singole autorità in fase di revisione della domanda. Variabilità particolarmente accentuata in particolare per i farmaci di terapia genica o, più estesamente per i farmaci da terapie avanzate, che rappresentano una "famiglia" di farmaci particolarmente innovativi spesso sviluppati in un quadro regolatorio non consolidato e di cui è in generale minore l' esperienza. Un'altra differenza riguarda la fase autorizzativa della domanda alla sperimentazione clinica. Negli Stati Uniti vige il silenzio assenso che comporta la possibilità di iniziare lo studio clinico entro 30 giorni dalla presentazione della domanda salvo indicazione contraria da parte dell' agenzia federale, mentre in Europa la direttiva 2001/20 prescrive l'emissione di uno specifico parere positivo emesso dalle singole Autorità nazionali entro 60 (+30 per studi di terapia genica) giorni dalla sottomissione della domanda come atto formale indispensabile per il trattamento dei pazienti con il farmaco in sperimentazione. La documentazione tecnica da sottomettersi per l'approvazione di uno studio clinico, al di là degli aspetti amministrativi che sono ovviamente diversi in Europa e negli Stati Uniti, è sostanzialmente identica e basata sul formato del *Common Technical Document (CTD)* in particolar modo per ciò che concerne la parte relativa alla qualità ed alla produzione

del farmaco (che per i farmaci da terapia genica è spesso la parte più critica e preponderante) e deve in ogni caso includere l'*Investigator Brochure* ed almeno una sinossi dettagliata del protocollo clinico.

D: Le procedure regolatorie rallentano il passaggio dalla fase pre-clinica alla fase clinica delle sperimentazioni di terapia genica (considerando che la fase pre-clinica viene effettuata nei laboratori di ricerca di base e meno spesso a livello aziendale)?

R: Le linee guida che regolano lo sviluppo preclinico di un farmaco di terapia genica sono in fase di rapida evoluzione e, data l'eterogeneità dei prodotti in oggetto ed il loro alto tasso di innovazione, soffrono comunque di una certa genericità che richiede alle parti interessate uno sforzo interpretativo delle richieste ed un loro continuo adattamento al singolo farmaco in sviluppo. Inoltre, la fase preclinica, come comunemente intesa, si riferisce principalmente agli studi di tossicologia (acuta, cronica, locale, della riproduzione, tumorigenicità) e tossico cinetica più che agli studi di farmacodinamica. Per ciò che riguarda i farmaci da terapia genica, ed in particolar modo per ciò che concerne prodotti basati su cellule geneticamente modificate, non possono essere utilizzate, data l'alta specie-specificità del farmaco, le normali specie animali (per lo più roditori) comunemente impiegate per lo sviluppo di farmaci preparati mediante sintesi organica; ma animali immunocompromessi, omologhi o modelli animali della patologia. Dato il contesto non è possibile, né utile o necessario, seguire le fasi canoniche della tossicologia classica ed i dati di tossicologia sono per lo più, quando non esclusivamente, derivati nell'ambito degli studi di farmacodinamica. Da questo punto di vista non direi che la conduzione della fasi precliniche in laboratori accademici né che le vigenti linee guida possano direttamente rallentare lo sviluppo di farmaci innovativi, se non nella misura in cui, indicando chiaramente che anche per tali farmaci innovativi, i dati di preclinica sono necessari per supportare la sicurezza e l'efficacia del farmaco sin dalle prime fasi cliniche. D'altra parte, l'insorgenza di linfomi in alcuni pazienti affetti da immunodeficienza primarie trattati con terapia genica e gli studi susseguenti che hanno messo in luce i possibili effetti genotossici dei vettori integranti, hanno rafforzato tale concetto e reso assai meno giustificabili deroghe, almeno per prodotti di terapia genica, ad un completo sviluppo preclinico.

D: Secondo il suo parere le procedure regolatorie vigenti sono adeguate, ci sono ancora degli elementi da definire o necessitano di modifica?

R: Data la materia in oggetto, come già riportato prima, l'intero quadro normativo è tuttora in rapida evoluzione; nuove linee guida sono in preparazione ed attese nei prossimi due anni ed altre sono in corso di revisione da parte di EMA. Va da sé che in questa materia, la parola adeguatezza non può che avere un significato molto relativo e che, quasi per definizione, le attuali procedure regolatorie necessitano di modifiche.

D: Secondo Lei, sono regole molto restrittive e che in qualche modo limitano le attività di ricerca e di sperimentazione?

R: Quasi per definizione una regola, per sua stessa natura, limita, o può essere vista come un limite, alla libertà di ricerca o sperimentazione. A mio avviso è però necessario distinguere le normative che definiscono principi tecnici da quelle che invece regolano le materie procedurali. Le prime (ad esempio le linee guida scientifiche emesse da EMA) sono in generale basate sulle più aggiornate conoscenze scientifiche, scritte e

preparate dai massimi esperti dei vari settori e sono comunque la sintesi di un dialogo tra le autorità regolatorie e la comunità scientifica ed industriale operante nel campo in ambito continentale. E' mia opinione è che, per ciò che concerne le direttive improntate a regolare le procedure amministrative, nel tentativo di armonizzare i percorsi regolatori per i farmaci di terapia genica (e terapie avanzate) con quelli già esistenti per i farmaci da sintesi organica e molecole da DNA ricombinante, esse risultino talvolta farraginose e difficilmente applicabili in contesti con esigenze così diverse e peculiari quali quelle associate ai farmaci di terapie genica. Mi riferisco in particolare, come già riportato nella domanda 1, alla procedura per l'autorizzazione di studi clinici: alla necessità di preparare domande multiple e soddisfare le diverse richieste. EMA, cosciente delle difficoltà procedurali che si possono incontrare, ha da tempo intrapreso tentativi per attivare una procedura più snella che permetta di ottenere un' autorizzazione valida contemporaneamente in più stati nello stesso tempo e che da una parte si integri nella legislazione vigente e dall'altra parte eviti di costituire "classi speciali" di farmaci soggetti a legislazioni separate. Allo stato tale procedure sono ancora allo stato sperimentale e non sembrano di immediata applicabilità alla tipologia ed alle esigenze di studi clinici con farmaci da terapia genica.

D: Secondo Lei, tra quanto tempo si prevede che un farmaco sperimentale di terapia genica diventi una terapia standard rimborsabile dal Servizio Sanitario Nazionale e quali difficoltà ci potrebbero essere affinché questo venga realizzato?

R: E' molto difficile prevedere un arco di tempo entro il quale un farmaco di terapia genica possa ottenere un' autorizzazione all' immissione in commercio. Da un punto di vista generale va considerato che i farmaci da terapia genica sono nel loro complesso ancora nella prima fase dello sviluppo clinico come dimostrato dalla quantità di studi di fase I e fase I/II ed il progressivo decrescere della numerosità per gli studi di fasi II e fase III. A mia conoscenza allo stato non ci sono domande per l'autorizzazione al commercio per farmaci di terapia genica depositate ad EMA responsabile dell' autorizzazione su scala comunitaria. Poiché l'intera procedura di registrazione ha durata minima di 1 anno è possibile prevedere che ben difficilmente nei prossimi uno-due anni ci saranno farmaci da terapia genica sul mercato. Una sola richiesta di autorizzazione all'immissione in commercio è stata sino ad ora presentata ad EMA. Il farmaco Cerepro prodotto da Ark Therapeutics consiste in un adenovirus modificato da somministrare *in vivo* in pazienti affetti da glioma maligno. La domanda di *marketing* è stata una prima volta sospesa con la richiesta di dati clinici aggiuntivi ed infine ritirata dal richiedente stesso. In senso lato e considerando i farmaci per terapie avanzate, negli Stati Uniti è stato recentemente approvato (Aprile 2010) il Provange (Dendreon Inc.) basato su cellule dendritiche "caricate" con un antigene associato al tumore del pancreas ed EMA ha autorizzato la vendita del Chondrocelect, un farmaco basato su condrociti per la rigenerazione post-operativa di cartilagine. Dal punto di vista dei farmaci da ingegneria tissutale per la rigenerazione di tessuti o basati su cellule non geneticamente modificate, è possibile che nel prossimo futuro vengano presentate domande per l'immissione in commercio anche perché questi prodotti (alcuni dei quali, circa 30 sul territorio europeo, attualmente in commercio su base nazionale), devono conformarsi alle disposizioni della direttiva per le terapie avanzate (1394/2007) e pertanto sottostare ad una nuova procedura registrativa di tipo centralizzato (direttiva 726/2004) analoga a quanto prescritto per i farmaci da terapia genica. I farmaci da terapia genica possono essere autorizzati per il commercio esclusivamente da Ente Regolatorio centrale (EMA) e tale

autorizzazione ha automaticamente validità su tutto il territorio comunitario. Non sono un esperto di rimborsabilità dei farmaci, ma dato il contesto di un' autorizzazione centralizzata, mi sembra difficile pensare a ostacoli che eventuali Autorità Nazionali possano frapporre. Va inoltre considerato che questi farmaci sono per lo più indirizzati verso indicazioni orfane, per patologie senza alcuna efficace alternativa terapeutica e dal decorso fatale talvolta associato a una bassissima qualità della vita del paziente.

Da un punto di vista farmaco-economico va inoltre considerato che strategie terapeutiche miranti ad una correzione permanente di un difetto genico quali quelle spesso attuate per farmaci da terapia genica, richiedono in teoria una sola somministrazione del farmaco e si pongono come alternativa a farmaci che devono essere somministrati in modo cronico. Pertanto, da questo punto di vista, il maggior costo che sicuramente il farmaco da terapia genica ha, quando rapportato ad un farmaco convenzionale, può essere compensato dalla inferiore richiesta di dosi se confrontato con farmaci somministrati cronicamente.

D: Ci potrebbe dire perché la maggior parte delle sperimentazioni di terapia genica si fermano alla fase II? Il motivo è solo di tipo “tecnico” (rarietà delle malattie, difficoltà di arruolamento dei pazienti, costi elevati) o anche di tipo regolatorio?

R: Le richieste regolatorie per un' autorizzazione all' immissione in commercio per un farmaco da terapia genica non sono sostanzialmente differenti da quelle previste per un farmaco tradizionale. Voglio dire che la maggiore innovazione del prodotto e le diverse (maggiori) difficoltà che si possono incontrare durante la sua produzione o il suo sviluppo non sono di per sé fattori sufficienti per garantire percorsi regolatori agevolati sotto il profilo della valutazione dell'efficacia e della sicurezza del farmaco. Altre sono le agevolazioni che le Autorità Regolatorie hanno messo in atto onde stimolare la crescita di mercati potenzialmente promettenti e facilitare l'introduzione di farmaci di nuova generazione che possano positivamente rispondere a richieste terapeutiche non soddisfatte. Poiché una chiara dimostrazione di un favorevole rapporto rischio/beneficio (ove possibile confrontato con una terapia di riferimento) è condizione imprescindibile per l' ottenimento della licenza alla vendita, l'esecuzione di studi clinici di fase III che adottino un disegno randomizzato con la presenza di un braccio di controllo (e ove possibile in cieco) viene ritenuta, almeno nella grande maggioranza dei casi, come la via di elezione (quando non la sola) per soddisfare le richieste di EMA. Da questo punto di vista, tale richieste si possono considerare come degli ostacoli di tipo “regolatorio” ad una transizione dalla fase II alla fase III se si considera che, al di là dei maggiori costi di un trial randomizzato, la natura stessa dei farmaci in oggetto rendono a volte estremamente complicato, quando non impossibile, disegnare uno studio clinico in doppio cieco e randomizzato. A parte queste considerazioni, ritengo però che altri fattori di tipo tecnico, oltre a quelli da lei già citati nella domanda, intervengano nel rendere particolarmente complesso e difficile il passaggio dalla fase II (o dalla fase I/II) alla fase III. In particolar modo, per cellule geneticamente modificate *ex vivo* o per prodotti cellulari manipolati *ex vivo*, i fattori logistici sono determinanti quando si deve passare da un trial spesso monocentrico ad un trial multicentrico con sedi ospedaliere lontane tra di loro e dal sito di produzione del farmaco. Inoltre, l'arruolamento di un consistente numero di pazienti per la fase III (generalmente circa un logaritmo superiore a quello previsto per le fasi precedenti) può richiedere un ampliamento del processo produttivo e

dei controlli di qualità del farmaco sia in termini puramente quantitativi sia in termini di numero di cicli nell'unità di tempo. A sua volta questo processo può richiedere adeguamenti dei siti di produzione ma anche cambiamenti nel disegno del processo produttivo che necessitano di particolari studi atti a dimostrare la comparabilità del materiale prodotto a seguito dei cambiamenti con quello prodotto con il processo originario. Tali studi possono talvolta essere limitati alle sole analisi *in vitro*, ma altre volte per una più completa valutazione, è necessaria la generazione di dati *in vivo* nel paziente che implicano l'apertura di fasi I limitate o l'estensione delle fasi I/II in questo modo ritardando l'accesso del farmaco alla fase III.

Vorremmo precisare che tutti i professionisti di cui abbiamo riportato le interviste hanno espresso la loro personale opinione e non quella della struttura o azienda di cui fanno parte.

RINGRAZIAMENTI

Questo *project work* è stato eseguito da Francesca Maria Alvino, Elvira Avilla, Roberta Fusco, Marta Mancuso e Valentina Marinaccio, presso la Fondazione ISTUD di Stresa.

Desideriamo ringraziare tutte le persone che ci hanno permesso di entrare più direttamente in contatto con il mondo della terapia genica e che hanno reso possibile l'esecuzione di questo lavoro.

Innanzitutto, vorremmo esprimere tutta la nostra gratitudine a tutti i ricercatori a cui abbiamo rivolto le nostre interviste: professore XX dell' Area Clinica per la Patogenesi e la Terapia dell'ADA-SCID presso l'Hsr-Tiget di Milano; dottore XX del *Centre of Excellence for External Drug Discovery* (CEED), unità specializzata di Ricerca&Sviluppo della GlaxoSmithKline (UK); dottoressa XX dell'azienda biotecnologica MolMed S.p.a; professore XX dell'Istituto Telethon di genetica e medicina (Tigem) di Napoli; dottore XX, del laboratorio di Patologia Vascolare dell'Idi di Roma e del Laboratorio di Biologia vascolare e Terapia genica del Centro cardiologico Monzino di Milano. Tutti ci hanno dato la possibilità di cogliere aspetti di questo settore che difficilmente si leggono su riviste scientifiche e libri.

Un grazie particolare va al dottore XX, esperto degli Affari Regolatori della MolMed S.p.a., che ci ha fornito fondamentali informazioni circa la normativa in corso che regola le sperimentazioni di terapia genica.

Ringraziamo, inoltre, il signor XX dell'Associazione Italiana Amaurosi Congenita di Leber - *Italian Association Leber Congenital Amaurosis* (I.A.L.C.A.) - che ci ha fatto conoscere concretamente il modo in cui i pazienti vivono la possibilità di sottoporsi a sperimentazioni di terapia genica.

Ci sembra, poi, doveroso ringraziare i medici, i laureati in materie medico-scientifiche e tutta la popolazione che ci ha voluto dedicare tempo per rispondere ai nostri questionari.

Il nostro più grande riconoscimento va, poi, al signor M, che ha voluto condividere con noi la sua esperienza, purtroppo senza risultati positivi, con la terapia genica.

Infine, ma non per importanza, un sincero grazie va a Maria Giulia Marini, responsabile dell' XI Edizione del Programma Scienziati in Azienda 2010, a Nicoletta Martone, tutor scientifico del Programma, e a tutto il corpo docenti della Fondazione ISTUD. Grazie di averci dato la possibilità di farci vivere questa bella avventura e grazie del sostegno e del continuo incoraggiamento che ci avete dato in questi tre mesi.

Alla fine di questa esperienza "stresana", ci teniamo a rivolgere un affettuosissimo saluto a tutti i nostri colleghi masterini con cui abbiamo condiviso tantissime emozioni nel corso di questo programma e che porteremo sempre nei nostri ricordi.