

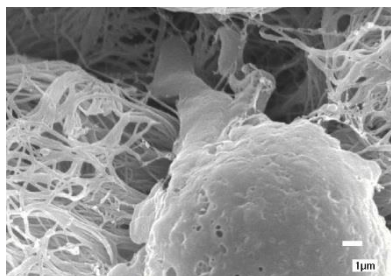
TERAPIE CELLULARI: Aspetti Clinici e Normativi

***Giuseppina Bonanno
Policlinico Agostino Gemelli
Officina Farmaceutica Ospedale
Pediatrico Bambino Gesù
Catania 24 Ottobre***



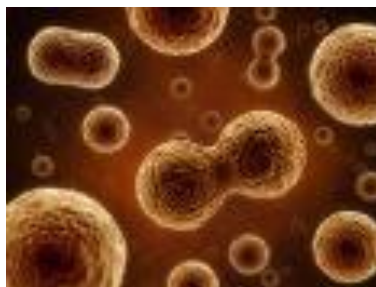
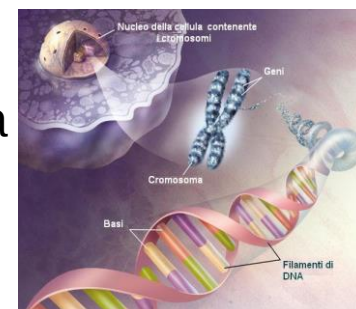
LE TERAPIE AVANZATE

Tutti i prodotti di *terapia avanzata* (TA) sono dal punto di vista giuridico/regolatorio dei **prodotti medicinali** e il Regolamento che li disciplina è un emendamento alla Direttiva sui farmaci (2001/83/EC, implementata in Italia con il Codice Comunitario del farmaco, Decreto Legislativo 24.04.2006 n. 219).



Medicinali per Ingegneria Tessutale

Medicinali per Terapia Genica



Medicinali per Terapia Cellulare

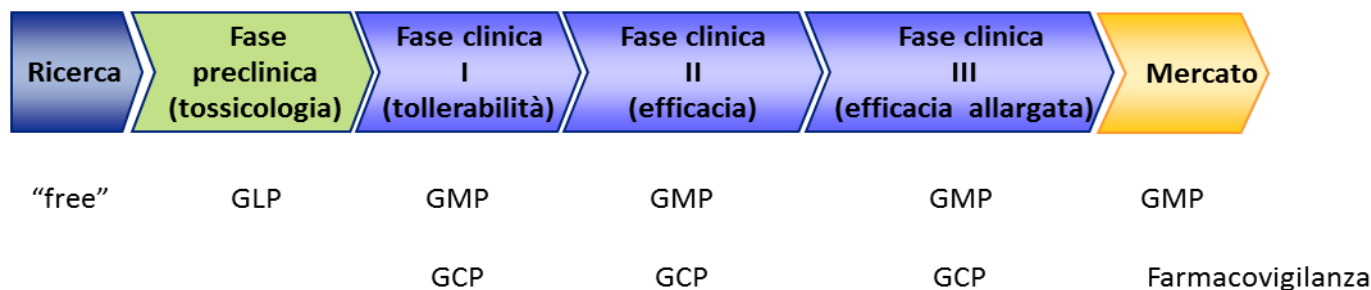


Le Good Practices

Un prodotto medicinale deve possedere tutti i requisiti che ne garantiscano e ne dimostrino la sicurezza e l'efficacia.

Per dimostrare questi requisiti nelle varie fasi vengono applicate le GLP, GMP e GCP.

Queste regole che devono venir gestite e applicate in maniera uniforme da tutti mediante standard di riferimento.





TERAPIA GENICA

I Prodotti per terapia Genica sono mirati al trasferimento di un gene e:

- A) contengono una sostanza attiva che contiene a sua volta o consiste di un acido nucleico ricombinante usato sugli esseri umani o ad essi somministrato al fine di regolare, riparare, sostituire, aggiungere o eliminare una sequenza genetica;
- B) il loro effetto terapeutico, profilattico o diagnostico è direttamente collegato alla sequenza di acido nucleico ricombinante in esso contenuta o al prodotto dell'espressione genetica di tale sequenza.

INGEGNERIA TISSUTALE

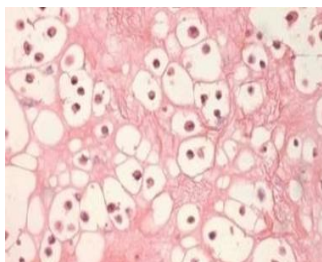
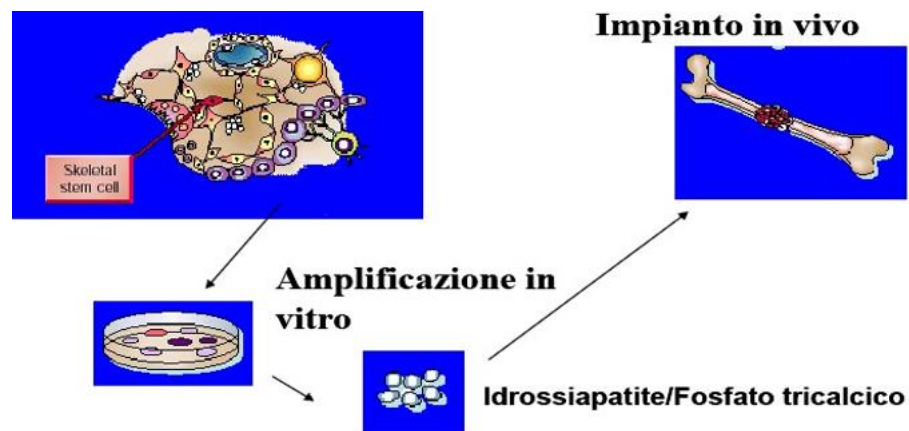


Il termine **ingegneria tissutale** o "ingegneria dei tessuti" identifica procedure di rigenerazione di tessuti del corpo umano.

Uno dei concetti fondamentali alla base dell'ingegneria tissutale, prevede la combinazione di una matrice biodegradabile, comunemente denominata scaffold, con cellule e/o molecole biologicamente attive, al fine di sviluppare un supporto in grado di promuovere la rigenerazione di tessuti danneggiati.

I prodotti dell'ingegneria dei tessuti non erano disciplinati dalla legislazione comunitaria, all'interno di un unico quadro integrato fino all'emanazione del regolamento 1394 /2007

Ricostruzioni di ossa o cartilagini con matrici biologiche/sintetiche e osteoblasti/condroblasti



TERAPIA CELLULARE SOMATICA



I Prodotti per Terapia Cellulare vengono definiti come:

- una soluzione di cellule, le cui caratteristiche biologiche siano state sostanzialmente modificate in seguito ad una manipolazione rilevante così da alterarne le caratteristiche biologiche, le funzioni fisiologiche o le proprietà strutturali in riferimento all'uso clinico proposto.
- oppure contengono o consistono di cellule o tessuti che non sono destinati a essere usati per le stesse funzioni essenziali nel ricevente e nel donatore e che vengono utilizzate per uno scopo terapeutico o preventivo con mezzi metabolici, farmacologici e immunologici.

Trapianto intracoronarico

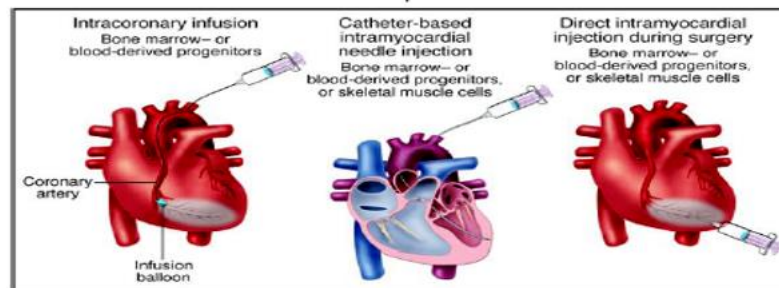
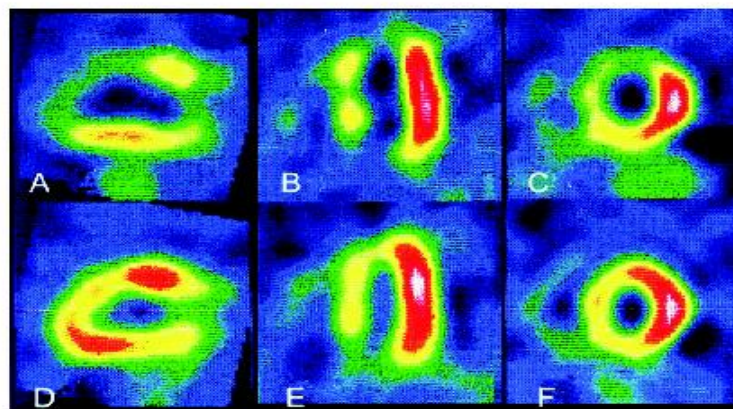


Figure 1. Improved myocardial perfusion of infarcted anterior wall detected by 201-thallium scintigraphy 3 months after intracoronary transplantation of autologous, mononuclear bone marrow cells subsequent to an acute anterior myocardial infarction.



The images on the left (A, D, sagittal) and in the middle (B, E) show the long axis, whereas the images on the right (C, F, frontal) show the short axis of the heart. Initially, the anterior wall, with green apical and anterior regions, had reduced myocardial perfusion (A, B, C). Three months after cell transplantation, the same anterior wall (yellow) revealed a significant improvement in myocardial perfusion (D, E, F). All images were obtained during the exercise phase. Reproduced with permission from Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kosterling M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*. 2002;106:1913-8 (63).

Aspetti critici nella Produzione di un ATMP



Non è possibile la sterilizzazione del prodotto finale.

- I prodotti sono estremamente eterogenei (origine, stadio differenziativo, livello di manipolazione, complessità del prodotto finale, applicazione clinica).
- Occorre valutare e minimizzare i rischi derivanti dall'uso di cellule.
- Le cellule nel prodotto finale sono spesso in quantità ridotta.
- Occorre valutare e minimizzare il rischio di apportare contaminanti durante la manipolazione delle cellule.
- Occorre definire le condizioni per identificare il prodotto in maniera univoca e la sua specifica attività biologica.
- Occorre definire le condizioni per mantenere il prodotto finito stabile nel tempo, alle condizioni di conservazione previste.

Produzione di un ATMP



In accordo alle Good Manufacturing Practices (GMP)

Strumenti normativi di riferimento:

Direttive: 2001/83/EC, 2001/20/EC, 2003/94/EC

D.L. 24 aprile 2006, n° 219

D.M. 18 maggio 2010

Allegati del Vol. 4 GMP

Good Manufacturing Practices



L'applicazione delle GMP alla produzione dei prodotti medicinali fornisce garanzie riguardo:

- I risultati degli studi clinici non sono influenzati da qualità, sicurezza od efficacia derivante da una prassi produttiva inadeguata
- Ci sia “consistenza” tra lotti diversi dello stesso IMP (Investigational Medicinal Products) usati in uno o più studi clinici e che i cambiamenti effettuati durante lo sviluppo del prodotto (metodi produttivi, specifiche, metodi analitici) siano adeguatamente documentati e giustificati
- I soggetti degli studi non siano a rischio per la loro salute

Dati identificativi della struttura di produzione



In applicazione del decreto del Ministro della sanità 18 marzo 1996, pubblicato sulla Gazzetta ufficiale 27 marzo 1996, n. 73:

- Ubicazione e planimetria;
- Impianti di acqua, gas compressi, vapore e ogni altra utenza, impianto di condizionamento;
- Site Master File che contiene informazioni specifiche sulle attività del sito produttivo;
- Validation Master Plan con programmi di manutenzione periodici;
- Organigramma di tutto il personale;
- Identificazione delle persone responsabili del processo di produzione e del controllo qualità;
- Identificazione della Persona Qualificata responsabile del rilascio del prodotto per il successivo impiego;
- Elenco delle attrezzature di produzione;
- Descrizione sintetica del metodo di produzione e dei controlli di processo;
- Elenco della strumentazione in dotazione al Controllo di Qualità;

Le GMP applicate ai farmaci



Le GMP riguardano tanto la produzione quanto il controllo della qualità ed i loro requisiti fondamentali sono:

- **convalidare** le fasi critiche dei processi,
- redigere i **processi di fabbricazione** e riesaminarli sistematicamente,
- garantire **adeguate infrastrutture** per la produzione,
- adeguate **qualifiche per il personale** addetto alle varie fasi,
- **redigere documenti** da cui risulti che tutte le fasi di produzione e che tutti i controlli siano stati svolti soddisfacendo le specifiche,
- registrare la **cronistoria** completa di ogni lotto prodotto,
- garantire una corretta **distribuzione** ed un sistema che consenta un rapido richiamo dal mercato in caso di necessità,
- ricercare le cause di **reclami** o di **difetti/deviazioni** rilevanti verificatisi durante la produzione.

GMP e Produzione



In particolare la produzione dovrà:

- prevenire ed evitare la **contaminazione crociata** durante la produzione di ogni lotto;
- garantire che ogni metodo utilizzato sia stato opportunamente **convalidato**;
- garantire un **approvvigionamento** costante di materie di adeguata qualità;
- verificare e garantire un corretto flusso per la gestione dei prodotti **semilavorati** e **intermedi**;
- effettuare un **confezionamento** dei materiali in accordo con quanto definito nelle specifiche;
- garantire il **rilascio** dei prodotti finiti solamente dopo avvenuta approvazione da parte della Qualified Person;
- garantire una adeguata **conservazione**;
- garantire una adeguata **segregazione** dei materiali respinti.

ANNEX 13 – GMP



- Conduzione aziendale per la qualità (SOP, Ispezioni)
- Il personale
- Locali e apparecchiature (qualifiche, pulizie, riduzione contaminazione, monitoraggio ambientale, validazione dei processi critici quali la sterilizzazione)
- Documentazione (tracciabilità, istruzioni per la lavorazione, confezionamento ed etichettatura)
- Produzione
- Controllo di qualità
- Rilascio dei lotti
- Spedizione
- Ritiro e restituzione
- Distruzione



Classificazione delle aree di produzione

Le aree classificate destinate alla produzione di prodotti medicinali sono locali in cui si eseguono determinati controlli particellari e microbiologici e sono realizzate in modo da ridurre l'introduzione e la ritenzione di contaminanti nell'area stessa.

- Programma di monitoraggio particellare
- Programma di monitoraggio microbiologico
- Programma di pulizia/sanitizzazione
- Monitoraggio del personale



Clean Room



Le clean room sono aree classificate che devono avere caratteristiche tali da garantire al prodotto di non inquinarsi durante le fasi di lavorazione, anche quando questo rimane a diretto contatto con l'ambiente.

Queste condizioni vengono mantenute attraverso impianti che effettuano una filtrazione ad alta efficienza dell'aria immessa.

Questi impianti si chiamano HVAC (Heating Ventilation Air Conditioning) ed utilizzazioni dei filtri terminali ad alto potere di trattenimento detti HEPA filter (High Efficiency Particulate Air).





Ulteriori azioni atte alla prevenzione della cross-contaminazione

- Aree segregate e apparecchiature dedicate per cellule da pazienti infetti e per vettori virali (upstream e downstream)
- Impianti indipendenti per ciascuna «site»
- Area di produzione per Terapia Cellulare separata da quella per Terapia Genica
- Garantire un adeguato programma di controllo per evitare cross-contamination nello stesso locale nel caso di 2 produzioni in contemporanea
- Per la Terapia Genica, effettuare una convalida a livello molecolare (es. transgene e/o vettore) per cleaning al cambio prodotto



Controllo Qualità

- Esegue le analisi necessarie all' approvazione dei prodotti in funzione delle specifiche stabilite.
- Garantisce che si effettuino realmente le analisi necessarie e che né un materiale né un prodotto possa essere approvato per l'impiego né per la distribuzione sino a che la loro qualità non sia giudicata soddisfacente ed in accordo con le specifiche stabilite.
- Il CQ dovrà verificare che un campionamento della produzione sia conforme alle specifiche richieste.



Annex 1 - GMP

- Condizioni **in operation**: impianto acceso, strumenti accesi e presenza di operatori.
- Condizioni **at rest**: impianto acceso, strumenti spenti e assenza di operatori.

Limiti particellari

Classe	At rest		In operation	
	Quantità massima ammissibile di particelle/m³			
	0.5 µm	5 µm	0.5 µm	5 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Not defined	Not defined

Limiti microbiologici

Classe	Campione di aria cfu/m ³	Piastre di sedimentazione (Ø 90 mm) cfu/4 ore	Piastre di contatto (Ø 55 mm) cfu/piastra	Impronta del guanto a 5 dita cfu/guanto
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	NA
D	200	100	50	NA



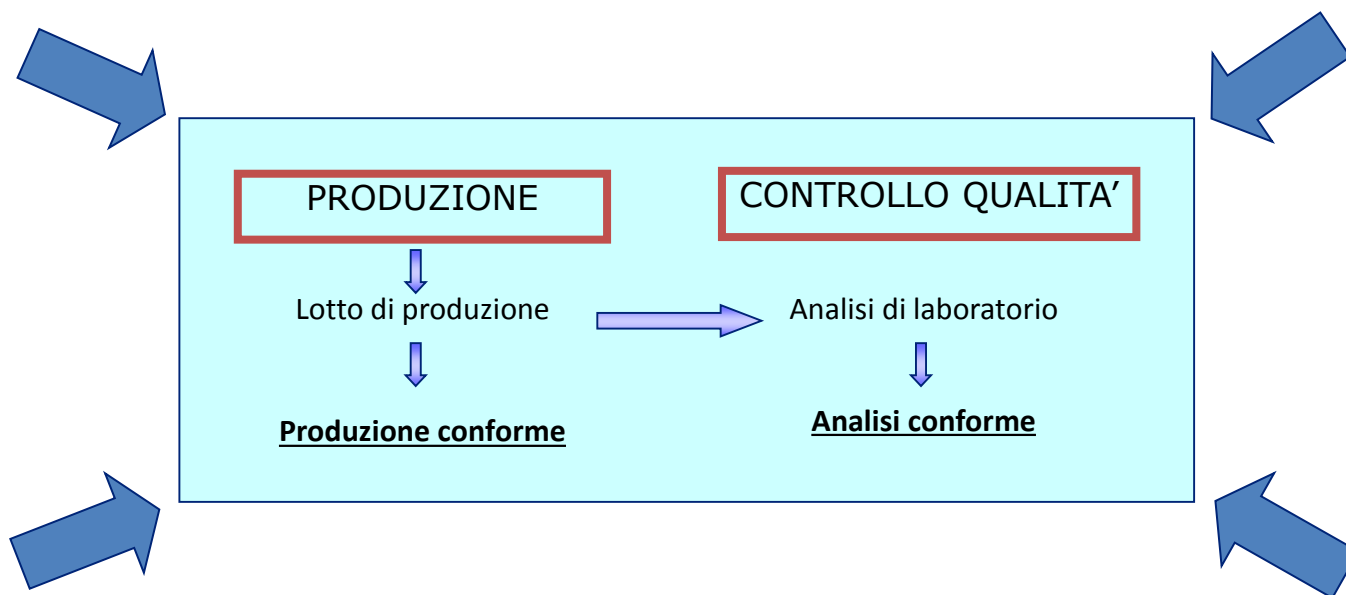
Certificato di Analisi CoA

- Il risultato finale del controllo qualità per ciascun lotto esaminato, consiste nell'emissione di un certificato di analisi su cui vengono riportate tutte le caratteristiche esaminate del lotto in esame.
- L'insieme dei test che vengono condotti rappresentano le caratteristiche fondamentali di ciascun lotto che ne garantiscono la conformità alle specifiche precedentemente fissate in fase di sviluppo e registrazione del farmaco.



QA e GMP

nella produzione e controllo di un farmaco



ELENCO OFFICINE FARMACEUTICHE AUTORIZZATE



DITTA	CITTA'
A. O. "San Gerardo"	Monza
Areta International	Gerenzano (VA)
Istituto Neurologico "Carlo Besta"	Milano
O. S Cell Factory. Maria di Terni	Terni
Istituti Ortopeutici Rizzoli	Bologna
Opedale Maggiore Policlinico di Milano "Cell Factory"	Milano
Molmed S.p.A.	Milano
Fidia Advanced Biopolymers S. r. L.	Abano Terme
Osp. Riuniti Di Bergamo A. O. Lab. Terapia Cellulare e Genica	Bergamo
Università degli Studi di MO e RE	Modena
FaBioCell-ISS	Roma
A. O. Ospedale Niguarda Ca' Granda	Milano
Ist. Scien. Romagnolo Studio Cura Tumori (IRS)	Meldola (FC)



Tempistiche autorizzazione alla Produzione



La documentazione è valutata dall'AIFA entro il termine di **90 giorni** dalla data di ricevimento.

Tale termine è sospeso in caso di richiesta di integrazioni documentali fino al ricevimento della documentazione integrativa richiesta.



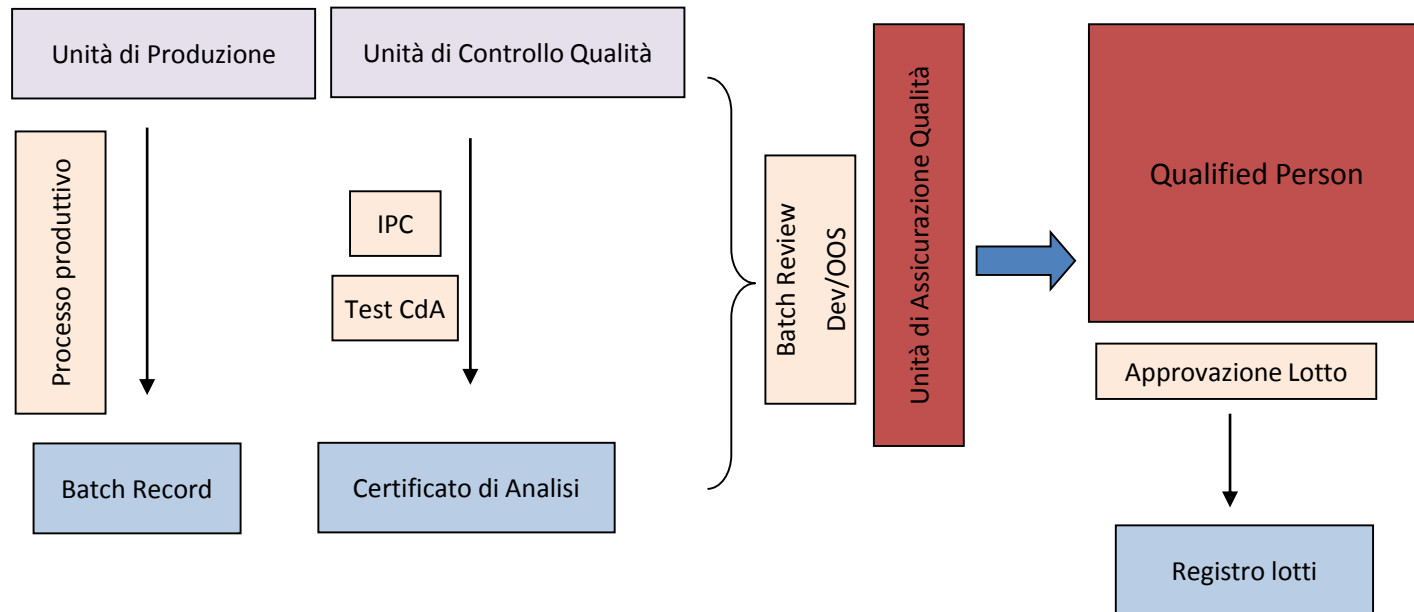
Valutazione
positiva



Entro **90 giorni**

Sopralluogo ispettivo, per la valutazione della conformità della struttura, dei processi e delle procedure ai principi delle norme europee di buona fabbricazione dei medicinali.

Le attività e il flusso della documentazione



PRODOTTI PER TERAPIA AVANZATE



LINFOCITI



CIK



MONOCITI

APC



GENE TRANSFER



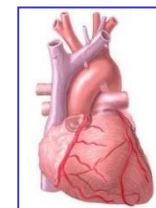
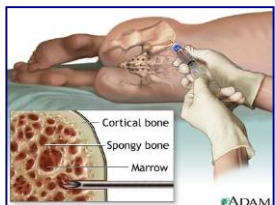
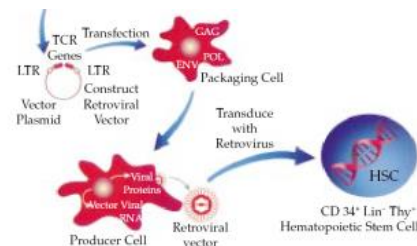
CELLULE
STAMNALI
EMOPOIETICHE



MESENCHIMALI



RIGENERAZIONE TISSUTALE
CARDIOMIOPLASTICA



Prodotto



Safety

Endotossina

Sterilità

Tumorigenicità

Identità

Purezza/Impurezza

Vitalità

Potenza

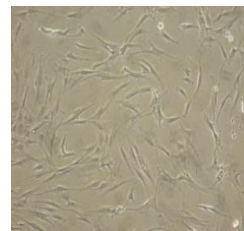
Test funzionali

Stabilità

CELLULE STROMALI MESENCHIMALI

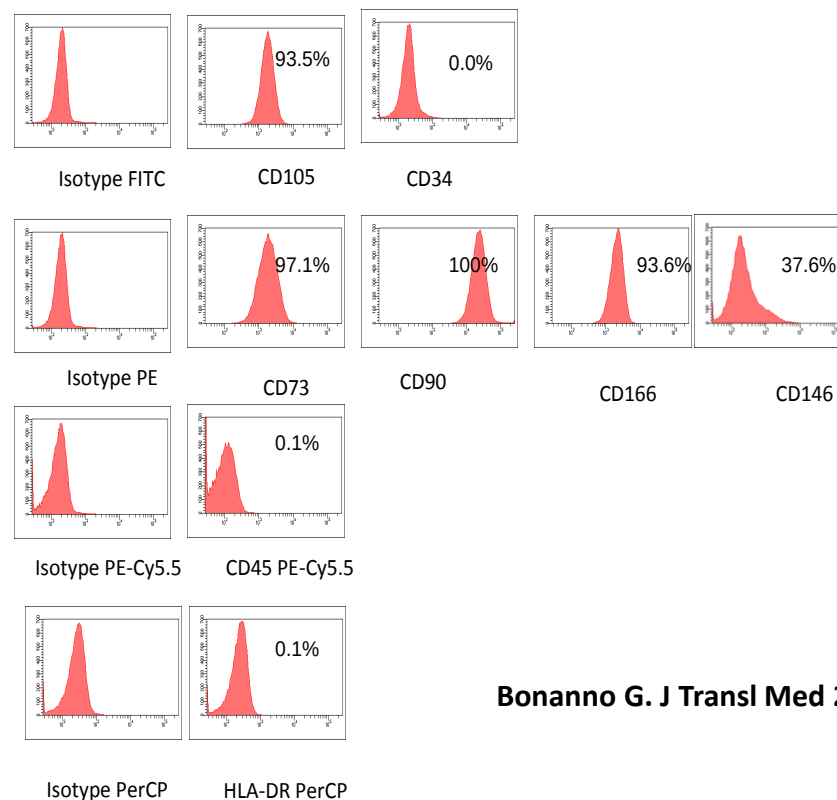
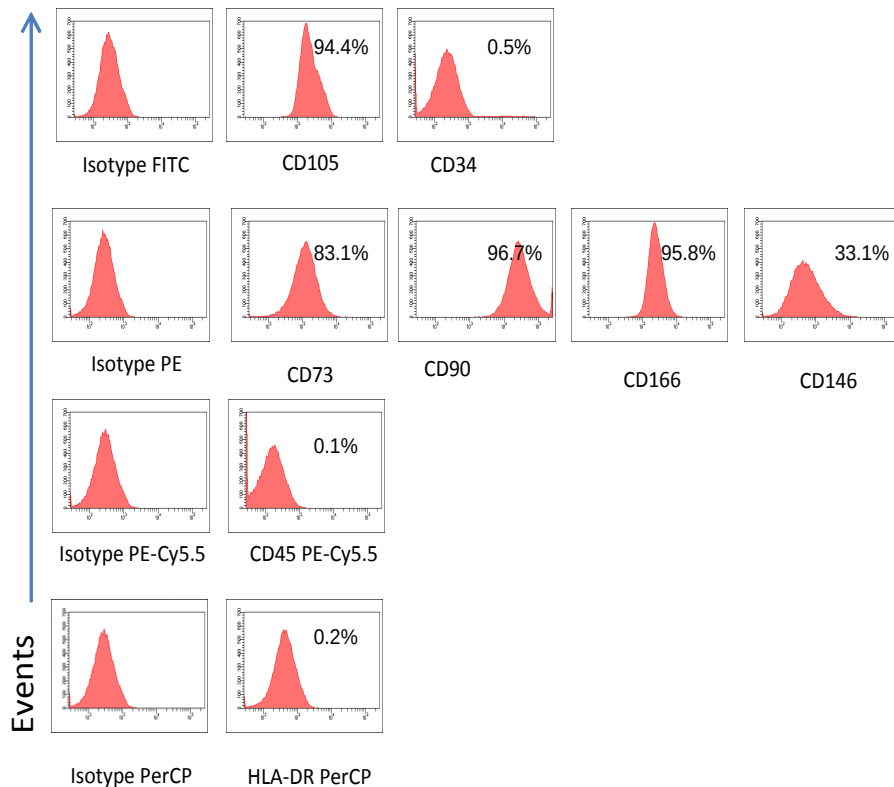


IDENTITA'



P0

P1



Bonanno G. J Transl Med 2014



APPLICAZIONI CLINICHE delle MSCs

Facilitano:

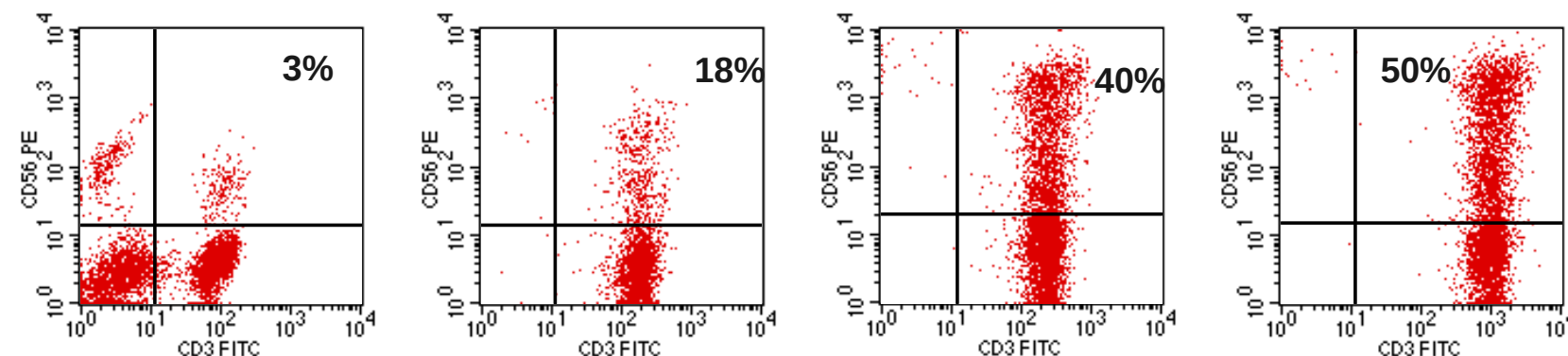
L'attecchimento delle cellule del donatore dopo trapianto emopoietico,
accelerando i tempi per la ricostituzione ematologica

Trattamento/prevenzione della GvHD acuta

Trattamento delle malattie infiammatorie croniche intestinali o di altre
malattie immunomediate

Promuovono la ricostituzione tissutale

Cytokine-induced killer cells (CIK) esempio di PTC



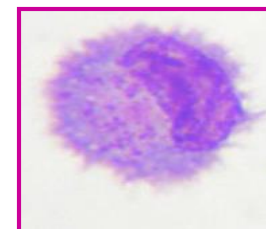
IDENTITA'

Paziente



MNC
Coltura 21 giorni

Terreno serum-free
IFN- γ (1000U/ml)
MoAb anti-CD3(50ng/ml)
IL-2 (300U/ml)
3-4d cambio terreno IL-2



Bonanno G. Cytotherapy 2012
Bonanno G. J Transl Med 2010

Giuseppina Bonanno



Conclusioni

Il traguardo che preveda l'utilizzo delle Terapie Avanzate per la cura di malattie quali alterazioni genetiche, cancro non è più così lontana.

I problemi legati però all'utilizzo di queste terapie restano.

È fondamentale che le **Agenzie** supportino in maniera pro-attiva le aziende e gli Istituti che attualmente stanno sviluppando queste attività per creare un background ed una crescita comune.

I **centri clinici** intenzionati a svolgere attività di sperimentazione clinica con prodotti per Terapia Avanzata potrebbero rivolgersi a strutture idonee alla produzione e al rilascio in conformità alle GMP.

GRAZIE DELL'ATTENZIONE

