"FARMACI INNOVATIVI, BIOTECNOLOGICI E TERAPIE STAMINALI: FARMACOLOGIA, FARMACOTERAPIA E NORMATIVE"

Roma, 14 aprile 2015

TERAPIE CELLULARI

Giuseppina Bonanno

Pol. A. Gemelli

Università Cattolica Sacro Cuore

Terapie cellulari

- Terapie cellulari con emocomponenti
- Terapie cellulari trapiantologiche
- Terapie cellulari non trapiantologiche

Terapie cellulari

EMOCOMPONENTI

a) trasfusione di eritrociti concentrati

b) trasfusione di concentrati piastrinici

c) trasfusione di granulociti

Normativa

che regola la trasfusione del sangue ed emocomponenti

legge 21 ottobre 2005 n° 219 e decreti applicativi

Terapie cellulari

- **Trapiantologiche**

Trapianto emopoietico

Midollo Osseo
Precursori Emopoietici

- **Non Trapiantologiche**

Mobilizzazione di elementi staminali con fattori di crescita

Prodotto per terapia cellulare somatica
Prodotto per terapia genica
Prodotto di ingegneria tissutale

Terapie Avanzate

Trapianto emopoietico

- ***Attività di trapianto autologo/allogenico con minima manipolazione (processing, criopreservazione, selezione negativa/positiva)***

Strumento normativo di riferimento:

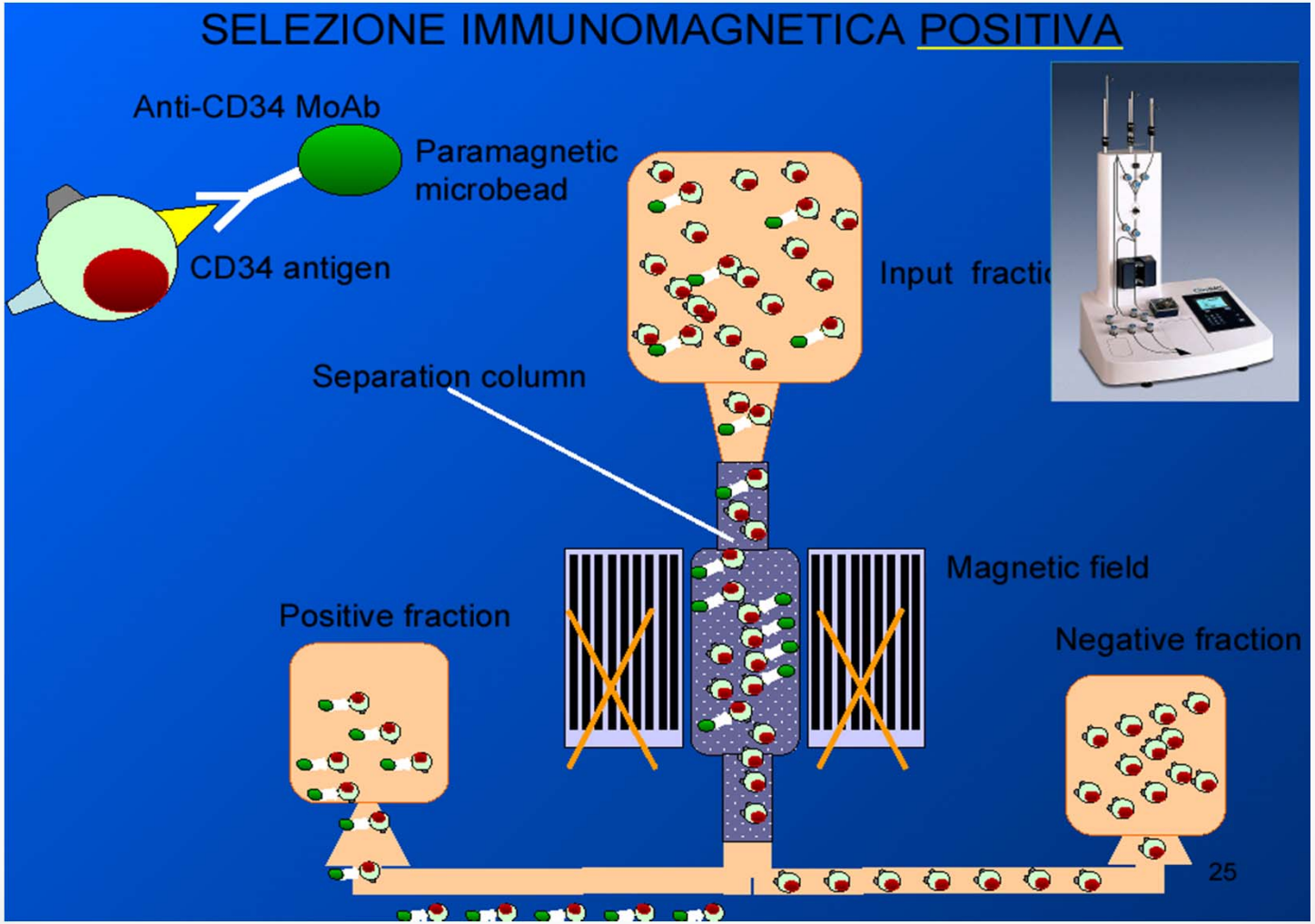
" Linee-guida in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche" (GU 30/09/2003 Serie Generale n° 227) e legge n°219, 21 Ottobre 2005 " Nuova disciplina delle attività trasfusionali e della produzione nazionale degli emoderivati"

Autorità competente (1) :Centro Nazionale Trapianti

Autorità competente (2) :Organi Regionali

Autorità competente (3): Comitato Etico locale

Trapianto emopoietico



Terapie cellulari non Trapiantologiche

Mobilizzazione di elementi staminali/rigeneranti con fattori di crescita (farmaci registrati per indicazioni terapeutiche diverse "medicinale sperimentale")

Strumento normativo: *Decreto Legislativo 24 giugno 2003, n. 211*

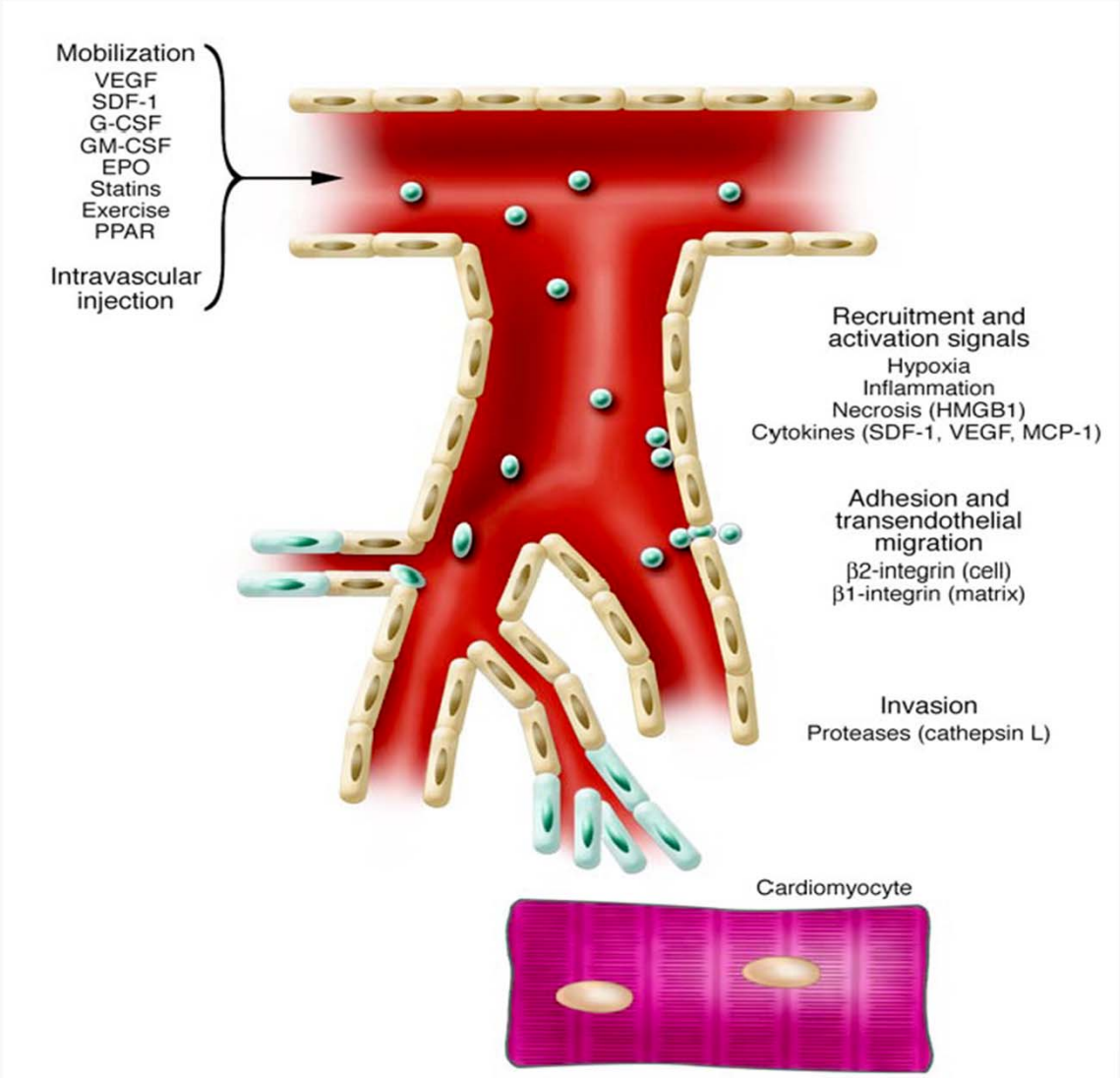
"Attuazione della direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico" *(GU n. 184-9 agosto 2003 - Supplemento Ordinario n. 130)*

Strumento normativo: *Decreto Legislativo 17 Dicembre 2004*

"Prescrizioni e condizioni di carattere generale, relative all'esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali, con particolare riferimento a quelle ai fini del miglioramento della pratica clinica, quale parte integrante dell'assistenza sanitaria".

Autorità competente(1) : Comitato Etico di competenza

Mobilizzazione di elementi staminali/rigeneranti con fattori di crescita (farmaci registrati per indicazioni terapeutiche diverse)



Terapie Avanzate

- Tutti i prodotti di *terapia avanzata* (PTA) 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).
- Sono una classe non omogenea di prodotti
  - Prodotti di Terapia Cellulare
  - Prodotti di Terapia Genica
  - Prodotti di Ingegneria Tissutale

“Prodotto per Terapia Cellulare Somatica e Genica a base di cellule vive”

Strumento normativo di riferimento:

“Linee guida sui prodotti per terapia cellulare”
Notiziario ISS : 2004 : Vol. 17 - n 7/8 –Decreto 24 Settembre 2004 GU 254 28/10/2004

“Si intende per PTC ogni preparazione che venga somministrata ad un essere umano con finalità analoghe ai medicinali
che contenga cellule vive (membrana integra) che siano somministrate da sole o insieme a matrici/involucri di origine sintetica o biologica”
come definiti nel DL 178 (1992) e successive modifiche

“Prodotto per Terapia Cellulare Somatica e Genica a base di cellule vive”

Strumento normativo di riferimento:

“Linee guida sui prodotti per terapia cellulare”
Notiziario ISS : 2004 : Vol. 17 - n 7/8 –Decreto 24 Settembre 2004 GU 254 28/10/2004

Prodotti contenenti cellule o parti di esse ottenuti dopo una manipolazione non minima

Con manipolazione non minima s’intendono quelle procedure che alterino le caratteristiche genetiche, biologiche e fisiologiche del tessuto organo trattato; esempi: attivazione/proliferazione/differenziazione mediante fattori di crescita e fattori sintetici, inserzione di RNA/DNA per l’espressione temporanea o permanente di nuove proteine

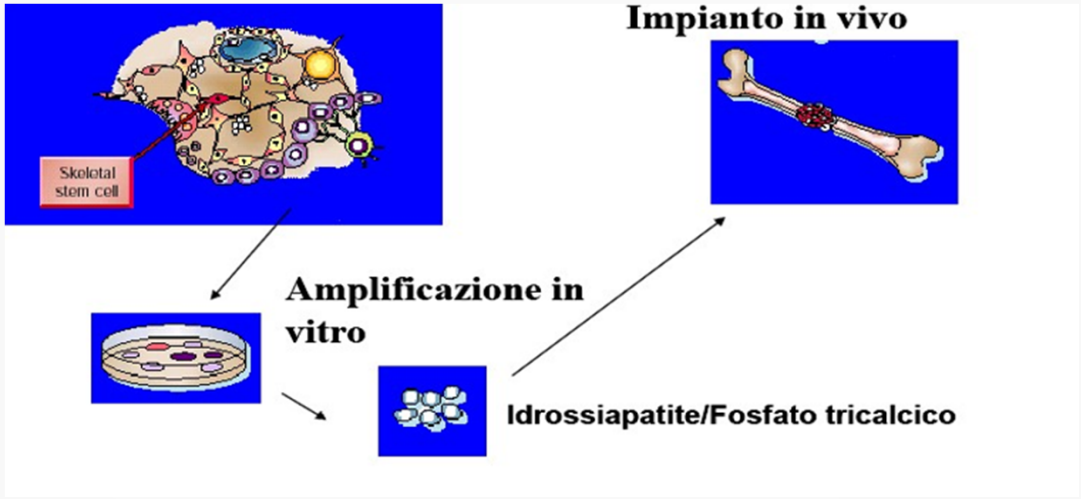
“Prodotto di Ingegneria Tissutale”

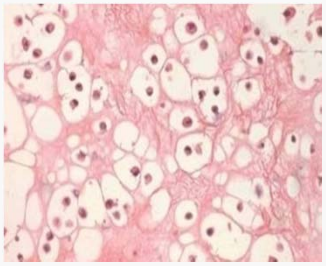
Strumento normativo di riferimento:

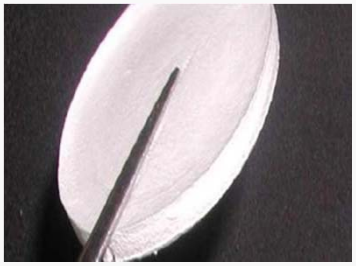
Regolamento (CE) n. 1394/2007 all'art 2 paragrafo 1

Preparazioni composte da cellule o parti di esse somministrate in combinazione con matrici sintetiche o biologiche in cui gli elementi cellulari svolgano una precisa funzione biologica

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







“Prodotto di Ingegneria Tissutale”

Popolazioni, tessuti o parte di organi, minimamente o non minimamente manipolati, utilizzati in modo “non omologo” alla loro normale funzione biologica.

Per uso “non omologo” s’intende la somministrazione di popolazioni cellulari anche se minimamente manipolate in siti dove normalmente non sono presenti e per svolgere una funzione che normalmente non hanno

Trapianto intracoronarico

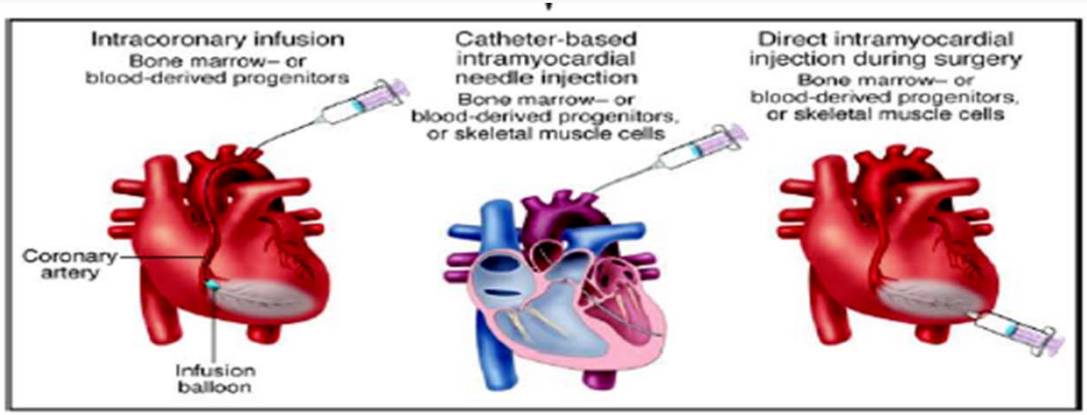
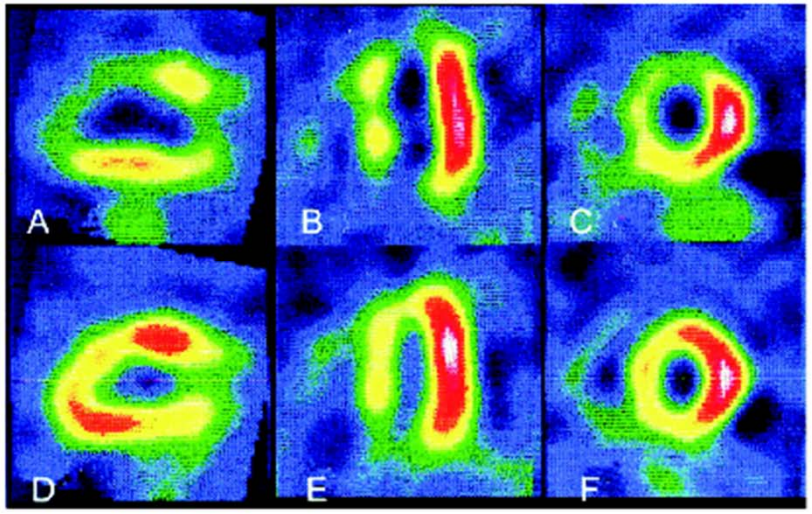


Figure 1. Improved myocardial perfusion of infarcted anterior wall detected by 201-thallium scintigraphy 3 months after intracoronary transplantation of autologous, mononuclear bone marrow cells subsequent to an acute anterior myocardial infarction.



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, Kostering 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).

Produzione di un PTA

In accordo alle Good Manufacturing Practices (GMP)

Strumento normativo di riferimento:

*D*irettiva 2003/94/EC, 2001/83/EC, 2001/20/EC
Allegato 13 alle GMP

Le Norme di Buona Fabbricazione (GMP) assicurano che il medicinale sia controllato con standard di qualità appropriati al loro utilizzo come richiesto per la Marketing Authorization e Clinical Trial Authorization

I PTA sono composti di cellule e richiedono:

- Produzione
- Caratterizzazione
- Controlli di qualità

DIVERSI RISPETTO AI FARMACI TRADIZIONALI

Produzione di un PTA

- *Officina farmaceutica conforme ai requisiti GMP*

Questa conformità deve essere valutata e confermata attraverso le visite ispettive AIFA
Le GMP sono disposizioni obbligatorie DL 219 /2006 art. 58, 60

sono organizzate in:
Capitoli Generali: applicabili a tutte le tipologie di produzione
Allegati: che dettagliano i requisiti previsti per i singoli prodotti

Produzione

In accordo alle (GMP)

	Maximum permitted number of particles per m^3 equal or greater than the tabulated size			
	At rest		*In operation*	
Grade	0.5µm	5.0µm	0.5µm	5.0µm
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*

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

Produzione

In accordo alle (GMP)

La produzione deve avvenire in una classe A, rappresentata in genere da una cappa a flusso laminare, posta in un locale di classe B, cui si accede attraverso un sistema di spogliatoi che permettono il passaggio fra le classi (B, C e D).

Pass box dovranno gestire i passaggio di materiale agli ambienti classificati

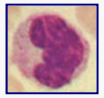
ELENCO OFFICINE FARMACEUTICHE AUTORIZZATE IN ITALIA ALLA PRODUZIONE DI MEDICINALI PER TERAPIE AVANZATE (dal sito AIFA)

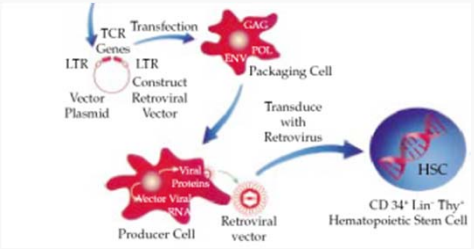
DITTA	CITTA'
A. O. "San Gerardo"	Monza
Areta International	Geranzano (VA)
Istituto Neurologico "Carlo Besta"	Milano
O. S Cell Factory. Maria di Terni	Terni
Istituti Ortopeutici Rizzoli	Bologna
Opedale Maggiore Policlinico di Milano "Cell Factory"	Milano
Molmed S.p.A.	Milano
Fidia Advanced Biopolymers 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)

PRODOTTI PER TERAPIA AVANZATE

LINFOCITI → CIK

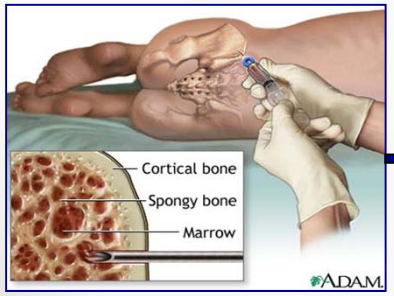
MONOCITI → APC





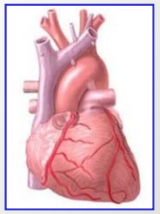
GENE TRANSFER

CELLULE STAMNALI EMOPOIETICHE

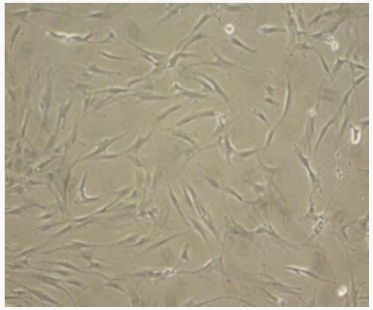


MESENCHIMALI

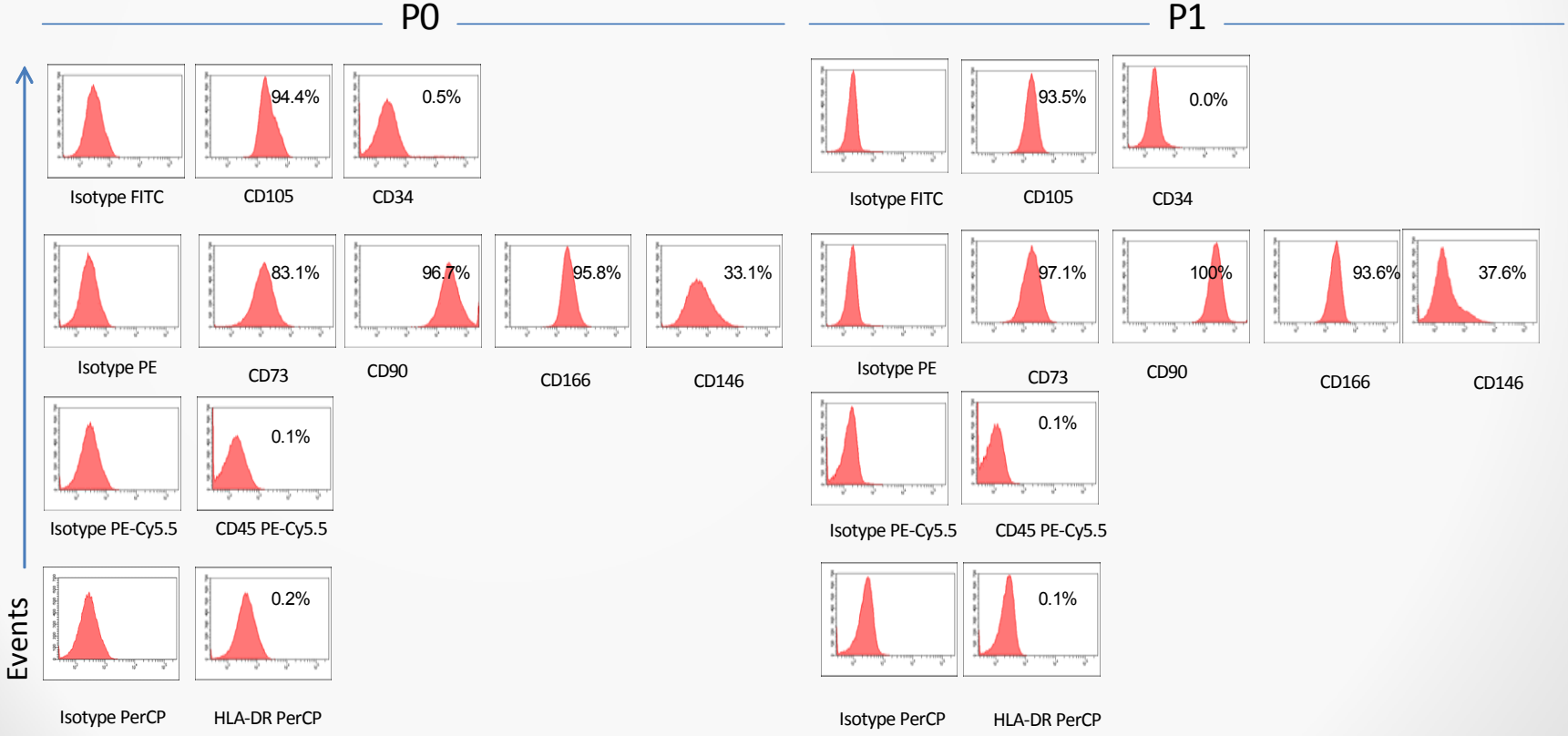
RIGENERAZIONE TISSUTALE CARDIOMIOPLASTICA



CELLULE STROMALI MESENCHIMALI (MSCs)
esempio di PTC



CARATTERIZZAZIONE



Bonanno G. J Transl Med 2014

APPLICAZIONI CLINICHE delle MSCs

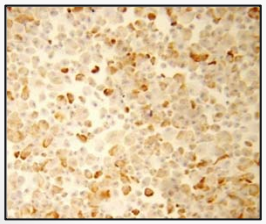
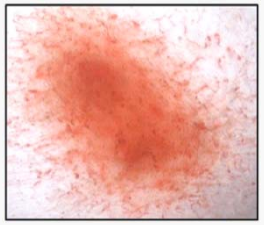
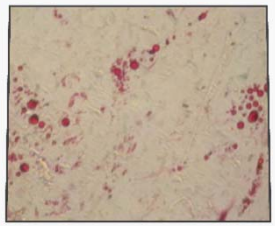
- ***Facilitano:***

  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***

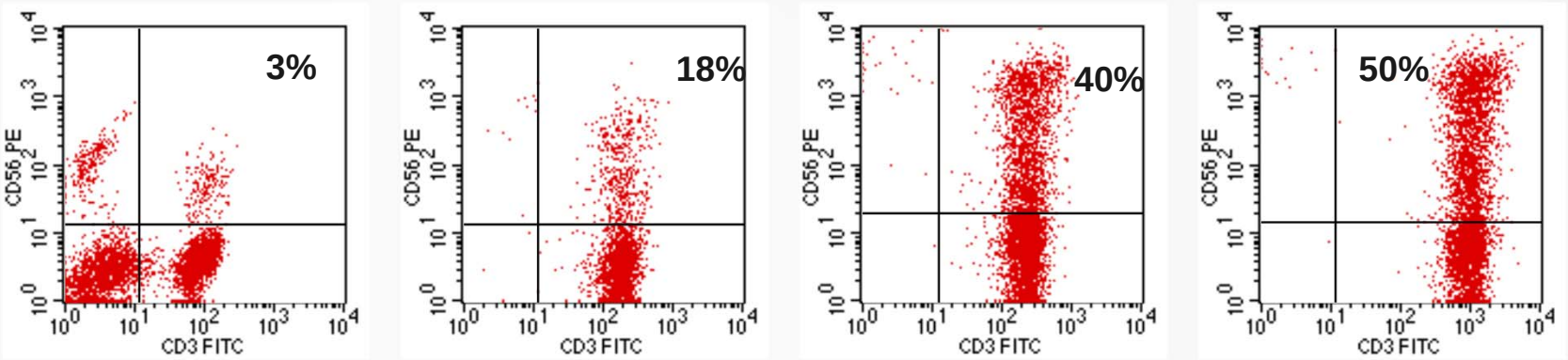
Purezza

- *La purezza di un PTC è finalizzata alla minimizzare degli effetti dovuti a contaminanti introdotti (o non rimossi) nel processo di produzione, che possano avere impatto sull'attività terapeutica e sicurezza del prodotto.*
- *Deve essere caratterizzata la componente diversa dal principio attivo presente nel prodotto medicinale finito e definiti i valori massimi di contaminazione nel prodotto finale.*

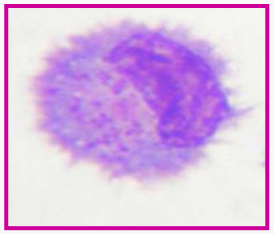
Vitalità

- *La valutazione della vitalità e del numero massimo consentito di cellule morte è un parametro importante nella valutazione dell'integrità del prodotto.*

Cytokine-induced killer cells (CIK) esempio di PTC



Caratterizzazione



Paziente leucemia/linfoma

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

Controlli di qualità

Controlli Microbiologici

PTC

- Endotossine
- Micoplasma
- Colture per aerobi
- Colture per anaerobi
- Colture per miceti

Ambienti

Classe	Campione di aria cfu/m^3	Piastre di sedimentazione (∅ 90 mm) cfu/4 ore	Piastre di contatto (∅ 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

Le strutture che producono medicinali per terapie avanzate devono soddisfare i requisiti previsti dalle GMP

- *Presenza di una Persona Qualificata*
- *Autorizzazione alla produzione dell'AIFA*

Terapia Genica

Trasferimento di geni in cellule **SOMATICHE** umane

"in vivo " o " in vitro "

Trasduzione linea germinale: **PROIBITA**

Plasmidi liberi oppure veicolati da vettori non virali (es. liposomi, virosomi)

Vettori virali: es. AdV, HSV, AAV, RV, LV

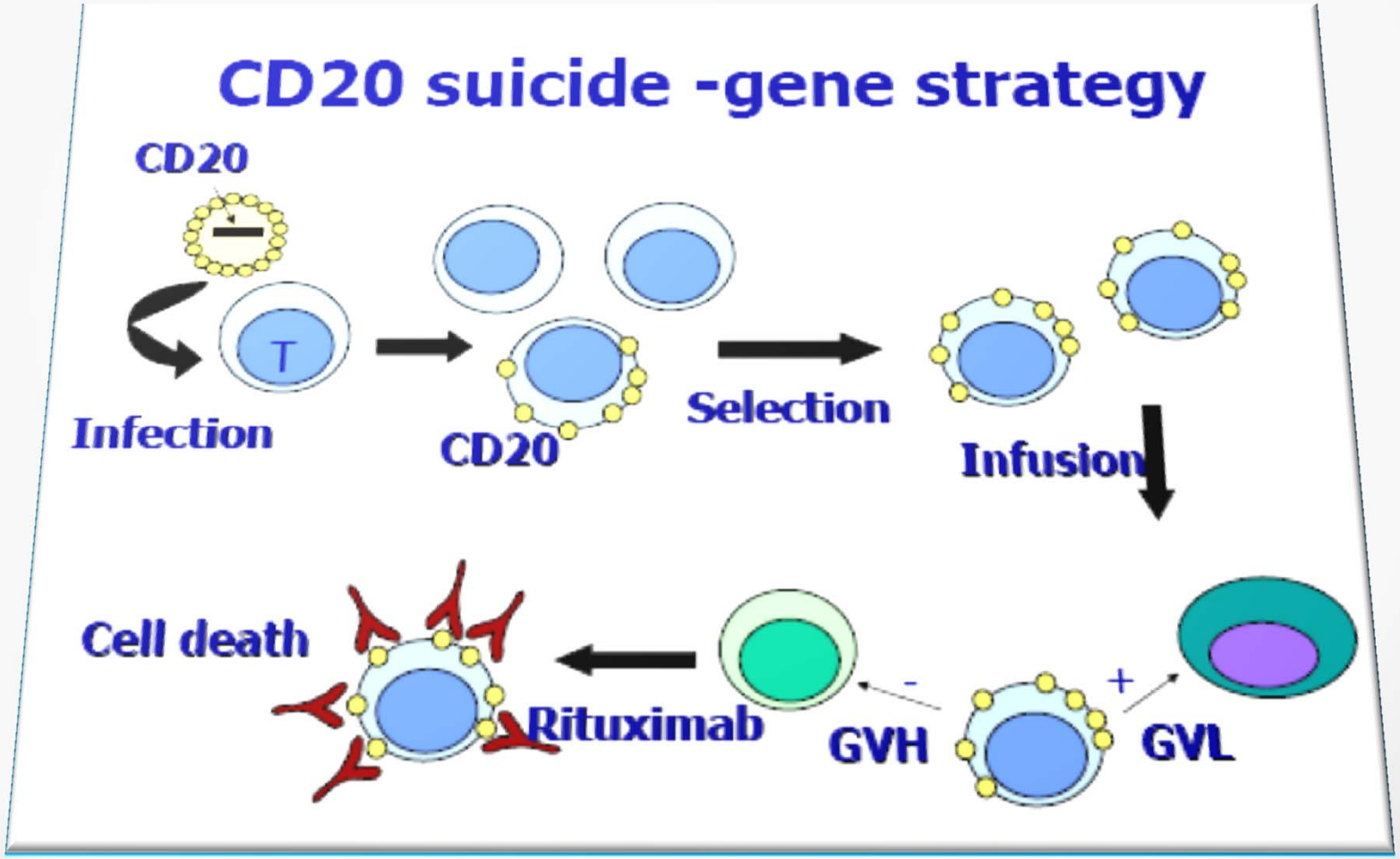
Virus oncolitici geneticamente modificati

Cellule geneticamente modificate (in genere con RV o LV)

Terapia Genica

- *Costruzione del vettore*
- *Transfezione nelle cellule produttrici*
- *Coltura delle cellule produttrici: il vettore viene amplificato e rilasciato nel terreno di coltura*
- *Raccolta del vettore dalla coltura*
- *Purificazione*
- *Titolazione*
- *Trasduzione nelle cellule del donatore, che sono poi somministrate al paziente (ricevente)*

Terapia Genica



Requisito per utilizzare un PTA

Il protocollo clinico/sperimentale per l'impiego di PTA in un particolare ambito della pratiche medico-chirurgiche

Strumento normativo: *Decreto Legislativo 24 giugno 2003, n. 211*

"Attuazione della direttiva 2001/20/CE relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico" *(GU n. 184-9 agosto 2003 - Supplemento Ordinario n. 130)*

Art.9 comma 6

Il promotore della sperimentazione deve, altresì, ottenere una autorizzazione scritta prima dell'inizio delle sperimentazioni cliniche che comportino il ricorso a medicinali per la terapia genica, per la terapia cellulare somatica, nonché a tutti i medicinali contenenti organismi geneticamente modificati. Non possono essere effettuate sperimentazioni di terapia genica che portino a modifiche del patrimonio genetico germinale del soggetto.

Autorità competente(1) : AIFA - Istituto Superiore di Sanità - CE

GRAZIE DELL'ATTENZIONE