

# TERAPIA GENICA PIÙ VICINA PER LA BETA TALASSEMIA

Uno studio pubblicato di recente sul *New England* ha mostrato risultati incoraggianti sui pazienti trattati con cellule ingegnerizzate per produrre globuli rossi “corretti”. A breve un'altra ricerca condotta dal Sr-Tiget dovrebbe portare un'ulteriore conferma

■ **Cristina Tognaccini**  
AboutPharma and Medical Devices  
ctognaccini@aboutpharma.com

Siamo a un punto di svolta. A confermarlo sono gli addetti ai lavori ma anche Claudio Bordignon, uno che la terapia genica e cellulare l'ha vista nascere e poi crescere. Anzi l'ha proprio messa al mondo nell'ormai lontano 1992 quando su *Nature* annunciò il primo intervento sulla manipolazione delle cellule staminali per la terapia genica (Gene therapy. Italians first to use stem cells). Erano i primi esperimenti per trattare la malattia genetica rara Adascid (immunodeficienza severa combinata da deficit di adenosina-deaminasi), che dopo anni di prove, tra successi e insuccessi, ha portato all'approvazione europea di Strimvelis nel maggio del 2016. Nel frattempo però sono cambiate molte cose. È cambiato (in meglio) il profilo di sicurezza del trattamento, sono nate (e alcune sono state approvate) le terapie cellulari Car-T (Chimeric antigen receptors) per il trattamento dei tumori, la ricerca si è spostata anche su nuove aree terapeutiche: come le malattie del sangue. Arrivando così alla “boa”: uno studio clinico di fase I/II, sulla terapia genica per trattare i pazienti affetti da beta talassemia trasfusione-dipendente, pubblicato sul *New England Journal of Medicine* (Nejm, “Gene therapy in patients with

transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia”). I risultati promettenti e altri studi oggi in corso – come quello condotto da Telethon – che presto potrebbero portare ulteriori conferme, avvalorano l'ipotesi che la “boa” è stata aggirata e che ora la strada va dritta verso il traguardo. Ma l'Italia è pronta?

## LO STUDIO AMERICANO

Il primo aspetto considerevole dello studio pubblicato sul *Nejm*, condotto dai ricercatori del Brigham and Women's Hospital di Boston è il numero di pazienti coinvolti: ventidue, adulti o adolescenti affetti da una forma grave della patologia. Il più vasto numero di soggetti trattati con questa terapia. Afferenti a sette differenti centri nel mondo i pazienti sono stati seguiti da uno a tre anni e mezzo e trattati con terapia genica con cellule staminali ematopoietiche corrette con il vettore lentivirale Lenti-Globin BB305, che codifica per la globina. Le cellule ingegnerizzate hanno prodotto globuli rossi contenenti l'emoglobina sana in quantità variabile tra i partecipanti, a seconda del tipo genetico e della gravità della malattia. Tra i nove pazienti con la forma più severa di malattia il trattamento ha ridotto la necessità di trasfusioni del 73%. Tre di questi nove hanno poi interrotto le

trasfusioni, mentre dodici dei tredici soggetti con una forma meno grave non hanno più avuto bisogno di trasfusioni dopo la terapia genica. Non ci sono stati problemi di sicurezza legati al trattamento.

## MIGLIORARE SI PUÒ

Sarah Marktel, referente dell'Unità operativa di ematologia e trapianto di midollo osseo, dell'Istituto scientifico San Raffaele e Sr-Tiget (San Raffaele Telethon Institute for gene therapy), conferma l'imminente svolta: “Nel senso che la pubblicazione segue una precedente di dieci anni prima, dello stesso gruppo francese e di altri ricercatori americani, in cui i benefici clinici ottenuti erano stati modesti. Rispetto al passato i dati attuali sono molto migliorati grazie a un perfezionamento della tecnologia di terapia genica. La pubblicazione di questi dati è un mattoncino in più, una pietra importante verso la cura”. La ricercatrice, che è anche l'investigator di uno studio parallelo portato avanti da Telethon, sempre sulla beta talassemia, spiega che la differenza di efficacia riscontrata tra i partecipanti dipende dal fatto che la patologia in realtà comprende diverse forme di differente gravità, causate da oltre 200 mutazioni genetiche. Per cui si dovrebbe parlare di

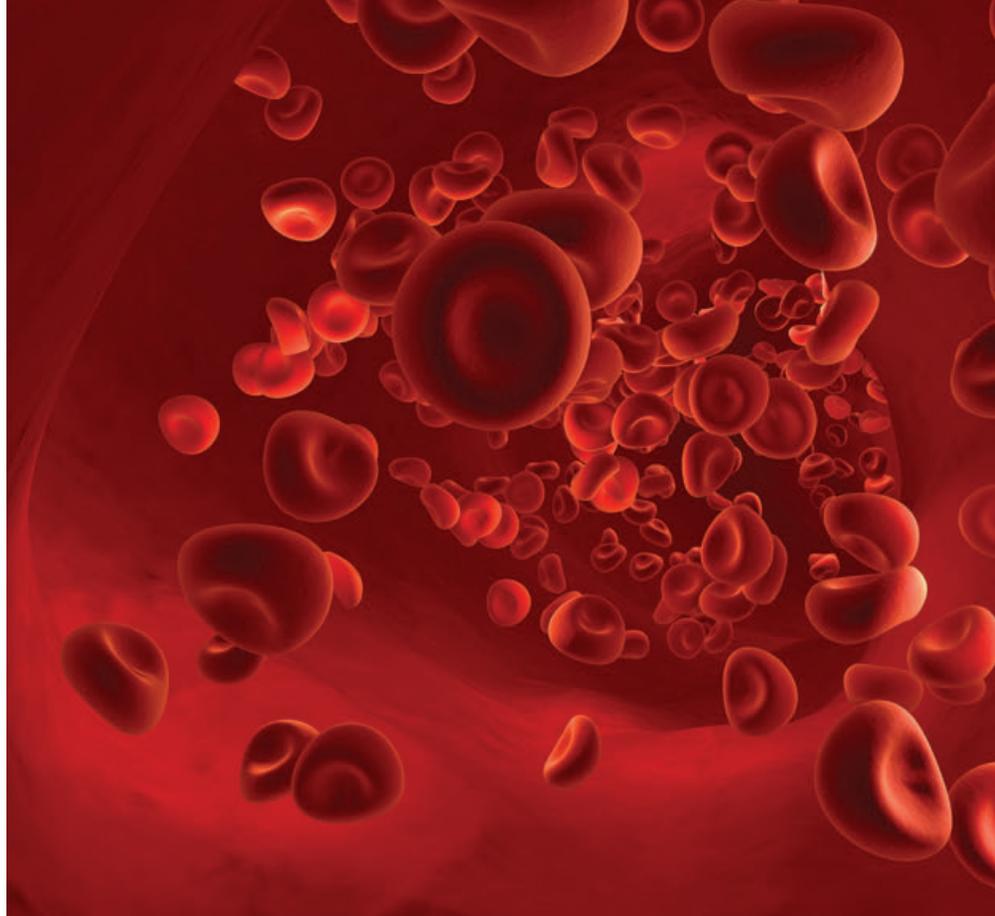
sindromi beta talassemiche piuttosto che di beta talassemia. “È il genotipo la causa principale del successo variabile evidenziato dagli studiosi che hanno pubblicato sul *Nejm*” prosegue. “Già da questi risultati si può capire che, con alcune migliorie, la terapia può essere più efficace anche per coloro in cui il risultato non è stato del cento per cento in questa sperimentazione”. Per esempio il processo di produzione delle cellule staminali può essere ancora migliorato con l’aggiunta di un cocktail di farmaci o di sostanze biologicamente attive che rendono le cellule più permeabili all’infezione da parte del virus e per consentire una correzione più efficace del difetto genico. Più nelle cellule staminali viene eliminato il difetto della beta globina più produrranno emoglobina, quindi globuli rossi.

#### **LE DIFFERENZE CON LO STUDIO TELETHON**

Intanto a breve sono attesi anche i risultati dello studio portato avanti presso il Sr-Tiget, che però presenta alcune differenze rispetto a quello americano. A iniziare dal vettore, che non è lo stesso lentivirale usato dagli americani (LentiGlobin BB305) ma il Globe, che ha specifiche caratteristiche nel disegno che lo rendono ad alto titolo. Per finire con la chemioterapia di preparazione al trattamento e soprattutto la sede dell’infusione: nel caso della sperimentazione targata Telethon avviene direttamente nel midollo osseo, sede di proliferazione delle cellule del sangue, anziché in vena, per favorire un attecchimento precoce. Altre differenze, come ricorda Marktél è la popolazione in studio, in questo caso composta anche – e in prevalenza – da bambini. A oggi infatti stati trattati nove pazienti, di cui tre adulti e sei bambini. “La nostra ricerca è stata condotta in Italia in un solo centro, quello di Milano – spiega Marktél – a cui però sono afferiti pazienti da tutta Italia. Abbiamo arruolato pazienti di origine caucasica con alterazioni genetiche più gravi quindi rispetto allo studio del *Nejm*, che ha preso in esame soprattutto pazienti di origine asiatica”.

#### **PIÙ EFFICACE NELLA POPOLAZIONE PEDIATRICA**

Intanto alcuni risultati della ricerca Telethon sono già noti. Marktél racconta



che anche il loro trattamento in alcuni pazienti ha portato alla libertà di trasfusioni, ma non in tutti. “Quello che abbiamo visto in più rispetto allo studio americano è una diversa efficacia in base all’età” aggiunge. “I soggetti più giovani, adolescenti e bambini hanno avuto risultati migliori rispetto agli adulti. La nostra popolazione, a differenza di quella americana, era divisa prevalentemente in due fasce di età: bambini abbastanza piccoli e adulti sopra i trent’anni. Forse confrontare due gruppi così differenti ci ha permesso di apprezzare una differenza che nell’altro studio non è emersa perché l’età era più omogenea. Abbiamo giustificato il risultato con il fatto che dal punto di vista biologico, in un contesto di trapianto da sé stesso, forse prima lo si fa e meglio è. Perché la talassemia provoca danni agli organi e anche alle cellule staminali. Dato che si tratta di una terapia autologa, fatta con le proprie cellule, più queste sono giovani, più probabilmente funzionano meglio”.

#### **OLTRE LA CHEMIOTERAPIA PER RIDURRE ANCORA I RISCHI**

Dopo ogni trattamento i pazienti vengono seguiti ancora per molti anni per verificare che non insorgano forme tumorali lega-

te all’inserzione errata di Dna. Le visite sono frequenti anche per permettere nella peggiore delle ipotesi di intervenire precocemente. A oggi per fortuna quella che era la più grande ombra delle terapie geniche – che negli anni 2000 portò a un arresto degli investimenti e della ricerca – sembra essere superata. Restano altri effetti collaterali, legati per lo più alla chemioterapia utilizzata prima del trapianto (che può provocare danno d’organo o secondi tumori nel tempo) e l’infertilità ad essa collegata. Al Sr-Tiget per ovviare a questi problemi hanno cercato di usare farmaci con la minore tossicità possibile, già ampiamente utilizzati per il trapianto allogenico del midollo per la talassemia, campo in cui in Italia vi è molta esperienza per via dell’elevata prevalenza della malattia sul territorio. E il congelamento dei gameti ai fini della prevenzione della sterilità. Nel frattempo però si stanno cercando anche altre soluzioni alternative alla chemioterapia: “In un contesto non maligno in cui non c’è da uccidere un tumore ma serve solo per fare spazio, questa non è necessariamente l’unica strada” sottolinea Marktél. “Esistono farmaci, a base di anticorpi, che possono distruggere le cellule staminali con un meccanismo più specifico, senza il danno da chemioterapia.

A oggi non sono ancora in uso clinico ma potenzialmente è un'altra grande area di miglioramento per il futuro”.

#### DOVE STIAMO ANDANDO?

Oggi le aree in cui vengono impiegate le terapie geniche sono due: quella delle patologie oncologiche e quella delle malattie genetiche soprattutto di tipo monogenico, associate alla mancanza o deficit di un gene, come spiega Claudio Bordignon, biologo e genetista italiano oltre che fondatore e presidente di Molmed. Ha un'idea precisa di dove potrebbero portare le terapie cellulari e geniche: “Gli altri potenziali filoni possono essere associati a un'alterazione relativamente mirata e specifica. Per esempio il diabete, che non è ancora trattabile in questo modo ma concettualmente potrebbe. Inserendo il gene dell'insulina e si ripristina una produzione simile a quella delle cellule beta del pancreas. La scelta di restare su queste due aree dipende anche in parte da questioni tecniche. Alcuni geni che sono più facilmente regolabili di altri, perché richiedono un controllo semplice. Basta che inducano una certa quantità del loro prodotto anche inferiore a quella normale nell'organismo, per ottenere una correzione. Altri invece devono essere prodotti in modo molto fine, perché poco può essere insufficiente, troppo dannoso. Questa è la differenza tecnica per cui le malattie geniche e i tumori sono più aggredibili rispetto ad altre, o per lo meno lo sono state in questi anni”.

#### LA PUNTA DELL'ICEBERG

Insomma le novità a cui stiamo assistendo negli ultimi tempi sembrerebbero essere solo la punta dell'iceberg di un potenziale ancora sommerso. Secondo Bordignon infatti la terapia cellulare e genica è destinata ad allargarsi sempre di più coprendo non solo un numero sempre maggiore di pazienti ma anche di patologie e indicazioni. Ci sono però dei punti da risolvere prima. Il primo limite è nella tecnologia in sé ancora ampiamente da perfezionare. “I prossimi passi saranno migliorare ancora l'efficacia e la sicurezza ed espandere l'applicazione – afferma Bordignon – bisogna trovare sempre strumenti nuovi e più efficaci. Per esempio si può agire sul costrutto del vettore, la cellula bersaglio geneticamente inge-

## Car-T di terza generazione

Una Car-T è un linfocita T ingegnerizzato in modo da esprimere recettori diretti contro antigeni tumorali. Il Car è una proteina chimerica formata nella porzione extracellulare, da un anticorpo a catena singola – in grado di riconoscere il bersaglio – e da una parte intracellulare che trasmette il segnale all'interno della cellula. Gli anticorpi hanno un'affinità molto forte per la molecola target, per cui quando la vedono si attaccano in modo persistente, tale da riuscire a indurre un'attività del linfocita così elevata da ucciderla. I Car-T approvati dalla Fda, per esempio usano un anticorpo che riconosce il bersaglio CD19 sulla superficie delle cellule leucemiche B, tipico dunque dei tumori del sangue. Mentre quello usato da Molmed riconosce il CD44V6 espresso da

una serie di tumori, tra cui anche molti tumori solidi. “Il goal del futuro di questa strategia – spiega Catia Traversari – è trovare bersagli efficaci che siano espressi anche su tumori solidi così da avere un ventaglio più ampio di strumenti terapeutici applicabili a diversi tipi tumorali, da poter usare in combinazione con Car-T se il tumore diventa resistente. L'idea è avere già pronto un altro Car-T che riconosca un altro antigene”. Oltre a trovare nuovi bersagli, i ricercatori di tutto il mondo sono anche alla ricerca di cellule alternative che possano sostituire il linfocita T, mantenendo sempre la capacità di uccidere il tumore. “Si tratta sempre di cellule del sistema immunitario con attività citotossica” continua Traversari. “Ci sono diverse possibilità. In letteratura c'è chi utilizza cellule Nk o Nkt oppure linfociti

gnerizzata, la regolazione del prodotto del gene che viene trasferito. Non è pensabile che tutti i pazienti rispondano alla stessa terapia per cui sarà necessario avere un armamentario sempre più ampio e possibilmente arrivare anche a un controllo dei costi”.

#### SE L'ITALIA NON È PRONTA

Lasciando momentaneamente in sospenso il discorso dei costi, sembra che in Italia ci sia un problema forse ancora più urgente da risolvere, che riguarda le strutture ospedaliere dove la terapia genica e cellulare dovrebbe essere eseguita. A detta di Riccardo Palmisano, presidente di Assobiotec (associazione nazionale per lo sviluppo delle biotecnologie) e ceo di Molmed, oggi in Italia sono solo due gli ospedali che tecnicamente potrebbero garantire il trattamento. E di certo i numeri non sono sufficienti. “Novartis che è la prima azienda al mondo ad aver registrato una Car-T (tisagenlecleucel, nome commerciale Kymriah, indicata per le forme gravi di leucemia linfoblastica acuta da cellule B, ndr), ha fatto una valutazione per capire, nel momento in cui Kymriah fosse registrata in Europa, qual era la situazione nei vari Paesi. Questo era lo stato dell'arte in Italia. Negli Usa i centri certificati per somministrare Ye-

scarta (axicabtagene ciloleucel, prodotta da Kite pharma e poi acquisita da Gilead ndr) sono passati da 28 a 40 quando la società ha annunciato i risultati del primo quarter. Non serve che sul nostro territorio ce ne siano altrettanti ma dovremmo averne almeno 12-15 dislocati sul territorio in modo da coprire tutte le regioni. Noi come associazione e azienda impegnata nel settore, prima di tutto stiamo pensando di fare un incontro di presa di coscienza con le istituzioni, con l'Iss, l'Aifa e anche con il ministero della Salute a cui riportano oggi gli ospedali e gli Irccs. Il secondo punto è fare un percorso insieme tra aziende e istituzioni, perché non possiamo attrezzare gli ospedali ma possiamo portare le nostre competenze sul territorio”.

#### LE STRATEGIE PER RIDURRE I COSTI

Una cosa per adesso è certa: se il prezzo della terapia genica e cellulare resta tale, difficilmente potrà essere utilizzata su larga scala. Ne sono consapevoli tutti gli attori coinvolti, così come sono chiare le strategie da perseguire per ridurre i costi per il pagatore, pubblico o privato che sia. Palmisano ne elenca almeno cinque a iniziare dalle più ovvie, come l'automazione del processo e l'aumento del numero dei pazienti da trat-

gamma delta piuttosto che i classici alfa beta che invece stiamo usando in questo momento. Tra i vantaggi, le cellule Nk per esempio hanno una bassissima alloreattività. Hanno poi la capacità di riconoscere spontaneamente le cellule tumorali, potrebbero quindi utilizzare anche i loro recettori in aggiunta ai Car per uccidere la cellula target”.

Continua anche il perfezionamento delle Car-T esistenti, oggi giunte alla terza generazione. La differenza dipende dalla parte intracellulare: la prima generazione ha solo la catena zeta del T cell receptor, mentre la seconda generazione comprende anche un segnale co-stimolatorio. “Grazie a questo segnale aggiuntivo – che può essere veicolato da diverse molecole – i linfociti che ne risultano sono più attivi, proliferano e so-

pravvivono più a lungo” afferma Traversari. “Gli effetti maggiori si hanno con questo tipo di Car-T. La terza generazione invece mette insieme più segnali costimolatori. In clinica però sono state utilizzate poco e non ci sono dati che dimostrino che sono migliori”.

Infine un'ulteriore miglioria riguarda la sicurezza, con l'inserzione di un cosiddetto “gene suicida” all'interno del Car-T. Insieme alle “istruzioni” per generare un Car, traghettate attraverso un vettore virale, può essere inserita anche un'informazione per codificare il gene suicida. In caso si manifesti un evento avverso come il riconoscimento del tessuto sano da parte del Car-T, il gene viene attivato con la semplice somministrazione di un farmaco antivirale come il ganciclovir nel caso della strategia usata da Molmed. Ma anche altri centri con

l'ospedale pediatrico Bambino Gesù di Roma, utilizzano la stessa strategia anche se con una tecnica leggermente differente. Traversari conclude spiegando che nel loro caso “il ganciclovir viene modificato all'interno della cellula dalla timidina chinasi del virus herpes simplex – che abbiamo inserito noi tramite gene suicida – e si inserisce all'interno del Dna, bloccando la proliferazione delle cellule e provocandone la morte. È lo stesso approccio utilizzato per Zalmaxis per bloccare la graft versus host disease (malattia del trapianto contro l'ospite) che si può alle volte generare durante il trattamento. L'abbiamo già testato con questo trattamento e vista l'efficacia abbiamo pensato di inserirlo anche nei Car-T”.

tare che potrebbe portare a un'accettabilità di minori margini per le aziende. Ma non basta. Un terzo punto su cui insiste il presidente di Assobiotec è la considerazione dei costi evitati, e quindi un maggior utilizzo dell'Health technology assessment – oggi in Italia più dichiarato che agito – per mettere sul piatto della bilancia una terapia costosa ma risolutiva come quella genica e cellulare, e quella “tradizionale” più economica nell'immediato ma forse addirittura più dispendiosa sul lungo termine. “Bisognerebbe instaurare dei veri sistemi di Hta, quindi di valutazione dei costi evitati, per valutare l'impatto del costo emergente ma anche del costo cessante” sottolinea Palmisano. E qui entra in gioco il quarto suggerimento del ceo di Momed quello del pagamento dilazionato nel tempo “per cui, per esempio, invece di pagare un milione di euro a infusione in una tranche sola com'era previsto per Glybera – suggerisce – che ha un impatto devastante per una Asl anche se si tratta di una malattia rara, ci si può accordare per suddividere il costo in più momenti diluito negli anni. C'è da superare un problema burocratico perché l'ospedale oggi non può pagare un outcome ed emettere fattura senza avere qualche prestazione o strumento da pagare, ma

basta modificare i sistemi amministrativi. Anche Paola Testori Coggi, presidente della Commissione prezzi e rimborsi di Aifa, alla riunione dello scorso anno della Società di farmacologia di Stresa, aveva parlato di nuove forme di pagamento. Il che dimostra che anche le autorità regolatorie sono entrate nella prospettiva di trovare una modalità che sia remunerativa ma non penalizzi il pagatore tutto in un anno”.

#### LA TERAPIA ALLOGENICA

C'è infine un'ultima strategia, su cui già da tempo si sta lavorando: il passaggio da una terapia di tipo autologo, fatta cioè con le stesse cellule del paziente, a una di tipo allogenico, da donatore sano. Si passerebbe così da una terapia personalizzata e su misura per la singola persona alla produzione di veri e propri lotti di cellule ingegnerizzate utilizzabili per più persone. “Nel mondo della terapia cellulare Car-T il passaggio all'allogenico, se funzionerà, sarà il punto che permetterà di ridurre davvero i costi. È una frontiera che abbassa la cifra di uno zero” sostiene Palmisano. Catia Traversari, direttrice della ricerca di MolMed spiega che in realtà alcuni laboratori stanno già sperimentando questo nuovo approccio. “È una strategia in corso di sperimenta-

zione in diversi centri clinici e sviluppata a livello industriale principalmente da Cellectis, che peraltro ha stretto un accordo di sviluppo e produzione dei propri Car-T allogenici proprio con Molmed. I limiti di questo approccio, dovuti all'uso di un Car allogenico, sono essenzialmente due: lo sviluppo di una reazione del trapianto verso l'ospite (GvHD) e la limitata persistenza nei pazienti dei Car-T allogenici, che vengono eliminati dal sistema immunitario dell'ospite. Nel caso particolare di Cellectis, per evitare la GvHD la tecnologia utilizzata fa sì che il Car-T allogenico non esprima il T cell receptor e quindi non sia in grado di attaccare i tessuti del paziente. Per evitare la precoce eliminazione, solitamente il trattamento viene fatto in un periodo in cui il paziente è immunodepresso. Quando l'immunità ricompare si ha la perdita dei linfociti Car-T, che però nel frattempo dovrebbero aver attaccato il tumore e controllato la malattia. Noi al momento non ci stiamo ancora lavorando, ma ci sono già trial clinici in corso. In molti casi, questa strategia viene utilizzata come ponte verso il trapianto di cellule staminali. In futuro, la speranza è di poterla applicare anche in ambiti diversi, ma prima bisogna dimostrarne sicurezza ed efficacia”.