TERAPIE AVANZATE

Che cosa sono e quali sono i campi di applicazione

A cura della redazione (Folco Claudi)

Malattie genetiche, malattie croniche e tumori: sono questi i tre principali ambiti in cui stanno trovando sempre più ampia applicazione prodotti medicinali di terapia avanzata anche indicati più semplicemente come terapie avanzate (in inglese Advanced Therapy Medicinal Product, ATMP). Si tratta di un termine generico che comprende metodiche diverse tra loro, ma che contemplano interventi sul materiale genetico, oppure su cellule e su tessuti. Rispetto ai farmaci di sintesi, questi innovativi "farmaci" – sono tali a tutti gli effetti – hanno in comune tra loro l'obiettivo di intervenire non sui sintomi di una malattia o su alcuni dei suoi aspetti biomolecolari, ma alla base genetica e cellulare della malattia stessa.
La distanza rispetto ai preparati farmacologici convenzionali è segnata chiaramente anche dai metodi di preparazione e di verifica del profilo di efficacia e sicurezza, tanto che, secondo il Regolamento CE n. 1394/2007, entrato in vigore nel 2009, a livello europeo la loro approvazione è deputata a un apposito Comitato per le Terapie Avanzate (Committee for Advanced Therapies, CAT), il cui giudizio viene successivamente validato dal Comitato per i medicinali ad uso umano (Committee for Medicinal Products for Human Use, CHMP) dell'Agenzia europea per il farmaco (EMA). L'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) si occupa invece delle procedure per l'autorizzazione di nuovi farmaci nel nostro Paese.

Procedendo a una classificazione più rigorosa, si possono individuare quattro diverse categorie di terapie avanzate:
- terapia genica
- terapia cellulare
- ingegneria tissutale
- terapie combinate.

Nel seguito sono illustrate più diffusamente le tecniche utilizzate nelle diverse classi. Nelle **TABELLE 1, 2, 3** e **4** sono invece riassunte le terapie a oggi approvate con relative indicazioni e classi di rimborsabilità in Italia.

LA TERAPIA GENICA

Numerose patologie sono l'esito di una mutazione genetica: fin da quando storicamente è emersa questa evidenza, è nata l'idea di una possibile terapia basata sulla correzione di tale difetto. L'obiettivo teorico è diventato gradualmente una realtà a partire dagli anni Ottanta, cioè da quando si sono affacciate sulla scena le tecniche del DNA ricombinante, che aprivano la possibilità per i ricercatori di comporre sequenze geniche desiderate. Gli ultimi decenni sono però stati decisivi per questo campo di ricerca, con le tecniche di sequenziamento del genoma e i progressi delle biotecnologie.

Complessivamente, le terapie geniche si suddividono in due grandi classi, a seconda dell'approccio adottato:
- **terapia mediante aggiunta:** un gene normalmente funzionante viene semplicemente inserito in un punto non specifico all'interno del genoma dell'ospite per supplire al gene difettoso, che rimane comunque in situ;
- **terapia mediante sostituzione:** il gene mutato può essere scambiato con un gene normale per effetto del processo di ricombinazione omologa.

A seconda della via di somministrazione, si distinguono poi terapie in vivo, quando il gene terapeutico viene fornito direttamente all'organismo del paziente mediante un'iniezione, o localmente o per via sistemica, e terapie ex vivo, quando la correzione avviene in laboratorio, su cellule prima prelevate e in seguito reinfuse.
Per somministrare il gene terapeutico, infine, si possono usare vettori virali – gli adeno-associati (AAV) sono i più utilizzati – oppure anche vettori non virali.
Una menzione speciale meritano in questa sezione due tipi di interventi terapeutici altamente innovativi: l'*editing genomico* e le *terapie su RNA*.
Se il DNA può essere paragonato – come spesso accade – a un libro di istruzioni scritto con un alfabeto di sole quattro lettere, l'*editing genomico* è una sorta di "correzione di bozze" di tale testo. In questo campo, la svolta epocale è arrivata nel biennio 2012-2013, con l'introduzione della tecnica di editing genomico denominata CRISPR, acronimo di Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (sequenze geniche che si ripetono a intervalli regolari). Insieme ai geni CRISPR-associati, indicati dall'acronimo CAS, che codificano per enzimi che hanno la funzione di tagliare le sequenze di DNA, le CRISPR formano il sistema CRISPR-CAS originariamente scoperto in *E. coli*, dove ha la funzione di proteggere il batterio dall'attacco dei virus. Un filone di ricerca estremamente fecondo, che ha portato tra l'altro all'attribuzione del Nobel per la chimica nel 2020 a Emmanuelle Charpentier e Jennifer Doudna, e che ha dimostrato la possiblità di sfruttare

il sistema CRISPR-CAS per aggiungere o eliminare sequenze di geni, oppure di modificarle in un modo predeterminato. La tecnica è veloce, estremamente economica e facile da eseguire senza alcuna formazione specifica: tutte queste caratteristiche rendono tale tipo di *editing genomico* adatto a una gamma molto ampia di applicazioni terapeutiche, dalle malattie genetiche, in particolar modo quelle rare (come la distrofia muscolare di Duchenne, la beta-talassemia e la fibrosi cistica), ai tumori, passando per le malattie neurologiche (Alzheimer e Parkinson), fino alle malattie infettive (HIV).
Nel caso delle *terapie su RNA*, si tratta invece di interventi basati su piccoli frammenti di DNA o RNA, che consentono di modulare l'espressione dell'RNA messaggero, con l'obiettivo finale di regolare la sintesi delle proteine, senza intervenire sul gene codificante. Si tratta di una metodica molto innovativa che non rientra attualmente nella definizione tecnica di terapie avanzate **(TABELLA 1)**.

in breve

Le terapie avanzate comprendono un insieme di interventi, anche molto differenti, che mirano a modificare il decorso di una patologia, andando ad agire direttamente sui geni o sui sistemi cellulari implicati nel processo patogenetico. Alcune malattie, per le quali fino a pochissimi anni fa non vi erano prospettive di guarigione, grazie alle terapie avanzate oggi sono curabili. L'articolo ripercorre le principali terapie avanzate e i loro ambiti di applicazione allo stato attuale

LA TERAPIA CELLULARE

L'immunoterapia

Nel 2000, la rivista *Cell* pubblicava un importante articolo a firma di Douglas Hanahan e Robert Weinberg, che intendeva illustrare i sei punti chiave della ricerca oncologica, in cui il sistema immunitario non era neppure nominato. Oggi, a distanza di 22 anni, la possibilità di sfruttare alcune componenti del sistema immunitario per amplificare o sopprimere le sue risposte è considerata una strategia cruciale per il trattamento delle neoplasie maligne. Per comprendere questo approccio terapeutico, occorre rifarsi a grandi linee al modello d'interazione tra sistema immunitario e cellule tumorali. Tale interazione si caratterizza per il ruolo ambivalente del sistema immunitario stesso che, se da una parte protegge l'organismo dalla crescita del tumore, dall'altra modella l'immunogenicità della neoplasia. Più nello specifico, si distinguono infatti tre fasi: eliminazione, equilibrio e fuga (escape). Nella prima, sia la componente innata sia quella adattativa del sistema immunitario riconoscono gli antigeni specifici del tumore e rispondono distruggendo le cellule tumorali. Alcune di esse però sfuggono all'eliminazione ed entrano nella seconda fase, in cui s'instaura un equilibrio in cui, pur impedendo la crescita tumorale vera e propria, il sistema immunitario esercita una pressione selettiva sui cloni maligni rimanenti, che porta infine allo sviluppo di una resistenza alla risposta immunitaria.

Le citochine. Dagli studi condotti sulla fase della fuga, è scaturita l'idea di manipolare il sistema immunitario in modo da riattivare la risposta antitumorale e inibire invece le vie che portano alla fuga. I primi approcci all'immunoterapia in campo oncologico sono stati a base di citochine, per la loro capacità di attivare la risposta immunitaria contro il cancro: l'interleuchina 2 (IL-2) e l'interferone (IFN) α-2b ad alte dosi sono stati utilizzati per trattare il melanoma avanzato e il carcinoma a cellule renali (RCC).

Gli inibitori dei checkpoint immunitari. Negli anni successivi, sono stati studiati alcuni approcci terapeutici per manipolare diversi aspetti del sistema immunitario. Tra questi un posto di preminenza è occupato sicuramente dagli agenti inibitori dei checkpoint immmunitari (ICI). In condizioni normali, i checkpoint immunitari hanno il ruolo d'impedire che la risposta immunitaria sia così forte da distruggere le cellule sane dell'organismo: la loro attivazione avviene quando le proteine sulla superficie dei linfociti T riconoscono specifiche proteine su altre cellule, anche neoplastiche. Quando le proteine del checkpoint e quelle del partner si legano tra loro, inviano un segnale di "spegnimento" ai linfociti T, impedendo al sistema immunitario di distruggere le cellule tumorali.
Gli inibitori del checkpoint immunitario agiscono bloccando le proteine del checkpoint dal legarsi con le loro proteine partner: ciò impedisce l'invio del segnale "off", consentendo ai linfociti T di distruggere le cellule tumorali. Uno di questi farmaci, per esempio, agisce contro una proteina di checkpoint chiamata CTLA-4. Altri ICI agiscono su una proteina del checkpoint chiamata PD-1 o la sua proteina partner PD-L1.
Le applicazioni in campo oncologico degli inibitori di checkpoint immunitari sono numerose: melanoma, mammella, vescica, utero, colon-retto, testa-collo, linfoma di Hodgkin, fegato, polmone, carcinoma a cellule renali, stomaco. Anche in questo caso, il trattamento farmacologico non è esente da problemi di tossicità, con eventi avversi che comprendono diarrea, discomfort addominale e sanguinamento del tratto gastrointestinale inferiore.

Gli anticorpi monoclonali. Gli anticorpi monoclonali sono ampiamente utilizzati nel trattamento del cancro (e non solo) e alcuni di essi, per la loro modalità di azione, possono essere considerati immunoterapici. Alcuni di essi marcano le cellule tumorali in modo che possano essere riconosciute e

TABELLA 1 Le terapie geniche approvate in Europa e in Italia. Aggiornamento ottobre 2022

DENOMINAZIONE	SOMMINISTRAZIONE E VETTORE	INDICAZIONE	APPROVAZIONE EUROPEA	AIC IN ITALIA E CLASSE DI RIMBORSABILITÀ
Alipogene tiparvovec	In vivo Virus adeno-associato	Deficit familiare di lipasi lipoproteica con gravi o ripetuti attacchi di pancreatite	Ottobre 2012 Farmaco orfano	Ottobre 2017 (non in commercio)
Talimogene laherparepvec	In vivo Virus herpes simplex	Melanoma inoperabile con metastasi regionali o a distanza (Stadio IIIB, IIIC e IVM1a)	Dicembre 2015	(Non in commercio) Classe C (accesso alla rimborsabilità non richiesto)
Frazione cellulare arricchita di cellule autologhe CD34+ contenente cellule CD34+ geneticamente modificate contenente la sequenza di cDNA che codifica per l'ADA umana	Ex vivo Retrovirus	ADA-SCID nei casi di assenza di donatore consanguineo	Maggio 2016 Farmaco orfano	Classe H (da luglio 2016) Farmaco con innovatività AIFA scaduta
Voretigene neparvovec	In vivo Virus adeno-associato	Distrofia retinica ereditaria	Novembre 2018 Farmaco orfano	In commercio Classe H (da dicembre 2020) Farmaco con innovatività AIFA
Betibeglogene autotemcel	Ex vivo Lentivirus	Beta talassemia trasfusione dipendente senza genotipo β0/β0 (sopra ai 12 anni)	Maggio 2019 Farmaco orfano	Non in commercio
Onasemnogene abeparvovec	In vivo Virus adeno-associato	Atrofia muscolare spinale (SMA) di tipo 1; oppure pazienti con SMA che hanno fino a tre copie del gene SMN2	Maggio 2020 Farmaco orfano	In commercio Classe H (da marzo 2021) Farmaco con innovatività AIFA
Cellule autologhe CD34+ che codificano il gene ARSA	Ex vivo Lentivirus	Leucodistrofia metacromatica	Dicembre 2020 Farmaco orfano	In commercio Classe H (da marzo 2022) Farmaco con innovatività AIFA
Elivaldogene autotemcel (Lenti-D™)	Ex vivo Lentivirus	Adrenoleucodistrofia cerebrale precoce con una mutazione genetica ABCD1	Luglio 2021	Non in commercio
Eladocagene exuparvovec	In vivo Virus adeno-associato	Deficit della decarbossilasi degli L-aminoacidi aromatici	Luglio 2022 Farmaco orfano	Non in commercio
Valoctocogene roxaparvovec	In vivo Virus adeno-associato	Emofilia A grave (carenza congenita di Fattore VIII)	Agosto 2022 Farmaco orfano	Non in commercio

Fonte: modificata da Osservatorio Terapie avanzate. Ottobre 2022

TABELLA 2 Le terapie cellulari in Europa e in Italia. Aggiornamento ottobre 2022

DENOMINAZIONE	INDICAZIONE	APPROVAZIONE EUROPEA	AIC IN ITALIA E CLASSE DI RIMBORSABILITÀ
Cellule cartilaginee autologhe vitali caratterizzate espanse ex vivo ed esprimenti proteine marker specifiche	Singole lesioni sintomatiche a carico della cartilagine del condilo femorale del ginocchio	Ottobre 2009	Da novembre 2016 Non in commercio
Sipuleucel-T	Carcinoma della prostata asintomatico o lievemente sintomatico metastatico (non viscerale)	Settembre 2013	Da maggio 2015 Non in commercio
Linfociti T allogenici geneticamente modificati con un vettore retrovirale codificante per una forma troncata del recettore umano a bassa affinità del fattore di crescita nervoso e la timidina chinasi del virus herpes simplex I	Trattamento aggiuntivo nei casi di trapianto di staminali per neoplasie maligne ematologiche ad alto rischio	Agosto 2016	Da ottobre 2019 Non in commercio
Darvadstrocel	Fistole perianali complesse in pazienti adulti con malattia di Crohn luminale non attiva/ lievemente attiva	Marzo 2018 Farmaco orfano	In commercio Classe C Settembre 2018

Fonte: modificata da Osservatorio Terapie avanzate. Ottobre 2022

distrutte dal sistema immunitario. Rituximab, per esempio, si lega all'antigene CD20 sui linfociti B, sia sani sia neoplastici, causandone la lisi: per questo è utilizzato per il trattamento del linfoma non Hodgkin a cellule B e nelle leucemie delle cellule B, così come in alcune malattie autoimmuni.

Gli immunomodulatori. Gli immunomodulatori sono farmaci che agiscono stimolando una risposta immunitaria, per esempio inducendo le cellule a rilasciare interleuchina-2: è il caso di talidomide, lenaliodomide e pomalidomide. Un altro immunomodulatore, imiquimod, agisce stimolando la produzione di altre citochine.

BCG. Il bacillo di Calmette e Guérin (BCG) è la forma attenuata dell'agente patogeno della tubercolosi. Viene utilizzato, oltre che per il vaccino contro questa infezione, anche per stimolare una risposta immunitaria contro il tumore della vescica.

La terapia CAR-T

Era l'aprile del 2012, quando la piccola Emily Whitehead, una bambina di sette anni, riceveva una diagnosi drammatica: la sua leucemia linfoblastica acuta (ALL) era giunta alla seconda recidiva.

Ma di fronte a lei c'era una prospettiva, per quanto incerta: diventare la prima paziente pediatrica a entrare in uno studio clinico per la verifica di efficacia di una terapia sperimentale, messa a punto da Carl June dell'Università della Pennsylvania e dal suo gruppo.

Ora, a distanza di anni, il tumore di Emily è in completa remissione. A cambiare la storia naturale della sua malattia – in modo definitivo a quanto pare – è stata la terapia CAR-T. Il nome si deve al fatto che questa terapia prevede una manipolazione dei linfociti T, in modo che esprimano uno specifico recettore per l'antigene di membrana, il chimeric antigen receptor (CAR), che rende queste cellule del sistema immunitario in grado di riconoscere e distruggere le cellule tumorali. Si tratta di una procedura alquanto complessa, perché i leucociti devono essere prima prelevati dal paziente e poi inviati, una volta separati da altri elementi corpuscolari, agli appositi laboratori che devono ingegnerizzarli con opportuni vettori virali. Una volta completato questo passaggio, i "super-linfociti" così ottenuti devono essere moltiplicati fino a ottenerne milioni di copie, che vanno poi reinfuse nel paziente.

A distanza di anni le autorità regolatorie su entrambi i lati dell'Oceano Atlantico hanno riconosciuto l'importanza di questo approccio terapeutico. Prima la Food and Drug

Administration, nel 2017, e poi l'Agenzia europea per il farmaco, nel 2018, hanno approvato le prime due terapie CAR-T disponibili: si tratta di axicabtagene ciloleucel, o più brevemente axi-cel, sviluppata da Kite Pharma, del gruppo Gilead, e tisagenlecleucel (o tisa-cel) di Novartis, che rappresentano una svolta epocale per il trattamento di neoplasie del sangue quali la leucemia linfoblastica acuta, il linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) e il linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B (PMBCL). Dal 2019, entrambe le terapie sono poi state ammesse alla rimborsabilità dall'Agenzia italiana per il farmaco.
Il ventaglio terapeutico delle CAR-T si è poi ampliato nel 2020,

TABELLA 3 Terapie CAR-T approvate in Europa e in Italia. Aggiornamento ottobre 2022

DENOMINAZIONE	SOMMINISTRAZIONE E VETTORE	INDICAZIONE	APPROVAZIONE EUROPEA	AIC IN ITALIA E CLASSE DI RIMBORSABILITÀ
Tisagenlecleucel	Ex vivo Lentivirus	Leucemia linfoblastica acuta a cellule B e linfoma diffuso a grandi cellule B	Agosto 2018 Farmaco orfano	In commercio Classe H Agosto 2019 Farmaco con innovatività
		Linfoma follicolare recidivante o refrattario	Maggio 2022	AIFA Non in commercio
Axicabtagene ciloleucel	Ex vivo Retrovirus	Linfoma diffuso a grandi cellule B e linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B refrattari o recidivanti	Agosto 2018 Farmaco orfano	In commercio Classe H (da novembre 2019) Farmaco con innovatività AIFA
		Linfoma follicolare recidivante/o refrattario	Giugno 2022	Non in commercio
		Linfoma diffuso a grandi cellule B e linfoma a cellule B di alto grado con ricaduta entro 12 mesi o refrattari	Ottobre 2022	Non in commercio
Brexucabtagene autoleucel	Ex vivo Retrovirus	Linfoma a cellule mantellari (MCL) recidivante o refrattario	Dicembre 2020 Farmaco orfano	In commercio Classe H (da marzo 2022) Farmaco con innovatività AIFA
		Leucemia linfoblastica acuta da precursori delle cellule B recidivante o refrattaria	Settembre 2022	Non in commercio
Idecabtagene vicleucel	Ex vivo Lentivirus	Mieloma multiplo recidivante o refrattario	Agosto 2021	Non in commercio
Lisocabtagene maraleucel	Ex vivo Lentivirus	Linfoma diffuso a grandi cellule B, linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B e linfoma follicolare	Aprile 2022	Non in commercio
Ciltacabtagene autoleucel	Ex vivo Lentivirus	Mieloma multiplo recidivante o refrattario	Maggio 2022 Farmaco orfano	Non in commercio

Fonte: modificata da Osservatorio Terapie avanzate. Ottobre 2022

TABELLA 4 Le tecniche di ingegneria tissutale. Aggiornamento ottobre 2022

DENOMINAZIONE	INDICAZIONE	APPROVAZIONE EUROPEA	AIC IN ITALIA E CLASSE DI RIMBORSABILITÀ
Condrociti autologhi vitali caratterizzati, espansi ex vivo esprimenti geni marker specifici per i condrociti, seminati su una membrana di collagene di tipo I/III di origine suina con marchio CE	Difetti sintomatici a tutto spessore della cartilagine del ginocchio	Giugno 2013	Da luglio 2018 Non in commercio
Cellule epiteliali corneali umane autologhe espanse ex vivo e contenenti cellule staminali	Deficit di cellule staminali limbari da moderato a grave, causato da ustioni oculari da agenti fisici o chimici	Febbraio 2015 Farmaco orfano	Da febbraio 2017 Classe H In commercio
Sferoidi di condrociti umani autologhi associati a matrice per impianto sospesi in soluzione isotonica di cloruro di sodio	Difetti sintomatici della cartilagine articolare del condilo femorale e della rotula del ginocchio	Luglio 2017	Classe C Novembre 2021

Fonte: modificata da Osservatorio Terapie avanzate. Ottobre 2022

con l'approvazione da parte dell'FDA della terapia brexucabtagene autoleucel, indicata per il linfoma mantellare (MCL) recidivante o refrattario alla terapia standard (due cicli di terapia aggressiva).
La terapia CAR-T è considerata oggi l'ultima frontiera dell'immunoterapia in campo oncologico, per la loro capacità di contrastare patologie per le quali non esiste alcuna alternativa. Sono però ancora ardui gli ostacoli a una sua diffusione su ampia scala. Il primo riguarda come intuibile la questione dei costi: per axi-cel e per tisa-cel si parla di circa 300.000 euro nel nostro Paese, che pongono un evidente problema di sostenibilità della cura. Non mancano peraltro le preoccupazioni riguardanti la sicurezza, per alcuni eventi avversi anche mortali che si sono evidenziati durante le diverse sperimentazioni. Più in generale, ci si pone anche il problema se per le CAR-T i percorsi di valutazione della sicurezza debbano essere gli stessi progettati per i farmaci di sintesi.
Le **TABELLE 2 e 3** riassumono le terapie cellulari e le terapie CAR-T approvate fino a ottobre 2022.

TERAPIE D'INGEGNERIA TISSUTALE

Per ingegneria tissutale s'intende l'uso di cellule o tessuti cresciuti in coltura in laboratorio per rigenerare la cute, le ossa e la cartilagine. La metodica prevede la semina di cellule staminali su appositi supporti denominati scaffold: la crescita dei tessuti viene poi stimolata mediante specifici fattori di crescita. L'obiettivo finale è la realizzazione di protesi biologiche o, in prospettiva, interi organi per il successivo trapianto sul paziente **(TABELLA 4)**.

Tempo di lettura consigliato: 60 minuti

Obiettivo formativo: Integrazione interprofessionale e multiprofessionale, interistituzionale (Tabella A, Codice 8)

Bibliografia

1. Ebook le Terapie CAR-T – Dal laboratorio al paziente. Gennaio 2021
2. Van Holde KE, Zlatanova J. The Evolution of Molecular Biology. Academic Press, 2018
3. Kennedy LB, Salama AKS. A Review of Cancer Immunotherapy Toxicity. CA Cancer J Clin 2020; 70: 86–104.
4. https://www.osservatorioterapieavanzate.it/
5. https://www.cancer.gov/