



... le cellule funzionano!

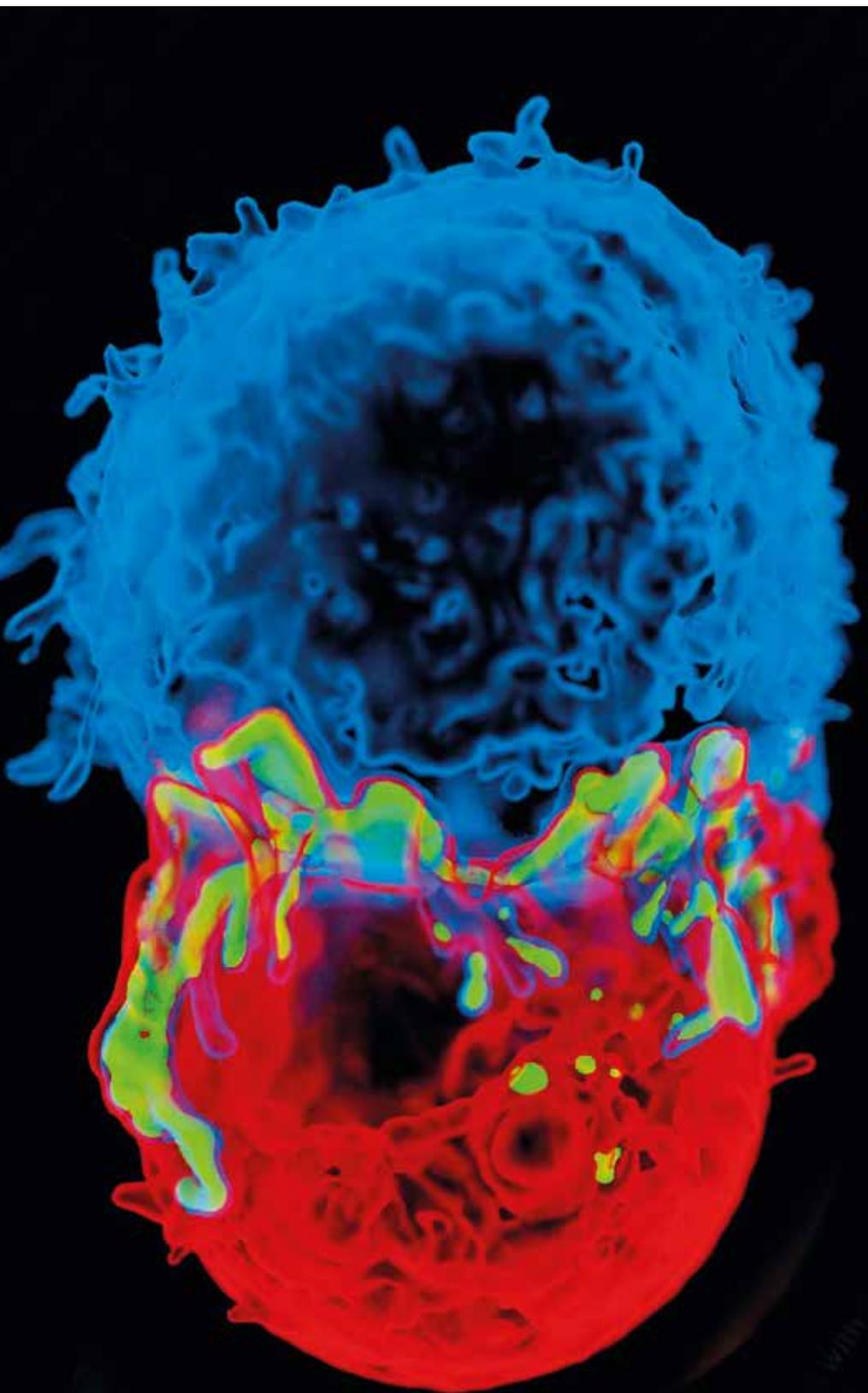
il giornale del COMITATO STEFANO VERRI

PER LO STUDIO E LA CURA DELLA LEUCEMIA ONLUS

Organizzazione iscritta al Registro Generale Regionale al n. VA-14, come da D.D. n. 3650 del 18-12-2001
Spedizione in abbonamento postale D.L. 353/2003 (conv. in L. 27/02/2004, n. 46) art.1, comma 2, DCB Varese

ANNO XII - NOVEMBRE 2018 - n. 23

COPIA OMAGGIO



Editoriale

2019: VENTI ANNI DOPO

di Giovanni Dacò

Nel 2019 Stefano ci avrà lasciati da due decenni.

Molti dei suoi amici, compreso il sottoscritto, avranno vissuto il doppio (o più) dei suoi anni. Ognuno, anche chi non gli era così vicino, chi non era della sua "classe", chi lo aveva solo incrociato a una gara di canottaggio o in una vacanza in Sardegna, avrà modo di riflettere. Non si tratta di un dovere, è piuttosto una possibilità. Di ricordare, di sorridere, di sentirsi ancora a pezzi. A una ricorrenza che, dal punto di vista emotivo, toccherà tutti nel profondo, si avvicinano già in questo numero papà Emilio con mamma Anna. Ma l'articolo di pag. 2, con il quale ci portano indietro di tanti anni non si può presentare. Non si può commentare. Non si può riassumere. Si può solo leggere e farne tesoro.

Le loro parole mi aprono però una finestra sul vasto futuro della sperimentazione dei CAR.

A questi nuovi farmaci, è dedicato questo numero speciale del Giornale e mi sento di dire.

- il farmaco che è stato studiato e inventato a Monza, autorizzato dall'AlFA e in sperimentazione sul bambino e sull'adulto in ospedale non potrebbe esistere se non ci fosse il Laboratorio di Stefano.

- il tipo di comunicazione, spesso troppo entusiastica, che la stampa e gli organi di informazione stanno riservando all'argomento è prematura. Ne parla il prof. Biondi nel pezzo di apertura (pag. 3), sottolineando un fatto fondamentale: bisogna aver fiducia nei CAR ma non dare certezza di cura troppo presto.

Oggi la sfida da affrontare, come scoprirete nelle prossime pagine, è il passaggio dalla ricerca di laboratorio alla sperimentazione sull'uomo.

E i Nostri sono in prima linea.



il giornale del
COMITATO STEFANO VERRI

per lo studio e la cura della leucemia ONLUS

Anno 12 - novembre 2018 - n. 23

Chiuso in tipografia il 26 ottobre 2018

Semestrale d'informazione

Comitato Stefano Verri
via Chiesa, 61 - 21045 Gazzada Schianno
tel. 0332-463545 - cell. 328 2158274
e.mail: comitato.stefanoverri@tin.it
www.comitatostefanoverri.it

Iscritto nel Registro Stampa
del Tribunale di Varese in data
19 luglio 2007 al n. 916

Editore: Comitato Stefano Verri

Direttore responsabile: Giovanni Dacò

Redazione: Aldo Rossi, Emilio Verri,
Giovanni Dacò

Art Director: Jon Coda

Impaginazione e stampa:
Artestampa srl, Galliate Lombardo

Tiratura: n. 5.000 copie

Copyright © 2018

Comitato Stefano Verri

Inviatiamo chi ricevesse più di una copia dello stesso numero a comunicarlo tempestivamente alla segreteria del Comitato. Con riferimento alla legge sulla tutela della privacy si informa che l'utilizzo dei dati personali ha come unico scopo quello di promuovere le iniziative del Comitato. Chi lo desiderasse può richiedere la cancellazione dei suoi dati comunicandolo alla segreteria del Comitato.

Per chi ci vuole aiutare:

Intesa Sanpaolo c/c n. 3564
IBAN: IT23 L030 6950 2601 0000 0003 564
Codice fiscale: 95044910123

In copertina

La cellula CAR, in rosso, aggredisce la cellula leucemica, in blu

Il glossario è curato da Emilio Verri

INDICE

Editoriale di Giovanni Dacò	1
2019: venti anni dopo... di Emilio Verri	2
CAR e il peso delle parole di Andrea Biondi	3
CAR: nuova frontiera di Sara Napolitano	4-5
CARCIK CD19: la storia di Chiara Magnani	6
CAR: come si fabbricano di Giuseppe Gaipa	7
CARCIK CD19: uno studio e lo sviluppo tutto di Monza di Giuseppe Dastoli	8-9
CAR: quanto costa di Martino Introna	10-11
CAR: il futuro per la leucemia mieloide acuta di Sarah Tettamanti	12
Potrò avere un figlio di Adriana Balduzzi	13
Il nuovo libro del dr. Sorriso di Momcilo Janković	14-15
Presepi di cioccolato	16
Bilancio 2017	16

Un anno speciale

2019: venti anni dopo...

Per non dimenticare

Il 5 luglio 1999 Stefano ci ha lasciati.

L'anno prossimo saranno passati venti anni. Tanti... pochi... non saprei dire. Sicuramente sono stati anni intensi, laboriosi per mantenere la promessa espressa con Stefano in camera sterile, in ospedale:

"Faremo qualcosa anche noi per aiutare chi già, oggi, aiuta chi studia e lavora per vincere la leucemia."

Questo dicevamo tra noi. Era una promessa che dovevamo mantenere insieme... invece l'abbiamo portata avanti in sua memoria.

In quei giorni mai avremmo pensato di costituire una Associazione con il suo nome perché la speranza di guarigione era forte. Stefano era nelle condizioni migliori per superare il lungo periodo, difficile, di cure. Non era debilitato dalla malattia che, anche se presente e confermata dalle analisi mensili, non era ancora emersa nelle modalità di vita. Conduceva la vita regolare di un ragazzo di 17 anni: frequentava la scuola, usciva con gli amici e faceva sport.

Fino al giorno che, a seguito di un piccolo intervento chirurgico in ospedale (varicocele), le analisi del sangue segnalavano qualcosa di non regolare. Esami seguenti, approfonditi, portarono alla diagnosi espressa con esattezza all'Ospedale di Circolo di Varese: mielodisplasia. Uguale diagnosi al Policlinico di Milano, agli Ospedali Riuniti di Bergamo, a Parigi ed a New York. Tutti confermarono la prima diagnosi. Unica cura: il trapianto di midollo osseo.

La ricerca del donatore iniziò subito e durò un anno e mezzo. E Stefano continuava la sua solita vita: scuola, amici, sport. Unica eccezione: un giorno al mese all'Ospedale Niguarda di Milano per il controllo.

Poi fu trovato il donatore compatibile e fu il ricovero; era il 22 aprile.

Non aveva preso un farmaco fino a quel giorno. Passò, di colpo, da una vita normale alla camera sterile di un reparto di ematologia. E furono radioterapia e chemioterapia in dosi massicce in pochi giorni. Poi fu il trapianto di midollo osseo. Il decorso post-trapianto iniziò bene: il midollo nuovo produceva bene, i globuli rossi crescevano, i globuli bianchi crescevano, le piastrine crescevano. Tutto andava per il meglio. Poi iniziarono le complicazioni e fu la GvHD (Graft versus Host Disease), il rigetto inverso. Stefano combattè con tutto il suo carattere e tutta la forza della sua giovinezza. E i Medici combatterono con tutto il sapere della scienza. Ma la GvHD di grado 4 prese il sopravvento.

E dopo 74 giorni dal ricovero fu il 5 luglio 1999.

Emilio con Anna



Stefano e Indi

Questo numero del nostro giornale è un numero speciale. È dedicato quasi interamente ai CAR-T. Abbiamo sacrificato le solite rubriche (compreso il racconto per i più piccoli) per dare spazio agli articoli, anche se a volte un po' lunghi (cosa che cerchiamo sempre di non fare), sullo stesso argomento. Ciò al fine di dare una informazione, il più possibile completa. Qualche articolo non è facile ma, una lettura attenta, lenta e non superficiale permette la comprensione anche a noi che non siamo medici né ricercatori

La Redazione

La terapia genica dei CAR T

CAR E IL PESO DELLE PAROLE...

Si parla molto dei nuovi farmaci immunosoppressori



C'è un aspetto della professione medica che riveste un'importanza fondamentale: la **comunicazione**. Le parole che come medici usiamo hanno un peso ben superiore al loro significato perché la percezione vive di tutta l'emotività che accompagna la condizione di sofferenza e di paura della malattia. Ciò è ancora più importante per malattie che sono gravate dall'incertezza del risultato. La diagnosi di tumore è sempre improvvisa e preceduta da sintomi e segni comuni ad altre malattie molto più frequenti e certamente meno gravi. Per questo è ancora più difficile da accettare.

"Perché il nostro bambino? È sempre stato bene...Lo abbiamo sempre seguito con attenzione!"

Non ci sono risposte a queste domande e, ancora dopo oltre trenta anni di professione, continuo a condividere tutta la fatica di un'esperienza che non ha un "perché".

"Mi sento di essere catapultato su un treno in corsa ad alta velocità senza capire la direzione!" È uno dei commenti che meglio descrive lo stato d'animo di un Genitore: cambiano la vita, gli orizzonti, le aspettative e prevale un grande senso di paura. Come si può anche solo immaginare di perdere il proprio figlio?

Il peso delle parole accompagna tutte le fasi della malattia e diventa ancora più importante quando i risultati non coincidono con le aspettative. Mi è stato ricordato di recente da una mamma con cui ho condiviso purtroppo il fallimento delle cure:

"Caro Biondi in quel momento le sue parole mi hanno tolto ogni speranza..."

Compito difficile comunicare, usare le parole giuste con l'empatia necessaria, trovare l'equilibrio tra la necessaria informazione, le aspettative e una legittima speranza che vive sempre in un Genitore. Mi sento sempre meno difeso dalla corazza del camice bianco (o verde!). Ma forse questo è già importante per dare il giusto peso alle parole...

27 agosto 2018: l'Agencia Europea del Farmaco (EMA) annuncia l'approvazione di due nuove terapie geniche basate sulla manipolazione dei linfociti che esprimono il CAR (Chimeric Antigen Receptor)

una molecola costruita artificialmente capace di riconoscere il bersaglio del tumore. Il nostro Centro di Monza è stato l'unico Centro italiano che ha partecipato allo studio di Novartis, grande multinazionale del farmaco, riservato a solo otto Centri in Europa e con il quale abbiamo trattato alcuni bambini.

Inoltre abbiamo sviluppato a Monza un CAR frutto della ricerca tutta italiana, definito **CARCIK CD19**, attualmente in fase di sperimentazione al letto del malato.

Siamo certamente di fronte ad una pagina nuova della medicina.

Le cellule di difesa del sistema immunitario vengono geneticamente rese più efficienti per uccidere la

cellula leucemica (della Leucemia Linfoblastica Acuta di tipo B) e del linfoma B (Linfoma B a grandi cellule) e diventano il farmaco unico per il paziente che non risponde più alle terapie convenzionali.

Titoli dei giornale e peso delle parole.

Non si dice che siamo solo all'inizio e che i risultati sono stati ottenuti su un numero limitatissimo di pazienti. Che la terapia è molto costosa e che quindi dobbiamo essere sicuri dell'efficacia. Che è molto rischiosa. Che i costi devono essere certamente moltiplicati per qualche numero: perché il farmaco sia efficace, i pazienti devono sottoporsi a tutta una serie di trattamenti collaterali, che sono parecchio cari.

In questa prospettiva, il nostro Centro di Monza insieme all'Ematologia dell'Ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo (unici in Italia e in Europa n.d.r.) stanno sperimentando, in clinica, un approccio innovativo ma più sostenibile (molto meno caro).

Compito difficile l'uso delle parole e dell'informazione specie quando si parla di salute e di malattie dei bambini. **Ma la responsabilità è ancora più grande!**

"Parole: così innocenti e innocue come sono, scritte sul dizionario, quanto potenti possono diventare nel bene e nel male quando sono nelle mani di chi sa come combinarle" (N.Hawthorne: scrittore statunitense).

prof. Andrea Biondi
Direttore della Clinica Pediatrica
Direttore del Centro Ricerca M. Tettamanti
Ospedale San Gerardo - Monza

A che punto è la sperimentazione in clinica sull'uomo?

CAR: CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR NUOVA FRONTIERA

La voce del reparto di cura



Da quattro anni rivesto il ruolo di medico pediatra strutturata nel gruppo trapianto di midollo osseo diretto dal dr. Attilio Rovelli nella Clinica Pediatrica del Centro Maria Letizia Verga di Monza. Oltre all'attività clinica di reparto che svolgo quotidianamente, mi occupo di terapie cellulari, in particolare seguo protocolli di ricerca e sperimentazione clinica di fase I/II di terapia genica, costante della mia formazione sin dalla scuola di specialità.

La terapia genica costituisce ormai, nell'ultimo ventennio, la nuova frontiera della ricerca scientifica medica in ambito oncologico (leucemie, linfomi, melanomi, ecc.) e non oncologico (es. malattie monogeniche congenite quali talassemie o immunodeficienze primarie, infarto miocardico acuto, malattie neurodegenerative ecc.).

Questo tipo di trattamento è innovativo in quanto, mediante **tecniche di ingegnerizzazione** cellulare in vitro, **un singolo gene** (costituito da DNA o RNA) **viene inserito nel nucleo di una cellula** ed è quindi successivamente espresso dalla cellula stessa in vivo, al fine di svolgere una definita funzione biologica. Il gene viene condotto nel nucleo tramite dei "vettori", dei veri e propri "trasportatori", che possono essere rappresentati da **1) virus**, privati naturalmente della loro patogenicità e dei quali nello stesso tempo si sfrutta la capacità "infettante" o da **2) altri elementi non virali**, ad esempio **i trasposoni** (parti di genoma la cui caratteristica intrinseca è quella di muoversi all'interno del genoma stesso).

Il trattamento con i CAR per leucemie e linfomi prevede l'utilizzo di linfociti prelevati dal paziente stes-

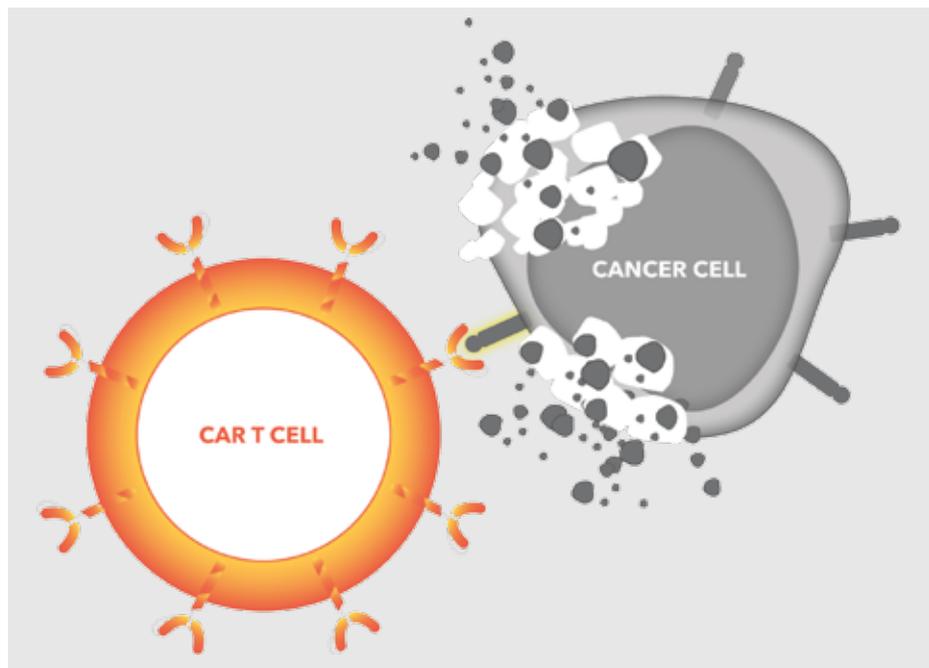
so (linfociti **autologhi**) o dal donatore di cellule staminali ematopoietiche (CSE), (linfociti **allogenici**) in caso di **soggetti sottoposti a trapianto (TCSE)**. Il gene integrato nel nucleo dei linfociti permette a questi ultimi di "armarsi", cioè esprimere sulla propria membrana cellulare un recettore che va a riconoscere selettivamente un antigene che identifica i blasti leucemici. Il linfocita manipolato, cioè armato di questo recettore CAR che si lega all'antigene, attacca così la cellula leucemica e ne provoca l'apoptosi, la morte cellulare.

Nella nostra Clinica Pediatrica sono attualmente aperti due protocolli di terapia genica per casi selezionati di **Leucemia Linfoblastica Acuta di tipo B (LLA-B) chemiorefrattaria o recidivata post-TCSE**. In entrambi i casi, il bersaglio delle cellule CAR è rappresentato dai blasti leucemici che esprimono l'antigene CD19.

Il **primo studio**, sponsorizzato dalla ditta farmaceutica Novartis, è condotto in tutto il mondo. In Italia il nostro centro è stato selezionato per la popolazione pediatrica e vede come sperimentatore principale la dr.ssa Adriana Balduzzi. I pazienti sottoposti a questo trattamento ricevono **linfociti autologhi** prelevati attraverso una procedura aferetica e poi ingegnerizzati in vitro con i CAR mediante metodo virale (identificati dalla sigla CTL019).

Il **secondo studio** è totalmente di Monza, frutto degli studi dei ricercatori del nostro Centro di Ricerca Matilde Tettamanti con l'indispensabile supporto e collaborazione del Laboratorio Stefano Verri per la produzione.

I pazienti sottoposti a questo trattamento ricevono linfociti allogenici prelevati da 50 ml di sangue periferico del donatore di cellule staminali ematopoietiche e poi ingegnerizzati



La cellula arancione è la cellula CAR armata con recettori che riconoscono e si legano agli antigeni espressi sulla cellula tumorale (cellula grigia) che quindi viene progressivamente "uccisa" e rilascia il contenuto all'esterno (citochine che poi vanno a scatenare la sindrome da rilascio citochinico di cui si parla nell'articolo)

in vitro con i CAR mediante metodo **non** virale (identificati dalla sigla **CARCIK CD19**).

Esso è condotto, per la prima volta, al mondo nella nostra clinica pediatrica di Monza e nel centro di Ematologia dell'Ospedale Papa Giovanni XXXIII di Bergamo.

A capo della sperimentazione sono, per i bambini, il prof. Andrea Biondi a Monza e, per gli adulti, il prof. Alessandro Rambaldi a Bergamo. In questo secondo studio tutti i pazienti trattati **presentano una recidiva** di LLA-B post-TCSE. Il metodo di ingegnerizzazione cellulare è di tipo non virale in quanto prevede l'uso di trasposoni: il nostro Laboratorio di Terapia Cellulare e Genica Stefano Verri dell'Ospedale San Gerardo si occupa di produrre questo farmaco cellulare (identificato dalla sigla **CARCIK CD19**).

Nel mondo, numerosi pazienti adulti e pediatrici sono stati sottoposti a terapia con i CAR (in particolare i CTL019).

Il primo campo di approfondimento è sicuramente rappresentato **dallo studio delle complicanze** osservate: la più frequente (si verifica infatti nell'77% dei casi) è costituita dalla Sindrome da Rilascio Citochinico (CRS), una reazione infiammatoria sistemica, scatenata dalla lisi, cioè dalla distruzione cellulare del blasto attaccato dai CAR. Per essa esistono già in commercio dei farmaci immunomodulatori specifici (es. tocilizumab) e altri sono tuttora in fase di studio. È stato osservato che una maggiore quota di blasti presente al momento dell'infusione delle cellule CAR è associata ad un **incremento del rischio** di sviluppare conseguente CRS.

Dagli studi pre-clinici condotti dai nostri Ricercatori il rischio sembrerebbe maggiore con le cellule CTL019 rispetto alle CARCIK, ma il numero di pazienti trattati finora con quest'ultimo prodotto è ancora troppo basso per essere statisticamente significativo.

Un altro fattore fondamentale per l'avanzamento di queste terapie (in fase I/II di sperimentazione sull'uomo in ospedale) sarà la stima dell'**efficacia** e conseguentemente

dr.ssa Sara Napolitano

Nata a Monza il 9 giugno 1983. Laureata in Medicina e Chirurgia nel 2008 con lode e menzione d'onore presso l'Università Vita-Salute San Raffaele di Milano. Specializzazione in Pediatria e Neonatologia nel 2014 presso l'Università Vita-Salute San Raffaele di Milano. Dal 2006 al 2014 pratica clinica e collaborazioni presso IRCCS San Raffaele-Milano in Immunoematologia e Trapianto di Midollo Osseo. Dal 2015 ad oggi medico strutturato in reparto di Ematologia Pediatrica e Trapianto di Midollo Osseo e attività di ricerca presso Centro Maria Letizia Verga – Fondazione MBBM – Ospedale San Gerardo di Monza.

l'ottimizzazione del beneficio che ne deriva. Finora la percentuale di successo stimato (remissione completa di malattia a 3 mesi dall'infusione) si attesta su 81%. Questa percentuale, altamente favorevole e che rende ottimista tutto il mondo scientifico, è ricavata da una popolazione di n. 75 pazienti trattati nel mondo con CTL019. I primi dati sono stati pubblicati sulla rivista scientifica "New England Journal of Medicine" a febbraio 2018 e vede tra gli autori anche la nostra dr.ssa A. Balduzzi. Altri fattori oggetto di valutazione sono, in questo momento, **la dose** di prodotto cellulare maggiormente efficace, **la fase** di malattia in cui applicare il trattamento e il possibile utilizzo della terapia con i CAR preliminarmente al trapianto di CSE o come **ponte** allo stesso. Naturalmente deve aumentare il tempo di follow-up (cioè **i mesi di osservazione** dalla prima infusione avvenuta) per valutare la persistenza delle cellule in circolo e sarà necessario anche studiare il verificarsi di

possibili fenomeni di "immune-escape" (cioè la potenziale capacità delle cellule leucemiche di nascondere il bersaglio dei recettori CAR).

Altri studi clinici che prevedono l'utilizzo di CAR per leucemie e linfomi sono in fase di valutazione e di futura apertura presso la nostra clinica pediatrica.

Concludo quest'articolo sottolineando che ogni protocollo di ricerca clinica si basa su un'**impalcatura organizzativa molto complessa**, che prevede il coinvolgimento, oltre che del personale medico ed infermieristico di reparto della nostra unità di Ematologia Pediatrica, anche di altre numerose unità ospedaliere e di tutti gli operatori che ne fanno parte. Cito i responsabili di ogni unità: l'Unità di Aferesi diretta dal dr. Paolo Perseghin e l'Unità di Rianimazione con dr. Rona e dr.ssa Benini, le unità di laboratorio Laboratorio Matilde Tettamanti diretto dal dr. Gianni Cazzaniga e Laboratorio Stefano Verri diretto dal dr. Giuseppe Gaipa, le unità amministrative Ufficio Ricerche Cliniche tra cui dr. Giuseppe Dastoli e dr.ssa Marrocco. La collaborazione tra tutte queste figure professionali è massima, preziosa e indispensabile per procedure così complesse.

È per me un privilegio e un onore poter contribuire alla gestione e all'avanzamento di questo innovativo ambito di ricerca sulle terapie cellulari innovative in modo da poter, auspicabilmente, aumentarne la conoscenza e continuare a combattere leucemie e linfomi per guarire un bambino in più.

Sara Napolitano

Glossario

DNA: acido desossiribonucleico depositario dei caratteri ereditari

RNA: acido ribonucleico

trasposoni: parte di genoma

genoma: patrimonio ereditario

antigene: sostanza proteica che può essere riconosciuta da recettori o anticorpi

linfociti autologhi: globuli bianchi del paziente

blasti: cellule ammalate

aferetica: separazione delle componenti del sangue

recidiva: ritorno di malattia

La prima terapia genica in Europa è stata sviluppata a Monza

CARCIK CD19: LA STORIA RACCONTATA DA UNA PROTAGONISTA

Un metodo non-virale che utilizza le cellule sane del donatore



Il 2018 è, per Europa, l'anno di svolta nella lotta ai tumori mediante un nuovo metodo di cura chiamata **CAR T**, acronimo che sta per **Chimeric Antigen Receptor T-cell** o anche **immunoterapia mediante recettori chimerici**. La terapia CAR T consiste nel prelievo di cellule del sistema immunitario (in particolare dei **linfociti T**) e modifica genetica **utilizzando virus** in grado di dotarli di recettori chimerici affinché riconoscano e attacchino le cellule tumorali. Una volta modificate e replicate all'interno di officine cellulari GMP, le cellule vengono infuse nuovamente nel paziente stesso.

A Monza da molti anni il Centro di Ricerca della Fondazione Tettamanti ha iniziato a sviluppare questa tipologia di immunoterapia nell'ambito del laboratorio di terapia molecolare coordinato dal dr. Ettore Biagi ma con un metodo diverso: **non virale**. L'attuale processo di produzione è molto complesso, costoso e 'su misura' per ogni paziente e la cura può essere applicata solo in Centri ospedalieri altamente specializzati.

In questo scenario internazionale, uno dei team di ricercatori del Centro di Ricerca Tettamanti, coordinato dalla sottoscritta e dal direttore scientifico prof. Andrea Biondi ha sviluppato un progetto di immunoterapia CAR T, innovativo e più semplificato, denominato **CARCIK CD19** che **si differenzia nettamente** dagli altri CAR T **per l'utilizzo di un approccio non-virale** di cellule CIK T **allogeniche** (da donatore). Ciò potrebbe **incrementare l'applicabilità** di tale approccio terapeutico, **contenendone i costi** e la **complessità della produzione**. Le CARCIK non derivano dai linfociti del paziente, ma sono derivate dai **linfociti di donatori sani** e replicate in

modo che **non causino la malattia del trapianto contro ospite GVDH** (Graft versus Host Disease). Una complicazione grave nella quale le cellule del donatore reagiscono contro tutto ciò che sembra estraneo, compresi gli organi e i tessuti del paziente stesso (rigetto inverso *n.d.r.*). La nostra cura utilizza la tecnologia dei **trasposoni Sleeping Beauty** (SB), molecole di DNA che ci permettono di **attuare la modifica genetica senza utilizzare metodi virali**, cambiamo la genetica delle cellule del donatore sano in modo che attacchino il tumore e attraverso il protocollo CIK evitiamo che attacchino le cellule del paziente (vedi anche art. di pagg. 4-5 *n.d.r.*).

Dopo un **grande investimento nella ricerca preclinica**, iniziato nei primi anni 2000 (questa rivista ha pubblicato sul n. 1 del 2007 il primo articolo a firma dr. Ettore Biagi ma già nel 2004 un articolo del prof. A. Biondi ne parlava sul nostro notiziario *n.d.r.*) e nelle **attività di sviluppo** (vedi pag. 8-9), iniziata nell'anno 2015 coordinata dal dr. Giuseppe Dastoli, abbiamo avviato la produzione delle CARCIK CD19 nell'ambito dell'officina GMP cellulare e genica "Stefano Verri" con lo sforzo del team diretto dal dr. Giuseppe Gaipa con l'obiettivo di avviare il primo studio clinico nell'uomo. L'approvazione di AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) è giunta il 16 agosto 2017. In autunno 2017 è stato avviato **lo studio clinico sperimentale sull'uomo** di fase I/II. Esso si svolge all'Ospedale San Gerardo di Monza - Centro Maria Letizia Verga, per i bambini, sotto la direzione del prof. Andrea Biondi e all'ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo, sotto la direzione del prof. Alessandro Rambaldi per gli adulti. Siamo ancora all'inizio. Abbiamo appena trattato i primi pazienti e stiamo monitorando i risultati con l'aiuto dell'equipe di ricercatori del dr. Gianni Cazzaniga del Centro di Ricerca Tettamanti.

La terapia cellulare CARCIK ha come principale applicazione quella classe di patologie tumorali severe che **non rispondono più alle terapie convenzionali** (o dopo trapianto di midollo osseo), per i quali ancora non è disponibile un trattamento efficace e sicuro. La speranza, se la terapia cellulare CARCIK si confermerà efficace e sicura, è che, **con le cellule sane del donatore**, si potranno ottenere risultati terapeutici migliori rispetto a quelli ottenibili **con le cellule T compromesse del paziente**.

Chiara Magnani

dr.ssa Chiara Magnani

Chiara F. Magnani è nata a Milano nel 1979 e si è laureata in Biotecnologie, PhD in "Medicina molecolare e traslazionale" presso l'università di Milano-Bicocca nel 2004. Ha lavorato dal 2005 al 2011 a Milano, presso l'Istituto San Raffaele-Telethon per la terapia genica (TIGET). Nel 2012 inizia al Centro di Ricerca Tettamanti sotto la direzione del prof. A. Biondi e del prof. E. Biagi, con l'obiettivo di sviluppare un approccio non-virale di terapia genica per la leucemia acuta. Attualmente è ricercatore al Centro di Ricerca Tettamanti, responsabile scientifico del programma di immunoterapia CARCIK CD19 e ricercatore in visita all'UniversitätsSpital Zürich (Svizzera) per un periodo di perfezionamento e collaborazione all'estero. Ha vinto premi di ricerca nazionali e internazionali. È autore di n. 17 lavori pubblicati su riviste internazionali. È mamma di due bambini.

CAR: COME SI FABBRICANO LE CELLULE INTELLIGENTI

Quelle di Monza si chiamano CARCIK CD 19

La terapia molecolare-genica o immunoterapia è una innovativa frontiera terapeutica che fonda le sue basi su studi riguardanti il comportamento delle cellule tumorali nei confronti delle difese immunitarie del paziente. È stato infatti osservato che la leucemia attua numerose **strategie per eludere** il sistema immunitario impedendo così una risposta antitumorale adeguata.

Per combattere questo spietato nemico abbiamo quindi bisogno di cellule potenti che si attivino agendo come “radar” in grado di **colpire selettivamente** le cellule leucemiche; cellule, cioè, fornite di una sorta di “**intelligenza artificiale**”.

Stiamo parlando dei linfociti T, normalmente presenti nel sangue, modificate geneticamente per esprimere sulla loro superficie delle molecole artificiali chiamate CAR T.

La preparazione di queste cellule in quantità sufficiente per trattare un paziente, garantendo allo stesso tempo una qualità farmaceutica, può essere fatta solo in una officina farmaceutica **specificatamente costruita secondo le norme GMP ed autorizzata da AIFA**, come è il nostro Laboratorio di Terapia Cellulare e Genica Stefano Verri diretto dal dr. Giuseppe Gaipa.

Per cominciare la produzione di un lotto di cellule CAR abbiamo bisogno di soli 50 ml di sangue periferico di un donatore (**lo stesso da cui il paziente ha già ricevuto le cellule utilizzate** per il precedente trapianto di midollo).

Partendo da questo materiale andremo innanzitutto a separare le cellule mononucleate (linfociti e monociti) dal resto delle cellule mediante una semplice **centrifugazione**.

Quindi procederemo con la **modificazione genetica** vera e propria dei linfociti utilizzando un metodo **non virale** (cioè senza l'utilizzo di virus per inserire il nuovo gene nella cel-

lula). Questa procedura prevede l'utilizzo di un dispositivo chiamato **Nucleofector** (vedi art. pag. 7-8, n. 15, del novembre 2014 *n.d.r.*) che, attraverso delle scariche elettriche, crea dei pori temporanei sulla membrana cellulare, permettendo così l'ingresso, per diffusione, del **frammento di DNA** necessario per la modificazione genica.

Una volta entrato nella cellula questo frammento di DNA verrà integrato nel DNA della cellula del linfocito T e “tradotto” per **produrre il recettore chimerico** che poi sarà esposto sulla membrana cellulare.

Abbiamo così generato le CARCIK CD 19.

Una volta modificate geneticamente le cellule **verranno selezionate ed espanse** (aumentate di numero per raggiungere il quantitativo necessario, proporzionale al peso corporeo del paziente), utilizzando uno specifico terreno di coltura contenente un cocktail di sostanze (citochine) che favoriscono la proliferazione (aumento del numero) delle cellule geneticamente modificate.

Durante tutto il processo produttivo, che **dura 20-30 giorni**, le cellule vengono costantemente valutate per **verificare il loro numero, la loro vitalità e la loro identità** (cioè se sono proprio le cellule che abbiamo modificato).

Al termine della produzione, ogni lotto viene controllato per **verificare che sia “sicuro”** per la somministrazione al paziente cioè **sia sterile** (privo di contaminazione batterica e fungina) e **privo di micoplasmidi ed endotossine**, il tutto nel rispetto della Farmacopea Europea.

Inoltre **si verifica l'attività funzionale** delle cellule CAR eseguendo un saggio di citotossicità cioè andando a verificare che le cellule geneticamente modificate siano effettivamente in grado di uccidere le cellule leucemiche. A questo scopo

utilizziamo cellule di linee cellulari che **simulano il bersaglio biologico, cioè la leucemia**.

Una volta eseguiti questi controlli si può procedere al confezionamento finale del nostro farmaco cellulare, al suo congelamento e conservazione in appositi contenitori, in azoto liquido, a -196 °C, fino al momento dell'utilizzo clinico, quando verrà scongelato e somministrato al paziente.

Fabbricare le cellule CAR è un procedimento complesso e laborioso: tutte le fasi della lavorazione devono essere costantemente controllate e documentate, e tutto deve essere tracciato in modo chiaro e puntuale; in altre parole bisogna sempre lavorare rispettando le severe norme di fabbricazione GMP per garantire al paziente i massimi livelli di qualità e sicurezza.

Speriamo (ma l'ottimismo è di tutti) che questa prima fase di sperimentazione clinica fornisca risultati convincenti e che in un prossimo futuro la produzione dei CAR diventi un trattamento standard con il quale poter sconfiggere definitivamente la leucemia.

*dr.ssa Daniela Belotti,
responsabile di Produzione*

*dr.ssa Benedetta Cabiati,
responsabile di Controllo Qualità*

*tec. Giada Matera, operatore di produzione
Laboratorio Stefano Verri
ASST MONZA Ospedale S. Gerardo*

Glossario

Cellule linfocitarie: tipologia di globuli bianchi

T: cellule linfocitarie di tipo T

Micoplasmidi: particolari batteri che se infettano l'uomo possono causare patologie localizzate all'apparato respiratorio o genitale

Endotossine: sono sostanze rilasciate da alcuni tipi di batteri; nell'uomo hanno un grave effetto patologico provocando danni d'organo, emorragie, febbre alta e shock.

Lo sviluppo di un nuovo farmaco dopo la ricerca di base

CARCIK CD19: LO SVILUPPO DI UN FARMACO

I CAR T di Monza si chiamano CARCIK CD 19



Lo sviluppo di un nuovo farmaco passa attraverso un percorso complesso e lungo in genere numerosi anni, che inizia dalla individuazione di un

cosiddetto "unmet medical needs", cioè dal bisogno di dare risposte terapeutiche efficaci a condizioni cliniche al momento prive di cura.

Dal momento in cui i ricercatori ritengono di aver identificato una nuova molecola di sintesi chimica o di origine biologica, che abbia le caratteristiche idonee per poter contrastare e colpire il target che causa la malattia, può essere presa la decisione di portare tale molecola, "candidata" a diventare un farmaco, verso lo sviluppo completo.

Tale decisione implica anche la consapevolezza delle risorse qualitative e quantitative (costi) necessarie a perseguire i risultati auspicati.

Un nuovo prodotto (farmaco) nasce dall'interazione e dalla forte sinergia tra i Ricercatori e coloro che operano nello Sviluppo (non a caso si parla di **Ricerca e Sviluppo**), dove questi ultimi hanno il compito di accompagnare il potenziale farmaco

Ufficialmente è apparsa ad agosto la notizia dell'approvazione da parte della Commissione Ue di Tisagenlecleucel, di Novartis, la prima terapia CAR T che prevede l'uso delle cellule del paziente modificate con metodi virali, per due neoplasie, la leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B nei pazienti pediatrici e fino ai 25 anni di età e il linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL) negli adulti. A questa notizia, si affianca l'approvazione da parte della Commissione Europea anche di un'altra terapia CAR T, il Axicabtagene ciloleucel di Gilead, come trattamento di pazienti adulti con linfoma diffuso a grandi cellule B (DLBCL, diffuse large B cell lymphoma) e con linfoma primitivo del mediastino a grandi cellule B (PMBCL, primary mediastinal B-cell lymphoma). C.M.

scoperto dagli scienziati, sia fornendo indicazioni rispetto ai test da effettuare in accordo alle linee guida internazionali, sia attraverso fasi di verifica e di confronto con il **mondo Regolatorio** (ISS - Istituto Superiore della Sanità, AIFA - Agenzia Italiana del Farmaco, EMA - Agenzia Europea del Farmaco, ecc.), sia producendo tutta la documentazione necessaria ad ottenere la successiva approvazione per poter sperimentare il prodotto sull'uomo.

L'obiettivo principale di tale fase di sviluppo, oltre a confermare che il prodotto in studio è potenzialmente attivo verso il trattamento della malattia specifica, è quello di fornire sufficienti garanzie, innanzitutto ai pazienti che verranno inizialmente

trattati, che sono stati effettuati tutti i test necessari, al meglio delle conoscenze attuali sul nuovo farmaco, **per minimizzare il rischio di possibili effetti collaterali gravi nel corso della somministrazione per la prima volta nell'essere umano.**

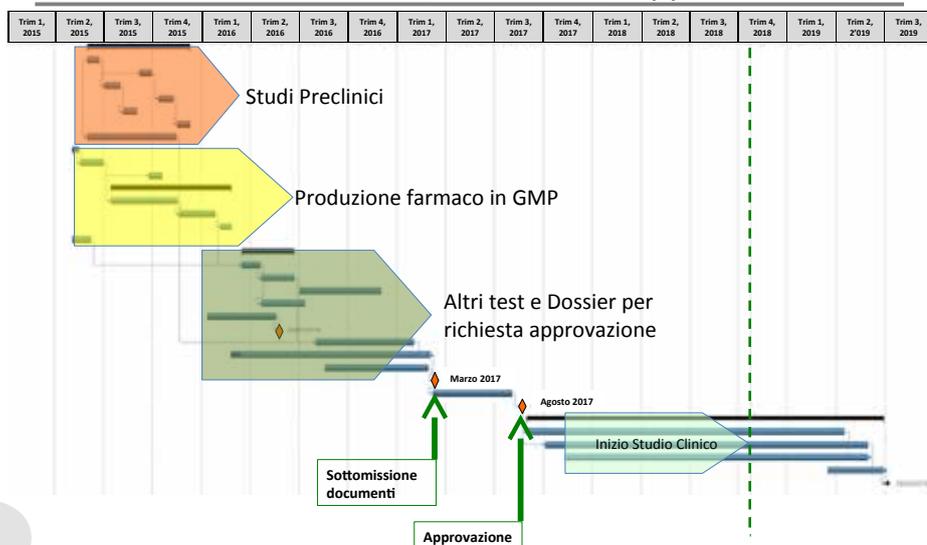
Una delle precauzioni adottate è quella di iniziare le prime somministrazioni a dosi inferiori e di salire gradualmente fino al raggiungimento della dose ottimale.

Anche il **CARCIK CD19, frutto esclusivo delle ricercatrici e dei ricercatori del Centro di Ricerca della Fondazione Matilde Tettamanti di Monza**, ha seguito un iter analogo di sviluppo, prima di poter essere somministrato nei primi pazienti.

La **messa a punto** della "molecola candidata" allo sviluppo, è stato il primo atto dei nostri ricercatori della Fondazione Tettamanti, che hanno messo in campo le competenze di biologia, genetica molecolare e immunologia che hanno consentito **"l'ingegnerizzazione"** dei linfociti T utilizzati per colpire in maniera diretta le cellule tumorali dei pazienti affetti da Leucemia Linfoblastica Acuta.

Il passo successivo è stato quello di dimostrare, preliminarmente in laboratorio, la necessaria **attività e sicurezza** "in vitro" e "in vivo" e parallelamente produrre il farmaco in quantità necessarie ad effettuare le sperimentazioni pre-cliniche e secondo un metodo che fosse **riprodu-**

CARCIK CD19: Piano di sviluppo



cibile anche su “larga scala” e che tale produzione **fosse possibile trasferirla** anche presso la GMP Stefano Verri, indispensabile per una **produzione di farmaco secondo standard di qualità analoghi a quelli di tipo industriale**, che consentissero l'utilizzo del prodotto in clinica.

Indispensabile inoltre la produzione di tutta la **documentazione** ai fini “regolatori” che rappresenta una vera e propria “valanga” di documenti che raccolgono il rationale, la letteratura scientifica di riferimento e gli obiettivi della nostra ricerca, tutti i risultati sperimentali e la metodologia dei test effettuati, con la conseguente produzione di Protocollo, Investigator Brochure (che contiene le informazioni necessarie per il clinico che deve utilizzare il farmaco) e il cosiddetto IMPD (Investigational Medicinal Product Dossier), che rappresentano i documenti principali da sottoporre per approvazione alle Autorità Competenti: Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) e Comitati Etici.

Importante infine anche il contributo del nostro Ufficio Sperimentazione Clinica della Fondazione MBBM che ha supportato tutte le fasi di sottomissione della documentazione agli enti preposti all'approvazione Etica e Amministrativa della sperimentazione.

Lo studio con CARCIK CD19, che è stato approvato dall'AIFA in agosto 2017, è stato attivato nell'autunno

2017, previo parere positivo dei rispettivi Comitati Etici, sia a Monza presso la Fondazione MBBM – Centro Maria Letizia Verga, per il trattamento dei soggetti in età pediatrica, sia a Bergamo presso l'Ospedale Papa Giovanni XIII, per i pazienti adulti. Per entrambi gli ospedali, la produzione del CARCIK CD19 è realizzata presso l'officina farmaceutica GMP Stefano Verri di Monza.

Complessivamente l'iter di sviluppo e autorizzazione alla sperimentazione clinica del CARCIK CD19 ha richiesto circa due anni, con dei tempi “brevi” che sono tipici più di un gruppo industriale che di un'entità accademica come la nostra (vedi figura).

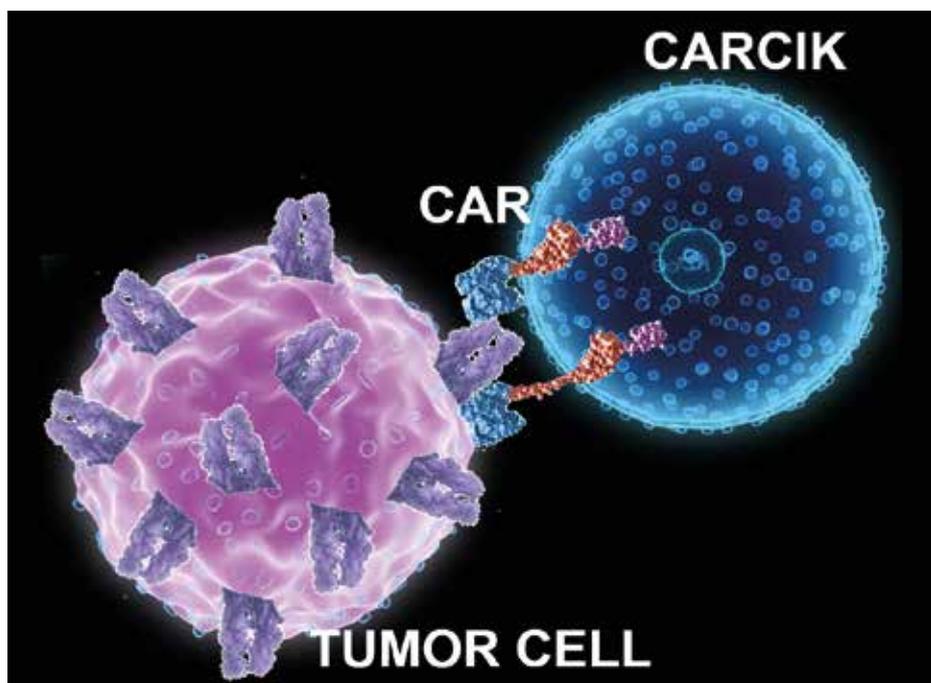
Questo è un buon inizio.

Adesso che **è iniziata la sperimentazione sull'uomo**, (ci troviamo in clinica) è iniziata una fase di grande interesse e di aspettative, durante la quale sarà essenziale studiare e monitorare a fondo gli effetti biologici e clinici del nostro farmaco, con l'intento di identificare nei prossimi mesi la dose ottimale in grado di ottenere un rapporto favorevole tra l'efficacia e gli eventuali effetti collaterali. Tali risultati preliminari aiuteranno i ricercatori a definire la strategia per l'ulteriore sviluppo del prodotto. La sinergia tra Clinici e Ricercatori è importantissima per ottenere il massimo beneficio possibile per i nostri pazienti e arrivare a guarire un bambino in più.

Giuseppe Dastoli

dr. Giuseppe Dastoli

Nato nel 1958, Laureato in Medicina e Specializzato in Ematologia Clinica e Laboratorio presso l'Università di Pisa. Dal 1984 al 1989 borsista presso il Dipartimento di Ematologia dell'Ospedale Universitario di Pisa. Nel 1990 entra nell'Industria Farmaceutica Roche a Milano e nel 1998 diviene responsabile dell'Area Oncologia ed Ematologia. Nel 2001 viene nominato Marketing Manager Oncology in Bristol Myers-Squibb. Nel 2004 partecipa alla fase di start-up in Europa di un'azienda americana con responsabilità di vendite, sviluppo clinico in Europa, per il primo prodotto cellulare registrato per il trattamento della leucemia linfoblastica acuta. Nel 2005 ha fondato una società di servizi per lo sviluppo di farmaci pre-clinici e clinici per piccole Biotech o Istituzioni Accademiche. Dal 2015 coordina lo sviluppo della piattaforma CAR-CIK generata presso il Centro di Ricerca della Fondazione Tettamanti di Monza. Da marzo 2017 è responsabile della Clinical Trial Unit e Unità di Fase I della Fondazione MBBM – Centro Maria Letizia Verga di Monza.



Glossario

ingegnerizzazione: capacità di isolare o sintetizzare materiale genetico

linfociti T: cellule specializzate nella difesa immunitaria

pre-cliniche: di laboratorio

GMP: Good Manufacturing Practices (buone norme per la produzione dei farmaci), norme internazionali molto restrittive per escludere il rischio di contaminazioni

GMP Stefano Verri: Laboratorio di Terapia Cellulare e Genica Stefano Verri che opera nel rispetto delle norme GMP

Le riflessioni di un protagonista

CAR - TERAPIA GENICA: QUANTO COSTA?

Il Servizio Sanitario Nazionale sarà in grado di sostenerne le spese?



Nelle vesti di medico/ricercatore impegnato ormai da molti anni alla "traduzione" clinica dei dati della ricerca scientifica di base, non posso che testimoniare la straordinaria pletora di nuovi farmaci biologici (di moda dire individuali, personalizzati, targettati) di cui si reclamizza la non tossicità, la sicura efficacia, la facilità di uso e gestione, la coerenza con le premesse sperimentali e le risultanze cliniche: nuovi anticorpi monoclonali di crescente complessità, la possibilità di "risvegliare" il sistema immunologico del paziente oncologico riattivando in modo efficace quanto, negli anni di malattia, era andato "soppresso/inibito" da parte del tumore, nuovi antitumorali ad attività puntiforme sulle singole lesioni delle singole molecole danneggiate nel corso dello sviluppo delle neoplasie, nuove strategie di immunoterapia a base di cellule e/o di vaccini, etc. etc.

In una di queste prospettive va collocata la **terapia genica a base di molecole CAR** (Chimeric Antigen Receptor) **che vengono introdotte nei linfociti T del donatore (o dello stesso paziente)** e che sta dando risultati insperati e, a volte, francamente sorprendenti e che è oggetto di altri articoli in questo e lo è stata in precedenti numeri di questa rivista. Nella stragrande parte dei casi queste terapie sono state finora studiate contro leucemie/linfomi. Da pochi anni si è aperta una vera e propria competizione tra centri accademici e realtà farmaceutiche industriali di tutte le dimensioni, alla ricerca del farmaco più efficace: stiamo parlando di un "farmaco" molto particolare perché le cellule raccolte dal sangue dell'ammalato o di un donatore sano devono essere geneticamente modificate mediante la

introduzione perenne di un gene in più, nel loro DNA, che sia capace di **renderle efficaci nel riconoscere ed uccidere** le cellule tumorali di leucemia e/o di linfomi.

Quindi il farmaco **"si costruisce"** prelevando le cellule, inviandole in strutture altamente specializzate (denominate GMP) per la manipolazione genetica e riportandole, poi, al letto dell'ammalato per la somministrazione. **Ciò può avvenire solo in Centri di cura molto attrezzati e specializzati per la gestione clinica di queste complesse situazioni.**

Da ricercatore/responsabile di uno dei pochissimi centri italiani "autorizzati a sognare" di poter fare tutto questo, sono affascinato da questa nuova possibilità che oggi ci offre la scienza, ma **vedo anche la estrema difficoltà** del "nuovo" ostacolo che di necessità le Autorità Competenti e le Normative Italiane ed Europee ci imporranno per questi nuovi requisiti ora necessari al raggiungimento di questa possibilità.

È certo gratificante sapere di poter partecipare a questo campionato di serie A (anzi forse di Champions League) avendo una struttura che "può scendere in campo".

Come cittadino, però, sento anche la necessità etica di chiedermi come faremo a sostenere i costi di questa ennesima impresa scientifica per la salute pubblica. Colgo pertanto questa occasione per riferirvi di un caso specifico portato all'attenzione di tutti sulla stampa mondiale.

Nel Regno Unito esiste l'Istituto Nazionale per la Salute e l'Eccellenza della Cura (NICE) che ha il compito formale di decidere cosa può essere "acquistato" dal sistema pubblico e cosa no, rispetto alle offerte del mercato.

Dunque tra luglio e settembre 2018 ci arrivano queste notizie.

1) la terapia genica mediante CAR di nome Yescarta, prodotta dalla ditta Gilead Sciences/Kite Pharma, con la specifica applicazione nel campo dei linfomi non Hodgkin (tipicamente malattie dell'**adulto**) e che costa **373.000 dollari** per ogni trattamento negli USA, **è stata respinta** dalla commissione. Cioè il Regno Unito non comprerà questo farmaco per i suoi pazienti (e quindi gli adulti inglesi non potranno riceverlo). La motivazione: **il costo è esorbitante** e troppo alto per il Paese.



Il laboratorio Gilberto Lanzani di Bergamo: contenitori di azoto liquido -196 °C

2) più recentemente, la stessa commissione **ha accettato di pagare** lo stesso tipo di terapia (di nome Kymriah) proposto dalla ditta Novartis, con la specifica applicazione nel campo delle leucemie acute linfoblastiche (tipicamente malattie del **bambino**) e che costa **282.000 dollari** per trattamento. La principale motivazione, per quanto noto fin qui, per questa differenza sta nella relativa rarità delle leucemie linfoblastiche del bambino a fronte della grande numerosità dei linfomi dell'adulto (e quindi i bambini inglesi potranno riceverla).

Una prima riflessione è che l'Europa ha mantenuto molte centralizzazioni in termini di diffusione a tutti i Paesi dei farmaci approvati dal suo ente centrale (l'EMA attualmente a Londra, ma in via di traslocare), ma ha mantenuto la "nazionalizzazione" delle trattative per i prezzi e l'acquisto dei singoli farmaci. In Italia noi aggiungiamo il livello addirittura Regionale di queste trattative.

La seconda riflessione è che indubbiamente questa nuova opzione terapeutica potrebbe costare "meno", se offerta a livello accademico (per esempio dal Labora-

torio Stefano Verri di Monza o dal Laboratorio Gilberto Lanzani di Bergamo). Certamente questo tema caldissimo (e che ci vede coinvolti quotidianamente in prima persona) dovrà essere molto discusso per verificare tutta la fattibilità, le implicazioni e le difficoltà della situazione.

La terza riflessione è che questa voce, per quanto esorbitante, non è che una tra le opzioni di cura sul campo oggi, come dicevo nella introduzione e, complessivamente, il costo dei farmaci e/o della gestione degli ospedali non fa che crescere esponenzialmente di anno in anno.

Per concludere, mi chiedo: quale livello di discussione pubblica, serena, approfondita, meditata e onesta, trasparente abbiamo sentito sull'argomento? Quanto ci costa e ci costerà la "sanità"? Che sistema dovremo, di necessità, adottare per continuare a essere "sanità pubblica" per tutti e dare il meglio a tutti? e/o non dovremo perseguire altre strade, per esempio quelle scelte dal Regno Unito di trattare una patologia rara e non trattare una patologia diffusa?

Ricordo che in paesi con forti sistemi assicurativi privati il "livello" di

dr. Martino Introna

Nato nel 1955.

Laureato nel 1980 in Medicina e Chirurgia e specializzazione nel 1984 in Immunologia e Allergologia. Professore ordinario in Patologia Generale nel 2012. Tutor dal 2007 e docente dal 2017 presso Università Milano Bicocca.

Dirige dal 2003 il Laboratorio di Terapia Cellulare Gilberto Lanzani dell'ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo. È autore di oltre 200 pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali e internazionali.

Il curriculum più esteso è stato pubblicato sul n. 18 del febbraio 2016.

terapia possibile è commisurato col livello del costo delle assicurazioni di ciascuno e per quelli che si affidano alla sola Salute Pubblica vi sono criteri diversi e di diverso costo (molto minore).

Credo (ma è una affermazione molto superficiale perché io stesso qui dichiaro pubblicamente di non essere a sufficienza informato) che noi siamo orgogliosi di poter per ora offrire a tutti, su tutto il territorio nazionale, il meglio possibile di tutto.

Ma mi chiedo ancora: potremo ancora farlo per molto? E, soprattutto, quando ne parleremo con dignità per poter scegliere con ragionevolezza e intelligenza?

PS. La penosa vicenda dei vaccini (estremamente meno costosi e giustamente gratuiti per tutti) non indulge all'ottimismo.

Martino Introna

Direttore del Laboratorio di Terapia Cellulare Gilberto Lanzani

Ospedale Papa Giovanni XXIII - Bergamo



Il laboratorio Gilberto Lanzani di Bergamo: operatori in camera bianca

CAR: IL FUTURO PER LA CURA DELLA LEUCEMIA MIELOIDE ACUTA

Il Centro di Ricerca Matilde Tettamanti guarda sempre avanti



Il gruppo di Terapia Molecolare del Centro di Ricerca Matilde Tettamanti, entro l'ospedale San Gerardo di Monza, di cui faccio parte, guidato dal prof. Andrea Biondi, **ha ideato** negli ultimi dieci anni delle strategie di terapia cellulare e genica tramite l'uso dei **CARs** (Chimeric Antigen Receptors) o recettori chimerici artificiali per il trattamento di varie forme di leucemia.

Di recente il Gruppo ha investito i propri sforzi per ottimizzare un sistema di modificazione genica dei linfociti T **non virale**, al fine di **abbattere problematiche relative alla sicurezza e ai costi** caratterizzanti il metodo virale, ad oggi standard della terapia genica (vedi anche articolo di pagg. 4-5 *n.d.r.*).

Questo tipo di **immunoterapia non virale**, denominato **CARCIK CD19**, **ha completato il percorso di ricerca di laboratorio della leucemia linfoblastica acuta** ed è, attualmente, al letto del malato, oggetto di **sperimentazione di fase I/II**, per il trattamento sui nostri pazienti pediatrici del Centro Maria Letizia Verga.

La mia ricerca, invece, da ormai otto anni è principalmente dedicata allo sviluppo di **protocolli di terapia genica per la cura della leucemia mieloide acuta (LMA)**, una patologia ad oggi ancora associata ad **alte percentuali di ricaduta** (ritorno di malattia spesso con esito infausto) e per la quale vi è un'urgente necessità di trovare nuove cure alternative e più efficaci.

Insieme alla dr.ssa Maria Caterina Rotiroti, studentessa di dottorato presso l'Università Milano-Bicocca, abbiamo caratterizzato diversi CAR contro particolari bersagli espressi ad alti livelli dalla cellula di LMA, denominati **CD33** e **CD123**.

Tali molecole risultano particolarmente interessanti in quanto sono espresse anche dalla **cellula staminale leucemica**, ossia la cellula tumorale di origine, in grado di sostenere continuamente la crescita della leucemia e che spesso è resistente ai farmaci chemioterapici attuali.

Essendo consapevoli che queste molecole sono in parte presenti anche sulle cellule sane del midollo osseo, la nostra ricerca riguarda non solo aspetti di **efficacia ma anche di sicurezza**.

A tale scopo, in questi anni **abbiamo approfondito alcune linee di ricerca** che potrebbero aumentare l'indice terapeutico di questa strategia, quali: **1) studi di miglioramento del legame** alla cellula bersaglio e **2) lo sviluppo di CAR bi-specifici** che hanno la peculiarità di riconoscere due molecole bersaglio invece che una e quindi di essere più selettivi verso le cellule di LMA rispetto ai CAR convenzionali.

Un'ulteriore linea di ricerca che ci vede impegnate, in collaborazione con il gruppo del prof. Alessandro Rambaldi e del dr. Martino Intronà (ospedale Papa Giovanni XXIII di Bergamo), riguarda **3) l'ottenimento dei linfociti T esprimenti i CAR a partire da sangue cordonale**, con la visione in prospettiva di avere **4) una vera e propria banca** di cellule modificate prontamente disponibili. Le cellule di sangue cordonale, rispetto alle cellule di sangue periferico attualmente utilizzate nei nostri protocolli di terapia genica, hanno il vantaggio di essere istocompatibili e pronte per l'uso. Inoltre hanno la facoltà di essere facilmente espandibili in linfociti T differenziati e generano una risposta contro l'ospite (rigetto inverso), definita come **GvHD** (Graft-versus Host Disease), **molto più lieve** rispetto a altre fonti di staminali.

Il nostro impegno maggiore è, al momento, volto alla caratterizzazio-

ne preclinica di linfociti T modificati per esprimere il CAR CD33 utilizzando la piattaforma di modificazione genica non virale allo scopo di poter offrire al più presto la terapia CAR anche per i pazienti con leucemia mieloide acuta (LMA).

Sarah Tettamanti

dr.ssa Sarah Tettamanti

Nata a Como nel 1983
Laurea Specialistica in Biologia Molecolare e funzionale nel 2008 a Milano-Bicocca.
Conseguimento del Dottorato di Ricerca in Medicina Molecolare, Immunologia di Base e Applicata nel 2013 a Università Vita-Salute San Raffaele. Dal 2014 Post Doc presso il laboratorio di Terapia Molecolare, Fondazione Tettamanti dove si occupa di immunoterapia delle leucemie tramite l'utilizzo di recettori chimerici artificiali (CARs)
È mamma di una bambina.

Glossario

non virale: metodo di trasferimento genico che non prevede l'utilizzo di veicoli derivati da virus

caratterizzare: effettuare esperimenti di laboratorio mirati a valutare una ipotesi sperimentale

immunoterapia: terapia che sfrutta e potenzia le capacità del sistema immunitario di eliminare le cellule neoplastiche

protocollo: insieme organizzato e coordinato di regole e procedure, anche imposte da normative, cui ci si deve attenere in determinate operazioni tecniche di una certa complessità

sangue cordonale: proveniente dal cordone ombelicale

sangue periferico: proveniente dal sangue in circolazione

istocompatibili: compatibilità tra tessuti

POTRÒ AVERE UN FIGLIO

Sterilità: una conseguenza del trapianto di midollo osseo

È nato il mio bambino!

Bello... ma che c'è di strano?

Io, mamma, sono stata trapiantata...

Perché questa frase suoni sempre più frequente, quali sono i progressi della scienza?

terza parte

(la prima parte è stata pubblicata sul n. 21

la seconda parte è stata pubblicata sul n. 22)

PROBABILITÀ DI SUCCESSO

La distinzione tra ciò che è di **routine**, ciò che è innovativo e ciò che è **sperimentale**, a oggi, è fondamentale per la pianificazione delle strategie esposte.

Il successo di ogni tecnica si intende come tasso di nascite in base all'utilizzo di tutti i campioni disponibili.

Nei maschi l'utilizzo dello sperma può essere efficace fino al 50% dei casi, mentre a oggi non vi sono evi-

denze di successo a partire dal tessuto testicolare.

Nelle femmine gli oociti maturi possono essere associati a successo nel 15% dei casi e fino al 40% dopo tentativi multipli. Il tessuto ovarico raccolto dopo la pubertà ha dato origine a quasi 100 bambini dopo re-impianto e a 3 bambini dopo maturazione in vitro degli oociti prima del congelamento, mentre a oggi non sono noti successi di maturazione di oociti da tessuto ovarico in vitro criopreservato. Sono promettenti i dati ottenuti con vitrificazione. Analogamente non sono noti casi di successo da tessuto ovarico pre-pubere, né in vitro né dopo re-impianto.

CONCLUSIONI

In conclusione tutte le tecniche di preservazione della fertilità, ad eccezione della criopreservazione dello sperma, devono essere considerate innovative o sperimentali. In particolare nelle malattie tumorali l'applicabilità delle tecniche esposte è a oggi molto limitata, per le condizioni all'esordio della malattia, la necessità di inizio precoce della chemioterapia ed il rischio di contaminazione.

Glossario

criopreservazione: processo di congelamento di cellule o tessuti a bassissime temperature, usualmente in azoto liquido a -196° C, allo scopo di bloccare ogni attività chimica e mantenere inalterato il prodotto biologico; consente la conservazione a tempo indeterminato e un eventuale utilizzo successivo

oocita (o ovocita): gamete (ossia cellula germinale riproduttiva) femminile; si distinguono oociti primari, prodotti durante la vita fetale, e oociti secondari, prodotti dopo la pubertà, durante la oogenesi

spermatozoo: gamete (ossia cellula germinale riproduttiva) maschile, prodotto durante la spermatogenesi

Possibili progressi nel campo della medicina riproduttiva potrebbero cambiare rapidamente questo scenario. Le autorità sanitarie dovrebbero stanziare fondi per facilitare progetti in questo campo allo scopo di migliorare la qualità della vita del maggior numero possibile di soggetti sottoposti a trapianto.

Fine

Adriana Balduzzi
Clinica Pediatrica, Centro M.L. Verga
Ospedale S. Gerardo - Monza

dr.ssa

Adriana Balduzzi

Il curriculum è stato pubblicato sul n. 20 del febbraio 2017.



Momcilo Jankovic: ne vale sempre la pena

IL NUOVO LIBRO DEL DR. SORRISO

Parla dei suoi bambini e del vero valore della vita

È un libro da leggere. Uscito nelle librerie in febbraio 2018 ha ricevuto recensioni positive da molti organi di stampa. Il dr. Jankovic, il dr. Sorriso come è stato definito dai giornali, non ha bisogno di presentazione. Pediatra ed ematologo ha diretto per anni il Day Hospital ematologico della Clinica Pediatrica dell'ospedale San Gerardo di Monza-Centro Maria Letizia Verga ed è ben conosciuto dai nostri lettori essendo uno degli autori più assidui di questa rivista.

Noi vogliamo contribuire a rendere noti i contenuti del suo libro con la pubblicazione di alcuni estratti. Cominciamo, in questo numero, con alcune parti ricavate dal primo capitolo.

La Redazione

dal capitolo: 1. Diagnosi

omissis

Così, se penso alla mia agenda, i miei contatti sono migliaia, e non sono semplici numeri, sono vite a cui ho partecipato, sono vite che mi hanno nutrito, cambiato e mai più lasciato: anch'io, come chiunque abbia il privilegio di fare

il mio mestiere, ho una vita aumentata da migliaia di vite vere, più varie, intense, struggenti e salvifiche di qualsiasi romanzo. Tutto ciò è il portato di una vita passata in reparto, è una constatazione che faccio in un secondo, proprio mentre mi finisce contro le gambe una bambina.

"Evviva mi ricoverano per fare il trapianto!"

"Bianca, dove corri? Stà attenta... Come stai Momcilo?"

È il sig. Verga, l'artefice del Comitato intitolato a sua figlia che da un sottoscala è arrivato a raccogliere milioni di euro per costruire il nuovo reparto e il centro di ricerca. Ogni giorno viene in Day Hospital e ha una parola gentile e un sorriso per tutti i genitori, vecchi e nuovi, si informa e, se serve qualcosa, risolve. Si perché è uno che risolve problemi, Giovanni Verga, piccoli o grandi che siano.

Bianca non è una mia paziente. Verga mi spiega che ha cinque anni, è in cura da sei mesi e sta esultando perché le hanno ap-

pena annunciato che dovrà fare il trapianto.

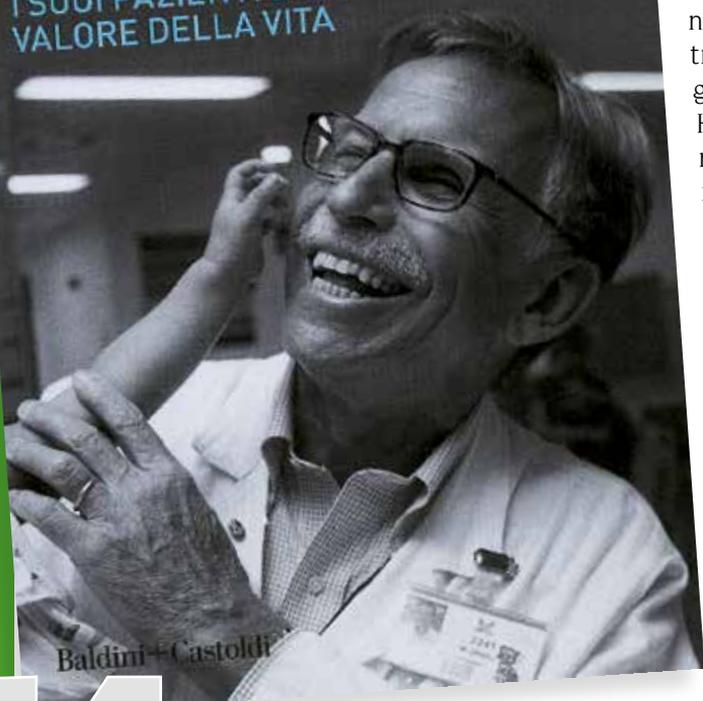
Ma quello che conta per lei è che avrà una cameretta tutta sua, dove potrà vedere tutta la tv che vuole e giocare ai videogiochi, sa che se chiede una cosa si precipitano in quattro, mentre a casa deve dividere ogni cosa con i tre fratelli maschi, e suo papà, per quanto sia più presente che può, deve pensare anche al lavoro, mentre in reparto la mamma è tutta per lei. La guardo ammirato, elegante con le unghie dipinte, la gonna corta bordeaux e gli stivali neri, e soprattutto il cerchietto su una testa quasi pelata. Quando sono così piccoli vivono appieno il presente, il futuro si limita all'indomani, e la cosa più importante per loro è il prossimo gioco, o la prossima gita. Per il modo di camminare danzando, Bianca mi ricorda Iacopo.

omissis

Quell'antivigilia di Natale aspettavamo questo bambino di sette anni con febbre e lesioni ecchimotiche, così recitava la richiesta dei pediatri. Arrivò sul presto con entrambi i genitori. Scarmigliato, pallido e spaurito, non smetteva di guardarsi intorno, come se le carezze incessanti e le rassicurazioni sussurrate più che altro dalla mamma, il cui viso tradiva un lungo pianto, non fossero sufficienti a tranquillizzarlo. Ricordo che sembrava una catena: lui seduto sul lettino, la mamma che lo abbracciava e il padre che sosteneva la moglie, rigido e smunto. E io che riconoscevo quel groppo allo

MOMCILO JANKOVIC
CON SALVATORE VITELLINO
NE VALE SEMPRE LA PENA

IL DOTTOR SORRISO,
I SUOI PAZIENTI E IL VERO
VALORE DELLA VITA



stomaco che ti prende quando ti invade la paura, quella grande e insidiosa che non ha un oggetto preciso ma prelude al peggio.

"Allora, Iacopo ti chiami, giusto??"

"Sì" fa Iacopo, "ma Iacopo con la I, non con la J."

"Okay. Allora, Iacopo con la I, fra due giorni arriva Babbo Natale. Che cosa hai chiesto? Si può dire?"

La sua vocina esitante mi intenerisce, oltre che spaventata è indebolita dalle febbri e forse dal poco sonno.

"I Playmobil e un nuovo iPod e l'ultimo CD di Jovanotti."

Quel particolare mi è rimasto impresso.

"Sì, è patito per Jovanotti" interviene la madre, sorriso affettuoso e imbarazzato di chi sta al gioco per distrarre il figlio.

"Jovanotti, ma pensa! E sei andato a un suo concerto?"

"No, ancora no..."

Strano a dirsi, ma per quanto possibile il suo viso dal pallore anemico sembra farsi ancora più triste.

"Tranquillo, ci sarà modo. Allora Iacopo, adesso ti visito e se stai bene ti rimandiamo a casa così ti godi il Natale."

I lividi ci sono, segno che le piastrine - che servono a far coagulare il sangue - si sono abbassate, ma di per se non vogliono dire niente nulla. Tasto i linfonodi del collo e delle ascelle e li sento un po' gonfi, tasto anche l'addome e non mi piace. Il mio timore si è ormai formato, ma per avere la diagnosi certa almeno a livello cellulare ci vuole l'aspirato midollare, un prelievo dal midollo osseo, per andare a prendere il sangue direttamente nella sua fabbrica e scoprire se ci sono cellule anomale.

Quanti ne ho fatti di aghi aspirati, nella mia vita? Forse migliaia. Anni fa si faceva l'anestesia locale, per non traumatizzare il bambino, l'ago da inserire nelle spine iliache del sacro, quasi sempre il pianto del piccolo per la novità che lo atterrisce, anche se di spalle, anche se non vede né sente, l'abbraccio con il genitore che sa e che suda ansia da tutti i pori, il copione era sempre lo stesso e i volti si sovrappongono. Oggi si fa una leggera anestesia totale così il bambino non ricorda nulla e nel giro di mezz'ora è già bello sveglio.

La leucemia nelle sue varie forme è un tumore sfuggente, dai sintomi ambigui. C'è chi impazzisce dai dolori di schiena, chi vomita e ha mal di testa, chi ha febbri insistenti che vanno e vengono o ha infiammazioni che resistono agli antibiotici. O semplicemente. c'è chi mostra solo stanchezza e pallore.

Quando hai un bambino stanco, o con dei lividi alle gambe, è naturale pensare a urti e cadute. Davanti ai dolori articolari di un adolescente, si è portati ad attribuirli alla crescita. Possono passare settimane prima che il pediatra o altro specialista faccia scattare l'allarme, perché i sintomi si confondono con altre malattie. A volte anche gli esami del sangue sono ingannevoli, perché l'evoluzione è rapidissima e se un primo esame è negativo, dopo quindici giorni il quadro può essere assai diverso. Quando però vedi che i valori di globuli bianchi e piastrine sono impazziti, allora si che ti allarmi, e da lì all'esame del midollo il passo è breve: quando poi analizzi il sangue prelevato al microscopio e vedi la forma inconfondibile delle cellule leucemiche, non ti resta più margine per dubitare.

Iacopo non aveva nulla di strano o anomalo, era un caso "normale" che rientrava nei 400/500 casi annui e normali che formano le statistiche e disintegrano le vite di chi è colpito da leucemia linfoblastica acuta.

Quando la diagnosi è chiara non si torna a casa, si viene ricoverati subito. Il problema è dirlo ai genitori, al bambino, arrivati in pronto soccorso per un esame del sangue critico e catapultati nel reparto dove si curano i tumori infantili.

omissis

Il tumore è la malattia subdola per eccellenza, la paura più grande nel nostro mondo. Non è un virus che ti attacca dall'esterno, non si contagia, nasce dalla corruzione delle cellule che sembrano votate all'autodistruzione, nasce dalla fragilità della materia che a un certo punto sembra ribellarsi all'equilibrio miracoloso su cui si regge.

omissis

Ho voluto scrivere questo libro per lasciare alcuni miei pensieri alla Gente che non c'entra niente, per fortuna, con queste malattie tumorali ma che deve sapere che esiste questa realtà dove il suo ruolo, che sembra marginale, è invece fondamentale per aiutare chi soffre e sta lottando per far fronte, al meglio, ai suoi bisogni. La comunicazione con il malato deve essere una comunicazione dialogata e dinamica che tenga conto delle sensazioni che il parlargli gli crea e che devono essere indirizzate verso l'obiettivo di qualità di vita qualunque sia la prognosi medica prevista. Questa è la forma più bella e utile di solidarietà umana.

M.J.

Fra tutti i tumori, poi, la leucemia trovo che abbia un qualcosa di simbolico e beffardo, proprio perché colpisce il sangue, la linfa vitale per antonomasia. Il fatto che nella nostra fabbrica del sangue il midollo, che si trova dentro tutte le ossa, a un certo punto cominci a produrre il veleno che viene trasportato proprio da quello che è il veicolo della vita, mi sembra una crudele ironia della natura.

omissis

Questi genitori hanno bisogno di essere rassicurati con la certezza di un percorso di cura, con l'obiettivo della guarigione, che oggi è molto più alta di un tempo. Ma prima bisogna spiegarli che cosa succede dentro il corpo del loro figlio.

"Guardate, credetemi se vi dico che capisco bene il vostro stato, è da quasi quarant'anni che faccio questo mestiere, ma la miglior risposta alla disperazione di questi momenti è la chiarezza ed esattezza delle informazioni. I dettagli li vedremo in seguito, poco alla volta, per ora vorrei attirare la vostra attenzione su due punti fondamentali. La sicurezza della diagnosi e l'obiettivo guarigione per Iacopo: sappiate che per i bambini il tasso di guarigione per questo tipo di tumore oggi supera l'ottanta per cento, la medicina ha fatto enormi progressi rispetto a una volta..." *omissis*

Continua

dr. Momcilo Janković

Questo Natale scegli la dolcezza di un piccolo grande gesto per guarire un bambino in più



Accanto al tradizionale **presepe** di cioccolato il **Babbo Natale**. Entrambi in elegante scatola trasparente. Possono essere richiesti in cambio di una donazione a partire da: **€ 10**

RENDICONTO ECONOMICO

dal 01/01/2017 al 31/12/2017

ENTRATE	euro	%	USCITE	euro	%
Quote associative	0	0	Comitato Maria Letizia Verga	63.055	45
Raccolta pubblica fondi: manifestazioni natalizie e pasquali, corsa, regata, concerto ecc.	61.457	45	Fondazione Tettamanti	70.002	51
Donazioni	62.691	45	Laboratorio Stefano Verri		0
Rimborsi	0	0	Comunicazione (giornali)	4.492	3
Contributo 5 x 1000	13.844	10	Oneri finalizzati ai progetti	137.549	99
Proventi finanziari e diversi	12	0	Oneri finalizzati a raccolta fondi	0	0
			Rimborsi	0	0
			Accantonamenti	0	0
			Oneri finanziari e straordinari	98	0
			Oneri supporto generale	224	1
TOTALE ENTRATE	138.004	100	TOTALE USCITE	137.871	100
risultato gestionale				133	0
TOTALE GENERALE	138.004		TOTALE GENERALE	138.004	

La gestione del Comitato

Come si può notare le spese di gestione del Comitato sono irrilevanti così come gli oneri di supporto generale. Importante, nel nostro bilancio, gli oneri destinati alla Fondazione Tettamanti per sostenere giovani ricercatori adottati e al Comitato Maria Letizia Verga per sostenerne gli scopi statutari. Inoltre le campagne di comunicazione e informazione tra cui i due numeri de "Il giornale del Comitato Stefano Verri" usciti in n. 10.000 copie.

Una gestione di questo tipo e la realizzazione degli obiettivi proposti sono stati possibili grazie al lavoro dei Volontari che hanno operato anche nel 2017, in modo assolutamente gratuito, organizzando occasioni di incontro ed eventi, garantendo le risorse economiche necessarie alla realizzazione dei progetti. Grazie a tutti!