

Giulia De Luca,¹ Martina Roperti,² Eleonora Capone³

¹ Servizio di Farmacia e Governo Clinico del Farmaco, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma

² Farmacia ospedaliera, IRCCS Humanitas Research Hospital di Rozzano (MI)

³ UOC Farmacia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico Umberto I di Roma

La gestione dei medicinali sperimentali per la terapia genica

INTRODUZIONE

Per medicinale di *terapia genica* si intende un medicinale di origine biotecnologica con le seguenti caratteristiche:

- a) consiste di un acido nucleico ricombinante utilizzato negli esseri umani al fine di regolare, riparare, sostituire, aggiungere o eliminare una sequenza genetica;
- b) Il suo effetto terapeutico, profilattico, o diagnostico è direttamente collegato alla sequenza di acido nucleico ricombinante in esso contenuto o al prodotto dell'espressione genetica di tale sequenza.¹

Un medicinale di terapia genica, dunque, può contenere una o più sequenze di acido nucleico ricombinante, oppure uno o più virus o microrganismi geneticamente modificati (MOGM). Tale medicinale può essere combinato con un dispositivo medico o un dispositivo medico impiantabile attivo.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), i medicinali sperimentali per terapia genica sono quelli utilizzati *in vivo* per modificare geneticamente cellule somatiche umane oppure quelli costituiti da acidi nucleici, da microrganismi geneticamente modificati o da cellule autologhe, allogene o xenogene modificate geneticamente *ex vivo*. Le applicazioni della terapia genica in vivo o ex vivo presentano diverse caratteristiche:

- *in vivo*: i geni clonati possono essere trasferiti direttamente nei tessuti del paziente. Questa tecnica è l'unica utilizzabile in caso di tessuti in cui le singole cellule non possono essere coltivate in vitro in numero sufficiente (es. cellule cerebrali), non possono essere estratte o reimpiantate nel paziente;
- *ex vivo*: metodologia applicabile solo a tessuti che una volta prelevati dal paziente possono essere geneticamente modificati in vitro e reintrodotti nel paziente dove attecchiscono e si moltiplicano (es. cellule del sistema ematopoietico).²

Il medicinale di terapia genica deve essere allestito e caratterizzato in modo tale da contenere le informazioni chimico-molecolari-biologiche necessarie per una completa valutazione del rapporto rischio/beneficio in relazione all'uso clinico proposto. Le patologie per le quali al momento sono stati studiati medicinali di terapia genica sono: malattie infettive, tumori, malattie ereditarie e malattie del sistema immunitario.

¹ Direttiva 2009/120/CE della Commissione delle Comunità Europee del 14 settembre 2009.

² Sturchio E, Bemporad E, Mari G, Ficociello B, Zanellato M. MOGM e sicurezza in laboratorio. Ed. it. Ministero della Salute e INAIL: S.I.S.COM S.r.l.; 2011.

Tra le strategie operative alla base della terapia genica è importante menzionare:

- aumento della quantità di un gene deficitario, aggiungendone delle copie;
- killing selettivo delle cellule patologiche;
- correzione selettiva della mutazione che altera la funzionalità genica;
- inibizione selettiva dell'espressione genica.

Per MOGM si intende “*un microrganismo il cui materiale genetico è stato modificato in un modo che non avviene in natura per incrocio e/o ricombinazione naturale*”.² La modificazione genetica avviene mediante l'impiego delle tecniche elencate dell'Allegato I parte A del Decreto Legislativo 12 aprile 2001 n.206, ovvero:

- ricombinazione di acido nucleico che comportano la formazione di nuove combinazioni di materiale genetico mediante l'inserimento di molecole di acido nucleico prodotte in un virus, in plasmide batterico o altro sistema vettore e il loro inserimento in un organismo ospite nel quale sono in grado di moltiplicarsi in maniera moltiplicativa;
- introduzione diretta in un microrganismo di materiale genetico preparato al di fuori dello stesso, comprese la microinoculazione, la macroinoculazione e la microincapsulazione;
- fusione cellulare e ibridazione che producono cellule vive con nuove combinazioni di materiale genetico ereditabile mediante la fusione di due o più cellule con metodi non presenti in natura.

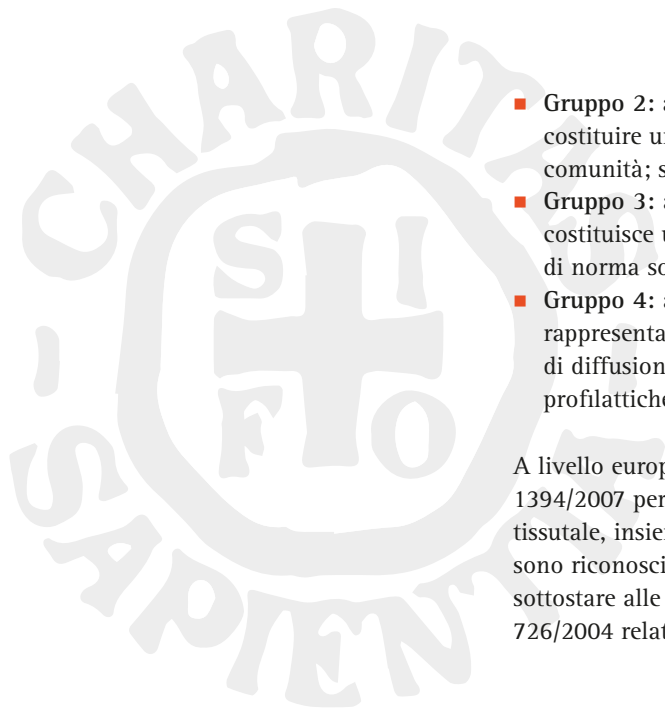
Un MOGM quindi è costituito da un *organismo ospite*, nel quale l'informazione genica viene inserita, un *organismo donatore*, dal quale viene ottenuta l'informazione, da un *vettore* che trasferisce l'informazione tra questi organismi e da un *inserto* che contiene uno o più geni in grado di rivelare l'attività biologica. Esistono due grandi categorie di vettori che consentono il trasferimento genico:

- a) **vettori non virali**: si basano sull'uso di DNA, da solo o complessato a molecole che ne facilitino l'ingresso nella cellula;
- b) **vettori virali**: si basano sull'utilizzo di virus opportunamente modificati in modo tale da poter veicolare il loro genoma all'interno delle cellule bersaglio, senza indurre patogenicità. I virus, sono microrganismi esistenti in natura specializzati nel trasferimento di informazione genetica nelle cellule. I vettori virali attualmente utilizzati sono derivati da RETROVIRUS, ADENOVIRUS, VIRUS ADENOASSOCIATI ed HERPES VIRUS e possono essere ulteriormente distinti in integranti, se hanno la capacità di integrare il loro genoma nel genoma della cellula ospite (retrovirus e virus adenoassociati), e non integranti (adenovirus e virus epatici).²

La terapia genica e gli MOGM sono di fatto la nuova frontiera farmacologica nell'ambito della normale pratica clinica e sempre più spesso le Farmacie Ospedaliere sono coinvolte nell'allestimento di tali terapie anche durante studi sperimentali. Fondamentale nella manipolazione e allestimento di medicinali sperimentali per terapia genica da parte della Farmacia Ospedaliera è la valutazione del rischio biologico, con individuazione delle diverse tipologie di pericoli connessi alla manipolazione di tali agenti biologici al fine di rimuovere, o ridurre, ad un livello accettabile, il rischio di contaminazione degli operatori, dei campioni, dell'ambiente e della comunità di genere. La valutazione del rischio verrà effettuata dal Promotore dello studio e condivisa con lo Sperimentatore Principale e la Farmacia Ospedaliera, delegata all'allestimento. Gli agenti biologici sono stati classificati in quattro gruppi a seconda del livello di rischio di infezione:

- **Gruppo 1**: agente biologico che presenta poche probabilità di causare malattie in soggetti umani;





- **Gruppo 2:** agente biologico che può causare malattia in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono disponibili efficaci misure profilattiche e terapeutiche.
- **Gruppo 3:** agente biologico che può causare gravi malattie in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche;
- **Gruppo 4:** agente biologico che può causare gravi malattie in soggetti umani e rappresenta un serio rischio per i lavoratori; può presentare un elevato rischio di diffusione nella comunità; non sono disponibili, di norma, efficaci misure profilattiche o terapeutiche.²

A livello europeo, il principale riferimento normativo è il Regolamento CE 1394/2007 per medicinali di terapia genica, cellulare somatica e ingegneri tissutale, insieme alle tre Direttive CE 2004/23, 2006/17 e 2006/86. Questi prodotti sono riconosciuti come medicinali a tutti gli effetti e in quanto tali, devono sottostare alle indicazioni previste dalla Direttiva 2001/83 e Regolamento Europeo 726/2004 relativo alle sperimentazioni cliniche.

ALLESTIMENTO IN FARMACIA OSPEDALIERA

Per poter procedere all'allestimento in Farmacia Ospedaliera di un prodotto di terapia genica o MOGM, occorre ricordare che ogni utilizzatore/produttore, al momento di avviare una ricerca sperimentale, è tenuto a:

- a) inviare una notifica di impianto al Ministero della Salute, indicando tutti i dati relativi all'impianto (farmacia ospedaliera, laboratori, stabulari) che intende utilizzare, specificando per ciascun locale il tipo di confinamento adottato. Nell'apposita modulistica (scaricabile dal sito del Ministero della Salute) dovrà essere indicata la classe di rischio degli impieghi che si intendono effettuare all'interno dell'impianto. Questo tipo di notifica è convenzionalmente inviata dal Direttore Generale della Struttura Sanitaria.
- b) inviare una notifica di impiego al Ministero della Salute per ogni operazione che implichi l'impiego di MOGM in ambiente confinato. Tale notifica viene effettuata dal Responsabile Scientifico e si riferisce in modo specifico ad un singolo organismo geneticamente modificato.

Il Ministero della salute, ricevute le notifiche, effettua l'istruttoria preliminare esaminandone la conformità alle disposizioni di legge e la completezza delle informazioni fornite. Le sottopone quindi al parere della Commissione interministeriale di valutazione (CIV), che si riunisce ogni tre settimane. Il Ministero della salute, in conformità al parere della CIV, autorizza l'impianto e l'impiego o, qualora necessario, richiede al notificante di fornire ulteriori informazioni.

La Farmacia Ospedaliera, in accordo con lo Sperimentatore e il Promotore, deve procedere ad una valutazione preliminare del rischio derivante dagli agenti biologici impiegati, che tenga conto del gruppo di rischio di appartenenza, integrato con una valutazione della sicurezza riguardante le procedure che sono state utilizzate per minimizzare o eliminare la contaminazione biologica (Figura 1). La valutazione del rischio collegato allo sviluppo di prodotti ed alla sperimentazione clinica in terapia genica dipende dal grado di avanzamento delle operazioni e deve essere aggiornata conseguentemente: essa deve essere anzitutto analizzata in rapporto al sistema biologico utilizzato, ai suoi vantaggi rispetto a sistemi alternativi ed in relazione ai benefici attesi. Deve

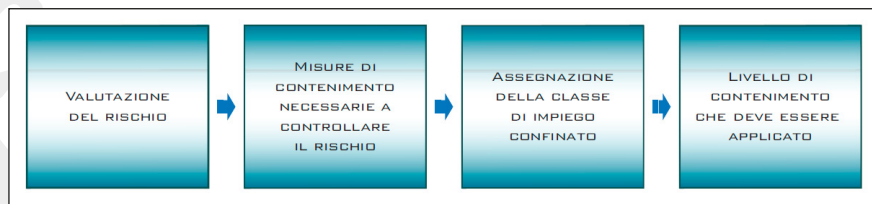


Figura 1. Valutazione del rischio

poi contenere una valutazione dei dati di sicurezza ottenuti nelle esperienze *ex vivo* e nei test pre-clinici. Successivamente deve essere fatta una valutazione del trattamento clinico vero e proprio, con particolare riferimento ai rischi riguardanti il paziente che riceve il transgene. Infine, deve essere valutato il potenziale rischio per la salute pubblica e per l'ambiente in generale. Sebbene non esistano tuttora Linee Guida ufficiali che definiscano il ruolo del farmacista nella gestione delle terapie geniche, nel 2007 è stata pubblicata dall'European Association of Hospital Pharmacists (EAHP) una guida pratica sui requisiti minimi che le farmacie ospedaliere devono possedere per poter gestire questo tipo di terapie, siano esse già autorizzate e/o sperimentali; tali requisiti comprendono:

- locali idonei, apparecchiature e materiali dedicati per lo stoccaggio e la manipolazione in sicurezza;
- adozione di un sistema di controllo di qualità interno (QC) ed uno esterno di assicurazione di qualità (QA);
- elaborazione di procedure operative standardizzate che descrivano in maniera dettagliata tutti i passaggi a partire dalla ricezione fino alla manipolazione e allo smaltimento del prodotto dopo la somministrazione;
- personale opportunamente formato sulla terapia genica e sul protocollo sperimentale, e sottoposto ad aggiornamenti periodici.³

Le misure di contenimento fisico (luoghi e attrezzature di lavoro) e di contenimento dell'esposizione (procedure operative) devono essere modulate sulle caratteristiche dei vettori virali impiegati e possono essere più o meno stringenti a seconda delle caratteristiche di replicazione ed eliminazione degli stessi, anche se il livello di rischio connesso alla manipolazione di un determinato prodotto di terapia genica sperimentale dovrebbe essere già stato ridotto al minimo durante le fasi di sviluppo preclinico ed è definito dal promotore della sperimentazione. Una buona prassi operativa, un appropriato equipaggiamento e la stretta aderenza a protocolli standard condivisi permettono di minimizzare l'esposizione agli agenti infettivi.

I livelli di contenimento secondo la Direttiva 2009/41/CE tengono conto della classificazione in base al livello di rischio:

- Livello 1 – laboratorio di base- indicato quando si compiono operazioni che presentano rischi nulli o trascurabili. Nel laboratorio devono essere applicate le misure minime di contenimento e di protezione. La stanza dove si svolgono le operazioni deve essere separata dall'esterno tramite una porta che deve rimanere chiusa durante le attività di lavoro. Non è necessaria la presenza di particolari attrezzature.
- Livello 2 – laboratorio di base- indicato quando si compiono operazioni a basso rischio. Nel laboratorio devono essere applicate le misure minime

³ Presidenza del Consiglio dei Ministri. Comitato nazionale per la biosicurezza e la biotecnologie. Linee guida inerenti all'uso di prodotti di terapia genica: guida ai produttori e agli utilizzatori.



di contenimento e di protezione, deve essere esposto un segnale di rischio biologico sulla porta e gli operatori devono essere forniti di dispositivi di protezione individuale. Prevede la presenza di una cappa di sicurezza biologica di classe I o II per proteggere l'operatore da eventuale formazione di aerosol. Deve essere presente un'autoclave nell'edificio al fine di poter inattivare i rifiuti prima dello smaltimento.

- Livello 3 – laboratorio di contenimento-indicato quando si compiono operazioni che presentano un rischio moderato. Devono essere applicate le misure di contenimento e di protezione previste dall'Allegato IV del D. Lgs 206/01, gli operatori devono essere forniti di dispositivi di protezione individuale, l'accesso deve essere controllato, il laboratorio deve essere dotato di una zona filtro in pressione positiva rispetto sia all'esterno che al laboratorio. È necessaria la presenza di una cappa di sicurezza biologica di classe II il cui utilizzo è necessario in tutte le operazioni effettuate.
- Livello 4 – laboratorio di contenimento-indicato quando si compiono operazioni che presentano un rischio alto. Destinato a diagnostica specialistica o ricerca con materiali infetti e/o microrganismi con un rischio potenziale o accertato elevato per l'operatore e la comunità. Devono essere applicate le misure di contenimento e di protezione previste dall'Allegato IV del D. Lgs 206/01, gli operatori devono essere forniti di dispositivi di protezione individuale, l'accesso deve essere controllato, il laboratorio deve essere dotato di una zona filtro in pressione positiva rispetto sia all'esterno che al laboratorio. È necessaria la presenza di una cappa di sicurezza biologica di classe III il cui utilizzo è necessario in tutte le operazioni effettuate. La progettazione e l'operatività di una simile struttura prevede delle conoscenze ed esperienze gestionali comprovate.²

In generale, nei Servizi di Farmacia che intendono manipolare prodotti di terapia genica devono essere presenti adeguate apparecchiature per la conservazione del prodotto iniziale, ad esempio un congelatore a -20°C o a -80°C , e un locale dedicato, ad accesso limitato al personale deputato alla manipolazione, le cui condizioni strutturali garantiscano l'allestimento in condizioni asettiche. Il locale deve essere almeno di grado C per la qualità dell'aria, possibilmente con filtri assoluti (HEPA) per l'aria. Il laboratorio deve essere dotato di una cappa biologica almeno di classe II tipo B, che previene la diffusione nell'ambiente di eventuali aerosol, o di un isolatore. È inoltre consigliabile un impianto di ventilazione a pressione negativa. Le superfici devono essere lisce e facilmente lavabili, le attività di disinfezione devono essere eseguite giornalmente seguendo apposite procedure scritte e da parte di personale appositamente addestrato. Nel locale destinato all'allestimento di terapia genica sperimentale non si possono effettuare contemporaneamente altre attività: se la divisione non può essere fisica, deve essere almeno temporale per evitare fenomeni di *cross-contamination*.

Le procedure operative standard devono descrivere in maniera dettagliata ogni fase del processo: approvvigionamento, ricezione del farmaco, stoccaggio, manipolazione, trasporto del prodotto finito in reparto, in accordo con il protocollo ed il *pharmacy manual*, e devono definire le responsabilità delle figure coinvolte.

In merito ai controlli di qualità, occorre definire almeno due distinte figure: responsabile della produzione e responsabile dei controlli di qualità, che devono essere condotti in conformità con le Good Laboratory Practice (GLP).

Potrebbe infine essere utile mantenere un registro degli operatori esposti in accordo con le indicazioni del Medico Competente.



DISCUSSIONE

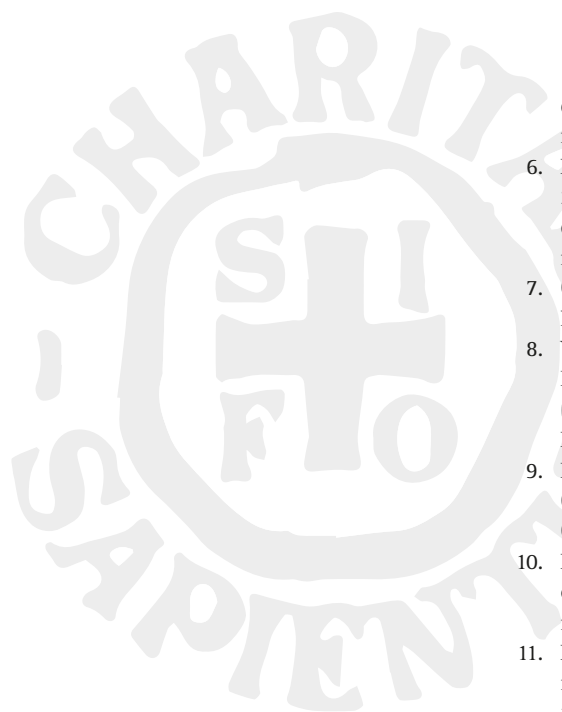
Le sperimentazioni cliniche con medicinali richiedono requisiti stringenti e procedure operative standard puntuali che garantiscano contestualmente scientificità, etica e sicurezza per i soggetti che vengono arruolati negli studi. Il ruolo del farmacista ospedaliero nel mondo della sperimentazione clinica è centrale per tutto ciò che attiene alla gestione del farmaco in termini di ricezione, corretto stoccaggio, allestimento e consegna allo sperimentatore. Nella sperimentazione clinica con terapia genica il ruolo del farmacista ospedaliero diventa ancora più cruciale per la parte di allestimento, che comporta, come abbiamo descritto, una corretta valutazione del rischio legato al MOGM, per i pazienti, per gli operatori sanitari e per la salute pubblica in generale. Requisiti regolatori-autorizzativi fondamentali per le Farmacie Ospedaliere coinvolte nell'allestimento sono la Notifica di Impianto e la Notifica di Impiego, senza delle quali, lo studio non può essere avviato. Tutte le *facilities* necessarie (laboratori, attrezzature, strumentazioni), la formazione del personale e le procedure operative standard dedicate ricadono tutte sotto la responsabilità della Farmacia Ospedaliera per le parti di propria competenza, richiedendo un elevato livello di formazione e aggiornamento per i farmacisti coinvolti.

CONCLUSIONE

Gli sviluppi in campo biomedico degli ultimi anni e le innovazioni tecnologiche indirizzano sempre di più la sperimentazione clinica verso l'utilizzo di prodotti di terapia genica e MOGM in particolare. Quello che un tempo sembrava impossibile è già divenuto realtà, ad esempio nell'atrofia muscolare spinale la terapia genica è un'alternativa possibile che fa parte della normale pratica clinica. Nuovi orizzonti terapeutici nell'ambito delle malattie emofiliche, delle malattie neurologiche degenerative e delle malattie rare arriveranno con sperimentazioni cliniche in cui le Farmacie Ospedaliere potranno essere coinvolte e noi farmacisti dovremo farci trovare pronti.

BIBLIOGRAFIA

1. Direttiva 2009/120/CE della Commissione del 14 settembre 2009 che modifica la direttiva 2001/83/CE del Parlamento europeo e del Consiglio recante un codice comunitario relativo ai medicinali per uso umano per quanto riguarda i medicinali per terapie avanzate. Ed. it. Gazzetta Ufficiale L 242/3 del 15.09.2009.
2. Sturchio E, Bemporad E, Mari G, Ficociello B, Zanellato M. MOGM e sicurezza in laboratorio. Ed. it. Ministero della Salute e INAIL: S.I.S.COM S.r.l.; 2011.
3. Ministero della Salute. Rilascio autorizzazioni per impianti destinati ad impieghi di Microrganismi Geneticamente Modificati (MOGM) in ambiente confinato. Ultimo aggiornamento: 08/07/2020. (consultato: Febbraio 2022). Disponibile all'indirizzo: <https://www.salute.gov.it/portale/moduliServizi/dettaglioSchedaModuliServizi.jsp?lingua=italiano&label=servizionline&tidMat=BIOT&tidAmb=NIA&tidSrv=A1&flag=P>.
4. Ministero della Salute. Rilascio autorizzazione ad impieghi finalizzati all'uso di Microrganismi Geneticamente Modificati (MOGM) in ambiente confinato. Ultimo aggiornamento: 25/11/2021. (consultato: Febbraio 2022). Disponibile all'indirizzo: <https://www.salute.gov.it/portale/moduliServizi/dettaglioSchedaModuliServizi.jsp?lingua=italiano&label=servizionline&tidMat=BIOT&tidAmb=NIE&tidSrv=ACL2&flag=P>.
5. Comitato nazionale per la biosicurezza e la biotecnologie. Linee guida inerenti all'uso di prodotti di terapia genica: guida ai produttori e agli utilizzatori. Ed. it. Presidenza



- del Consiglio dei Ministri disponibile all'indirizzo: https://cnbbsv.palazzochigi.it/media/1665/1998-guida_terapia_genica.pdf
6. Regolamento (CE) n. 726/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 31 marzo 2004 che istituisce procedure comunitarie per l'autorizzazione e la sorveglianza dei medicinali per uso umano e veterinario, e che istituisce l'agenzia europea per i medicinali. Ed. It. Gazzetta Ufficiale L 136/1 del 30.04.2004.
 7. Osservatorio terapie avanzate. (consultato: Febbraio 2022). Disponibile all'indirizzo: <https://www.osservatorioterapieavanzate.it/terapie-avanzate/terapia-genica>
 8. Vulto GA, Stoner N, Balàsòvà H, Cercos A, Hoppe-Tichy T, Genestar JLV, Kontra K, Nydert P, Vermes BA, Wolfsberger A. European Association of Hospital Pharmacists (EAHP) Guidance on the Pharmacy of Gene Medicines. European Association of Hospital Pharmacists, 2007.
 9. Dubuis G, Marrone F, Russo F, Ziccardi S, Annibale R. Terapia genica e Farmacia Ospedaliera: l'esperienza dell'UOSD Farmacia Ospedaliera dell'AOU L. Vanvitelli. About Open. 2021.
 10. Decreto Legislativo 12 aprile 2001, n.206. Attuazione della direttiva 98/81/CE del consiglio che modifica la direttiva 90/219/CEE concernente l'impiego confinato di microorganismo geneticamente modificati. Presidente della Repubblica.
 11. Regolamento (CE) n. 1394/2007 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 13 novembre 2007 sui medicinali per terapie avanzate recante modifica della direttiva 3001/83/CE e del regolamento (CE) n. 726/2004. Ed. it. Gazzetta Ufficiale L 324/121 del 10.12.2007.