

## Sintesi I°United Summer School - 5 Maggio 2017 -- Palermo

Impeccabile padrone di casa, dopo le varie presentazioni dei partecipanti presenti in aula, ha invitato tutti ad essere aperti e senza timori per poter concretizzare un reale confronto pazienti-medici-associazioni.

Vive ed efficaci oltre che pungenti sono i suoi piccoli ma mirati interventi di moderazione.

### **Dott. Giancarlo Liembruno – Direttore del Centro Nazionale Sangue**

Esprime ai presenti quanto ci tenesse essere presente di persona ad un evento così importante di confronto pazienti/medici/associazioni, sin dai primi incontri con United il rapporto di rispetto e fiducia ha prevalso, sin tanto di collaborare in concretezza centrando un obiettivo di notevole importanza come il registro di patologia, dove CNS –United e Site sono i titolari del progetto, la collocazione del Registro al CNS di certo garantisce un'inconfondibile sicurezza per i dati che il registro conterrà, un altro obiettivo che CNS e United devono consolidare è la massima divulgazione comune delle buone ed efficaci prassi di sicurezza nella raccolta, lavorazione e somministrazione delle terapie trasfusionali.

### **Dott. Gianluca Forni -Presidente SITE**

SITE E UNITED da oltre un anno collaborano in stretta sinergia, il registro ci vede entrambi attori insieme al CNS, i contatti congiunti presso le istituzioni consentiranno il concretizzarsi di importanti obiettivi, in primis una legge per patologia, un tavolo di lavoro per arrivare ad una rete dei centri di cura per le nostre patologie, il rafforzamento e potenziamento dei centri di cura, il progetto migranti per le drepanocitosi, il progetto miglioramento tabelle di invalidità soprattutto per la drepanocitosi, senza dimenticare l'obiettivo imminente di portare a conclusione la vicenda rinnovi patenti di guida per i nostri pazienti dove Site ed United si sono in sinergia mosse da oltre due anni.

### **Dott.ssa Stefania Vaglio - Centro Nazionale Sangue**

Grande entusiasmo nel mostrare un filmato in anteprima, senza audio, ma ben spiegato ai presenti dalla dr.ssa Vaglio, vengono ben stressate tutte le fasi di raccolta, lavorazione degli emocomponenti fino alla somministrazione al letto del paziente. L'emocomponente viene tracciato sin dal prelievo dal donatore, gruppi sanguigni contenitori con le sostanze presenti nelle sacche come primo involucro per passare al secondo contenitore per poi passare nelle fasi di trasporto con il terzo contenitore, le etichette, le fasi di validazioni, gli esami sierologici, tutte le fasi del trasporto, il braccialetto identificativo del paziente, le doppie prove di compatibilità alla prima terapia trasfusionale. Il filmato mostrato deve ulteriormente essere perfezionato, cercando di mantenere le sole fasi principalmente importanti per i politrasfusi, per far comprendere al paziente con quanta attenzione ogni emocomponente viene preparato, quanto lavoro vi è dietro una semplice trasfusione, che mai dobbiamo dimenticare che si tratta pur sempre di una terapia salvavita e simile ad un trapianto di organo, l'appropriatezza dei regimi di cura per le trasfusioni, e quanto sia importante la supervisione ed attenzione massima del paziente stesso su ogni sacca che deve trasfondere.

### **Sezione I Terapia Trasfusionale**

#### **Dott.ssa Lorella Pitrolo - V.Cervello Palermo**

La dott.ssa Pitrolo elenca in modo schematico perché è importante saper ben fare la terapia trasfusionale per il paziente talassemico:

- L'emotrasfusione continua ad essere fino ad oggi il presidio fondamentale nella cura della talassemia
- Rappresenta una "scelta obbligata" che consente la sopravvivenza dei pazienti
- Non rappresenta una terapia "sostitutiva" per ridurre lo stato anemico
- Agisce modificando i meccanismi patogenetici responsabili delle manifestazioni cliniche

L'alterato rapporto tra catene alfa e catene beta, determinato dal difetto genetico, determina una eritropoiesi inefficace causativo dello stato anemico ed ipossico del paziente. L'anemia a sua volta attiva dei processi cellulari (Jak2/Stat5 and R-Smad pathways) responsabili della alterata proliferazione e differenziazione dei progenitori eritroidi che contribuiscono ad esacerbare l'eritropoiesi inefficace. Ci sono studi che dimostrano come inibitori di jak2 siano in grado di interrompere questo ciclo vizioso, allo stesso modo agiscono alcuni farmaci in sperimentazione come ACE-011 e ACE-536.

In attesa comunque di dati certa sull'efficacia di questi farmaci sperimentali, la terapia trasfusionale rimane la terapia fondamentale. E' necessario mantenere un intervallo regolare che può variare tra 2 e 5 settimane per ottenere il mantenimento di una Hb pretrasfusionale compresa tra 9 e 10,5 g/dl e di una Hb post-trasfusionale mai superiore a 14 g/dl.

L'emocomponente da transfondere è ben descritto nelle raccomandazioni site-simili

- CE di età' <10 gg dal prelievo
- Concentrato Hb > 56 gr/unità
- Leucodeplezione < 100.000 per Unità
- Basso contenuto di citochine (filtrazione pre-storage)
- Contenuto proteico a 0,5 gr/unità (per i pazienti allergici alle proteine plasmatiche emazie lavate manualmente o in automatico)

Le caratteristiche ideali sono riportate nella tabella:

Tabella III: Raccomandazioni per la scelta del concentrato eritrocitario

1.	<b>utilizzare concentrato eritrocitario leucodepleto</b> ottenuto secondo una delle seguenti modalità di produzione:
	concentrato eritrocitario da aferesi
	concentrato eritrocitario ottenuto da filtrazione in linea pre-storage del sangue intero, successiva centrifugazione e rimozione del plasma
	concentrato eritrocitario ottenuto con filtrazione in linea (pre-storage)
2.	<b>utilizzare un concentrato eritrocitario con durata di conservazione &lt; 14 giorni.</b> Nei casi di anemizzazione acuta, in particolare per le sindromi falcemiche, utilizzare concentrati eritrocitari con durata di conservazione possibilmente < 7 giorni
3.	<b>Mantenere l'unità di concentrato eritrocitario nella sua integrità,</b> senza effettuare manipolazione (concentrazione) finalizzata alla concentrazione emoglobinica
4.	<b>Mantenere il concentrato eritrocitario nella sua integrità,</b> senza effettuare lavaggio delle emazie, a meno che non ci si trovi in uno dei casi descritti oltre, al punto e) In caso si renda indispensabile procedere a lavaggio delle emazie, utilizzare <b>modalità automatizzata, a circuito chiuso</b>
5.	<b>non utilizzare unità irradiate</b> a meno che il paziente non sia un candidato a trapianto allogenico di cellule staminali emopoietiche

La quantità di sangue da transfondere dipende da molti fattori tra cui:

- il peso del paziente
- il valore di Hb che si vuole raggiungere
- Ht della sacca
- Età del paziente
- complicanze
- Volume: non superiore ai 10/15 ml/kg, nei cardiopatici 5ml/kg.

Il tempo ideale di trasfusione della singola unità di globuli rossi concentrati: non superiore ai 50 minuti. La tabella riportata permette di fare un calcolo della quantità di sangue da transfondere per avere un certo incremento di Hb.

Incremento desiderato del livello di emoglobina	Ematocrito dell'unità di sangue				
		50%	60%	75%	80%
	1 g/dl	4,2 ml/Kg	3,5 ml/Kg	2,8 ml/Kg	2,6 ml/Kg
2 g/dl	8,4 ml/Kg	7,0 ml/Kg	5,6 ml/Kg	5,2 ml/Kg	
3 g/dl	12,6 ml/Kg	10,5 ml/Kg	8,4 ml/Kg	7,8 ml/Kg	
4 g/dl	16,8 ml/Kg	14,0 ml/Kg	11,2 ml/Kg	10,4 ml/Kg	

Per esempio, per aumentare il livello di emoglobina di 4 g/dl in un paziente che pesa 40kg e che riceve sangue in AS-1 con ematocrito 60% sono necessari 560 ml di sangue. Questo calcolo considera un volume ematico di 70 ml/kg di peso corporeo.

Tabella 4: Linee guida per calcolare quanto sangue trasfondere

Un altro aspetto molto importante è la sicurezza della trasfusione all'atto dell'identificazione emocomponente-paziente. Infatti oltre ad essere registrata la richiesta e l'assegnazione della sacca al paziente in dispositivi come la cartella elettronica ora è anche necessario il riconoscimento del paziente mediante bracciale che può essere anche elettronico.

Alla terapia trasfusionale è strettamente legata la terapia chelante in quanto una unità di sangue può contenere 200 mg di ferro e in genere per mantenere una Hb di 12 g/dl sono necessari 100-200 mL/kg/anno di eritrociti puri portando all'introduzione di 0.3-0.5 mg/Kg/giorno di ferro. Si è visto come la terapia chelante aumenti fortemente la sopravvivenza del paziente.

Ci sono diversi studi in atto per migliorare la terapia trasfusionale, avveniristico è sicuramente lo studio in cui alcuni ricercatori hanno generato a partire da cellule staminali adulte, bloccate in uno stadio iniziale di maturazione, una linea cellulare permanente, chiamata Bristol Erytroid line Adult (BEL-A) che è in grado di produrre reticolociti maturi con una sopravvivenza simile ai globuli rossi provenienti dai donatori. Ci vorrà molto tempo perché diventi d'uso quotidiano, ad oggi l'unico modo per ottenere il sangue da trasfondere è la donazione volontaria.

#### Dott. Roberto Reverberi - Ferrara

Il dott. Reverberi incentra la sua presentazione sulle caratteristiche dell'emocomponente ideale: che deve avere potenza terapeutica e tollerabilità. La potenza terapeutica dipende dalla quantità dei GR, dalla vitalità e dalla capacità funzionale, mentre per tollerabilità indica che l'assenza di reazioni trasfusionali in genere, scarso accumulo di Ferro, non dia malattie trasmissibili e immunizzazioni. L'efficacia della trasfusione dipende inoltre dalle differenze dell'emocomponente, ma anche dalle differenze legate al ricevente. Le differenze dell'emocomponente dipende dal donatore (hb al momento della donazione, sopravvivenza in vivo dei globuli rossi), dalla raccolta della donazione (volume, tipologia di donazione), dalla metodologia di lavorazione e conservazione (leucodeplezione, irradiazione, tempo di conservazione). Le differenze legate al ricevente sono: volume ematico, emorragia in atto, stato emolitico, ipersplenismo. L'emocomponente da trasfondere a differenza dei farmaci prodotti in maniera standardizzata risente di numerose variabili che non permettono di ottenere un prodotto uguale per tutti, infatti nelle sacche il contenuto di hb permessa dalle soglie di legge può variare notevolmente dal 50 al 100% determinando una notevole potenza terapeutica; questa differenza così come può notevolmente modificare il contenuto di G.R una lavorazione che comprenda lo strato leucopiastrinico rispetto a quella che lo rimuove.

Si è visto inoltre che la vitalità dei GR cala notevolmente dopo i primi giorni successivi alla trasfusione per poi assestarsi ed avere una durata pari a quelli normali. Tutti i conservanti a disposizione danno gli stessi effetti sulla vitalità. La capacità funzionale invece è la capacità di trasportare efficacemente l'ossigeno ai tessuti e scambiarla con l'anidride carbonica: nei pazienti trasfusione dipendenti sembra esserci un difetto funzionale del trasporto che non sembra essere dovuto al prelievo o alla conservazione dei GR, ma probabilmente all'età elevata dei GR circolanti.

La tollerabilità della trasfusione si raggiunge per leucodeplezione, lavaggio, irradiazione (Gamma o X), inattivazione dei patogeni o tipizzazione estesa; è necessario però valutare anche l'impatto sulla potenza terapeutica, gli effetti collaterali, l'impegno organizzativo e il costo economico.

Il trattamento più innovativo rispetto agli altri è il trattamento con alcune sostanze (Mirasol, Intercept) in grado di inattivare i patogeni presenti nella sacca modificando in modo irreparabile il loro DNA. Nei trials effettuati sembrano promettenti perché inattivano numerosissimi agenti infettivi anche

quelli emergenti, inattivano anche i globuli bianchi anche se mostrano degli svantaggi, non agiscono su prioni, spore batteriche, virus senza pericapside e in concentrazioni batteriche elevate. Inoltre il trattamento indurrebbe una diminuzione della vitalità dei GR, un aumento dell'immunizzazione. Sembrerebbe quindi che questi agenti non siano utilizzabili comunemente nella pratica immunoematologica e trasfusionale, ma bensì di impiego in casi di emergenza in cui non è possibile avvalersi di altre metodologie (esami sierologici di routine).

In conclusione, qual è la strategia giusta? Ottenere la massima purezza o la minima manipolazione? L'importante è fare attenzione alla potenza terapeutica, valutare ogni manipolazione in relazione al paziente quasi da ottenere quella che viene definita la trasfusione personalizzata.

## **Sezione II Terapia Chelante**

### **Dott. Giovanni Del Vecchio – Bari**

Il Dott. Del Vecchio sottolinea come sia partito dalle domande poste dagli studenti per sviluppare la Sua presentazione ed espone gli obiettivi del Suo intervento: soddisfare le aspettative, proporre l'acquisizione di strumenti generali di valutazione e miglioramento delle conoscenze e delle cure e infine promuovere insieme la salute e la guarigione dei soggetti affetti da emoglobinopatia.

Inizia ad illustrare la terapia chelante, rivolta a soggetti con sovraccarico di ferro da trattamento trasfusionale cronico, il cui scopo principale è prevenire/revertire comorbidità legate al sovraccarico di ferro e aumentare l'aspettativa di vita.

L'obiettivo della chelazione è garantire una presenza "safe" di ferro. Un ruolo fondamentale è svolto dagli indicatori, evitando eccessi di chelazione con minimi effetti collaterali.

Il Dott. Del Vecchio mostra le curve di sopravvivenza per evidenziare come l'introduzione del primo chelante, la deferoxamina, abbia determinato un'inversione di trend. Di seguito ha approfondito gli indicatori, variabile misurabile utilizzata per descrivere un fenomeno significativo e per misurare il cambiamento, per la stima del sovraccarico di ferro- bilancio trasfusionale, ferritina, saturazione transferrina, NTBI, LPI, LIC, SQUID, MRI (R2 R2\* T2 T2\* / cuore, fegato, pancreas, ipofisi-, i monitoraggi di sicurezza dei tre chelanti attualmente in commercio, le indicazioni, il loro metabolismo e la terapia combinata.

Ha dedicato parte del suo intervento a descrivere le fasi di una sperimentazione pre-clinica e clinica (Fase I, II, III), tenendo presente che non tutte le sperimentazioni hanno lo stesso livello di evidenza, in quanto esistono 5 livelli di evidenza che dipendono da come uno studio è disegnato.

Nel disegno degli studi clinici, in Europa, USA e Canada, un ruolo sempre più importante è svolto dai pazienti esperti - esperto evidenza, oltre un aspetto esperienziale, soprattutto un aspetto accademico attraverso il quale il paziente matura una serie di conoscenze e competenze diverse - attraverso gli YPAG, Young persons advisory group.

Gli studi clinici, anche successivi all'immissione in commercio del farmaco, sono utili per aumentare la conoscenza. Con questo intento è nato il progetto Deep, Deferiprone evaluation in paediatrics, per valutare la non-inferiorità del DFP (Deferiprone) in confronto al DFX (Deferoxamina), in termini di modifica dei livelli di ferritina e concentrazione cardiaca di ferro nella popolazione pediatrica affetta da emoglobinopatie ereditarie che richiedono un regime trasfusionale ed una terapia chelante cronici.

I pazienti sono stakeholder assieme ai medici, alle case farmaceutiche e all'amministrazione pubblica. L'interazione in ambito sanitario di tutti questi soggetti portatori d'interessi ha portato negli anni la migliore cura possibile al paziente talassemico.

L'intervento si è concluso disquisendo della rilevanza dei traguardi sino a ora raggiunti e del ruolo fondamentale del paziente esperto. Il paziente oggi vuole sempre maggiore libertà di scelta, maggiore partecipazione nelle decisioni terapeutiche e maggiore consapevolezza delle proprie responsabilità.

### **Dott. Paolo Rigano- V. Cervello Palermo**

Il dott Rigano fa un excursus sui chelanti a disposizione attualmente per l'eliminazione del ferro nei pazienti emoglobinopatici indicando come questi siano stati di grande impatto sulla sopravvivenza dei pazienti. La necessità oggi della ricerca sui chelanti è quella di migliorare sempre di più la compliance del paziente. In quest'ottica è stata ideata la nuova formulazione del deferasirox che attualmente è in distribuzione da Novartis. Le compresse contengono lo stesso principio attivo, la somministrazione sarà più semplice in quanto si potranno assumere a digiuno o con un pasto leggero una volta al giorno e non conterranno lattosio. Negli studi di farmaco cinetica si evidenzia come il farmaco in questa formulazione sia biodisponibile del 30% in più rispetto alla vecchia formulazione dato che ha portato a far produrre compresse di un taglio ridotto del 30%, quindi 90 mg al posto di 125 mg, 180 al posto di 250 mg e 360 mg al posto di 500 mg.

Il dosaggio verrà come al solito individuato in base al carico di ferro introdotto, alla ferritina e depositi del paziente, tollerabilità e risposta al trattamento.

Per l'immissione in commercio della nuova formulazione è stato effettuato un trial clinico (Eclipse) che ha valutato sicurezza e tollerabilità del farmaco oltre che compliance e impatto sul paziente. Si è notato una leggera diminuzione degli effetti avversi più comuni come nausea, diarrea, costipazione e una diminuzione consistente degli effetti più gravi. Il leggero aumento del rapporto creatinuria/proteinuria osservato potrebbe essere dovuto all'elevato dosaggio con cui sono stati trattati i pazienti, si evidenzia quindi come i dosaggi attuali di trattamento con la vecchia formulazione potranno essere ritoccati al ribasso ottenendo gli stessi goal terapeutici.

La compliance al trattamento con la nuova formulazione è stata inoltre significativamente maggiore, dato che promuove sicuramente una maggiore aderenza e un miglior risultato nella ferro-chelazione.

### **Sezione III Rimborso Farmaci**

#### **Dott. Alessandro Oteri- Farmaceutica Regione Sicilia**

Il dott. Oteri ci indica le competenze di AIFA e Regione sull'accessibilità e rimborso dei farmaci.

Ad AIFA compete:

- Classificazione per la prescrizione
- Condizioni di rimborso
- Prezzo massimo di acquisto
- Condizioni ulteriori di accesso (specifici accordi negoziali)
- Equivalenza terapeutica (su richiesta regionale)

Alle regioni compete:

- Ticket
- Prontuari
- Acquisti
- Governo delle prescrizioni e appropriatezza
- Finanziamento farmaci ad alto costo, File F (e simili)

Si evidenziano inoltre quelli che sono i criteri utilizzati per la contrattazione del prezzo in AIFA: Target and place in therapy, Valore terapeutico aggiunto, Costo dei prodotti comparatori, Impatto sul mercato farmaceutico (spesa aggiuntiva/sostituzione di prodotti già presenti sul mercato), Prezzi in altri paesi.

In Italia gli accordi di rimborso condizionato sono dati dai tetti di spesa, accordi prezzo/volume, payment by result, Capping per paziente, sconti su primi cicli di terapia ed eventuali sconti nascosti. Per quanto riguarda la regione Sicilia, l'accesso ai farmaci è regolamentata da una commissione apposita (PTORS), essa ogni qualvolta viene presentata istanza di inserimento di un farmaco valuta in modo autonomo il suo inserimento in base alla reale efficacia che esso potrebbe apportare al paziente. La regione deve inoltre tenere presente che la spesa sanitaria non può essere maggiore rispetto ad un tetto fissato che rappresenta in genere una percentuale calcolata sul FSR (fondo

sanitario regionale); frequentemente questo tetto viene sfornato, e la regione deve apporre delle restrizioni per rientrare.

Attualmente la regione Sicilia per mantenere la spesa sanitaria sta:

- ✓ incentivando l'uso di **farmaci a brevetto scaduto**
- ✓ incentivando il ricorso a **farmaci biosimilari (DA. 540/14)**
- ✓ **Migliorare l'appropriatezza d'uso** per aree terapeutiche ad elevato impatto in termini di spesa farmaceutica (**DA. 522/16** "Soglie prescrittive")
- ✓ **Provvedimenti mirati** su specifici medicinali (es. statine, antibiotici...)
- ✓ **Revisione dei centri prescrittori (DA. 314/16** "Approvazione linee guida regionali per l'individuazione dei Centri specializzati alla formulazione della diagnosi e alla prescrizione dei medicinali")

Nella seconda parte si dà uno sguardo alla modalità di approvvigionamento di farmaci innovativi: in regione Sicilia vi è una procedura (Fast Track) che permette a questi farmaci di essere valutati in commissione PTORS molto velocemente questo è inoltre permesso da una legge di bilancio che stanziava un fondo destinato all'acquisizione di tali farmaci che possono portare innovatività con ricaduta sul piano clinico del paziente.

#### **Sezione IV Anemia Falciforme**

##### **Dott. Roberto Lisi – Garibaldi Catania**

A.F. è una patologia complessa e insidiosa. Ha carattere multidisciplinare, perché gli esiti della malattia non si esauriscono nelle crisi vaso occlusive e basta, ma la falcizzazione crea un danno tissutale permanente. Il cosiddetto danno d'organo.

Da qui il carattere multidisciplinare. Ogni organo o apparato ne è interessato.

Al momento le cure disponibili e sufficientemente efficaci, ma non risolutive, sono essenzialmente due:

- Oncocarbide (idrossiurea)
- Terapia trasfusionale

L'Oncocarbide agisce sull'emoglobina fetale innalzandola e creando un effetto protettivo e preventivo delle crisi vaso occlusive

La terapia trasfusionale invece agisce sull'emoglobina patologica HbS riducendone la quantità portando detto valore intorno al 30% e comunque sotto il 40/50%. La terapia trasfusionale eletta è l'eritroexchange. Tale procedura a differenza della tradizionale trasfusione risulta più efficace e riduce inoltre notevolmente l'accumulo di ferritina.

La malattia ha manifestazioni e sintomi che variano dai più lievi e gestibili (comunque invalidanti) alle forme più severe.

Sintomi:

- Crisi vaso occlusive a carico del sistema scheletrico e muscolare.
- Sindrome polmonare acuta
- Priapismo
- Infarti polmonari, cardiaci e cerebrali.
- Strock

Il dottore ho poi chiarito come è possibile prevenire tali manifestazioni.

Certamente con un sano stile di vita. Evitare eccessivo stress fisico ed emotivo, fatica, troppo caldo, troppo freddo, escursioni in alta montagna e tutte quelle condizioni che potrebbero innescare bassa tensione d'ossigeno.

In atto la terapia genica, anche se ha fatto grandi progressi e ha ottime prospettive, non è certo risolutiva.

## **Dott. Carmelo Fidone - Ragusa**

La conseguenza delle crisi vaso occlusive nella drepanocitosi è il dolore; dolore che rappresenta l'incubo del paziente con drepanocitosi; dolore che è sempre reale e indipendentemente dalla sede dell'infarto si diffonde in tutto il corpo.

Gli eventi che scatenano le crisi sono: processi infettivi, il freddo ed il troppo caldo, la disidratazione, l'intensa fatica fisica, le apnee prolungate in acqua, il soggiorno ad alta quota ecc.

Una condotta di vita igienica associata ad un programma vaccinale e ad una profilassi antibiotica, può aiutare a prevenire la vasoocclusione.

L'assunzione di idrossiurea (oncocarbide) aumentando la sintesi della HbF, stimolando la produzione diossido nitrico che ha effetto vasodilatatore, riducendo la cellularità del midollo, ha una funzione per prevenire la falcizzazione e la vasoocclusione.

Il drepanocitico deve comunque affrontare il dolore da vasoocclusione. Ci sono delle scale che i sanitari usano per quantificare il dolore; la scala Wrog- Baker o delle faccine, per i più piccoli, la scala VAS o numerica per gli adulti.

La terapia da attuare durante una crisi si basa su: idratazione, analgesia, profilassi antibiotica, somministrazione di ossigeno, terapia trasfusionale mediante trasfusione semplice o mediante eritroexchange. Il trattamento nelle crisi drepanocitiche va instaurato il più presto possibile dall'inizio (entro 30 min) ed ha come obiettivo la riduzione del punteggio VAS del 30% nelle prime due ore.

Le crisi con VAS 0-5 (lieve – medio possono essere gestite a domicilio, mentre quelle con VAS superiore hanno necessità di ospedalizzazione specialmente se oltre al dolore severo è presente interessamento dell'apparato respiratorio, cardio –circolatorio, neurologico (codice rosso al pronto soccorso).

La SITE ha redatto i protocolli di terapia della drepanocitosi che sono consultabili sul sito [www.site-italia.org](http://www.site-italia.org)

## **Sezione V Terapia Genica**

### **Dott.ssa Santina Acuto- Centro ricerca P. Cutino- Palermo**

Tra le terapie che sono correnti, nella guarigione verso la Talassemia viene annoverata anche la TERAPIA GENICA che avviene con la correzione delle cellule staminali ematopoietiche (cellule in grado di generare per tutta la vita le cellule del sangue, cellule rosse comprese) con un sistema che si è rivelato essere il più efficace, l'infezione basata sul virus dell'HIV.

Si parla da tanti anni di terapia genica ma i requisiti che permetteranno di avere un successo completo si otterranno dopo aver superato quelli che sono le difficoltà che si riscontrano ancora oggi in laboratorio. Una di queste, si riscontra nella cinetica della formazione delle cellule rosse, ovvero nel trovare qualcosa che sia in grado di portare dentro la cellula staminale un gene funzionante e che si esprima nelle cellule rosse aventi due peculiarità:

- Sistema che abbia la capacità di una produzione di cellule rosse di 10 alla 24 (abbiamo una produzione di 2 e 4 milioni al secondo e in termini di emoglobina per cellula sono 270 milioni al secondo).
- Duri nel tempo.

Ad oggi vi sono nuovi trial che utilizzano il vettore dell'HIV. Sono vettori più sicuri e in nessuno di esso sono stati verificati casi di "oncogenesi dovuta a sequenza del vettore".

In laboratorio, il virus viene rielaborato trasformandolo in vettore secondo queste procedure:

- Rimozione dei geni accessori e patogeni;
- 4 sequenze vengono delete e sostituite;
- Si trattiene una sola sequenza che serve ad "impacchettare" e a costruire;
- Viene aggiunto il gene terapeutico, creando spazio.

Sviluppati una trentina di vettori, leggermente diversi tra di loro, i trials che sono entrati in clinica dal 2000 ad oggi sono i seguenti:

- Marina Cavazzara, INSERM, Paris Francia;
- BlueBird Bio, Multicenters;

- Michel Sadelain, MSKCC, New York, Us;
- Giuliana Ferrari SRH, Milan; Eu;
- Punam Malik, Cincinnati, US;
- Donald Kohn, Los Angeles, US.

In fase sperimentale, il meccanismo della terapia genica consiste in:

- Prendere le cellule staminali dal midollo osseo o mobilitarle (convincerle ad uscire dal midollo osseo e andare nel sangue) attraverso la raccolta aferetica;
- Immunoselezionarle;
- Prestimolarle affinché si rendano permissive all'entrata del virus;
- Inserire una preparazione virale concentrata;
- Effettuare una mieloablazione (creare spazio) togliendo le cellule con il difetto genetico e permettere alle cellule staminali di riprodursi.
- Introduzione del vettore che va a lavorare nel DNA della cellula.

Oltre a provar a correggere la Talassemia Beta, in laboratorio si attuano diverse strategie per correggere l'Anemia Falciforme. Dagli studi effettuati si è evidenziato che mentre per la prima vi sono una serie di pannelli di difetti da correggere, per l'ultima ve ne è solo uno, in quanto la beta viene prodotta ma in maniera errata. Si cerca di capire quale strada intraprendere, se aggiungere il gene beta che contrasta gli eventi della Beta S (GENOME ADDICTION), o aggiungere il gene con la produzione dell'emoglobina fetale, in quanto un falcemico non ha la falcemia prima della nascita né in età neonatale (GENOME EDITING).

Per la Genome Addiction vi sono tre trial in fase sperimentale, di cui due sono ancora in corso, mentre per il terzo, il trial francese, sono stati pubblicati i dati il 2 Marzo del 2017 sul caso di un paziente che da una grave anemia falciforme e diverse crisi avverse, dopo 15 mesi dalla fase sperimentale, non ha più avuto nessun bisogno di trattamento in quanto i suoi parametri ematologici erano paragonati a quelli della madre, ovvero di un portatore.

Nella Genoma Editing uno dei sistemi utilizzati è il CRIS CASP 9. Avendo scoperto recentemente che i batteri hanno un sistema immunitario (sviluppo di enzimi che riconoscono il virus, riarrangiandolo), si è sfruttato questo sistema per creare degli enzimi edificanti del genoma in maniera più efficiente. Attualmente viene sperimentato sui pazienti con virus da HIV, modificando il recettore del virus per non farli più reinfectare. La difficoltà che in laboratorio si riscontra maggiormente nel successo di questa fase è nel far entrare questi enzimi, ma una volta trovata la chiave d'accesso si prevede una correzione totale del difetto.

In Francia la terapia sulla Talassemia Beta è stata provata su tre pazienti, di cui due sono stati un fallimento per uno scarso trasferimento genico e uno solo è passato da trasfusione dipendente a trasfusione indipendente.

La bluebird bio ha acquistato il vettore della prima fase sperimentale (anno 2000), ripulendolo e attuando dei protocolli che sono segreti e di cui ancora oggi non si hanno notizie certe.

Si attendono notizie per gli altri trial di cui ancora non sono stati pubblicizzati sulla gazzetta ufficiale. Attualmente nessuna fase sperimentale è stata dichiarata un successo e la strada da percorrere è ancora lunga ma le idee verso la guarigione sono positive in quanto la terapia genica sta facendo passi da gigante arrivando anche a pensare in una prospettiva molto futura che si potranno prelevare delle cellule epiteliali per poi arrangerle in laboratorio creando dei vettori in grado di correggere la cellula staminale ematopoietica.

## Con il patrocinio...

