

Notiziario

dell'Istituto Superiore di Sanità

Direttore reggente dell'Istituto Superiore di Sanità e Responsabile scientifico: Aurelia Sargentini

Direttore responsabile: Vilma Alberani; Redazione: Gabriella Bucossi, Paola De Castro Pietrangeli, Franco Timitilli

Composizione, Stampa e Distribuzione: Patrizia Mochi, Massimo Corbo

Redazione, Amministrazione e Stampa: Istituto Superiore di Sanità, Servizio per le attività editoriali, Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma
Tel. (06) 49901 - Telex 610071 ISTSAN I - Teleg. ISTISAN - 00161 Roma - Telefax (06) 49387118 - <http://www.iss.it/iss/sae/notiziar.htm>

Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988. Registro Stampa Tribunale di Roma
© Istituto Superiore di Sanità 1997 - Numero chiuso in redazione il 15 aprile 1997

Linee guida per l'avvio degli studi clinici di fase I/II con cellule umane viventi per la terapia cellulare somatica

La Commissione per l'accertamento della composizione ed innocuità dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo, istituita presso l'Istituto Superiore di Sanità per adempiere alle attività dell'Istituto previste dall'art. 1, comma c, del DPR n. 754 del 21 settembre 1994, ha sentito la necessità di elaborare linee guida sulla documentazione che il proponente dovrà presentare per la valutazione delle richieste di autorizzazione ad iniziare in Italia sperimentazioni cliniche di fase I e I/II per protocolli di terapia cellulare.

La proposta qui presentata è stata elaborata da un gruppo di esperti ad hoc individuato nell'ambito dell'Istituto Superiore di Sanità (M. Cianfriglia, Laboratorio di Immunologia; M.C. Galli e G. Migliaccio, Laboratorio di Biologia cellulare; A. Carè e U. Testa,

Laboratorio di Ematologia ed Oncologia; E. Proietti, Laboratorio di Virologia) ed è stata approvata dalla Commissione nella seduta dell'11 ottobre 1996.

Nel redigere queste linee guida, il gruppo di esperti ha tenuto in considerazione le analoghe raccomandazioni contenute nei documenti "Points to consider in human somatic cell and gene therapy" (1991) e "Guidance on application for products comprised of living autologous cells manipulated ex vivo and intended for structural repair or reconstitution" (1996) della Food and Drug Administration statunitense. Le indicazioni contenute in questi documenti sono state opportunamente adattate al caso di prodotti che non hanno raggiunto lo stadio di autorizzazione alla commercializzazione.

La Commissione desidera ora raccogliere l'opinione e i commenti

del mondo scientifico italiano interessato agli aspetti oggetto delle linee guida proposte.

Si prega di inviare, nel termine di due mesi dalla data di questa pubblicazione, commenti ed osservazioni al Coordinatore del gruppo di esperti dell'Istituto, Prof. Marino Massotti, Segreteria della Commissione di "Commac", Laboratorio di Farmacologia, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma (fax 06-49387104).

I. Premessa

Le indicazioni fornite in questo documento rappresentano una serie di linee guida di riferimento per coloro che intendono utilizzare cellule somatiche umane per scopi terapeutici, diagnostici e profilattici.

Le norme qui descritte saranno applicate nella valutazione degli studi clinici di fase I/II dove cellule somatiche umane di qualsiasi tipo e derivazione vengono manipolate per essere somministrate in pazienti.

La manipolazione di cellule umane per veicolare prodotti genici con intenti terapeutici, diagnostici e profilattici deve aderire alle norme descritte in "Documentazione richiesta per l'avvio degli studi clinici con prodotti per terapia genica: proposta di linee guida e richiesta di commenti" (*Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità*, Vol. 9, N. 10, ottobre 1996).

I.A - Considerazioni generali

I prodotti biologici sono spesso costituiti da diverse

componenti che, soprattutto nel caso di cellule viventi, difficilmente possono essere definite in modo completo. Pertanto risulta necessario un rigoroso controllo di qualità sia del processo sia del prodotto finale, allo scopo di prevenire la contaminazione con agenti infettivi e avventizi e/o l'introduzione nel prodotto finale di cambiamenti delle sue proprietà biologiche che passino inosservati.

Nei paragrafi che seguono sono elencati i requisiti che devono possedere, prima della sperimentazione clinica, sia la popolazione cellulare che verrà somministrata al paziente sia il procedimento seguito per ottenerla.

Dato il continuo sviluppo delle conoscenze scientifiche e la crescita delle potenzialità applicative delle cellule somatiche, è possibile che le norme qui descritte subiscano aggiornamenti e modificazioni. Inoltre, per le stesse ragioni la valutazione preliminare all'autorizzazione della sperimentazione clinica potrà richiedere documentazione diversa caso per caso, contenente sempre le seguenti informazioni:

1. Presupposti ed obiettivi della sperimentazione clinica.
2. Caratterizzazione della popolazione cellulare d'interesse.
3. Procedure utilizzate per la manipolazione delle cellule.

4. Allestimento e conservazione delle banche cellulari.

5. Caratterizzazione della popolazione cellulare finale (o prodotto finale).

6. Controllo sui lotti del prodotto finale.

7. Documentazione preclinica della tollerabilità e innocuità del prodotto finale.

8. Documentazione preclinica dell'efficacia del prodotto finale.

In aggiunta a quanto specificato nelle presenti linee guida, per tutto ciò che riguarda altre informazioni da presentare e il formato da seguire per la compilazione della domanda di autorizzazione (i.e., protocollo clinico, qualificazione del personale coinvolto, consenso informato, relazione annuale, periodo di validità dell'autorizzazione, ecc.) si rimanda per gli aspetti comuni a quanto specificato nelle norme descritte in "Documentazione richiesta per l'avvio degli studi clinici con prodotti per terapia genica: proposta di linee guida e richiesta di commenti" (*Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità*, Vol. 9, N. 10, ottobre 1996).

I.B - Definizione di terapia cellulare somatica

Per terapia cellulare somatica si intende la somministrazione nell'uomo per scopi terapeutici, diagnostici e profilattici di cellule umane viventi

sia autologhe sia eterologhe che hanno subito qualsiasi tipo di manipolazione *ex vivo* (i.e., propagazione *in vitro*, modificazione fenotipica, selezione di sottopopolazioni specifiche, ecc.).

Per prodotto terapeutico o prodotto finale si intende la popolazione cellulare, così come verrà somministrata al paziente, insieme a qualunque materiale eventualmente presente con funzione di supporto per l'impianto, l'incapsulamento, ecc.

I.C - Scopo e campo di applicazione

Le norme descritte in questo documento debbono essere applicate:

1. A cellule somatiche umane autologhe ed eterologhe, che siano state crioconservate prima di essere somministrate nel paziente senza che abbiano subito ulteriori manipolazioni.

2. A cellule somatiche umane autologhe ed eterologhe che siano state purificate, selezionate e/o propagate in coltura sia in assenza che in presenza di sostanze aggiuntive; queste includono qualsiasi tipo di fattore biologico, o reagente utilizzato per la propagazione, la modificazione fenotipica e la selezione di ogni tipo cellulare.

3. A tessuti umani conservati sotto forma di banche tissutali; queste sono definite co-

me raccolta di un tessuto derivato dal corpo umano, che venga poi somministrato ad un altro essere umano per la diagnosi, cura o prevenzione di qualsiasi condizione patologica. Sono esclusi da questa terapia tessuti quale quello renale, epatico, cardiaco, polmonare e pancreatico ed ogni altro tipo di tessuto vascolarizzato nonché il liquido seminale e altri tessuti del sistema riproduttivo.

Le norme descritte in questo documento non si applicano: a) ai trapianti di midollo osseo *in toto*; b) alle procedure di trasfusione di sangue *in toto* o dei suoi componenti cellulari che ricadono sotto le predisposizioni del DL 107 del 4 maggio 1990, che regola le norme sulle trasfusioni; c) ai trapianti di sangue del cordone ombelicale *in toto*, che sono regolamentati dalle norme descritte nell'apposita linea guida.

II. Caratterizzazione della popolazione cellulare d'interesse

Le popolazioni cellulari che vengono utilizzate ai fini della terapia cellulare somatica dovranno essere corredate dalle seguenti informazioni sulla:

1. Derivazione: autologa (cellule derivate da tessuti dello stesso soggetto nel quale dovranno essere reintrodotte) o eterologa (cellule derivate da tessuti di uno o più soggetti diversi dal paziente).

2. Origine tissutale. Questa dovrà essere eventualmente confermata attraverso osservazioni istologiche ed espressione di determinanti che caratterizzano il fenotipo cellulare.

3. Criteri di selezione del donatore. Età, sesso, e stato di salute del o dei donatori.

Sui donatori di cellule eterologhe dovranno essere effettuati gli stessi controlli in uso per la donazione del sangue e i trapianti d'organo che comprendono la tipizzazione del gruppo sanguigno e degli antigeni di istocompatibilità (HLA Classe I e II).

L'eventuale presenza nel donatore di infezioni virali come HIV-1, HIV-2, Epatite B, C, HTLV-1, o di altri agenti infettivi e patogeni è motivo di esclusione dell'individuo da ogni tipo di donazione di cellule somatiche.

Inoltre, la possibilità che la mescolanza di cellule eterologhe derivate da più donatori produca reazioni tali da alterare la funzionalità delle cellule nel prodotto finale dovrà essere attentamente valutata.

Tutte le procedure e le metodologie utilizzate per la selezione dei donatori e per la raccolta delle cellule dovranno essere descritte in maniera dettagliata.

II.A - Procedure utilizzate per le colture cellulari

1. Controllo sulla qualità delle metodiche utilizzate. Tutte le procedure utilizzate per la coltura

delle cellule *in vitro* devono essere effettuate in condizioni rigorosamente controllate e controllabili, in ambienti appositamente ed esclusivamente adibiti per la manipolazione e coltura di cellule. I materiali, le apparecchiature e le metodologie impegnate debbono rispondere a criteri di massima sicurezza.

2. Reagenti utilizzati nella manipolazione delle cellule. Tutti i reagenti utilizzati nella manipolazione e/o coltura delle cellule, compresi i terreni di coltura, sieri, fattori di crescita, citochine, anticorpi, ecc., devono rispondere a stretti criteri di qualità (identità, purezza, sterilità, attività biologica). Pertanto, per i reagenti non autorizzati all'uso nell'uomo, si dovrà presentare un certificato di qualità od una opportuna documentazione che attesti, per ogni lotto usato, identificazione del produttore e del lotto, data di produzione e di scadenza, composizione chimica, identità della sostanza, purezza, attività biologica, assenza di contaminazione da agenti avventizi (virus, batteri, funghi, micoplasmi) e livello di pirogeni.

In nessuna fase della manipolazione e/o della coltura delle cellule è consentito l'uso di penicilline o altri antibiotici beta-lattamici. L'uso di sostanze quali proteine eterologhe di siero o di gruppi sanguigni oppu-

re altri tipi di antibiotici e di antimicotici, tutti in grado di causare reazioni immunitarie, deve essere limitato alle prime fasi della manipolazione e/o della coltura. Queste sostanze devono essere comunque assenti dal prodotto finale (vedi punto II.C).

L'aggiunta di siero può essere il tramite di agenti infettivi; è quindi auspicabile, quando possibile, evitare questo componente in favore di terreni di coltura sintetici a composizione nota. In alternativa potrà essere utilizzato:

a) siero umano autologo, proveniente dallo stesso donatore delle cellule;

b) siero umano eterologo, proveniente da uno o più donatori sani diversi da quello da cui derivano le cellule somatiche. In questo caso i singoli donatori dovranno essere controllati in conformità con le norme che regolano le donazioni di sangue e di organi;

c) siero sintetico (miscela riproducibile di componenti definiti in grado di sostituire il siero); se del caso, questo deve possedere i requisiti sopra riportati per i reagenti non autorizzati all'uso sull'uomo.

Il siero umano deve essere sottoposto a procedure tali da garantirne la sicurezza d'uso.

L'uso di siero animale (per esempio, siero bovino) deve essere limitato ad eventi straordinari e debitamente giustificato.

3. Materiale plastico utilizzato per le colture cellulari. Tutto il materiale plastico utilizzato per le colture cellulari, incluso qualsiasi tipo di contenitore, pipette, provette, particelle sferiche, filtri, deve essere rigorosamente approvato per colture di tessuti, monouso, sterile, apirogeno, ed esente da contaminanti chimici, biologici e da agenti avventizi.

4. Presenza di agenti avventizi nelle colture cellulari. Nella documentazione dovranno essere dettagliatamente riportate tutte le prove che dimostrino che le cellule sono state manipolate e propagate in modo tale da ridurre al minimo il rischio di contaminazione da agenti avventizi. In particolare, le cellule devono essere sottoposte a controlli con una periodicità che dipende dalla durata del processo, dal tipo di coltura e dalle caratteristiche di crescita. Inoltre le cellule dovranno essere coltivate in condizioni controllate di umidità, temperatura e concentrazione di CO₂ in ambiente gassoso generata in appositi incubatori muniti di filtri d'aria e utilizzati esclusivamente per la coltura di cellule ad uso terapeutico.

5. Determinazione del fenotipo e della tipologia cellulare. Le cellule devono essere esaminate utilizzando saggi che consentano in modo inequivocabile di dimostrare il mantenimento

della loro identità durante la coltivazione *in vitro*. Barriere spaziali e temporali devono essere messe in atto per evitare potenziali contaminazioni con cellule diverse da quelle di interesse terapeutico, durante la preparazione di cellule che verranno successivamente somministrate nel paziente.

L'identità e la composizione della popolazione cellulare nelle varie fasi della manipolazione e/o della coltura devono essere determinate e dimostrate mediante un'appropriata serie di marcatori genotipici, fenotipici e funzionali, tanto più frequentemente ed estesamente quanto più prolungata è la coltura oppure maggiore è il numero di passaggi di manipolazione richiesti.

6. Saggi di funzionalità. Nei casi di coltura di cellule in grado di sintetizzare una o più molecole con attività terapeutica, dovranno essere eseguite determinazioni mirate a dimostrare il mantenimento qualitativo, quantitativo e funzionale delle molecole rilasciate. Inoltre dovranno essere fornite informazioni riguardanti il mantenimento nei tempi di coltura delle caratteristiche fenotipiche e funzionali delle colture primarie, delle linee cellulari stabilizzate e dei loro cloni derivati.

7. *Stabilità biologica delle cellule durante la coltura.* Durante la coltura le cellule devono essere periodicamente controllate per la stabilità genotipica, fenotipica e funzionale, come descritto nei paragrafi precedenti e con una periodicità che dipende dalla durata, dal tipo di coltura e dal tipo di cellule. I risultati di questi controlli periodici devono essere presentati, essendo parte della caratterizzazione della popolazione cellulare.

II.B - Allestimento e conservazione delle banche cellulari

Quando possibile, la popolazione cellulare, isolata e caratterizzata per genotipo, fenotipo, funzionalità biologica e purezza da agenti contaminanti endogeni ed esogeni, deve essere conservata sotto forma di banca cellulare, allo scopo di rendere possibile la ricostituzione delle popolazioni cellulari usate per la terapia cellulare somatica.

Il sistema di banche cellulari correntemente in uso è costituito da due parti, la banca primaria e la banca di lavoro da essa derivata.

La banca di cellule primaria o MCB viene definita come l'insieme di aliquote, uguali fra loro, nelle quali viene ripartita la popolazione cellulare, omogenea e caratterizzata per genotipo, fenotipo, funzionalità biologica e purezza, che è stata ottenuta per amplificazione *in vitro*

di un clone iniziale avente caratteristiche omogenee. La banca primaria va conservata in almeno tre diverse localizzazioni in vapori di azoto liquido in appositi contenitori criogenici.

La banca di lavoro o WCB viene definita come l'insieme di aliquote, uguali fra loro, nelle quali viene ripartita la popolazione cellulare, omogenea e caratterizzata per genotipo, funzionalità biologica e purezza, che è stata ottenuta da una singola aliquota (o eccezionalmente da più aliquote mescolate) della MCB per amplificazione *in vitro* fino ad un definito livello di passaggi.

In entrambe le banche cellulari le singole aliquote sono conservate tutte allo stesso modo e in condizioni tali da preservare la vitalità e la funzionalità. Le singole aliquote, una volta rimosse dalla banca, non possono esservi più reinserite.

Ogni WCB deve essere caratterizzata allo stesso livello di completezza della banca primaria almeno una volta. Da una aliquota (o eccezionalmente da più aliquote) della WCB inizia la produzione della popolazione cellulare che costituirà il prodotto della terapia cellulare somatica.

Tutta la metodologia e i distinti passaggi che portano alla costituzione della MCB e WCB devono essere dettagliatamente descritti e compren-

deranno almeno le seguenti informazioni:

1. Origine ed evoluzione delle cellule utilizzate per la costituzione della MCB e WCB.

2. Metodi utilizzati per congelamento e scongelamento con descrizione dettagliata, compresi certificati di qualità come al punto II.A (paragrafo 2) dei vari reagenti utilizzati nelle operazioni di congelamento e le procedure utilizzate per la loro rimozione.

3. Risultati dei saggi di vitalità, identità, sterilità e funzionalità eseguiti dopo ogni singolo scongelamento e periodicamente durante la coltura *in vitro*.

4. Risultati della periodica analisi delle aliquote delle banche cellulari che consenta di determinare la stabilità nel tempo della popolazione cellulare e la durata prevista della banca.

5. Criteri di accettazione di nuove banche.

6. Programma dei controlli periodici previsti.

II.C - Caratterizzazione della popolazione cellulare finale o prodotto finale

Il prodotto finale deve essere caratterizzato estesamente e in modo quantitativo, usando metodi convalidati, per i seguenti parametri: vitalità, identità, composizione, funzionalità della popolazione cellulare,

se del caso prima e dopo lo scongelamento, sterilità, assenza di agenti avventizi, assenza di pirogeni, livelli residui dei fattori di crescita, citochine, anticorpi, reagenti biologici usati per l'ottenimento della popolazione finale. Si sottolinea l'importanza di quest'ultimo tipo di controlli: non sempre infatti, la presenza di queste sostanze è desiderabile; è quindi importante stabilire un opportuno programma di controlli per dimostrare che il processo di ottenimento della popolazione finale è in grado di ridurre entro limiti accettabili il livello residuo di questi contaminanti.

Di tutti i parametri devono essere indicati e giustificati i limiti accettati.

II.D - Controlli sui lotti di prodotto finale

Si definisce lotto di prodotto finale la preparazione della popolazione cellulare, che si intende pronta per la somministrazione nel paziente, eventualmente suddivisa nei contenitori finali, nel caso di un processo di produzione su larga scala. Il rilascio del lotto per il suo utilizzo clinico deve comprendere saggi che dimostrino identità, composizione, vitalità, funzionalità della popolazione cellulare, sterilità, assenza di endotossine, livelli residui dei principali contaminanti biologici, nei limiti delle specifiche indicate per il prodotto

che sono basate sulla riproducibilità dell'analisi di più lotti.

Nel caso in cui del prodotto finale facciano parte anche altri componenti, con funzione per esempio di supporto, di tutti deve essere fornito un certificato che ne attesti la qualità e la sicurezza per l'uso nell'uomo, in mancanza, idonea documentazione comprovante i risultati degli studi effettuati allo stesso scopo.

I criteri di rilascio di un lotto che si intende per l'uso singolo in un solo paziente (*i.e.*, cellule autologhe variamente manipolate e poi reinfuse nel paziente) potranno prevedere solo una parte dei controlli, quando ciò sia giustificato. In questo caso, per ottenere un'indicazione sulla riproducibilità del processo, si dovranno presentare i risultati di un certo numero (almeno cinque) di preparazioni sperimentali ottenute in condizioni che riproducano quelle da usare nella produzione del lotto. Inoltre, l'intero processo dovrà essere periodicamente controllato nelle stesse condizioni per tutti i parametri e i risultati presentati all'atto della richiesta.

III. Documentazione preclinica della tollerabilità e della innocuità

Gli studi preclinici tesi a valutare l'innocuità della terapia cellulare dovranno considerare ogni tipo di danno che la

somministrazione (in ragionevole eccesso) delle cellule può produrre nel paziente. In tal riguardo dovrà essere attentamente studiato ogni tipo di effetto prodotto dalle cellule dopo interazione con l'ospite-paziente.

III.A - Tumoregenicità

Studi sulla tumoregenicità dovranno essere eseguiti quando le procedure utilizzate per la coltivazione *in vitro* alterino le caratteristiche di crescita, la regolazione dell'espressione di oncogeni, di fattori trans-attivanti, la secrezione di fattori di crescita e l'espressione di recettori di fattori di crescita del tipo cellulare che costituisce la base del prodotto della terapia. Lo studio sulla tumoregenicità dovrà comunque essere eseguito su cellule propagate *in vitro* e/o *in vivo* per lunghi periodi di tempo o in cellule isolate e/o selezionate a seguito di manipolazioni di genetica cellulare somatica.

Isaggi di tumoregenicità saranno effettuati come previsto negli allegati dei DDMM 25 luglio 1987 e 27 agosto 1977, utilizzando appropriati modelli animali come topi "nudi" o animali immunosoppressi.

L'isolamento di cellule non-tumorali da utilizzare per la terapia e derivate da tessuti tumorali deve essere documentato da evidenze sperimentali che dimostrino la completa ri-

mozione delle cellule trasformate attraverso metodi convalidati prima della loro somministrazione nel paziente.

III.B - Studi sulla innocuità del prodotto in vivo

Dovranno essere presentati gli studi di tossicità d'organo previsti dai DDMM 25 luglio 1987 e 27 agosto 1977.

In alcuni casi gli studi preclinici effettuati su di una specie animale possono manifestare effetti tossici dovuti alla tipologia della cellula umana esaminata e/o alla secrezione di suoi prodotti. Pertanto tali indagini dovranno necessariamente essere effettuate in animali immunoincompetenti, in modo che sia ridotta o assente ogni potenziale reattività di specie verso cellule umane. La specie animale sulla quale si eseguiranno indagini di innocuità dovrà essere scelta fra quelle la cui risposta al prodotto potrebbe essere paragonabile a quella umana. Per esempio, se la terapia si basa sulla secrezione di citochine umane da parte delle cellule somministrate, l'innocuità della procedura deve essere studiata e dimostrata in specie animali dove le cellule possiedono recettori che legano la linfocina umana con una ragionevole affinità e producono effetti fisiologici/funzionali simili. Dato l'aspetto assolutamente innovativo al livello sperimentale della terapia cel-

lulare somatica, gli studi concernenti l'innocuità di un prodotto devono essere effettuati su animali e, in particolare, in quelle specie che possono fornire adeguate informazioni biologiche.

L'interazione fra cellule somministrate e/o i loro prodotti, con altre cellule che non siano propriamente il bersaglio della terapia, può portare ad effetti indesiderati. In questo caso la potenziale tossicità del fenomeno deve essere attentamente considerata e valutata.

IV. Documentazione preclinica sull'efficacia del prodotto

La documentazione dovrà fornire le evidenze sperimentali che dimostrino la possibile efficacia della terapia cellulare. Gli studi sull'efficacia del reagente cellulare sul quale si basa la terapia includono:

1. Determinazione della tipologia cellulare. La funzione specifica (*i.e.*, produzione di una determinata molecola, attività citotossica, attività staminale, ecc.) sulla quale si basa il principio della terapia dovrà essere omogeneamente distribuita nella popolazione cellulare che verrà somministrata. L'istotipo cellulare dovrà essere testimoniato da un'analisi morfologica e da una serie di marcatori che includono caratteristiche bio-

chimiche, immunologiche e genetiche. Inoltre dovrà essere definita la funzione che verrà svolta dalle cellule nella/e sede/i di impianto, eventuali fenomeni proliferativi, i tempi di sopravvivenza, ed aspetti fisiologici associati all'interazione con cellule e tessuti dell'ospite.

2. Caratterizzazione di prodotti cellulari. Se il principio terapeutico si basa sulla produzione di uno specifico fattore cellulare, la sua identità e l'attività biologica dovranno essere accuratamente stabilite. Informazioni riguardo la velocità di sintesi e di secrezione del prodotto potranno fornire utili informazioni sull'efficacia terapeutica. I livelli e la concentrazione del prodotto dovranno essere comparabili con quelli dimostrati essere innocui e funzionali. Se esistono forme diverse o specifiche localizzazioni cellulari del prodotto, dovrà essere determinata sia la loro presenza quantitativa che l'ubicazione tessutale.

L'eventuale studio su modelli animali dovrà essere corredato dal periodo di sopravvivenza e dalla funzionalità delle cellule nell'ospite. Se le cellule somministrate nell'ambito della terapia devono risiedere in un particolare comparto dell'organismo per ottenere l'effetto desiderato, la loro localizzazione dovrà essere attenta-

mente analizzata. Inoltre dovrà essere motivata la scelta dell'animale in rapporto alla sua suscettibilità verso l'effetto della terapia.

V. Aspetti immunologici

Le cellule somministrate o i loro prodotti possono causare nel paziente reazioni immunologiche non prevedibili da indagini precliniche effettuate su animali che a volte possono non riflettere aspetti specifici della risposta immune umana. Pertanto alcune informazioni sull'immunogenicità del trattamento possono essere fornite solamente attraverso prove cliniche.

Tuttavia, là dove è possibile analizzare la risposta immune conseguente alla terapia in modelli animali, devono essere considerati i seguenti aspetti:

1. Le differenze antigeniche fra donatore ed ospite.
2. La tipologia della risposta immune ed allergica verso le cellule e i loro prodotti.
3. La tipologia degli antigeni eventualmente riconosciuti dalla risposta immune e allergica.
4. Gli effetti della risposta immune e allergica sulla sicurezza ed efficacia della terapia.

Inoltre, dovrà essere presa in considerazione qualsiasi informazione riguardante fenomeni di autoimmunità o di rigetto causati dalla somministrazione delle cellule.

VI. Possibili utilizzazioni ulteriori: aggiunta di radioisotopi o tossine alle preparazioni cellulari

La terapia cellulare può implicare la somministrazione di cellule modificate da aggiunta di radioisotopi o di materiale bioattivo come tossine. In questo caso le cellule sono utilizzate come un sistema di veicolo/ rilascio di materiale esogeno.

Pertanto le norme da applicare per la prima esposizione sull'uomo di questi prodotti comprendono anche quelle relative allo specifico prodotto veicolato.

VII. Considerazioni riguardo aspetti clinici

L'utilizzo di terapie cellulari somatiche o geniche apre nuove questioni dovute alla particolare natura dell'agente terapeutico. Sebbene una discussione esauriente concernente la modalità delle prove cliniche da effettuare non verrà riportata in questo documento, verranno comunque indicati alcuni aspetti che riguardano in modo specifico la terapia cellulare.

I pazienti dovranno essere esaminati per stabilire la localizzazione, la funzionalità e la sopravvivenza delle cellule somministrate. Inoltre dovranno essere controllati alcuni parametri come la quantità del prodotto cellulare, la sua farmacocinetica, oltre ovviamente alle reazioni indesiderate

come infezioni associate alle diverse metodiche di somministrazione. Questi esami dovranno essere estesi per un tempo congruo al tipo di terapia e, in alcuni casi, per l'intera vita del paziente-ospite.

L'inclusione di bambini o di donne in stato di gravidanza in tali prove cliniche potrebbe far sorgere parecchi problemi riguardo potenziali effetti sull'ontogenesi delle terapie utilizzate.

Nel caso di reazioni immuni a seguito della terapia cellulare, i modelli di studio su animali possono rivelarsi poco o affatto informativi.

Se possibile, informazioni riguardo potenziali immunoreattività possono essere ottenute valutando come queste possano riflettersi negativamente sull'efficacia terapeutica o se diano luogo a fenomeni di rigetto.

Dovrà, inoltre, essere attentamente analizzato e considerato:

1. L'eventuale regime farmacologico immunosoppressivo somministrato in combinazione con la terapia.
2. Gli effetti immunosoppressivi dovuti alla terapia stessa, insieme ad evidenze che indicano il sorgere di fenomeni autoimmuni durante la terapia.
3. Tutte le fenomenologie allergiche che si presentino nel paziente nel corso della terapia.

