



I FARMACI BIOTECNOLOGICI





Cosa sono?

1953

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

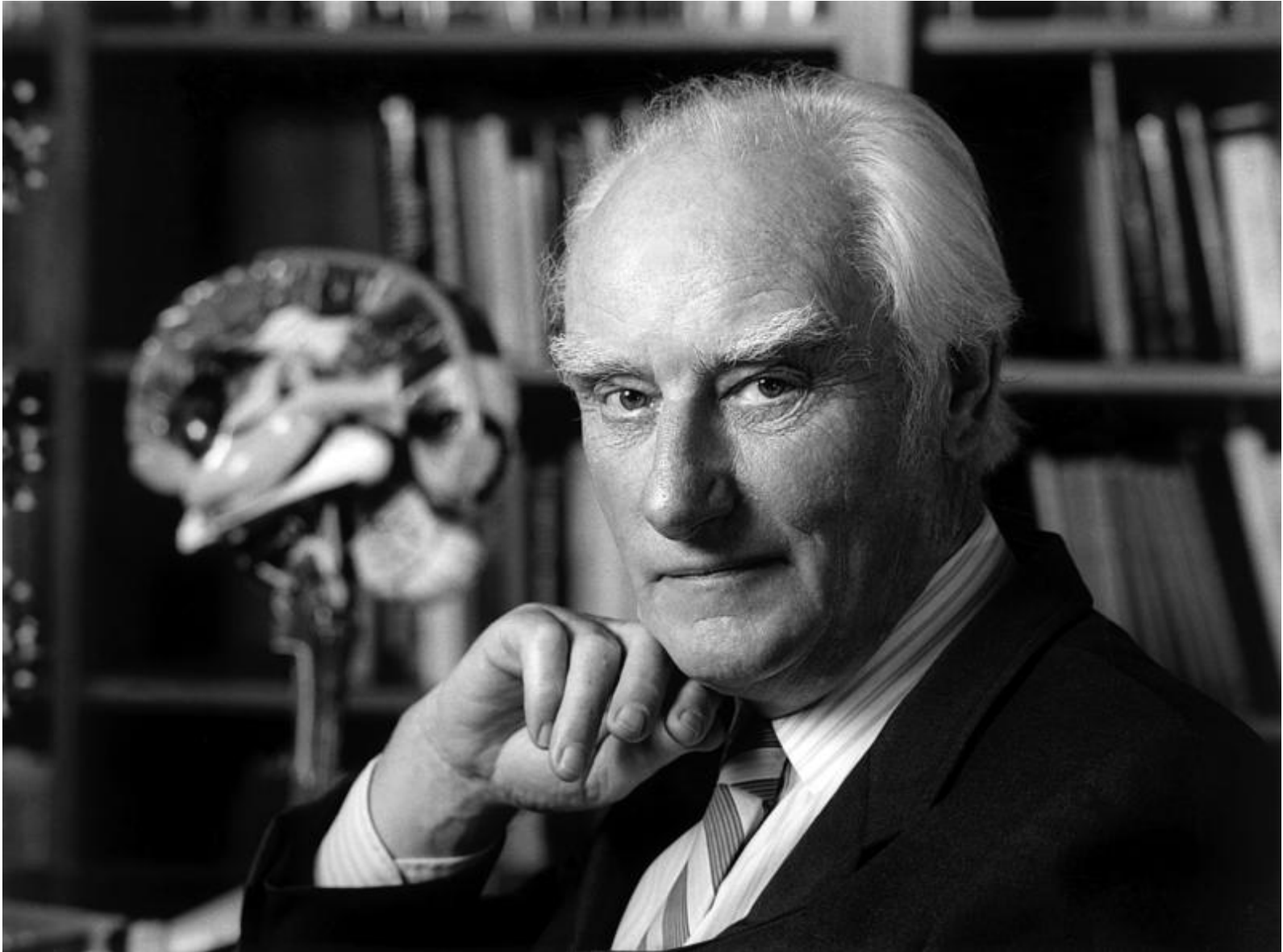
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Francis Crick



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

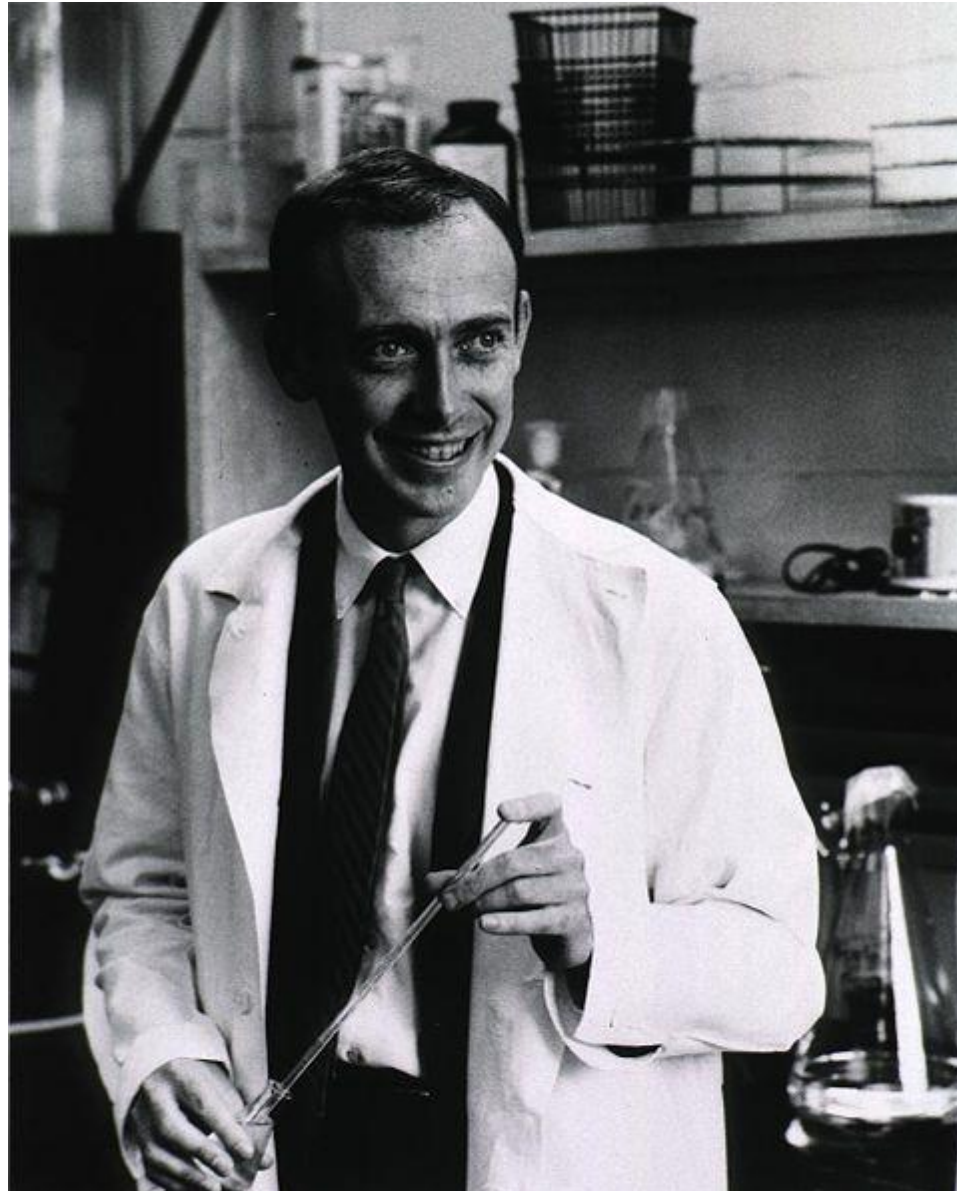
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



James Watson



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Premio Nobel per la Medicina - 1962



Francis Harry Compton Crick



James Dewey Watson

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

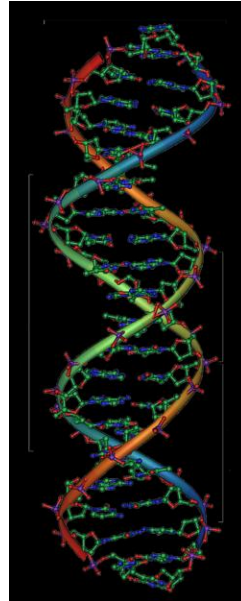
CONCLUSIONI



FARMACI BIOTECNOLOGICI

Cosa sono?

1953
La scoperta
del DNA



1973

Università della California: nasce la tecnologia del DNA ricombinante!

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cos'è un farmaco “biotecnologico”?

E' un farmaco progettato mediante la tecnologia del DNA ricombinante.

Le biotecnologie sono, in medicina, un mezzo per utilizzare organismi per la produzione di farmaci, mediante la comprensione della struttura e della funzione di geni e proteine e la coniugazione di farmaci con sostanze capaci di veicolarli in modo specifico.



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

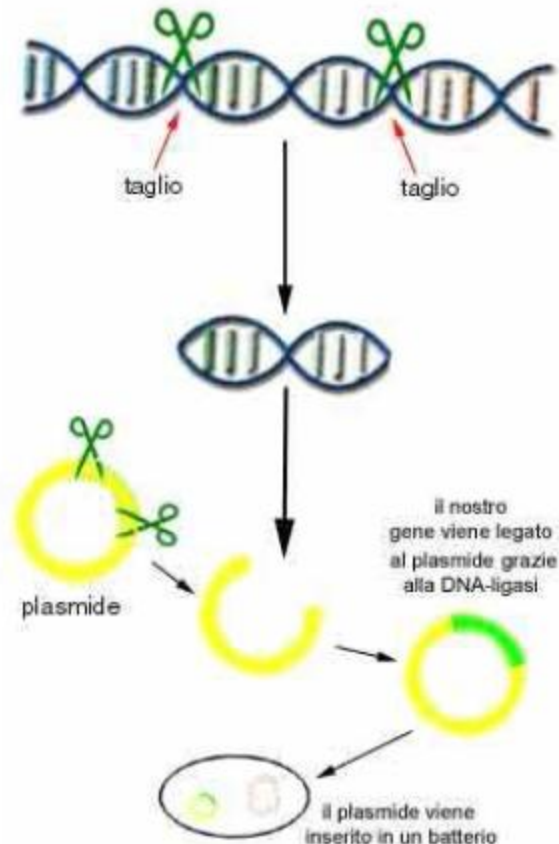
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



TECNICA DEL DNA RICOMBINANTE



Tecnica del DNA ricombinante: inserire un segmento di DNA all'interno di un organismo ospite, permettendo la combinazione di geni provenienti da specie molto distanti tra loro:

Inserimento di un gene d'interesse (es. gene umano che codifica per la proteina da produrre come farmaco), in un organismo ospite, fatto poi crescere in un fermentatore industriale per produrre la proteina



METODI TRADIZIONALI PER OTTENERE PROTEINE

Prevedono un processo di purificazione da urina o sangue e altri tessuti umani e animali.

I **PRINCIPALI LIMITI** di queste preparazioni:

- bassa resa
- costo elevato
- necessità di escludere la presenza di agenti infettivi patogeni derivati dai tessuti usati per la preparazione

Trattamenti chimici o termici per inattivare gli eventuali agenti infettivi spesso **riducono l'efficacia del farmaco.**



PRODUZIONE DI FARMACI E INGEGNERIA GENETICA

Le tecniche di ingegneria genetica consentono di ottenere in **GRANDI QUANTITA'** prodotti:

- puri
- spesso migliori di quelli preparati con i metodi tradizionali
- esenti dal rischio di contaminazione

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Bioreattori

**-Organismi i cui geni sono stati modificati
al fine di produrre nuovi farmaci o proteine umane**

- efficienti**
- elevato volume di reazione**
- possono raggiungere centinaia di litri**

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Alcuni dei farmaci proteici prodotti in fluidi biologici di animali usati come **bioreattori**.

SISTEMA	SPECIE	PRODOTTO	APPLICAZIONE TERAPEUTICA
Latte	Topo	Attivatore del plasminogeno	Dissoluzione di trombi e coaguli
	Coniglio	tissutale umano	
	Pecora	Urochinasi umana	Coagulazione del sangue
	Capra	Ormone della crescita umano	Nanismo ipofisario
		Fibrinogeno umano	Coagulazione del sangue
	Eritropoietina umana	Anemia associata a insufficienza renale	
	Fattore di crescita neurale umano	Patologie neurodegenerative	
	α 1-antitripsina umana	Enfisema polmonare	
	Proteina C umana	Trombosi	
	Fattore VIII	Emofilia A	
Fattore IX	Emofilia B		
	Attivatore del plasminogeno	Dissoluzione di trombi e coaguli	
	tissutale umano		

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



I medicinali biotecnologici sono più grandi e complessi di quelli chimici

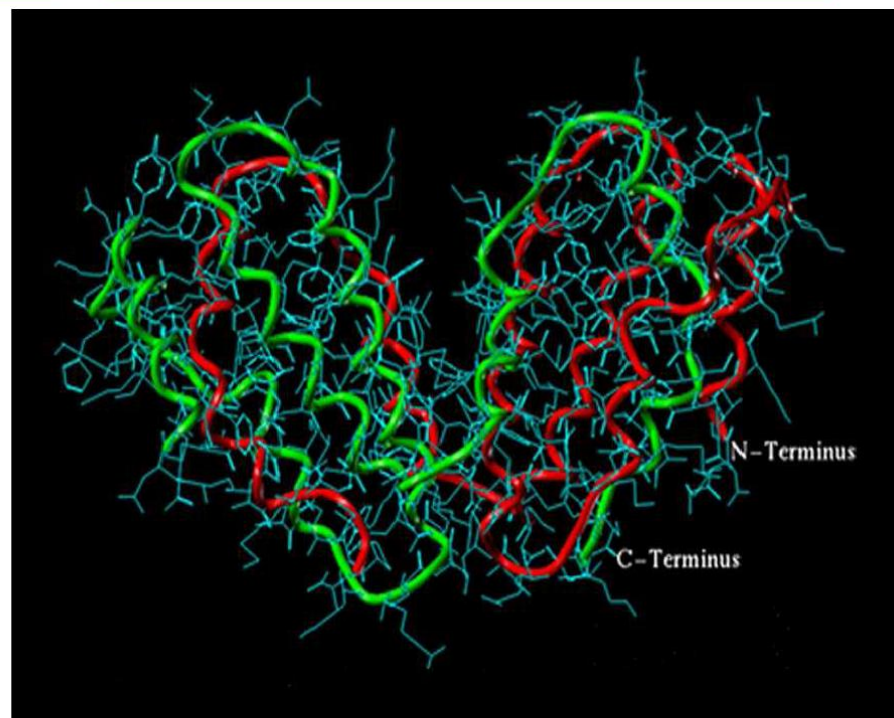
Chimici

Biotecnologici



Aspirina:

Peso molecolare 180



Interferone beta: peso molecolare 19.000

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

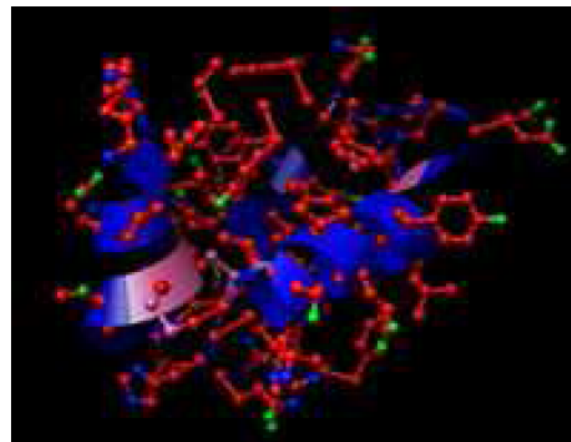
IL MERCATO

CONCLUSIONI



FARMACI BIOTECNOLOGICI

- Il primo farmaco ottenuto ingegnerizzando un sistema vivente (batterico) è stato l'insulina, approvato dalla FDA nel 1982.
- Anche l'ormone della crescita umano, precedentemente estratto dai cadaveri, fu rapidamente ingegnerizzato.
- Nel 1986 la FDA approvò il primo vaccino umano, contro l'epatite B.



La struttura dell'Insulina
rosso:carbonio, verde:ossigeno;
blu:azoto; rosa:zolfo

La produzione industriale di farmaci utilizzando i sistemi viventi come bioreattori si è da allora largamente diffusa, diventando attualmente la via preferita di sintesi di numerosi farmaci, in particolare per il costo di produzione relativamente basso.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Insulina umana

il primo prodotto
“ricombinante” autorizzato
per uso terapeutico

VANTAGGI della PRODUZIONE DI INSULINA UMANA IN E. coli

-70 MAIALI PER 1 PAZIENTE PER UN ANNO - alti costi e rischio di trasferimento di virus

-SI PUO' PRODURRE INSULINA UMANA NEI BATTERI!

-E. Coli NON SA MATURARE pre-mRNA EUCARIOTICI E PRODURRE LE CORRETTE MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



PRODUZIONE DI INSULINA RICOMBINANTE IN BATTERI

Oggi è possibile utilizzare insulina ricombinante umana prodotta artificialmente in batteri evitando così i diversi **inconvenienti riscontrati con l'uso di quella di origine animale:**

- minore efficacia rispetto a quella umana
- effetti collaterali (risposta antigenica)
- notevoli costi di estrazione e purificazione

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

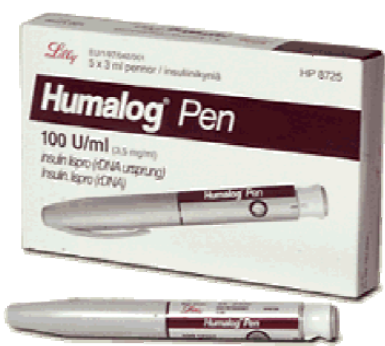
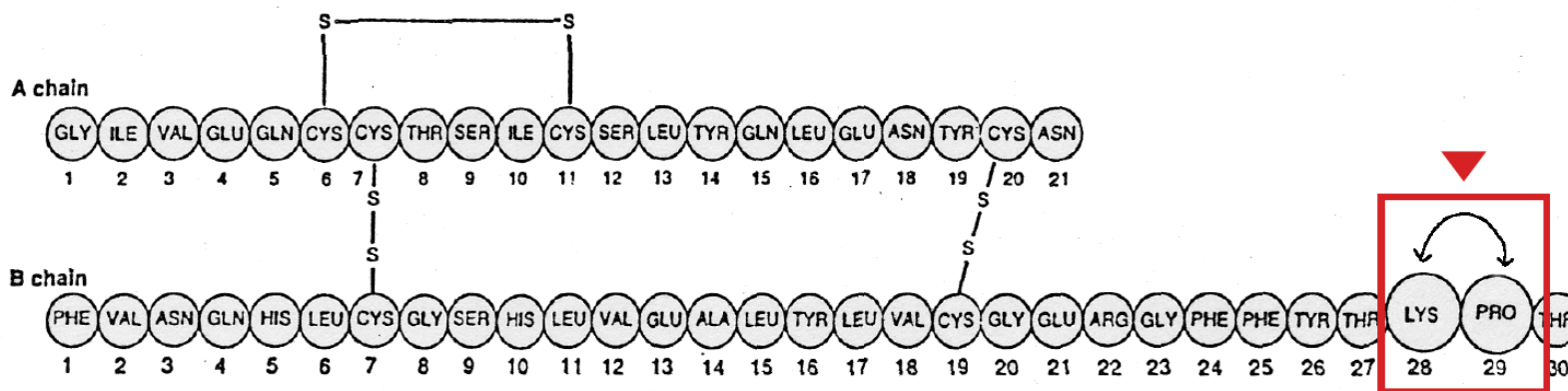
CONCLUSIONI



Analoghi dell'insulina

Sono prodotti in cui la sequenza aminoacidica propria dell'insulina umana viene modificata ad arte con delle sostituzioni di uno o più aminoacidi.

Insulina Lispro



Azione rapida (< 30 minuti)

Durata breve (3 ore)



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Insulina Lispro

Poiché l'azione termina dopo circa 4 ore è necessario associarla ad un'insulina a lunga durata, per il mantenimento dei livelli basali



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

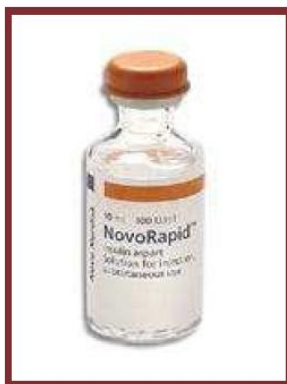
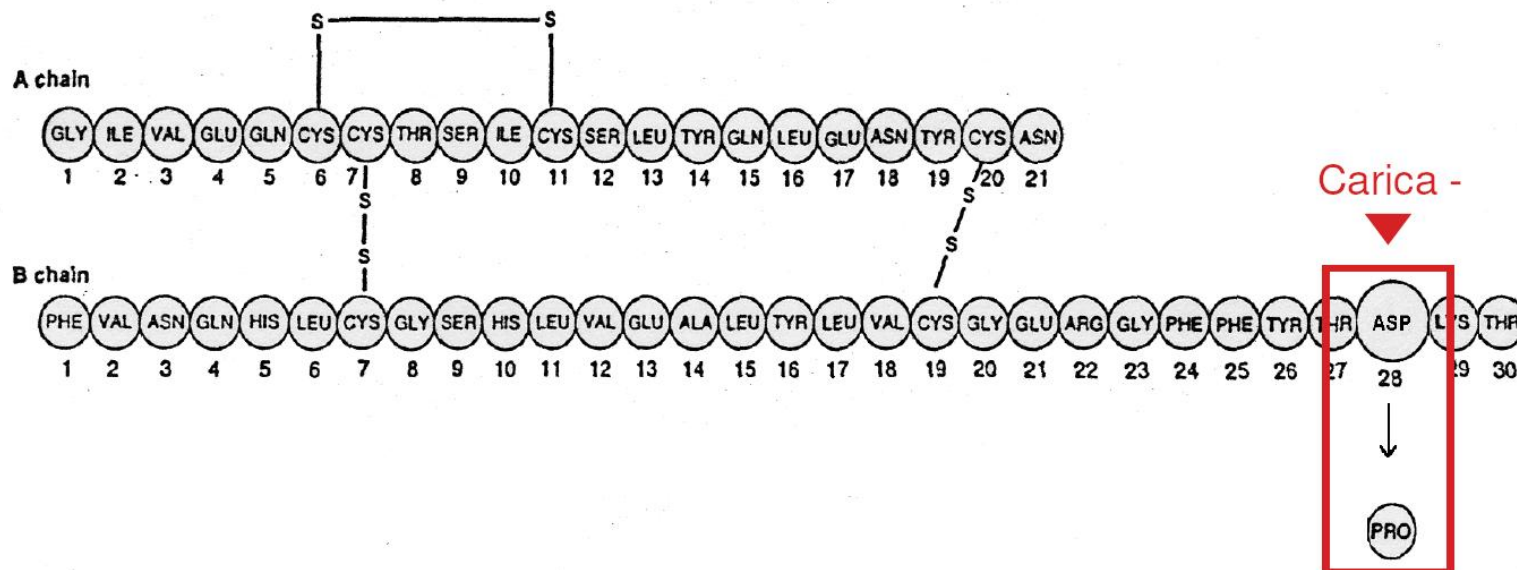
IL MERCATO

CONCLUSIONI



Analoghi dell'insulina

Insulina Aspart



Azione rapida (~ 60 minuti)

Durata breve (3 ore)



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

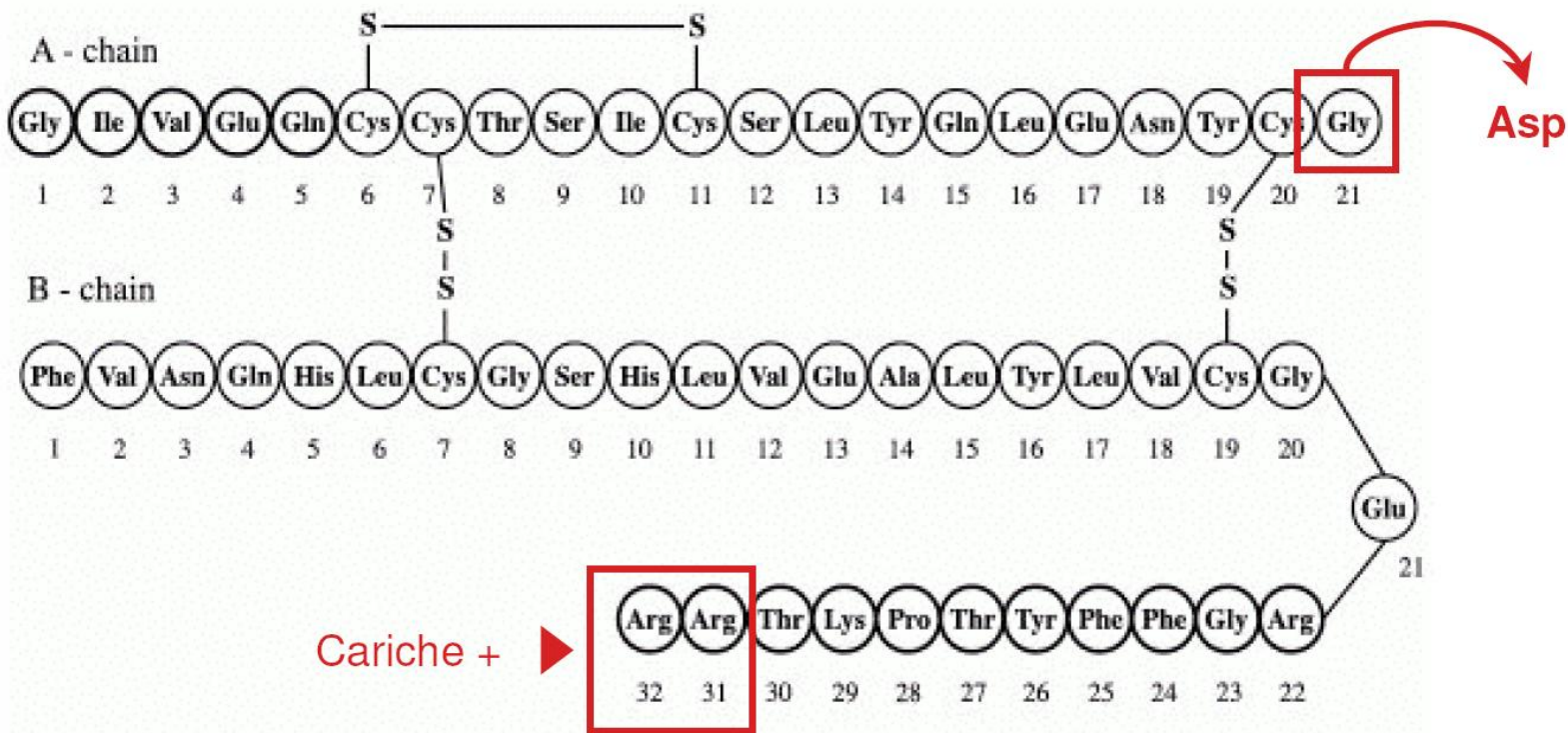
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Insulina Glargina



Tempo di inizio (~ 1.5 ore)

Lunga durata d'azione (~ 24 ore)

LANTUS
insulina glargina

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Ormoni Polipeptidici

Peptidi o piccole proteine che svolgono funzioni essenziali nel controllo del metabolismo nei mammiferi.

Alcuni sono farmaci salvavita



Ormone della crescita:
Humatrope®

Eritropoietina: regola la produzione di globuli rossi da parte del midollo osseo **Epocim®**

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



PRODUZIONE ORMONE DELLA CRESCITA UMANO RICOMBINANTE IN E. Coli

- Peptide di 191 aa
- Carenza provoca nanismo ipofisario
- GH da animali non è efficace sull'uomo
- 80 ipofisi di cadaveri umani per un paziente per un anno (alto rischio infezioni – Creutzfeldt-Jacob)

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

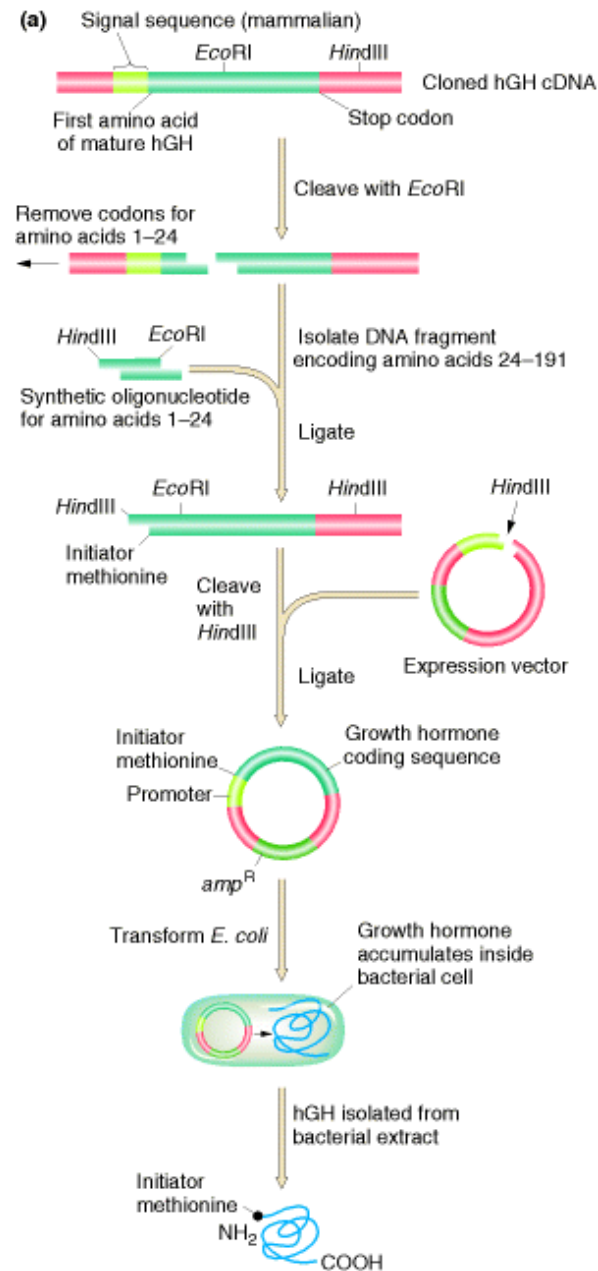
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



PRODUZIONE DI GH RICOMBINANTE IN BATTERI SENZA RISCHIO DI INFEZIONI!



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Molte proteine umane impiegate per la terapia di numerose malattie sono oggi “ricombinanti”.

Tali proteine sono presenti nell’organismo in tracce.

Proteina

α -antitripsina

Fattore di crescita epidermico

Insulina

Eritropoietina

Fattori stimolanti le colonie (CSF)

Fattore VII

Fattore IX

Ormone della crescita

Attivatore tissutale del plasminogeno

Interferoni

Impiego clinico per il trattamento di:

Enfisema

Guarigione delle ferite

Diabete

Anemia

Neutropenie

Emofilia

Emofilia

Disturbi della crescita

Infarto miocardico

Infezioni virali

Quando uno dei geni coinvolti in una patologia viene individuato è possibile curare la malattia stessa.

Il gene viene clonato ottenendo in grandi quantità la proteina corrispondente.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Premio Nobel per la Medicina - 1972



Gerald M. Edelman



Rodney R. Porter

I loro lavori sul sistema immunitario hanno portato alla scoperta della struttura degli anticorpi.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

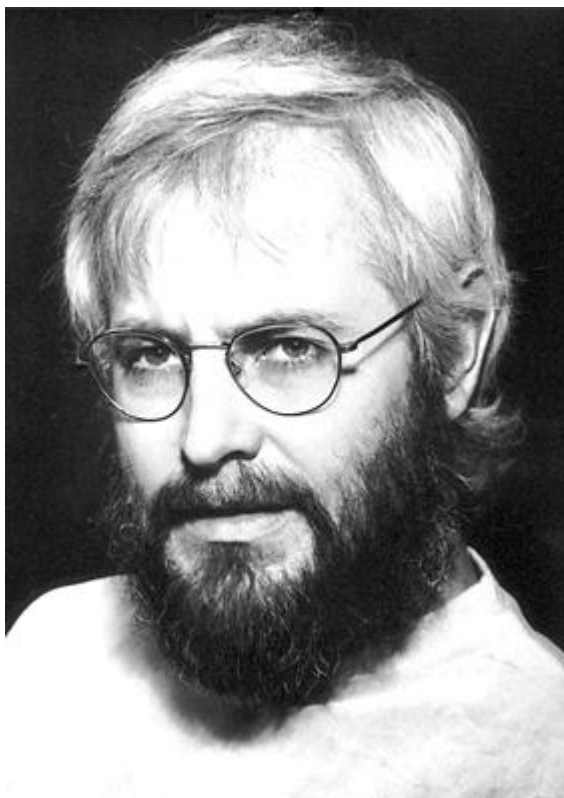
IL MERCATO

CONCLUSIONI



Monoclonal antibodies: Background

Nel 1975 Kohler e Milstein per la prima volta produssero una linea cellulare fondendo un linfocita B normale, capace di rispondere a un singolo epitopo antigenico, con una cellula B tumorale capace di crescere indefinitamente.



Georges J.F. Köhler



César Milstein

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Premio Nobel per la Medicina - 1984



Nel 1984 lo sviluppo di questa linea ibrida **(IBRIDOMA)** valse ai due scienziati il PREMIO NOBEL.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

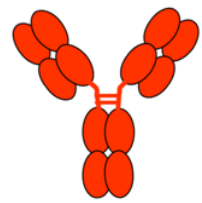
CONCLUSIONI



ANTICORPI MONOCLONALI

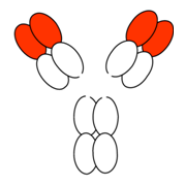
MURINI

Interamente di origine murina.



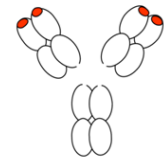
CHIMERICI

Regione variabile murina-regione costante umana.

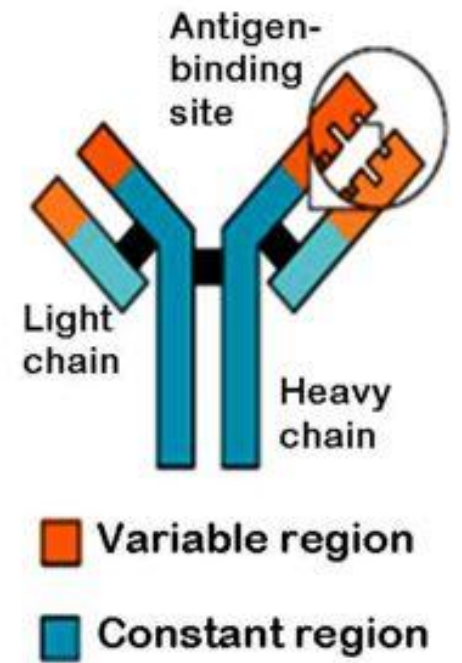
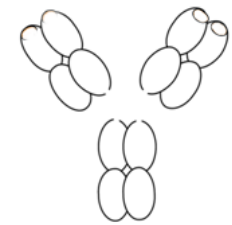


UMANIZZATI

Regione variabile che lega l'antigene murina-regione costante umana.

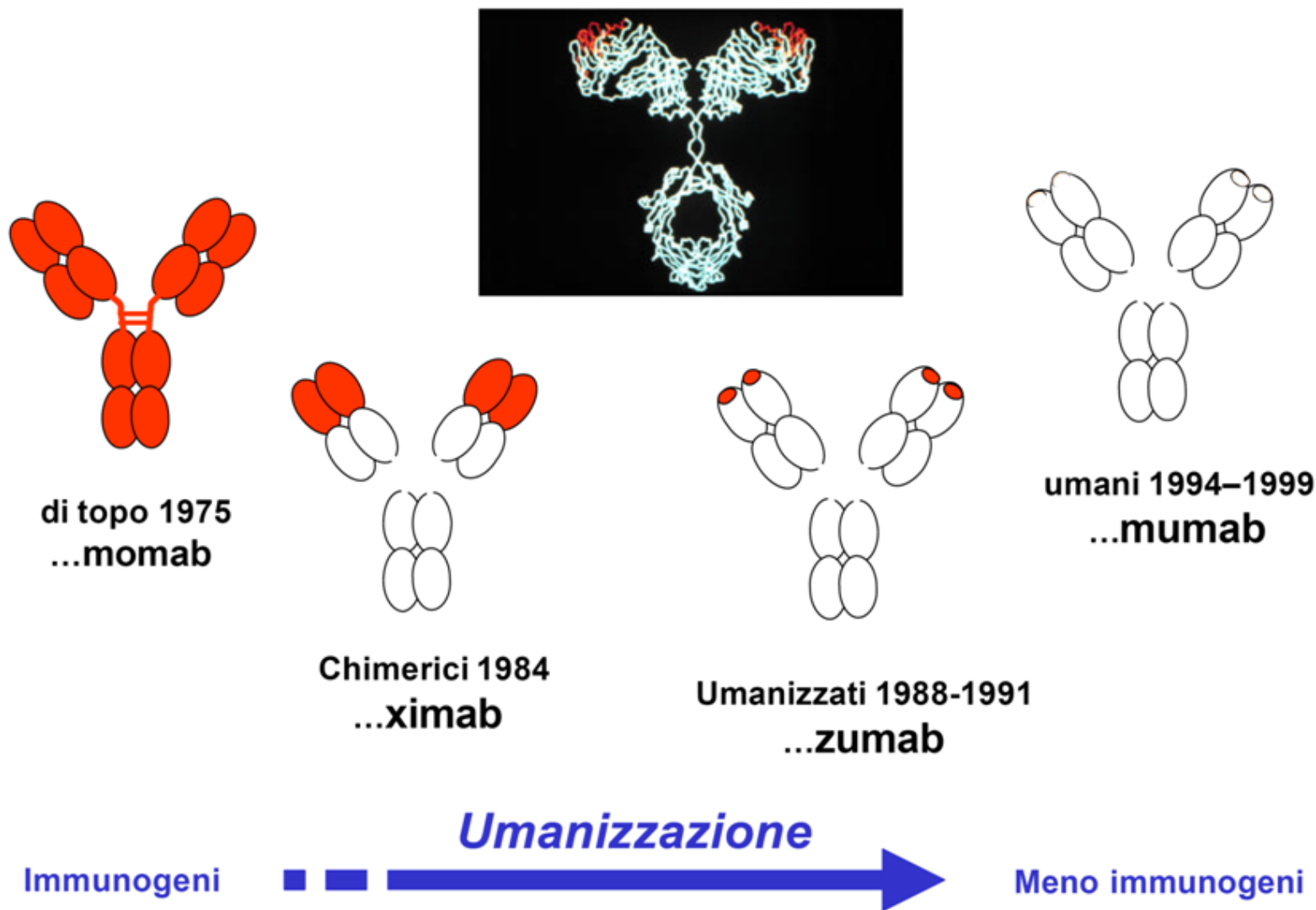


UMANI- Interamente di origine umana.





Anticorpi Monoclonali



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Anticorpi monoclonali in terapia oncologica

Table 1 | **Approved monoclonal antibody cancer therapeutics**

Generic name	Trade name	Description	First approved indication	Year (country) of first approval
Edrecolomab	Panorex	Murine, IgG2a, anti-EpCAM	Post-operative colorectal cancer	1995 (Germany)*
<u>Rituximab</u>	Rituxan	<u>Chimeric</u> , IgG1κ, anti-CD20	Relapsed or refractory low-grade non-Hodgkin's lymphoma	1997 (United States)
<u>Trastuzumab</u>	Herceptin	<u>Humanized</u> , IgG1κ, anti-HER2	HER2 overexpressing metastatic breast cancer	1998 (United States)
Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg	Humanized, IgG4κ, anti-CD33, immunotoxin (calicheamicin)	Relapsed acute myeloid leukaemia	2000 (United States)
Alemtuzumab	Campath	Humanized, IgG1κ, anti-CD52	Chronic lymphocytic leukaemia	2001 (United States)
Ibritumomab tiuxetan	Zevalin	Murine, IgG1κ, anti-CD20, radiolabelled (Y-90)	Relapsed or refractory low-grade, follicular transformed non-Hodgkin's lymphoma	2002 (United States)
I-131 ch-TNT	N/A	Chimeric, IgG1κ, anti-DNA associated antigens, radiolabelled (I-131)	Advanced lung cancer	2003 (China)
I-131 tositumomab	Bexxar	Murine, IgG2aλ, anti-CD20, radiolabelled (I-131)	Non-Hodgkin's lymphoma in rituximab-refractory patients	2003 (United States)
Cetuximab	Erbix	Chimeric, IgG1κ, anti-EGF receptor	EGFR-expressing metastatic colorectal cancer	2003 (Switzerland)
<u>Bevacizumab</u>	<u>Avastin</u>	<u>Humanized</u> , IgG1, anti-VEGF	Metastatic colorectal cancer	2004 (United States)
Nimotuzumab	TheraCIM	Humanized, IgG1, anti-EGF receptor	Advanced head/neck epithelial cancer	2005 (China)
<u>Panitumumab</u>	<u>Vectibix</u>	<u>Human</u> , IgG2κ, anti-EGF receptor	Metastatic colorectal cancer	2006 (United States)

*Panorex was subsequently withdrawn from market. EGF, epidermal growth factor; EGFR, epidermal growth factor receptor; EpCAM, epithelial cell adhesion molecule; HER2, human epidermal growth factor receptor 2; VEGF, vascular endothelial growth factor.

COSA SONO E COME SI OTTENGONO

PROTEINE RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Le grandi scoperte della medicina

RNA interference (RNAi)

E' un meccanismo mediante il quale alcuni frammenti di RNA a doppio filamento sono in grado di interferire con (e *spegnere*) l'espressione genica.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)

La scoperta

La rivoluzionaria scoperta della RNAi avvenne per caso in seguito ad esperimenti in corso su organismi vegetali negli USA e nei Paesi Bassi (1980-1990).



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)



La scoperta

I ricercatori stavano lavorando sulla produzione di fiori di Petunia con colorazione più vivace. Per raggiungere questo scopo, introdussero nelle piantine alcune copie aggiuntive di un gene noto per codificare un enzima chiave nella colorazione dei petali.

Sorprendentemente, molte piantine così trattate non presentavano gli attesi colori intensi ma erano prive di colore.

Attraverso un'analisi più precisa, i ricercatori furono in grado di scoprire che sia il gene endogeno che il transgene erano stati *soppressi*.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)

La scoperta

Nel 1998 gli americani Fire e Mello iniettarono RNAs all'interno di *Caenorhabditis elegans* individuando un potente effetto di silenziamento.

Il termine *RNA interference* fu coniato in questa occasione.



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)

Premio Nobel per la Medicina - 2006



Andrew Z. Fire



Craig C. Mello

Il Nobel per l'interferenza dell'RNA.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)

siRNA come Farmaco

Le prime applicazioni a raggiungere i *trials clinici* sono state quelle per il trattamento per:

- la degenerazione maculare;
- il danno epatico in modelli animali murini;
- HIV in un modello della malattia in topo.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



RNA interference (RNAi)

N ENGL J MED 359;14 WWW.NEJM.ORG OCTOBER 2, 2008

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Toll-like Receptor 3 and Geographic Atrophy in Age-Related Macular Degeneration

Zhenglin Yang, M.D., Charity Stratton, B.S., Peter J. Francis, M.D., Ph.D.,
Mark E. Kleinman, M.D., Perciliz L. Tan, B.S., Daniel Gibbs, B.A.,
Zongzhong Tong, Ph.D., Haoyu Chen, M.D., Ryan Constantine, B.A.,
Xian Yang, M.D., Ph.D., Yuhong Chen, M.D., Ph.D., Jiexi Zeng, M.D., Lisa Davey, M.S.,
Xiang Ma, B.S., Vincent S. Hau, M.D., Ph.D., Chi Wang, B.S., Jennifer Harmon,
Jeanette Buehler, B.S., Erik Pearson, B.S., Shrena Patel, M.D., Yuuki Kaminoh, B.S.,
Scott Watkins, M.S., Ling Luo, M.D., Norman A. Zabriskie, M.D.,
Paul S. Bernstein, M.D., Ph.D., Wongil Cho, Ph.D., Andrea Schwager, B.S.,
David R. Hinton, M.D., Michael L. Klein, M.D., Sara C. Hamon, Ph.D.,
Emily Simmons, B.S., Beifeng Yu, M.D., Betsy Campochiaro, M.S.N.,
Janet S. Sunness, M.D., Peter Campochiaro, M.D., Lynn Jorde, Ph.D.,
Giovanni Parmigiani, Ph.D., Donald J. Zack, M.D., Ph.D., Nicholas Katsanis, Ph.D.,
Jayakrishna Ambati, M.D., and Kang Zhang, M.D., Ph.D.

Occorre approfondire maggiormente sia la reale attività terapeutica nelle patologie per cui si intende studiarli, e, soprattutto, definire meglio il profilo tossicologico.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



FARMACI BIOTECNOLOGICI

COSA SI SA SULLA “SAFETY”

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



SICUREZZA DEI FARMACI BIOLOGICI

EFFETTI AVVERSI ACUTI

Reazioni anafilattiche

EFFETTI AVVERSI SUBACUTI E SUBCRONICI

IMMUNODEPRESSIONE (aumento del rischio di infezioni opportunistiche)

Tubercolosi

Listeriasi

INSUFFICIENZA CARDIACA

PATOLOGIE AUTOIMMUNI

Lupus-like sindrome

Patologie demielinizzanti

EFFETTI AVVERSI CRONICI (?)

Tumori (linfomi)

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



1. Reazioni di ipersensibilità

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI

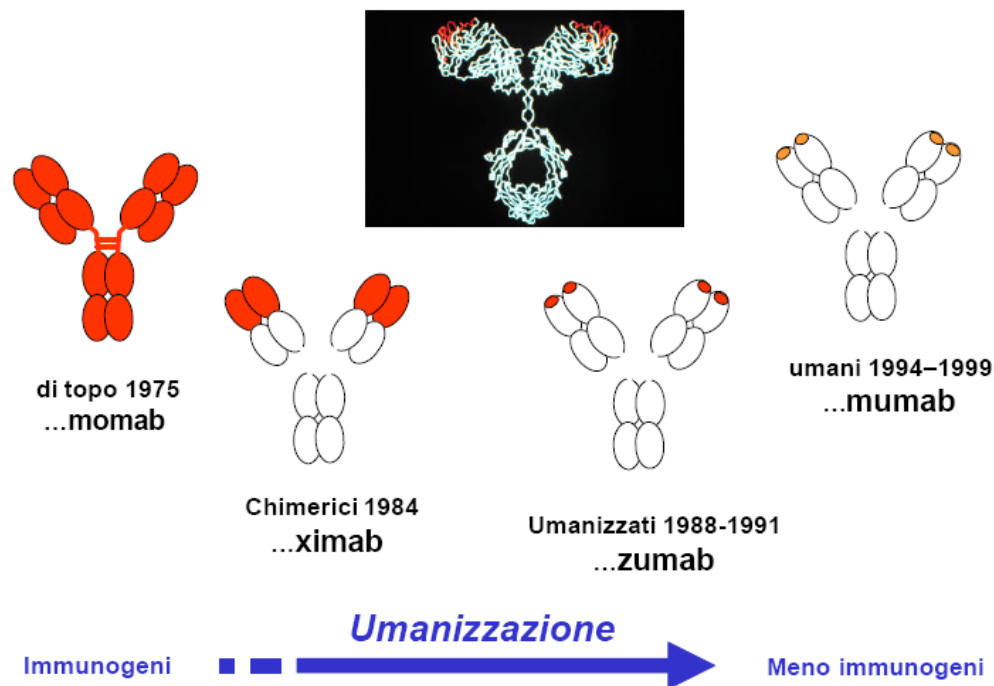


1. REAZIONI DI IPERSENSIBILITÀ

-Tutti gli anticorpi ad oggi sul mercato hanno dimostrato un certo grado di immunogenicità (dipendente dal contenuto di proteine xenogeniche).

-In generale, gli anticorpi murini sono altamente immunogeni; la riduzione della percentuale di sequenze di origine murina ha ridotto l'immunogenicità degli anticorpi stessi, sebbene non possa essere considerata del tutto scomparsa.

Anticorpi Monoclonali



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



1. REAZIONI DI IPERSENSIBILITÀ

Le reazioni di ipersensibilità possono presentarsi entro le prime 6 ore dalla prima somministrazione dell'anticorpo o anche alle somministrazioni successive.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Reazioni dovute al rilascio di citochine in seguito all'infusione del farmaco

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

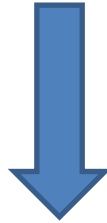
IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Il più noto pathway di co-stimolazione delle cellule T
è quello che coinvolge il recettore CD28.



Ruolo nelle malattie
autoimmuni.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

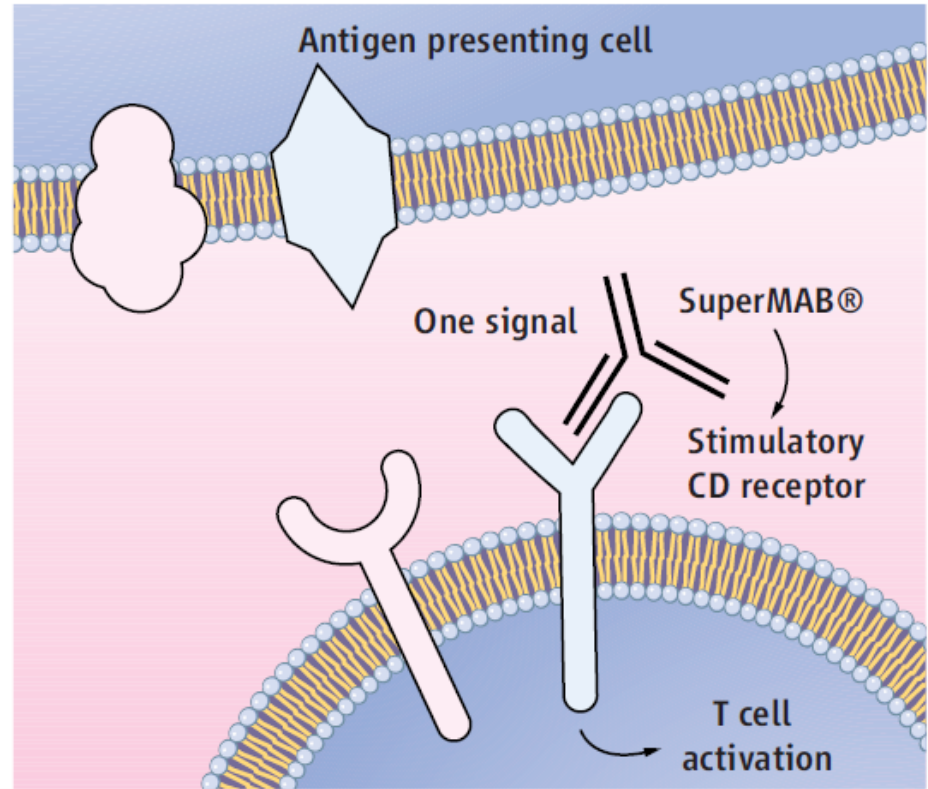
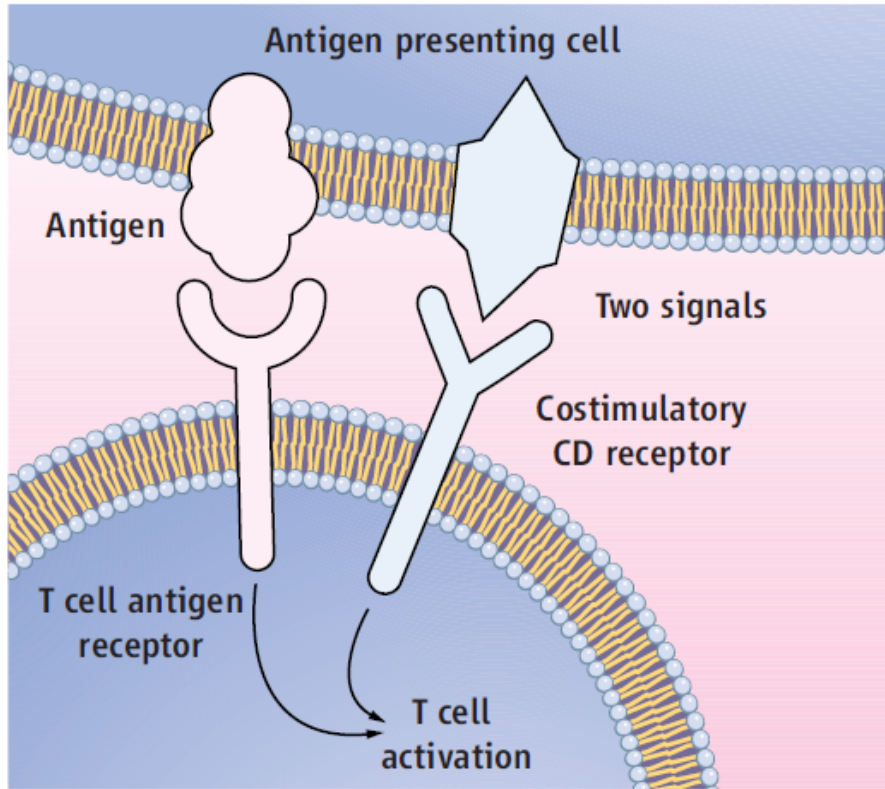
IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Che cos'è il TGN 1412



Strong medicine. The human T cell, a multitasking agent in the immune system, is normally activated only when two receptors are stimulated (*left*). But the “superagonist” used in a London clinical trial can activate T cells by stimulating a single receptor (*right*).

non solo lega ma attiva fortemente il recettore CD28 delle cellule T.

COSA SONO E COME SI OTTENGONO

PROTEINE RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

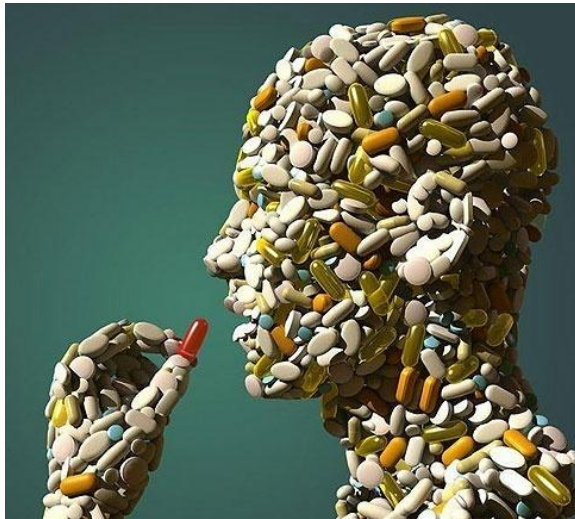
CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I

TGN 1412 CD28-SUPER mAb

- Anticorpo Monoclonale Umanizzato
- leucemia linfocitica cronica a cellule B (B-CLL)
- artrite reumatoide
- Londra, Marzo 2006
- 6 volontari sani



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I

TGN 1412 CD28-SUPER mAb

- Somministrato a 0.1mg/kg:

Dose 500 volte più bassa della NOAEL negli animali



NO OBSERVED ADVERSE EFFECT LEVEL:

il più alto livello di dose sperimentale di un composto
per il quale non si osserva un effetto avverso

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

SPERIMENTAZIONE ANIMALE

TGN 1412 non era mai stato somministrato all'essere umano.

Il trial era stato preceduto da sperimentazione sugli animali,
inclusi PRIMATI non umani.

I risultati di uno studio pilota condotto sulle scimmie riportarono
una attivazione delle cellule T senza effetti collaterali visibili.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

In seguito alla sperimentazione su animali, PAREXEL arruolò volontari per la sperimentazione clinica di Fase 1.



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I

TGN 1412

Under the heading, "What's in it For You" the site says: "You'll have plenty of time to read or study or just relax -- with digital TV, pool table, videogames, DVD player and now FREE Internet access! You can even just catch up on some sleep!" The site says the study will provide "modern medical and monitoring equipment to ensure your safety whilst on trial." The company used this language to recruit for the TGN 1412 trial. Goodyear says the language is deceptive, equating participation in a clinical trial to vacationing. "I was blown away," he says. "It's all about enticing people in." Parexel's recruiting Web site also promises payment, a free medical exam, and more. "Free food for the duration of your stay -- and NO shopping or washing up!" the site says. "I'm outraged by that cavalier language," Caplan says. "That would be fine if you want to recruit someone for a summer abroad, but not for a clinical trial with uncertain risks." Khan, who volunteered for a different clinic trial in December and was paid 1,600 pounds, says he wouldn't do another. A friend from college alerted him to the Parexel trial, and the advertising drew him in, he says. "If you read the advertisements, they make it look like a holiday home," he said. "It makes it sound fun and relaxing."

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412



Quali furono le motivazioni per entrare in questo studio come volontari?

David Oakley rilasciò un'intervista in cui disse di partecipare a questo studio per poter guadagnare un po' di soldi (circa 3000 euro), utili per il suo matrimonio nel mese di giugno...

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

SOMMINISTRAZIONE INIZIALE DEL FARMACO

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

13 marzo 2006.

Il trial incominciò alle 8.00.

David fu il primo a ricevere il farmaco e gli altri lo ricevettero a intervalli di 10 minuti.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412



Soltanto i due volontari che hanno ricevuto il placebo sono usciti indenni. Uno di loro ha raccontato: «Tutti vomitavano ininterrottamente. Svenivano poi riprendevano conoscenza. Suppongo che avessero emicranie perchè molti si tenevano la testa ».

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Poco dopo la somministrazione del prodotto (entro 1 ora), che ha inizialmente generato una produzione incontrollata di citochine e successivamente una violenta reazione del sistema immunitario, sei degli otto volontari hanno cominciato a soffrire di intensi dolori, a sudare, vomitare per poi perdere conoscenza.

Due erano in uno stato giudicato “critico” mentre lo stato degli altri quattro era definito "grave".

Sono dunque stati trasferiti in un'unità di cure intensive.



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412



Myfanwy Marshall, produttrice alla BBC, ha riferito piangendo che il suo amico, giovane ventottenne, assomigliava a « Elephant Man ». « Una macchina gli vuota i polmoni. Ha il petto gonfio, il volto gonfio, viola e giallo. I medici non hanno alcun rimedio. Secondo loro può morire da un momento all'altro. Ci vorrebbe un miracolo. »



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Pazienti in coma
Tempesta di citochine

Una tempesta di citochine è una reazione del sistema immunitario potenzialmente fatale. Essa consiste in una reazione tra citochine e sistema immunitario, con produzione continua e massiccia di diverse citochine.



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

The Northwick Park tragedy – protecting healthy volunteers in future first-in-man trials

Dowsing T e Kendall MJ. *J Clin Pharm Ther* 2007;32: 203-207

Reazione avversa grave a Londra (13 marzo 2006) in **volontari sani** trattati in **fase 1** con **l'anticorpo monoclonale antitumorale TGN1412 (n=6) versus placebo (n=2)**

I **6 volontari**, divenuti **pazienti sottoposti a terapia intensiva**, sono sopravvissuti all'incidente, **ma almeno due di essi sono tuttora affetti da postumi gravi**



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

The Northwick Park tragedy – protecting healthy volunteers in future first-in-man trials

Dowsing T e Kendall MJ. *J Clin Pharm Ther* 2007;32: 203-207



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412



Side effects may include...



The drug trial at Northwic
A Dispatches investigatio



Side effects may include...



What really happened when the drug trial at Northwick Park went wrong
A Dispatches investigation - Thursday 9pm



Ryan Wilson – Oggi amputato delle dita dei piedi e delle estremità delle dita delle mani.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Un test clinico autorizzato dall'European Medicines Agency.

La sostanza testata, l'anticorpo monoclonale TGN1412, era stata inizialmente creata e sviluppata dalla ditta tedesca di biotecnologia TeGenero, che dichiarava: « i test svolti su roditori e macachi non lasciavano presagire una reazione di questo tipo ».

L'European Medicines Agency (EMA) aveva rilasciato l'autorizzazione per i primi test clinici (Fase 1), il 5 luglio 2005. In quell'occasione aveva peraltro precisato che detta autorizzazione si fondava sugli esiti degli studi svolti sull'animale.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Gli esami che furono eseguiti successivamente mostrarono che la mancata osservazione di tossicità nel modello animale era da imputarsi essenzialmente ad una **differente attività del farmaco per il recettore umano rispetto a quello animale**. In tal modo, la stimolazione del recettore avveniva in misura significativamente minore nell'animale da esperimento rispetto all'uomo, con l'evidenza tardiva che **la dose iniziale somministrata nello studio pilota era di gran lunga superiore a quella massima tollerabile**.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Establishing risk of human experimentation with drugs: lessons from TGN1412

Kenter MJH e Cohen AF. *Lancet* 2006;368:1387

- **Controindicazione** all'arruolamento di **volontari sani** per la fase I con farmaci oncologici ad **alto rischio** come TGN1412
- **Mancata informazione** per i medici sui potenziali effetti tossici di TGN 1412 e i possibili trattamenti protettivi

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Sperimentazione clinica di fase I TGN 1412

Commentaries

The calm after the cytokine storm: lessons from the TGN1412 trial

E. William St. Clair

Departments of Medicine and Immunology, Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, USA.

The Journal of Clinical Investigation <http://www.jci.org> Volume 118 Number 4 April 2008

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI

15/01/2016

15/01/2016

Il test di un nuovo farmaco finisce in tragedia: muore una persona e quattro gravi in Francia

La sperimentazione in un laboratorio di Rennes.

Prima di assumere il farmaco i sei erano in buone condizioni di salute



NEWS IN FOCUS

GENE-EDITING Patent dispute over CRISPR tool intensifies **p.265**

SPACE Best evidence yet for ninth solar system planet **p.266**

CLIMATE Research blitz aims to unlock secrets of El Niño **p.267**

GENETICS What happens when domestic fowl go wild in Hawaii **p.270**



STEPHANIE MAHE/REUTERS



The hospital in Rennes, France, to which six people were taken after suffering adverse effects in a phase I clinical trial.

PHARMACOLOGY

Scientists in the dark after fatal French clinical trial

Knowledge about the drug's structure would help researchers understand what happened.

17/01/2016

L'annuncio del centro ospedaliero di Rennes:

Farmaco sperimentale in Francia: deceduto il volontario che era in morte cerebrale.

Immediatamente contattate le altre 84 persone che avevano accettato di sottoporsi alla sperimentazione.

FATAL DRUG TRIAL

Basic facts

- The trial recruited 128 healthy volunteers aged 18–55, who were paid €1,900 (US\$2,060) each.
- Ninety people received different doses of the drug, and the remainder a placebo.
- The trial had tested escalating single doses of the drug without observing any serious adverse side effects.
- The six participants who fell ill were the first to receive repeat higher doses over the course of several days.
- The first participant to fall ill experienced adverse symptoms on 10 January and died on 17 January.
- Biotrial halted the trial on 11 January; the other five affected people were hospitalized in the days that followed.
- One of these patients has since been discharged, and the condition of the other four is judged to be serious but stable.
- Authorities are contacting the 84 other people who received the drug at lower doses to arrange medical check-ups; none of the 18 given neurological check-ups over the weekend showed any of the symptoms seen in the hospitalized people.



4. Interazioni con antigeni o sostanze che non sono presenti solo lì dove è interessante andare a colpire, ma a livello sistemico

Tossicità correlata all'espressione dell'antigene su tessuto sano.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



4. Interazioni con antigeni o sostanze che non sono presenti solo lì dove è interessante andare a colpire, ma a livello sistemico

Tossicità correlata all'espressione dell'antigene su tessuto sano.

-Trastuzumab (anti-Her2, Herceptin[®])

-Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])

-anti-CD40L

-Rituximab (anti-CD20, Rituxan[®])

-Bevacizumab (anti-VEGF, Avastin[®])

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])

mAb chimerico



Tossicità dermatologica

Somministrato per il trattamento del cancro del colon-retto e del tumore di testa e collo e, secondo recenti studi, anche del tumore del polmone non a piccole cellule.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



**Cutaneous squamous cell carcinoma (SCC)
on the right arm before therapy
with cetuximab.**

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



**Cutaneous squamous cell carcinoma (SCC)
on the right arm before therapy
with cetuximab.**



**Tumour bed after 3 months of therapy
with cetuximab.**



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



Acneiform folliculitis on the face.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])

Il legame del Cetuximab alla pelle normale, dovuto all'espressione del suo antigene (EGFR), causa una significativa eruzione cutanea in un'elevata percentuale di pazienti (80%).

EGFR è essenziale nel mantenimento dell'omeostasi dell'epidermide.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])

Rash acneiforme, prurito, pelle secca, desquamazione, ipertricosi o alterazioni a carico delle unghie (per es. paronichia). Necrosi cutanea



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])

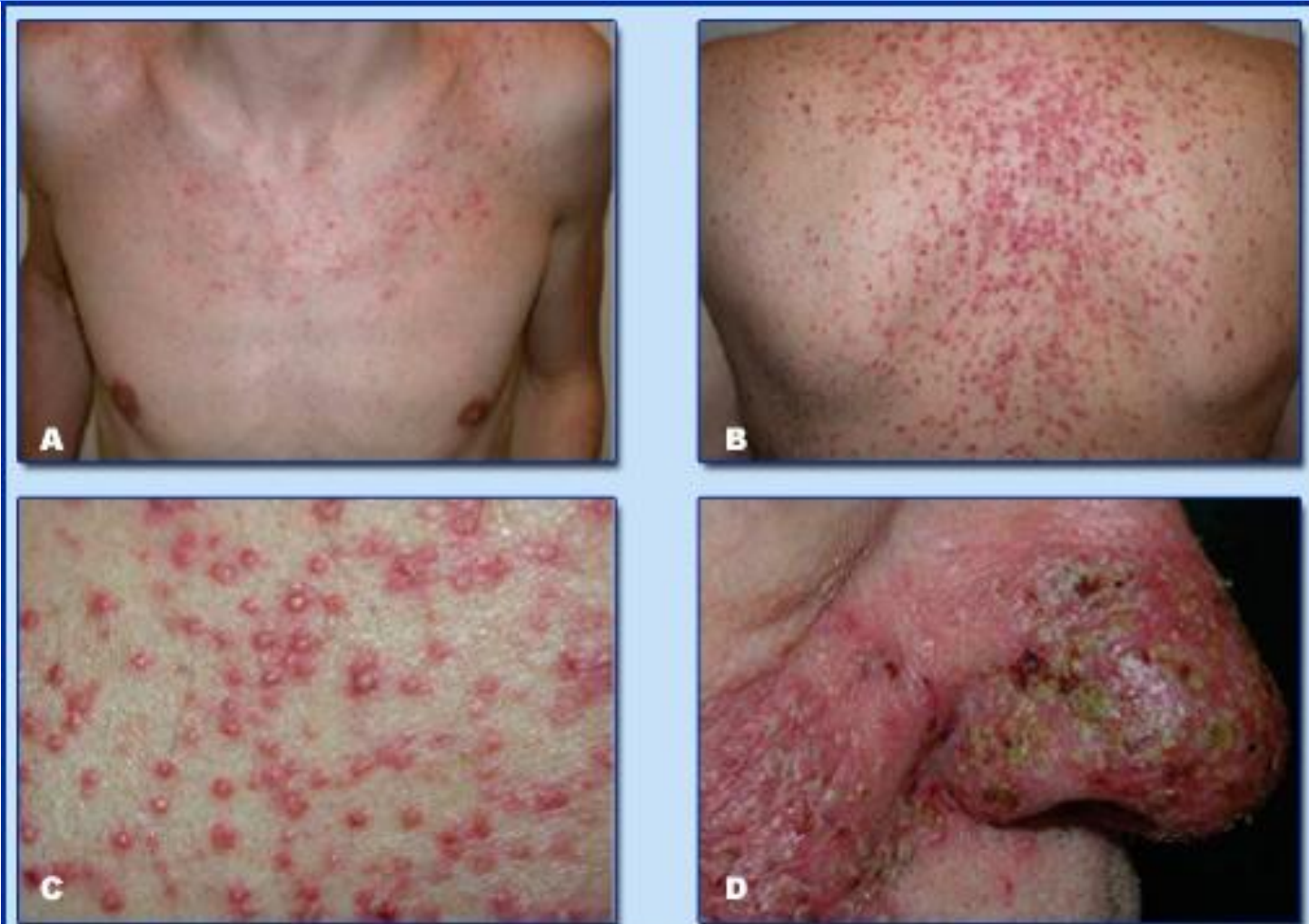


Figure 1. Acneiform eruption. (A) papular lesions on the chest, (B) V-shaped papulopustular eruption on the back, (C) close up of follicular pustules, (D) confluent pustules on the nose.
From Segaeert⁴ with permission.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



Papule eritematose e pustole in aree dove sono normalmente presenti ghiandole sebacee, come il volto e il tronco.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Cetuximab (anti-EGFR, Erbitux[®])



Circa il 15% delle reazioni cutanee sono gravi, inclusi singoli casi di necrosi cutanea.



5. Effetti cronici?

Non è chiaro se alcuni di questi farmaci possano causare linfomi, in quanto esistono studi dai risultati contrastanti.

COSA SONO E
COME SI OTTEGGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



6. Interazioni

- In qualche modo questi farmaci – come i vaccini – interferiscono con alcuni **citocromi**: ciò fa sì che non ci basti un trial clinico perché nella pratica avremo una batteria di farmaci che possono interferire.
- Esistono una serie di interazioni tra **erbe** e medicinali: in ambito oncologico la mancanza della speranza porta alle medicine complementari che possono interferire coi farmaci oncologici, non solo in termini di efficacia, ma anche sugli eventi avversi.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Biotech: il mercato globale



Nel 2003 le vendite di Epogen[®] hanno portato alla definizione di “biotechnology’s best-selling drug”.

Circa il 50% di tutti i nuovi farmaci e terapie in sviluppo origina dalle biotecnologie.

Il settore delle biotecnologie per la cura della salute cresce ogni anno di circa il 15% (più del doppio rispetto alla farmaceutica tradizionale) e ora è 7 volte più grande di 10 anni fa.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Biotech: il mercato globale

Più di 300 farmaci biotech sono al momento sul mercato.

Circa 400 prodotti biotech sono in clinical trials di Fase 3.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

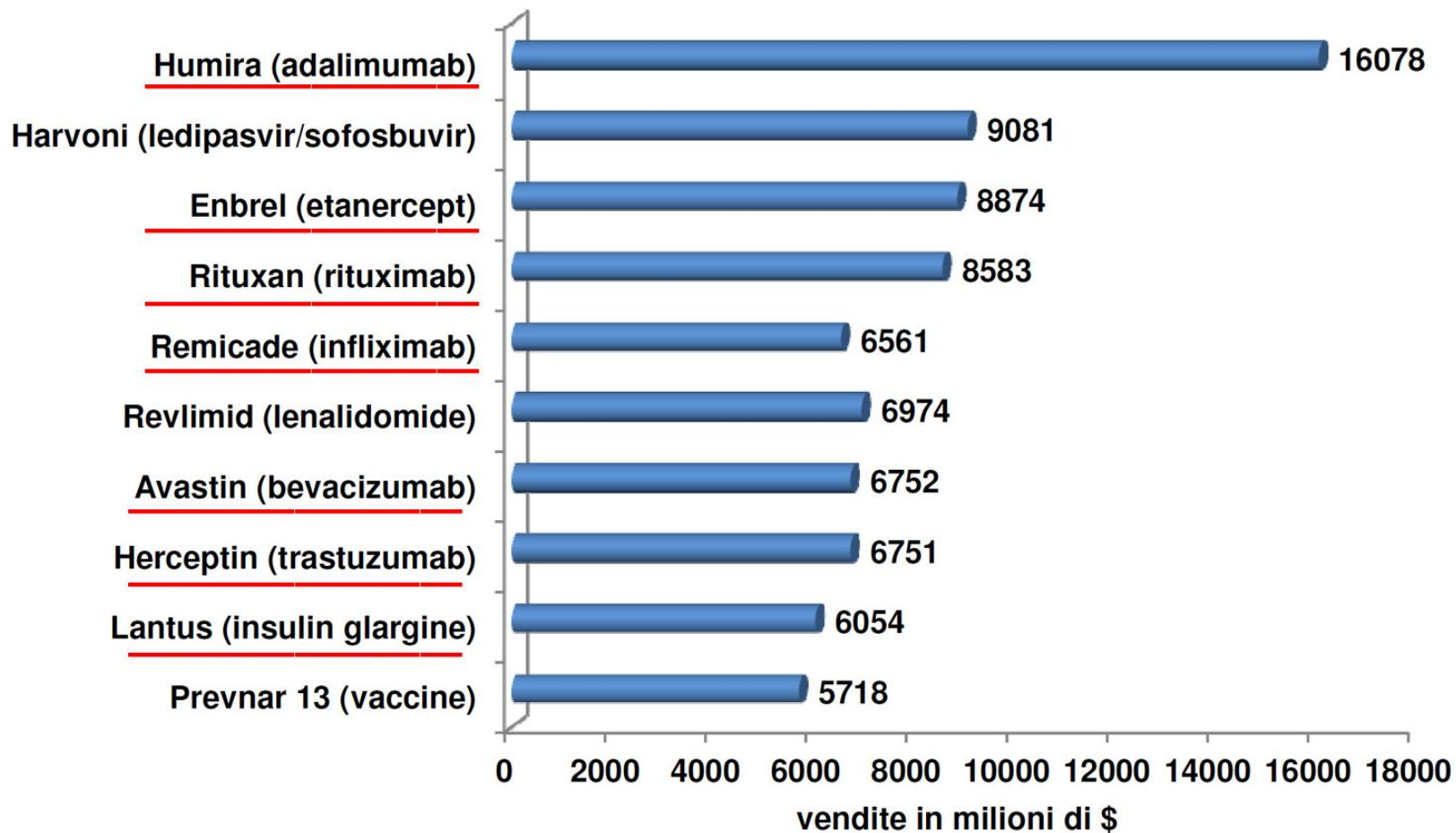
SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



Biotech: il mercato globale



COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

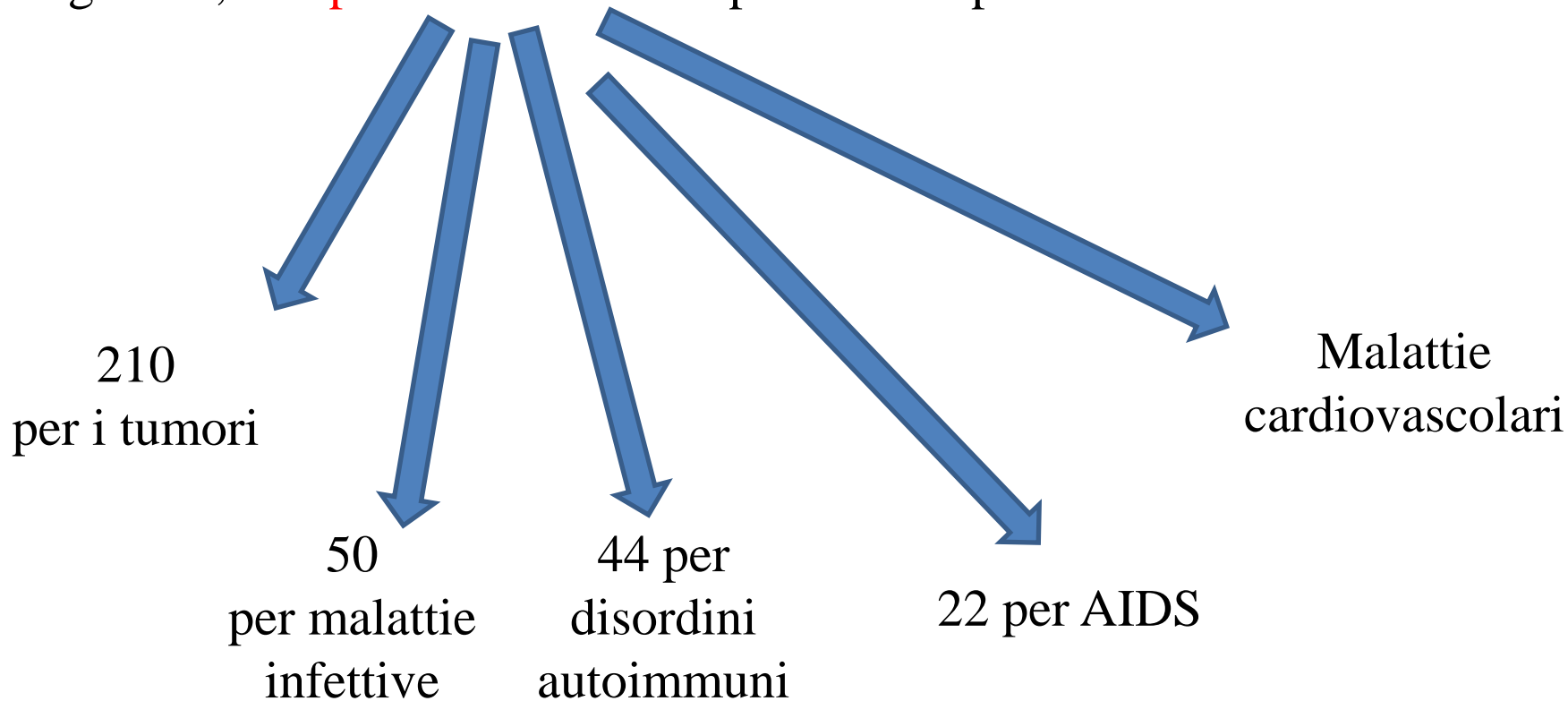
IL MERCATO

CONCLUSIONI



Biotech: il mercato globale

I prodotti biotecnologici rappresentano attualmente il 40% dei prodotti registrati, con **più di 300 farmaci** per trattare più di 100 malattie.





Principali applicazioni dei biofarmaceutici

ONCOLOGIA



Malattie mielo- e linfo- proliferative, tumori solidi

REUMATOLOGIA



Artrite reumatoide

DERMATOLOGIA



Psoriasi

GASTROENTEROLOGIA



Morbo di Chron, rettocolite ulcerosa

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI



I farmaci biotecnologici: innovazione per il beneficio dei pazienti



Certamente **la strada è ancora lunga**, ed occorre investire corposamente sull'innovazione biotecnologica, che si è dimostrata capace di generare prodotti di rilevanza assoluta sotto il profilo medico, economico e sociale.

COSA SONO E
COME SI OTTENGONO

PROTEINE
RICOMBINANTI

mAb

siRNA

SICUREZZA 1-2-3-4-5-6

IL MERCATO

CONCLUSIONI