

circa 180 sieri di pazienti affetti da cancro della prostata e della mammella che sono stati spediti alla GMU e è stato iniziato uno studio di validazione dei primi risultati ottenuti grazie alla metodica delle Nanoparticelle messa a punto e brevettata nell'ambito del Programma Italia-USA, con la quale sono stati identificati più di 430 nuovi potenziali biomarcatori. Nel corso del 2012 i nuovi campioni di siero spediti in USA sono stati utilizzati per confermarne la sensibilità e la specificità con saggi immunometrici e di MRM. Le analisi conclusive relative allo studio Prostata sono attualmente in corso e è iniziato quello di validazione dello studio Mammella. La stessa nanotecnologia è stata utilizzata per misurare i livelli di GH nelle urine non rilevabili con metodiche standard (progetto Doping). I primi risultati molto promettenti sono stati sottomessi per la pubblicazione.

Sul fronte della fosfoproteomica, nel corso del 2012 è stato registrato un significativo avanzamento del progetto multicentrico "Analisi fosfoproteomica delle metastasi epatiche da carcinoma del colon retto". Dopo la conclusione, nel 2011, della fase pilota per la messa a punto delle procedure standard per l'analisi su biopsia percutanea, la fase 2, che prevedeva un'analisi fosfoproteomica dei campioni raccolti, è in fase di conclusione. Ventotto campioni da biopsie resecabili e non-resecabili di metastasi epatiche da carcinoma del colon-retto sono stati analizzati. Tutti i campioni sono stati microdissezionati per isolare l'epitelio tumorale e 160 endpoints sono stati selezionati tra i drug target sperimentali o approvati dall'FDA e analizzati tramite RPPA. L'analisi ha evidenziato differenze nei profili fosfoproteomici delle metastasi resecabili e non e hanno identificato alcuni ipotetici target per il trattamento nella popolazione con metastasi non-resecabili. Tra questi i pathway di MAPK e AURORA chinasi. La raccolta prospettica di un set di validazione multi-centrico sulla base di un protocollo comune di prelevamento, congelamento e stoccaggio dei campioni è in fase di avanzamento. Tale fase è propedeutica all'allestimento di uno studio clinico.

Parallelamente, è avanzato con successo un secondo studio multicentrico per la validazione di un nuovo agente fissante BHP, brevettato dalla GMU che presenta notevoli vantaggi rispetto ad altre metodiche di fissazione, sia per studi di tipo istologico che per analisi molecolari. Ulteriori studi per confermarne l'efficacia sono in corso coinvolgendo 5 Unità di patologi dislocati sul territorio nazionale e pezzi istologici di dieci tipi diversi di tumore.

Nel corso del 2012 le piattaforme tecnologiche sviluppate nell'ambito del Programma Italia-USA hanno fornito supporto tecnologico alla ricerca in campo oncologico dei ricercatori di Istituti oncologici italiani, enti di ricerca e università italiani. Nel settembre 2012 è stato organizzato un evento formativo in forma congiunta con il corso "Bioinformatics for Omics Sciences".

Nel corso del 2012 sono state finanziate e rinnovate alcune borse di studio e contratti a giovani ricercatori italiani operativi presso i laboratori della GMU.

Attività programmata 2013

L'attività programmata per il 2013 riguarda il completamento della validazione dei marcatori tumorali diagnostici e prognostici individuati nel corso dello studio pilota di sieroproteomica grazie all'uso della metodica delle nanoparticelle, come precedentemente illustrato. I sieri di pazienti affetti da diversi tipi di tumori (colon, ovaio, melanoma, polmone e sarcoma) saranno selezionati presso l'ISS in base a criteri clinici (stadiazione) e in gruppi stratificati per sesso e fasce di età. I sieri selezionati saranno quindi sottoposti allo studio di validazione presso la GMU, con analisi quantitative immunometriche (ELISA, Western blot) o ad analisi quantitativa utilizzando la tecnologia MRM. Le suddette valutazioni saranno effettuate anche su sieri da soggetti controllo, in modo da ottenere una precisa valutazione della specificità e della sensibilità per ogni biomarcatore e per ogni tumore. Le suddette tecnologie sono attualmente disponibili e utilizzate dai borsisti del Programma Italia-USA presso la GMU.

Nel corso del 2013, nell'ambito dello studio *Help-Mild*, con il raggiungimento del numero target di soggetti arruolati, è previsto l'inizio dell'analisi sieroproteomica per identificare nuovi marcatori precoci di tumore del polmone in soggetti ad alto rischio.

Per quanto riguarda lo studio sul nuovo fissativo BHP sviluppato nell'ambito del Programma Italia-USA, è previsto il completamento della fase di valutazione comparativa con altri fissativi attualmente disponibili. Al termine di tale valutazione comparativa sarà effettuato un Meeting con i rappresentanti dei 5 Centri italiani per la pubblicizzazione dei risultati che appaiono molto incoraggianti e meritevoli di diffusione sui media nazionali e internazionali.

Nel corso del 2013 si prevede di dare inizio alla fase tre del progetto "Analisi fosfoproteomica delle metastasi epatiche da carcinoma del colon retto". In questa fase verrà attuato uno studio clinico multicentrico di *targeted therapy* basato sull'analisi del profilo fosfoproteomico. Il protocollo dello studio clinico sarà messo a punto da Oncologi Medici e Chirurghi dei Centri partecipanti utilizzando le informazioni ottenute nelle precedenti fasi del progetto. Non appena concordato il disegno dello studio clinico si procederà alla richiesta di approvazione da parte dei Comitati Etici e inizierà l'arruolamento dei pazienti.

Nel 2013 si effettuerà lo spostamento della Biobanca dall'Ospedale Maggiore di Milano all'ISS.

Nel corso del 2013 le piattaforme tecnologiche sviluppate nell'ambito del Programma Italia-USA continueranno a fornire supporto alla ricerca in campo oncologico dei ricercatori di Istituti oncologici italiani, enti di ricerca e università italiani.

Nel corso dell'anno saranno rinnovate alcune borse di studio per consentire lo svolgimento del lavoro dei giovani ricercatori italiani operativi presso i laboratori della GMU.

I risultati ottenuti saranno sottomessi per la pubblicazione.

Accordo ISS-Novartis (ex Chiron) per lo sviluppo di un vaccino combinato contro l'HIV/AIDS

Nel 2002 è stato ratificato tra l'ISS e Chiron Corporation (oggi NOVARTIS) un accordo scientifico finalizzato allo sviluppo di vaccini di seconda generazione contro l'HIV/AIDS comprendenti Tat in associazione ad altri antigeni di HIV. Obiettivo dell'accordo, finanziato pariteticamente dal Ministero della Salute e da Chiron, è la creazione di una *task force* accademico-industriale, competitiva a livello internazionale, volta a sviluppare ricerche innovative nel campo dei vaccini contro l'AIDS. L'accordo è fondato su risultati ottenuti indipendentemente da Chiron e ISS con i rispettivi vaccini. Il contributo di ISS è basato sull'esperienza pluriennale nel vaccino basato sulla proteina Tat, di cui si è recentemente conclusa con successo la fase I di sperimentazione clinica preventiva e terapeutica di fase I in Italia, per valutarne l'innocuità e l'immunogenicità. Chiron ha concluso la fase I della sperimentazione clinica di un vaccino preventivo basato sulla molecola trimerica $\Delta V2$ -Env, un immunogeno di nuova concezione in grado di indurre anticorpi neutralizzanti *cross-clade* grazie ad una migliorata esposizione del dominio (*V3 loop*) responsabile del riconoscimento dei co-recettori per HIV.

L'accordo, che si è concluso nel 2009, ha portato alla dimostrazione che la vaccinazione con Tat associato ad Env è sicura e immunogenica, escludendo l'eventualità di interferenze fra questi antigeni. Inoltre, rispetto agli animali vaccinati con il solo $\Delta V2$ -Env si è osservata negli animali vaccinati con entrambi gli antigeni un'induzione più precoce di anticorpi anti-Env con funzione neutralizzante, suggerendo un ruolo adiuvante di Tat, in accordo con gli effetti da noi dimostrati di questa proteina sulla maturazione di cellule dendritiche, processamento

dell'antigene e polarizzazione della risposta T *helper*. Per quanto concerne l'efficacia, la vaccinazione con Tat/ΔV2-Env è risultata superiore o uguale a quella conferita dal solo Env o Tat. In particolare, la protezione è consistita o nella negatività dei parametri di infezione (viremia plasmatica e DNA provirale non misurabili, assenza di calo dei linfociti CD4), o in una riduzione statisticamente significativa dei parametri virali (viremia plasmatica e DNA provirale) rispetto ai gruppi di controllo con contenimento dell'infezione nel sito di inoculo (rilevazione del provirus solo nel sito di inoculo e linfonodi regionali (Ferrantelli et al., *Vaccine*, 29: 2918–2932, 2011).

Sulla base di questi e di altri risultati un trial vaccinale terapeutico di fase II basato sul Tat è stato completato in Italia ((T-002) (Ensoli et al *PLoS ONE* 2010) e uno analogo è attualmente in corso in Sudafrica (T-003), mentre è iniziato in Italia un trial clinico preventivo di fase I per la valutazione del vaccino basato sulla combinazione Tat/ΔV2-Env (P-002).

Resoconto attività 2012

Fra i nuovi test in vitro messi a punto per valutare il potere neutralizzante di sieri con attività anti-Env di HIV-1 o con attività anti-Env and anti- Tat, il test di *uptake* della proteina Env complessata con Tat si è dimostrato estremamente sensibile e riproducibile. In particolare si è già cominciato ad utilizzarlo per valutare l'attività dei sieri di scimmie vaccinate con Tat ed Env, di soggetti infettati con HIV e di soggetti infettati con HIV e vaccinati con la proteina Tat. I risultati dimostrano il contributo importante degli anticorpi anti-Tat nel neutralizzare sia l'internalizzazione delle proteina Env di HIV che l'infezione di cellule target in presenza di Tat con ottimi risultati, in parte già pubblicati.

Attività programmata 2013

Nel 2013 verrà completata la valutazione dei sieri del *trial* vaccinale terapeutico di fase II basato sul Tat condotto in Italia (T-002) e verrà iniziata quella dei sieri del *trial* vaccinale terapeutico di fase II basato sul Tat in corso in Sudafrica (T-003) e del *trial* vaccinale preventivo di fase I basato sulla co-immunizzazione con le proteine Tat ed Env (P-002). Inoltre verranno sviluppati nuovi test per meglio valutare l'attività degli anticorpi indotti e definire le loro caratteristiche biologiche e specificità, allo scopo di identificare gli epitopi proteggenti e correlati di protezione.

Accordo tra ISS e National Library of Medicine (NLM): formazione medica e servizi sanitari

La collaborazione dovrebbe svilupparsi secondo due linee fondamentali: lo sviluppo di database conoscitivi multimediali, utilizzabili nelle attività che prevedono l'erogazione di azioni formative a distanza basate sulla piattaforma digitale che l'ISS ha perfezionato; l'utilizzazione delle risorse digitali della NLM per la conduzione di attività di supporto ai progetti di virtualità che l'ISS sta impostando (paziente virtuale, ospedale virtuale, distretto sanitario virtuale). Uno sviluppo particolare è previsto nell'ambito del *Visible Human Project* della stessa NLM, con l'attivazione di una sede *mirror* presso l'ISS, utilizzabile soprattutto per l'impostazione e la conduzione di trial clinici virtuali.

Risultati attesi: moduli formativi multimediali evoluti; paziente virtuale e organizzazione sanitaria virtuale approntati e disponibili su portale dedicato; *trial* virtuali impostati e validabili anche attraverso una specifica collaborazione che verrà proposta all'autorità regolatoria nazionale.

Trasferibilità: anche se lo sviluppo digitale non è sottoposto a brevettazione, si definiranno pacchetti di servizio che saranno erogati secondo il nomenclatore tariffario dell'ISS. Quanto sviluppato in *open source* sarà depositato presso il sito del riuso dell'autorità informatica centrale.

Archivi sostanze e preparati pericolosi

Presso il CSC viene svolta un'intensa attività nel campo delle sostanze, delle miscele, degli articoli e dei preparati pericolosi. Nell'ambito di tali attività sono stati creati e vengono regolarmente aggiornati, sulla base delle disposizioni vigenti e delle informazioni tecnico-scientifiche disponibili, archivi informatizzati riguardanti aspetti specifici seguiti dal Centro che possono essere resi accessibili a utenti selezionati, come i Centri Antiveleni nazionali per l'Archivio Preparati, alle autorità delle Regioni e Province autonome competenti o a tutti i cittadini, quale contributo ad una migliore conoscenza sulle sostanze utilizzate nella produzione di miscele e articoli o sostanze presenti in ambiente professionale e/o domestico, in un'ottica di sempre maggiore trasparenza sulle informazioni disponibili e non confidenziali.

L'Archivio Preparati Pericolosi (APP) rappresenta un punto di riferimento di primaria importanza nel quadro della prevenzione e della protezione dei consumatori e dei lavoratori esposti accidentalmente o professionalmente a prodotti chimici. L'APP è una banca dati informatizzata sui preparati pericolosi prevista dall'art. 15 del DL.vo n. 65 del 14.3.2003 riguardante la classificazione, l'imballaggio e l'etichettatura dei preparati pericolosi. In base all'art. 15 del citato decreto il responsabile dell'immissione sul mercato dei prodotti deve trasmettere all'ISS le informazioni relative ai preparati pericolosi, compresa la composizione chimica, da utilizzare esclusivamente per scopi sanitari in vista di misure preventive o curative e da adottare in caso di emergenza. Il CSC in seno all'ISS è incaricato di ricevere le informazioni relative ai preparati immessi sul mercato e considerati pericolosi per i loro effetti sulla salute o in base ai loro effetti a livello fisico e chimico, compresa la composizione chimica.

L'archivio inoltre riceve le dichiarazioni sui detergenti siano essi pericolosi che non pericolosi. L'accesso immediato alla composizione chimica dei preparati pericolosi è finalizzato a garantire tempi di intervento più rapidi in caso di emergenze, quali intossicazione accidentale, e rendere anche più efficaci gli interventi in materia di prevenzione. L'APP contiene informazioni confidenziali e è accessibile esclusivamente ai Centri Antiveleni che rispondono ai criteri previsti per l'accreditamento da parte del Ministero della Salute.

L'Inventario Nazionale Sostanze Chimiche (INSC), istituito presso l'ISS, è una banca dati che contiene informazioni sulle caratteristiche intrinseche (chimiche, fisiche, tossicologiche) di sostanze chimiche sulle quali si basa la valutazione del rischio per la salute connesso alla loro presenza nei prodotti, negli articoli vari e nell'ambiente. Questa banca dati fattuale, aggiornata periodicamente, rappresenta per le autorità competenti un punto di riferimento nazionale per la raccolta delle informazioni disponibili sulle sostanze chimiche di maggior rilievo.

La Banca Dati Sostanze Chimiche riporta la classificazione ed etichettatura armonizzate ufficialmente dall'UE per circa 8000 sostanze, con i seguenti dettagli: nome, numeri CAS e CE, limiti di concentrazione specifici, riferimenti alla normativa europea e nazionale più aggiornata. Sono inoltre riportati i nomi e i numeri identificativi per le circa 101.000 sostanze cosiddette "esistenti" presenti sul mercato europeo. Sono evidenziate per le singole voci le restrizioni

previste dall'Allegato XVII del Regolamento (CE) 1907/2006 in materia di fabbricazione, immissione sul mercato e uso di talune sostanze, preparati e articoli pericolosi.

È disponibile inoltre un convertitore GHS (*Globally Harmonized System*) che è stato attivato in collaborazione con l'Associazione Professionale *of Chemical Industry* (BG RCI) (www.bgrci.de), al fine di realizzare uno strumento di supporto alle aziende per una migliore gestione della transizione al nuovo sistema di classificazione ed etichettatura previsto dal Regolamento CLP. Tale convertitore consente di stabilire una "nuova" classificazione "GHS-conforme" basata sulla precedente classificazione conforme alla precedenti direttive 67/548/CE99/45/CE.

La Banca Dati Cancerogeni (BDC) è predisposta e aggiornata dal CSC, con il supporto del SIDBAE e di esperti interni ed esterni all'ISS. La BDC non classifica i cancerogeni ma presenta, in forma sintetica e integrata, le classificazioni e valutazioni di cancerogenicità ufficiali formulate da Organismi competenti a livello internazionale e nazionale quali l'UE, l'*International Agency for Research on Cancer* (IARC), l'*US Environmental Protection Agency* e il *National Toxicology Program*. La BDC è una banca dati relazionale e è inoltre una banca fattuale, satellite dell'INSC dal quale deriva e si alimenta. I dati contenuti nella BDC sono utilizzabili immediatamente e presentati in forma sintetica: le informazioni, la tracciabilità e l'accesso alla fonte originale.

La Banca Dati Bonifiche (BDB) è predisposta e aggiornata dal CSC e dal Reparto Suolo del Dipartimento di AMPP, con il supporto del SIDBAE. La BDB fornisce informazioni non riservate, validate, aggiornate e complete su sostanze di interesse nelle procedure di bonifica di siti contaminati sia regolamentate da disposizioni cogenti che dedotte sulla base di informazioni scientifiche. La BDB include sia le sostanze per le quali è disponibile una concentrazione limite nel suolo, nel sottosuolo e/o nelle acque sotterranee, incluse nel DL.vo 152/2006, sia sostanze per le quali non è definita una concentrazione limite dal citato decreto, e per le quali l'ISS ha proposto una concentrazione di riferimento. La BDB è una banca relazionale e fattuale e i dati sono accessibili al pubblico.

La BDS realizzata e gestita in collaborazione con il CRIVIB, con il SIDBAE e con esperti ISS, di libero accesso sul sito dell'ISS, contiene informazioni su sostanze sensibilizzanti o potenzialmente tali. La BDS non propone classificazioni ma presenta in forma sintetica informazioni non riservate relative a questo *endpoint*. La BDS include sostanze classificate come sensibilizzanti dall'UE nell'ambito del Regolamento CLP (*Classification, Labelling and Packaging*), sostanze classificate come tali da enti competenti in materia di valutazione del rischio per l'ambiente di lavoro (es. ACGIH e DFG) o anche in generale sostanze esaminate da istituzioni internazionali sia governative (US NTP) che di settore (ETAD, HERA).

Resoconto attività 2012

È proseguita l'attività per lo sviluppo di una Banca dati nazionale sui Nanomateriali fabbricati, importati e utilizzati in quanto tali o come componenti di articoli e miscele.

Sono proseguite le attività di gestione e aggiornamento di diverse banche dati informatiche quali l'INSC con l'aggiornamento di circa 100 schede e predisposizione di circa n. 50 nuove schede, la Banca dati delle Sostanze Chimiche che è stata aggiornata in base alle nuove indicazioni sulla classificazione delle sostanze previste dal Regolamento CLP, la Banca dati dei Cancerogeni con 400 nuove schede, la Banca dati dei Sensibilizzanti con 100 nuove schede, la Banca dati Bonifiche con 100 nuove schede e il sistema informatico "conversione GHS".

La Banca Dati sui Preparati pericolosi ha continuato nell'attività di supporto tecnico-scientifico per rispondere a 662 risposte a mezzo mail e 250 risposte di consulenza telefonica,

nella validazione di 374 nuove imprese italiane, 68 europee e una Extra-EU (Florida, USA) e nella gestione informatica supportata con n. 424 consulenze a mezzo mail.

Attività programmata 2013

Le banche dati prodotte dal CSC saranno implementate e aggiornate in base alle più recenti conoscenze scientifiche e disposizioni legislative in materia di classificazione, etichettatura e imballaggio nella pagina web del CSC.

La banca dati sulla classificazione delle sostanze è continuamente aggiornata a seguito della pubblicazione, in genere su base annuale, degli adeguamenti al progresso tecnico del Regolamento (CE) 1272/2008 (CLP) e delle modifiche dell'Allegato XVII del Regolamento (CE) 1907/2006 in materia di restrizioni.

Le banche dati sugli agenti cancerogeni, agenti sensibilizzanti, bonifiche e dell'INSC saranno mantenute e aggiornate sia a seguito degli adeguamenti al progresso tecnico del Regolamento CLP, come pure della pubblicazione di nuove Monografie IARC, la n. 100 e la n. 101 pubblicate nel corso del 2012, del XII *Report on Carcinogens* del 2011 che ha aggiornato 240 profili di agenti chimici e degli aggiornamenti dell'*US ACGIH* e della *Deutsche Forschungsgemeinschaft* tedesca.

Si prevede di evidenziare e continuamente aggiornare, per le singole voci, le restrizioni previste dall'Allegato XVII del Regolamento (CE) 1907/2006 in materia di fabbricazione, immissione sul mercato e uso di talune sostanze, preparati e articoli pericolosi.

Continuerà l'attività correlata al mantenimento dell'help desk nazionale CLP istituito nel 2009 allo scopo di supportare le piccole e medie imprese nella delicata fase di passaggio dal vecchio al nuovo sistema di classificazione delle sostanze e miscele e in particolare sarà implementato il database per archiviare le richieste e le relative risposte al fine di identificare gli argomenti e garantire l'armonizzazione delle valutazioni e pareri.

Si prevede l'implementazione di una Banca dati Nazionale sui Nanomateriali fabbricati, importati e utilizzati in quanto tali o come componenti di articoli e miscele.

L'Archivio preparati pericolosi continuerà le proprie attività migliorando le prestazioni e proseguendo l'attività di monitoraggio sulla conformità dei dati registrati dalle imprese responsabili. Inoltre lo sviluppo dell'APP prevederà un *upgrade* del sistema informatico con adeguamento a piattaforme più attuali, la possibile revisione del format per la trasmissione delle informazioni e l'armonizzazione a livello nazionale ed europeo in conformità all'Art 45(4) del Regolamento CLP. L'help desk biocidi, come previsto dall'ECHA, sarà predisposto in analogia a quanto già presente per i regolamenti CLP presso il CSC e REACH presso il Ministero dello Sviluppo Economico.

Attività corrente per la produzione di farmaci cellulari innovativi e promozione della ricerca clinica basata su protocolli di immunoterapia sperimentale

Le ricerche nel campo dell'immunologia e delle biotecnologie hanno aperto nuovi orizzonti nel trattamento di pazienti oncologici mediante strategie innovative di vaccinazione antitumorale e di immunoterapia cellulare. L'importanza di promuovere l'immunoterapia clinica sperimentale come disciplina specifica è stata ripetutamente sottolineata in editoriali su prestigiose riviste internazionali, che ne hanno evidenziato le potenzialità di ricaduta sanitaria,

suggerendo l'importanza di strategie e iniziative idonee a superare i limiti che attualmente ne ostacolano il pieno sviluppo. In Italia, nonostante i livelli di eccellenza della ricerca di base nel settore dell'immunologia e immunoterapia dei tumori, si è registrato un notevole ritardo nel trasferimento dei risultati della ricerca alla sperimentazione clinica, soprattutto nell'ambito dello sviluppo dei Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate (PMTA), che rappresentano il frutto delle nuove conoscenze della biologia cellulare e molecolare così come della genomica funzionale, della proteomica e della farmacogenomica. Assistiamo oggi a nuove domande, da parte sia degli istituti di ricerca (Università, CNR) sia degli IRCCS, per la realizzazione di infrastrutture in grado di fornire quei servizi funzionali allo sviluppo e al trasferimento alla clinica di nuovi farmaci personalizzati e di nuove strategie di bioterapia basate sui PMTA. In particolare, lo sviluppo pre-clinico e clinico di biofarmaci e di PMTA presenta esigenze specifiche in termini di identificazione e validazione di adeguati modelli pre-clinici e di metodologie per la valutazione degli aspetti di sicurezza e di qualità dei prodotti. Infatti, i modelli e l'esperienza sviluppati per le piccole molecole non sono applicabili in modo semplice ai PMTA.

Un "collo di bottiglia" importante in questo settore è rappresentato dalla complessità della cornice regolatoria e dei requisiti di produzione dei PMTA. Infatti, come conseguenza dell'emanazione della Direttiva 2001/20/CE e del successivo DL.vo 211/2003, la produzione dei farmaci sperimentali è soggetta alle stesse norme previste per la produzione dei farmaci immessi in commercio, che deve essere effettuata in conformità alle GMP, anche in base alla Direttiva 2003/94/CE e al DL.vo 219/2006 che ne recepisce le indicazioni. Le GMP costituiscono la linea guida che descrive gli aspetti qualitativi minimi necessari per la produzione, il controllo e il rilascio di un prodotto farmaceutico. Questo implica che la produzione dei farmaci sperimentali venga effettuata in laboratori a contaminazione controllata di qualità farmaceutica, con conseguente aumento dei costi di produzione e, soprattutto, da parte di personale specificamente addestrato al rispetto delle GMP. Partendo dalla valutazione dell'importanza di creare un centro pubblico di riferimento, in grado di produrre cellule in condizioni GMP per lo sviluppo di progetti clinici innovativi derivanti dalla ricerca italiana, il nostro gruppo ha portato avanti il progetto di costruzione e attivazione dell'"officina farmaceutica" FaBioCell. Al termine di un complesso percorso di sviluppo e convalida delle metodiche di produzione e controllo qualità FaBioCell ha ottenuto dall'AIFA l'autorizzazione alla produzione di "prodotti per terapia cellulare" il 22/2/2011. Il progetto è stato animato da una filosofia di promozione della ricerca traslazionale e clinica nel settore delle nuove terapie cellulari e è scaturito dalla ventennale esperienza e dalle prospettive di ricerca, nel settore dell'immunoterapia dei tumori, del gruppo coordinato da Filippo Belardelli. Il gruppo ha, infatti, contribuito all'identificazione di nuovi adiuvanti di natura proteica o cellulare, individuando tecnologie e strategie terapeutiche oggetto di brevetti dell'ISS. In particolare, la lunga esperienza di ricerca sull'interferone (IFN) ha portato allo sviluppo di un originale protocollo di generazione di DC denominate IFN-DC. In esperimenti pre-clinici è stato dimostrato che le IFN-DC sono particolarmente potenti nell'avviare la risposta immunitaria specifica grazie alla loro particolare abilità nel catturare gli antigeni e nel processarli in modo da renderli visibili al sistema immunitario. È stato quindi ideato un protocollo clinico basato sulla somministrazione intratumorale delle IFN-DC in pazienti precedentemente trattati con chemioterapici. La morte delle cellule tumorali, indotta dal chemioterapico, è assimilabile all'apoptosi e è spesso accompagnata da una serie di cambiamenti nella membrana cellulare e dal rilascio di molecole solubili capaci di attivare le cellule dendritiche e il sistema immunitario. Le IFN-DC inoculate *in situ* acquisiscono il materiale derivato dalla morte cellulare, tra cui i corpi apoptotici e i complessi molecolari tumore-derivati, risultando così in grado di presentare peptidi antigenici nel contesto delle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità

(MHC) e mediare l'attivazione della risposta cellulare T, stimolando la generazione di cellule CD8 tumore-specifiche.

Resoconto attività 2012

Nell'ambito dello studio clinico *IFN-Dendritic cell-based immunotherapy in association with chemotherapy in advanced cancer patients*, autorizzato dalla Commissione per la valutazione dell'ammissibilità alla Sperimentazione Clinica di Fase I e condotto in collaborazione con l'Istituto Dermatologico dell'Immacolata e Ospedale Sant'Andrea, Università Sapienza di Roma, sono stati trattati 5 pazienti. Le cellule, utilizzate nel protocollo clinico, sono un farmaco paziente specifico e vengono prodotte presso FaBioCell a partire da prodotti aferetici ottenuti dal paziente stesso. I trattamenti hanno dimostrato la tollerabilità del "vaccino terapeutico" costituito dalle IFN-DC. Non è stata registrata alcuna reazione avversa in nessuno dei pazienti arruolati. Il follow-up dei pazienti è attualmente in corso e prevede il monitoraggio immunologico effettuato su campioni prelevati dai pazienti fino ad un anno dalla somministrazione dell'ultima dose di vaccino.

In collaborazione con il gruppo del Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università Sapienza di Roma è stata completata la fase di convalida, secondo GMP, della procedura di produzione per l'espansione ex vivo di cellule Natural Killer (NK). La metodica di espansione è stata messa a punto, in esperimenti preclinici, dal gruppo del Dipartimento sopracitato. Sono state effettuate quattro preparazioni, a partire da cellule di volontari sani, in cui sono state ottenute cellule NK CD56+ CD3- in grado di effettuare elevata attività citotossica contro cellule target (K562). L'attività citotossica è stata rilevata sia mediante il saggio classico di rilascio del Cromo sia con il saggio di degranulazione mediante la rilevazione del marcatore CD107. È stato possibile mettere in evidenza anche la lisi di blasti tumorali eterologhi, anche se in questo caso si è avuta un minore efficienza. Le cellule NK sono state espanse, nelle quattro produzioni di convalida, da 16 a 19 volte.

I controlli sulla sicurezza del prodotto (sterilità, endotossina, micoplasma, cariotipo) hanno avuto costantemente esito conforme alle specifiche. La purezza, misurata con l'analisi fenotipica, è risultata maggiore del 95% in tutte le preparazioni.

In collaborazione con l'unità di Ematologia dell'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea di Roma, sono stati avviati studi per lo sviluppo di un vaccino terapeutico per il trattamento di pazienti affetti da linfomi non-Hodgkin (NLH) indolenti a cellule B. Gli studi sono stati focalizzati sull'analisi fenotipica e funzionale delle IFN-DC, differenziate a partire da prelievi di sangue periferico dei pazienti, pulsate o con preparazioni di cellule apoptotiche o con lisati derivati dal tumore autologo. I risultati ottenuti hanno evidenziato che è possibile ottenere una risposta CD4 tumore-specifica fortemente polarizzata in senso Th1, caratterizzata da una produzione precoce e sostenuta di IFN- γ . Sono ancora in corso di valutazione i risultati relativi all'induzione della risposta citotossica valutata mediante saggi ELISPOT in grado di rilevare la presenza di linfociti T produttori Granzyme a seguito della stimolazione con le IFN-DC.

Attività programmata 2013

Nel corso del 2013 verrà concluso l'arruolamento dei pazienti nel protocollo clinico "IFN-Dendritic cell-based immunotherapy in association with chemotherapy in advanced cancer patients" e verranno analizzati i dati ottenuti dal monitoraggio immunologico dei pazienti trattati nel 2012. L'analisi permetterà di valutare l'efficacia della strategia vaccinale in termini di induzione di risposta immune specifica contro il tumore.

Prevediamo, inoltre, non appena ottenuta l'autorizzazione da parte dell'autorità competente, di iniziare la produzione di cellule NK da pazienti arruolati nel protocollo clinico "Phase I protocol of adoptive immunotherapy using autologous natural killer (NK) cells after enrichment and expansion under good manufacturing practice (GMP) conditions for patients with Ph+ acute lymphoblastic leukemia (ALL) >60 years in complete remission (CR) or not eligible for other post-CR treatment modalities after induction with a tyrosine kinase inhibitor (TKI) plus steroids". I pazienti saranno arruolati presso Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università 'Sapienza' di Roma, dal gruppo del Prof. Robin Foà.

Nel primo semestre del 2013 verranno completati gli studi di convalida relativi al caricamento con antigeni, costituiti da cellule apoptotiche o lisati di tumori autologhi, di IFN-DC da impiegare per la vaccinazione terapeutica di pazienti affetti da NLH. La strategia di caricamento è in via di definizione in base ai dati sperimentali ottenuti in vivo, nel modello di topi SCID umanizzati, e in vitro. I dati preclinici raccolti verranno utilizzati per la redazione dell'Investigational Medicinal Product Dossier che verrà sottoposto per l'approvazione all'autorità competente. Prevediamo di poter iniziare l'arruolamento dei pazienti entro il 2013.

È anche in corso di preparazione un protocollo clinico destinato al trattamento di pazienti affette da carcinoma della cervice uterina. In questo caso le IFN-DC verranno pulsate con le oncoproteine ricombinanti, prodotte in GMP, E7 ed E6 del virus del papilloma umano HPV.

Infine, FaBioCell metterà a disposizione le proprie competenze tecniche e la propria struttura per far fronte alle richieste di produzione di farmaci cellulari che scaturiranno dalle attività delle infrastrutture di ricerca europee e nazionali (EATRIS e IATRIS) di cui il nostro gruppo è promotore.

Attività ispettiva ad officine farmaceutiche per la verifica delle Buone Pratiche di Fabbricazione delle specialità medicinali, delle materie prime e degli eccipienti ad uso farmaceutico

L'AIFA, Autorità Regolatoria per l'Italia, sulla base delle precedenti positive esperienze di collaborazione, ha stipulato con l'ISS una convenzione, con il reciproco interesse ad addivenire ad una collaborazione finalizzata al raggiungimento di obiettivi comuni e alla promozione delle proprie attività nei reciproci campi d'azione.

Nell'ambito di questa convenzione il CRIVIB è in possesso di tutti i requisiti di esperienza, professionalità e capacità tecnologica atti garantire l'idoneo supporto per lo svolgimento delle attività tecnico-scientifiche di competenza dell'Agenzia e in particolare per le attività di valutazione dossier di medicinali per AIC Nazionali o di mutuo riconoscimento o per le autorizzazioni decentrate o centralizzate europee, per la valutazione della qualità dei farmaci, gli studi clinici, gli studi di farmacovigilanza attiva e infine la partecipazione ai gruppi tecnici dell'EMA.

Il Direttore del CRIVIB è incaricato altresì di coordinare tutta l'attività ispettiva ad officine farmaceutiche produttrici di medicinali e ad officine produttrici di API.

La valutazione dei medicinali si effettua esaminando la qualità, la sicurezza d'uso e l'efficacia, tutti parametri che forniscono una indicazione globale sul medicinale stesso.

In tale processo di valutazione sono coinvolti l'AIFA, e per numerosi aspetti il CRIVIB che, agendo in sinergia, assicurano che i medicinali utilizzati siano sempre del massimo livello possibile. La valutazione avviene attraverso l'esame dettagliato della documentazione,

compilata dal proponente, secondo il formato attualmente in vigore che prevede cinque moduli distinti (di cui i moduli 1 e 2 sono dedicati ad aspetti amministrativi e al sommario della documentazione mentre i moduli 3, 4 e 5 sono dedicati rispettivamente alla parte di qualità, non clinica e clinica). Tuttavia, non meno importante, per una corretta valutazione del medicinale, è l'analisi delle condizioni in cui il medicinale stesso è prodotto, condizioni che devono corrispondere a quanto stabilito in una serie di normative che definiscono le GMP.

Il rispetto di tali condizioni è valutabile esclusivamente attraverso visite ispettive o ispezioni alle officine farmaceutiche produttrici, effettuato da personale adeguatamente addestrato per lo specifico settore. In tale ambito ispettivo, un aspetto fondamentale è rappresentato dalla armonizzazione delle attività dei vari Ispettori nei vari Paesi Europei e non, e per questo motivo all'inizio del 2000 si è concretizzato sempre più nei dettagli un processo di armonizzazione in ambito europeo tra Europa e Canada, Europa e Giappone, Europa e PIC/S e Italia e WHO, anche secondo quanto stabilito dalle Procedure di Mutuo Riconoscimento delle Attività Ispettive definita in sede internazionale. Come già detto nei precedenti anni, in questa Procedura di Mutuo Riconoscimento è stato ovviamente coinvolta sia l'AIFA sia una parte dell'Istituto come struttura che ha fornito e fornisce supporto analitico all'AIFA stessa ma anche per il fatto di fornire personale attivamente coinvolto nella effettuazione delle ispezioni. L'insieme delle strutture di AIFA e dell'Istituto (legato all'AIFA da specifici Accordi di Collaborazione) svolge attività ispettiva sotto il coordinamento e la responsabilità dell'AIFA stessa, al fine di valutare la conformità alle GMP.

L'Accordo di Collaborazione instaurato tra l'Istituto e l'AIFA è stato focalizzato principalmente sulla effettuazione di un certo numero di ispezioni, anche reclutando nuovi Ispettori attingendo alle risorse di Personale dell'Istituto e formando gli Ispettori già arruolati e qualificati per questa attività. L'area inizialmente coperta dalle attività relative all'Accordo di Collaborazione era quella delle ispezioni ad officine farmaceutiche produttrici di medicinali, ma successivamente sono state incluse nelle attività anche le visite ispettive ad officine produttrici di API, con ulteriore reclutamento di un certo numero di Ispettori da Personale interno all'Istituto e loro formazione tecnica mediante corsi di vario livello interni ed esterni all'Istituto.

Resoconto attività 2012

Nel corso del 2012 le attività incluse nell'accordo di collaborazione con l'AIFA sono state sostanzialmente focalizzate su tre tematiche: emissione di pareri tecnico-scientifici dopo valutazione di dossier di prodotti immunobiologici, effettuazione analisi di campioni di prodotti immunobiologici prelevati dai NAS sul territorio nazionale su richiesta dell'AIFA e attività ispettiva ad officine produttrici di materie prime farmacologicamente attive o prodotto finito.

Per quanto concerne l'attività di parere e valutazione di dossier, su richiesta ufficiale sono stati effettuati nel corso del 2012 circa 500 pareri tecnico-scientifici, la cui valutazione per alcuni di esse è ancora in fase interlocutoria, spesso per la complessità dell'argomento.

L'attività di valutazione di dossier degli immunobiologici comprende le procedure nazionali quali nuove autorizzazioni alla immissione in commercio o rinnovi di autorizzazioni, le Procedure di Mutuo Riconoscimento e Procedure Decentrate sia come *Reference Member State* che come *Concerned Member State*.

È notevolmente aumentata nel corso dell'anno l'attività di valutazione di dossier nell'ambito di Procedure Centralizzate a livello Europeo soprattutto in quelle in cui l'Italia è il paese di riferimento come *rapporteur*, *co-rapporteur* o *peer review*.

Nel corso dell'anno alcuni esperti del CRIVIB sono stati coinvolti dall'AIFA per la loro alta professionalità nelle valutazioni di dossier di scientific advice, sempre in settori di competenza quali quelli relativi anche ai medicinali biotecnologici.

I controlli analitici richiesti al CRIVIB sui campioni prelevati dai Nas sul territorio nazionale, su richiesta AIFA nell'ambito del Programma Annuale di Controllo e nell'ambito dell'attività di Farmacosorveglianza sono stati circa 50.

Nell'ambito dell'attività ispettiva infine, ispettori senior e junior del CRIVIB e dell'Istituto, sotto il coordinamento del CRIVIB, hanno effettuato 90 ispezioni nel corso del 2012, un numero significativamente più elevato di quanto effettuato nel 2011 (circa il doppio), reso possibile non solo dalla disponibilità e capacità del personale ma anche dal flusso continuo di finanziamenti garantito dalla convenzione ormai avviata.

Tali ispezioni sono state condotte in maniera sostanzialmente eguale ad officine farmaceutiche produttrici di materie prime e di prodotto finito e hanno soddisfatto tutte le richieste dell'AIFA.

Attività programmata 2013

Nel 2013 verrà svolta, come descritto nel consuntivo 2012, tutta l'attività che è contenuta nell'accordo di collaborazione in essere tra AIFA e ISS.

In tale ambito è contemplata attività di parere, attività analitica su medicinali prelevati dal mercato e attività ispettiva, sia di officine farmaceutiche che producono sia materie prime farmacologicamente attive che prodotto finito.

Tutte queste attività sono su richiesta dell'AIFA, e pertanto non è facilmente quantizzabile nell'arco del 2013 la quantità di pareri e analisi che verrà richiesta. Tuttavia, da una analisi preliminare dei *trend* si evidenzia che ancora per il 2013 le richieste saranno sostanzialmente di eguale numero rispetto agli anni precedenti, mentre potranno cambiare le tipologie dei prodotti per i quali i pareri verranno richiesti.

Tale attività che prevede un finanziamento da parte dell'AIFA sulla base di disciplinari tecnici condivisi dalle parti, verrà quantizzata anche in termini di numero e tipologia, ha costituito e costituirà anche per il 2013 un impegno comunque non nuovo visto che il CRIVIB ha da sempre svolto tale attività a livello elevato ma solo ora viene riconosciuto anche per quanto riguarda l'aspetto formale in un Accordo anche di natura finanziaria.

Analogamente, per le attività ispettive, se verrà garantito un adeguato flusso finanziario nell'ambito del progetto stesso, il numero dell'attività richiesta potrà aumentare, in considerazione del numero di Ispettori Junior e Senior che di cui attualmente dispone il CRIVIB e l'ISS stesso. Si rammenta che tale attività, pur coordinata dal CRIVIB, utilizza personale sia del CRIVIB stesso ma anche appartenente ad altri Centri/Dipartimenti.

Ci si propone di mantenere una costante capacità di condurre ispezioni ad officine che producono medicinali e materie prime con gli ispettori dell'Istituto sia mediante l'inserimento di alcuni nuovi elementi inclusi di recente che mediante la ridefinizione di quanti già in possesso di adeguata esperienza.

Verrà continuata la programmazione della formazione degli Ispettori Senior, Junior e degli Osservatori, utilizzando prevalentemente corsi monotematici ad alta specializzazione offerti da varie strutture esterne qualificate. Anche l'Associazione Farmaceutica Italiana (AFI) verrà nuovamente coinvolta nel processo di formazione degli Ispettori in un contesto di grande collaborazione e di grande maturità. In particolare continuerà la formazione attraverso workshop, giornate di formazione e momenti di scambio culturale sempre più con l'obiettivo finale di armonizzare al massimo livello possibile il comportamento dei vari Ispettori, aspetto che richiede un continuo e costante lavoro per mantenere i risultati conseguiti e cercare di elevare sempre di più le capacità gestionali dell'Ispettore stesso.

Questa parte del progetto costituirà un finanziamento importante per il 2013 che consentirà un consolidamento di molte attività del CRIVIB inerenti alla collaborazione con l'AIFA.

Attuazione e coordinamento del nodo italiano connesso all'infrastruttura europea per la ricerca clinica (*European Clinical Research Infrastructures Network – ECRIN*)

Il nodo italiano dell'infrastruttura di ricerca europea ECRIN è una rete di istituzioni italiane d'eccellenza nel campo della ricerca clinica coordinata dall'ISS e rappresenta l'unità nazionale del network europeo ECRIN.

L'infrastruttura ECRIN è nata come progetto di ricerca europeo finanziato nel VI e VII Programma Quadro e si propone di sostenere progetti di ricerca clinica multinazionale, soprattutto di natura accademica, fornendo attività di informazione, consulenza e servizi specificatamente dedicati alla conduzione di *trial* clinici multinazionali.

ECRIN intende operare come un sistema di facilitazione della ricerca clinica europea, che sia in grado di coprire ogni area della sperimentazione clinica (dall'oncologia alle malattie cardiovascolari, alla neurologia, alle malattie infettive), di assicurare i requisiti di qualità e competenza essenziali alla realizzazione di studi clinici complessi, favorendo la cooperazione internazionale e il progresso delle conoscenze scientifiche.

Il supporto di ECRIN allo svolgimento di un *trial* clinico si articola in una fase di servizi e consulenza al progetto prima della sottomissione al comitato scientifico di ECRIN, che esprime un parere sull'adeguatezza del progetto stesso agli obiettivi di ECRIN. Se il progetto viene considerato positivamente, verranno supportati i servizi necessari allo studio ad ogni stadio del *trial* clinico, nell'adattamento del protocollo clinico multinazionale ai contesti nazionali, in termini regolatori ed etici; l'individuazione di centri clinici per il reclutamento dei pazienti; l'elaborazione e stipula dei contratti di assicurazione; la fase di sottomissione del protocollo clinico e le interazioni con le autorità competenti e i comitati etici. Saranno forniti servizi di monitoraggio dei *trial*, di comunicazione degli eventi avversi, di *data management* e di formazione del personale.

L'aspetto peculiare di ECRIN è il supporto a studi multinazionali e, quindi, è particolarmente importante la partecipazione dei paesi europei.

Attualmente in ECRIN sono rappresentati 14 Paesi europei (Austria, Belgio, Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Ungheria, Irlanda, Italia, Polonia, Spagna, Svezia, Svizzera e Gran Bretagna) che partecipano principalmente con reti nazionali di centri clinici (nodi) o con istituzioni direttamente o indirettamente coinvolte nella sperimentazione clinica. Tutte le istituzioni o nodi nazionali sono connessi al coordinamento europeo (che ha sede in Francia presso l'*Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale – INSERM*) dagli European Correspondents, figure chiave nella trasmissione delle informazioni e nella organizzazione delle attività dei partner nazionali.

I nodi nazionali sono una rete formata da Centri di Ricerca Clinica (*Clinical Research Centres, CRC*) o Unità di Sperimentazione Clinica (*Clinical Trial Units, CTU*), universitari e ospedalieri, organizzati in *network* e coordinati da istituzioni sanitarie pubbliche.

Nel luglio 2010, il Ministro della Salute ha dato mandato all'ISS di organizzare e coordinare il nodo italiano, anche in vista della procedura avviata da ECRIN per acquisire lo status di *European Research Infrastructures Consortium (ERIC)*, struttura europea legalmente riconosciuta, che assicurerà la sostenibilità dell'infrastruttura da parte degli Stati Membri firmatari l'accordo.

La partecipazione italiana ad ECRIN ha l'obiettivo di promuovere la ricerca clinica italiana no-profit, favorendo la partecipazione a studi internazionali. La presenza di un valido sistema di

facilitazione della ricerca clinica è, infatti, fondamentale per consentire la conduzione di studi clinici no-profit, altrimenti ridotti in numero e qualità dalle numerose difficoltà operative presenti in tale campo, che vanno dall'eterogeneità nella regolamentazione tra i diversi stati alla necessità di estendere gli studi ad un numero adeguato di soggetti, e, non ultimo, la scarsità di fondi disponibili per la ricerca indipendente. La possibilità di supportare studi clinici di grande rilievo scientifico implica ricadute positive per il progresso scientifico del nostro paese, per l'assistenza sanitaria (in virtù del miglioramento delle conoscenze scientifiche), e per le imprese, soprattutto quelle di piccole e medie dimensioni che, coinvolte in attività produttive in ambito sanitario, potrebbero avviare nuovi studi.

Resoconto attività 2012

Riguardo al nodo italiano dell'infrastruttura di ricerca europea, ItaCRIN, nel 2012 è stato messo a punto il sito web (www.itacrin.it), in cui sono riportate le informazioni utili ad illustrare obiettivi, attività e progetti correlati al nodo. Il sito prevede anche un'area riservata, per i soggetti interessati a partecipare alle attività del nodo, sia in veste di esperti in grado di fornire consulenza, sia in veste di ricercatori legati a strutture (centri di ricerca clinica e/o unità di sperimentazione clinica) in grado di fornire servizi per la sperimentazione.

L'identificazione delle strutture potenzialmente interessate ad aderire ad ItaCRIN è iniziata con la predisposizione di un database, messo a disposizione dall'Osservatorio Nazionale sulla Sperimentazione Clinica dei medicinali dell'AIFA, che raccoglie i ricercatori responsabili di studi clinici italiani multinazionali, nelle diverse aree di ricerca medica, registrati negli ultimi cinque anni. Nel corso dell'anno, l'elenco è stato elaborato tenendo conto delle aree di ricerca con il maggior numero di sperimentazioni, allo scopo di predisporre un indirizzario utile a contattare direttamente i responsabili e sottoporre loro il questionario predisposto da ECRIN, contenente le informazioni riguardanti i potenziali user di questa infrastruttura.

Il questionario è stato adattato e sarà pubblicato online nell'area riservata del sito di ItaCRIN, e costituirà il database contenente le informazioni anagrafiche dei ricercatori, delle strutture di riferimento, delle esperienze in *trial* clinici, e delle attività di servizio messe a disposizione. Ciò costituirà lo strumento chiave per la fase iniziale di realizzazione del nodo stesso.

Riguardo ECRIN, a gennaio 2012 è stato avviato il progetto FP7 ECRIN-*Integrating Activity* (ECRIN-IA), al quale l'ISS partecipa come coordinatore di ItaCRIN, finalizzato all'ampliamento e al potenziamento dell'infrastruttura europea. In particolare, ECRIN-IA prevede di supportare la conduzione di sei studi clinici multinazionali (2 per ognuna delle tre aree di Malattie rare, nutrizione e dispositivi medici), coprendone i costi dei servizi e a settembre 2012 ha pubblicato il bando che è stato diffuso in Italia nella homepage dell'ISS e di ItaCRIN e attraverso comunicazione al Ministero della Salute, MIUR, AIFA, istituzioni di ricerca e società scientifiche. Alla chiusura del bando (15 dicembre 2012) sono stati presentati 46 progetti (32 per Malattie Rare, quattro per i Dispositivi Medici, dieci per la Nutrizione), di cui cinque presentati dall'Italia. Il comitato scientifico di ECRIN procederà alla loro valutazione per il passaggio alla seconda fase, con la sottomissione dei progetti completi.

Riguardo la costituzione del consorzio europeo ECRIN-ERIC, nel corso del 2012, l'Italia, insieme a Francia, Germania e Spagna, ha elaborato, come da procedura, la documentazione necessaria da presentare alla CE (statuto del consorzio e relativi annessi tecnico e scientifico).

Attività programmata 2013

La strutturazione del nodo ItaCRIN procederà attraverso la pubblicazione del questionario, da proporre ai ricercatori interessati, prevista nei primi mesi del 2013 sul sito www.itacrin.it. I target potenziali del questionario saranno raggiunti tramite mail e/o telefono al fine di illustrare gli obiettivi e le attività di ItaCRIN/ECRIN. Sono programmate riunioni del comitato consultivo del nodo nazionale al fine di individuare le modalità di attuazione del nodo stesso. Il sito web ItaCRIN sarà aggiornato con le attività europee e nazionali.

Per quanto riguarda il progetto ECRIN-IA, ItaCRIN sarà coinvolto nelle attività, previste dal WP7, di supporto alla sperimentazione clinica dei progetti che otterranno parere positivo del comitato scientifico di ECRIN e che prevederanno il coinvolgimento dell'Italia.

Nei primi mesi del 2013 è prevista la presentazione della domanda di costituzione del consorzio europeo ECRIN-ERIC, con annessa partecipazione dell'Italia come "Full Member", per cui il Ministero della Salute delega l'ISS, il cui iter presso la Commissione Europea dovrebbe completarsi in tre-sei mesi.

Autorizzazione alla sperimentazione clinica di fase I

Il ruolo dell'ISS nell'autorizzazione delle sperimentazioni cliniche di fase I

La sperimentazione clinica di fase I rappresenta tipicamente il passaggio dalla sperimentazione preclinica (in vitro e/o sull'animale) alla prima somministrazione di un farmaco nell'uomo. Tale passaggio, quindi, costituisce un momento particolarmente importante nello sviluppo di un nuovo farmaco. Per poter giudicare se un nuovo farmaco possa essere utilizzato nell'uomo è necessario esaminare i risultati degli studi preclinici e i dati relativi alla qualità farmaceutica del prodotto. La valutazione di questi risultati, ai fini della definizione degli effetti tossici e farmacodinamici sull'uomo, è un'attività di "eccellenza" in campo regolatorio, per la quale è necessario coinvolgere esperti con elevata competenza in particolari settori (qualità, farmacologia e tossicologia previsionale) e consolidata esperienza nella valutazione dei farmaci.

Così la normativa italiana, sin dal 1973 (Legge 519/73), ha previsto la formulazione di un parere dell'ISS prima di avviare la sperimentazione clinica di fase I in Italia. Tale attribuzione all'Istituto è stata reiterata dapprima nel DPR 754/1994 e, successivamente, nel DPR 70/2001, che all'art. 2, comma 3, lettera c), afferma che l'ISS "provvede all'accertamento della composizione e innocuità dei prodotti farmaceutici di nuova istituzione prima della sperimentazione clinica sull'uomo".

Infine, i DL.vi 211/2003, 200/2007 e DPR 430/2001 hanno indicato l'ISS come l'Autorità Competente per l'autorizzazione di tutte le sperimentazioni cliniche di Fase I da condursi sul territorio nazionale.

Per l'espletamento di tale adempimento, presso l'ISS è stata istituita la Commissione per la valutazione dell'ammissibilità alla sperimentazione di fase I. La Commissione, a sua volta, si avvale di esperti appartenenti ai vari dipartimenti dell'ISS per la valutazione degli aspetti di qualità, non clinica e clinica.

Nel corso del 2012, l'assetto normativo relativo alla sperimentazione clinica è radicalmente cambiato. Il DL 13 settembre 2012, infatti, convertito nella legge n. 189 dell'8/11/2012, ha stabilito che "le competenze in materia di sperimentazione clinica dei medicinali attribuite dal DL.vo 24 giugno 2003, n.211, all'ISS sono trasferite all'AIFA".

Di fatto, tuttavia, per il momento il ruolo tecnico-scientifico dell'ISS nella valutazione dell'ammissibilità alla sperimentazione di fase I è rimasto invariato, in quanto in attesa del DM

che dovrà stabilire le modalità del trasferimento di competenze “l’ISS, raccordandosi con l’AIFA, svolge le competenze ad esso già attribuite, secondo le modalità previste dalle disposizioni previgenti”.

Importanza della sperimentazione di fase I

La possibilità di sperimentare i nuovi farmaci nelle fasi precoci di sviluppo rappresenta un’importante occasione di crescita e innovazione per il Paese.

Nel settore dello sviluppo farmaceutico, tuttavia, l’Italia occupa una posizione piuttosto marginale rispetto all’Europa e a molte altre nazioni del mondo; in particolare il nostro Paese ha mostrato storicamente una certa carenza nella capacità di ricerca clinica “*early phase*”.

Per questa ragione, negli ultimi anni l’ISS ha avviato una serie di iniziative volte a facilitare/promuovere la sperimentazione di fase I in Italia.

In particolare, oltre a promuovere il confronto con tutte le parti interessate (IRCCS, Industria, Accademia), l’ISS ha adottato numerose misure di carattere più prettamente pratico quali potenziamento della segreteria tecnico-scientifica e amministrativa, riorganizzazione del processo di valutazione, aggiornamento della lista degli esperti, introduzione di procedure di autorizzazione telematica.

L’ISS ritiene che la promozione della sperimentazione di fase I rimanga parte integrante della propria mission, e per tale ragione la segreteria scientifica e amministrativa stanno collaborando molto attivamente con AIFA per permettere che il trasferimento di competenze non determini ritardi e/o inefficienze in un processo ormai rodato e ben funzionante.

Resoconto attività 2012

La Commissione per la valutazione dell’ammissibilità alla sperimentazione clinica di fase I, entrata in carica il 21/10/2011, ha continuato ad operare per tutto il 2012. Nel corso dell’anno si sono svolte undici riunioni (una al mese con l’esclusione di agosto), di cui una in teleconferenza.

Complessivamente nell’arco dell’anno sono state ricevute 51 domande di autorizzazione e 203 richieste di emendamenti sostanziali a protocolli già autorizzati.

Il carico di lavoro ha impegnato notevolmente la segreteria tecnico-scientifica, che attualmente si avvale del supporto (a tempo parziale) di cinque unità di personale (un dirigente di ricerca, un dirigente tecnologo, due primi ricercatori e un ricercatore), mentre la segreteria amministrativa si avvale del lavoro, sempre a tempo parziale, di tre unità di personale. Con l’eccezione di un primo ricercatore appartenente al Dipartimento di BCN, tutto il suddetto personale appartiene al Dipartimento del Farmaco.

Il tempo medio effettivo di valutazione delle domande si è mantenuto ai livelli dell’anno passato (circa 35 giorni). In considerazione dei tempi di istruttoria previsti dalla normativa (30, 60 o 90 giorni a seconda della tipologia dei prodotti e/o delle indicazioni terapeutiche proposte), si può affermare che gli attuali tempi di valutazione sono del tutto adeguati.

Il programma di audizioni *pre-submission* ha continuato a richiamare un notevole interesse fra i ricercatori delle istituzioni pubbliche e private. Tale programma dovrebbe essere ulteriormente potenziato, prevedendo anche l’utilizzo di teleconferenze con proponenti sia italiani che stranieri.

Nel corso del 2012 si sono svolti ulteriori corsi di formazione per gli esperti che, a differenza del corso svoltosi nel 2010 (Corso formativo per la valutazione degli aspetti di Qualità, Non clinica e Protocollo clinico ai fini dell’autorizzazione delle sperimentazioni cliniche di fase I), sono stati organizzati separatamente per le diverse parti del dossier di autorizzazione.

Attività programmata 2013

Anche in conseguenza del trasferimento di competenze sopra descritto, nel corso del 2013 dovrà essere riorganizzata l'attività relativa alla gestione della banca dati di terapia genica e cellulare somatica.

Infine, la Commissione continuerà le consultazioni con le parti interessate al fine di approntare un progetto condiviso con il mondo della ricerca e quello industriale che consenta di potenziare la sperimentazione di fase I nel nostro Paese, anche attraverso la messa in atto di attività formative e l'individuazione di opportuni incentivi. Laddove si riterrà opportuno, saranno avviate iniziative per stimolare l'interesse dei ricercatori e dell'industria (migliorare la comunicazione), facilitare i proponenti nella presentazione delle domande (miglioramento del sito web di consultazione, programma di audizioni *pre-submission*) e per rendere più efficiente l'attività istruttoria senza modificare il contenuto scientifico.

Banca di campioni biologici

È oggi ampiamente riconosciuto che la ricerca epidemiologica delle malattie cronico-degenerative necessita di informazioni sui fattori di rischio ambientali e comportamentali relativi a un considerevole numero di soggetti, di dati clinici e di campioni biologici. La disponibilità di campioni biologici permette di analizzare biomarcatori di suscettibilità e biomarcatori di esposizione anche in tempi successivi all'esame delle coorti in studio quando si sviluppa la malattia, permettendo una definizione appropriata dei profili di rischio individuali e l'individuazione dei soggetti verso cui indirizzare in modo prioritario diagnosi precoce e/o interventi di riduzione del rischio. Gli studi epidemiologici richiedono l'arruolamento e l'esame di un elevato numero di soggetti su cui vanno raccolte numerose informazioni (demografiche, cliniche, biologiche) per produrre stime attendibili dei vari indicatori. La costituzione di reti di biobanche che raccolgono campioni e dati relativi a coorti prospettiche di popolazione rappresenta quindi un valore aggiunto sia per la individuazione della eventuale componente genetica di varie patologie multifattoriali (incluse le interazioni gene-ambiente) sia per il potenziale di conoscenza epidemiologica ed eziopatogenetica necessaria per la pianificazione di programmi di prevenzione.

Negli anni '80 gli studi di coorte sulle malattie cardiovascolari condotti nell'ambito del progetto CUORE avevano portato a collezionare siero di campioni di popolazione generale. Nel tempo le modalità di raccolta e di conservazione sono state modificate, adeguandosi a quelle del progetto europeo EPIC che all'inizio degli anni '90 ha messo le basi per le procedure di stoccaggio dei campioni biologici in azoto liquido.

Altri gruppi di ricerca del CNESPS hanno avviato importanti raccolte di materiale biologico proveniente da studi epidemiologici di popolazione. È stata quindi creata nel 2005 nel CNESPS dell'ISS una banca per la raccolta e la crioconservazione dei campioni biologici.

La stazione criogenica è composta da cinque contenitori di azoto liquido, di cui due contengono campioni biologici immersi in azoto liquido (temperatura di -196°C) e tre contengono campioni biologici in vapori di azoto liquido (temperatura di -132°C). Sono disponibili sei freezer a -80°C che contengono campioni di siero, plasma e *buffy coat* in *ependorf*, contenute in scatolette, impilate in cestelli; nei freezer a -80°C sono inoltre contenuti i campioni di urine delle 24h per lunga conservazione. In quattro freezer a -30°C sono contenuti i campioni di DNA estratti nell'ambito dello studio caso-controllo annidato nella coorte longitudinale del Progetto CUORE campioni di siero di studi di popolazione generale.