

SOSTIENI LA RICERCA SULLE CELLULE STAMINALI CEREBRALI. DONA UNA SPERANZA DI VITA.



NEUROTHON

Associazione per la Ricerca sulle Malattie Neurodegenerative

IL FUTURO DELL'UOMO CHE NASCE DALL'UOMO

INDICE

L'ASSOCIAZIONE NEUROTHON ONLUS	2
IL PROGETTO "L'OFFICINA DEL CERVELLO"	3
LA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)	6
ALLEGATO 1 – DESCRIZIONE TECNICA DEL PROGETTO	9

L'ASSOCIAZIONE NEUROTHON ONLUS

L'Associazione Neurothon Onlus nasce nel 2003 per finanziare, promuovere e incentivare la ricerca sulle cellule staminali cerebrali ed avviare la sperimentazione clinica sull'uomo per la cura delle malattie neurodegenerative, nonché sensibilizzare il pubblico su questo tipo di ricerca scientifica.

Con il costante aumento dell'aspettativa di vita, l'incidenza delle malattie neurodegenerative nella specie umana sta crescendo esponenzialmente. Malattie quali l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), il morbo di Parkinson, la Corea di Huntington, il morbo di Alzheimer, ma anche le lesioni cerebrali da asfissia prenatale, le malattie metaboliche letali già nell'infanzia – quali Adrenoleucodistrofia (ALD) morbo di Tay – Sachs e di Sandoff – le lesioni da ictus e le lesioni spinali affliggono ormai alcune decine di milioni di persone in tutto il mondo, alcune centinaia di migliaia delle quali solo in Italia.

Attualmente il principale obiettivo di Neurothon è di raccogliere fondi per finanziare il progetto "**L'Officina del Cervello**", per arrivare alla sperimentazione clinica sull'essere umano.

Dal 2006 Neurothon ha attivato **La Banca delle Cellule Staminali Cerebrali di Terni**, dove vengono raccolte, coltivate ed espanse cellule staminali isolate dal Sistema Nervoso Centrale.

CELLULE STAMINALI CEREBRALI: UNA SPERANZA PER LA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Il progetto Officina del cervello mira a sviluppare terapie innovative per le malattie del cervello.

Questo implica la caratterizzazione e produzione di linee cellulari staminali cerebrali di origine umana in condizioni di standardizzazione e sterilità assoluta (good manufacturing practice o GMP), idonee quindi allo svolgimento di studi clinici di Fase 1 sull'uomo¹.

Al momento, l'obiettivo principale del progetto "**L'Officina del Cervello**" è quello di permettere **l'applicazione di nuove terapie sperimentali a base di cellule staminali cerebrali umane su pazienti affetti** da quella malattia devastante ed incurabile conosciuta come **Sclerosi Laterale Amiotrofica**.

La SLA, che in Italia è comunemente nota anche come malattia dei calciatori, colpisce centinaia di migliaia di persone, destinate a morte certa, creando almeno 1000 nuovi malati ogni anno sul solo territorio nazionale.

¹ La prima fase di sperimentazione partirà con 10 pazienti,

IL PROGETTO “L’OFFICINA DEL CERVELLO”

Scopo del progetto “L’Officina del Cervello” è coltivare a lungo termine cellule staminali isolate dal Sistema Nervoso Centrale (SNC) fetale umano e allestire linee cellulari neurali non trasformate.

Le cellule staminali cerebrali umane derivano solo ed esclusivamente da feti abortiti spontaneamente o, laddove ne esistessero le condizioni, da materiale biotico o autotico adulto.

Queste cellule possono essere mantenute in coltura per più di due anni mostrando attività proliferativa e capacità di autorinnovamento costanti, oltre alla capacità di dare origine a progenie differenziate (ovvero neuroni, oligodendrociti ed astrociti che sono le tre principali popolazioni cellulari del tessuto nervoso centrale). Inoltre possono essere conservate congelate in azoto liquido per tempi ancora più lunghi senza perdere alcuna delle sopramenzionate caratteristiche.

Tale sistema di coltura ha consentito di **espandere e conservare centinaia di milioni di cellule staminali umane** di donatori normali o affetti da patologie e verrà quindi utilizzato per generare linee di cellule staminali cerebrali umane “clinical grade” e quindi immediatamente utilizzabili su pazienti umani previa approvazione del protocollo clinico di sperimentazione da parte delle apposite commissioni, in regime certificato di “good manufacturing practice” o GMP, **idonee quindi allo svolgimento di studi clinici di Fase 1**.

Un deposito (**biorepository**) di cellule staminali cerebrali umane permetterà di esplorare il loro enorme potenziale terapeutico e costituirà, inoltre, una sorgente preziosa di materiale biologico per studiare gli effetti tossici e il meccanismo d’azione dei farmaci.

Questo potrebbe avere un impatto significativo sui costi di sviluppo di nuovi farmaci e ridurrebbe la necessità di utilizzo di dispendiosi studi sugli animali.

STATO ATTUALE DEL PROGETTO

L'Associazione Neurothon ha interamente finanziato il progetto **L'Officina del Cervello**, che ha portato alla creazione della **Banca Cellule Staminali Cerebrali Umane di Terni** e che ha come primo obiettivo l'avvio della sperimentazione clinica di fase I sulla SLA.

Grazie alle donazioni ricevute, è stato possibile:

- ✓ Costruire e mettere a norma i laboratori necessari alla produzione e conservazione delle cellule secondo gli standard GMP (Norme di Buona Fabbricazione).
- ✓ Produrre le prime linee di cellule staminali in regime di Ricerca e Sviluppo, per poter poi avviare la produzione secondo gli standard GMP.
- ✓ Assumere tre nuovi ricercatori.
- ✓ Mettere a punto tutte le pratiche necessarie per richiedere la certificazione GMP all'AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco). La richiesta è stata inviata il 13 Agosto 2009.
- ✓ Sottoporre all'Istituto Superiore di Sanità un protocollo di sperimentazione clinica di fase I per il trapianto di staminali cerebrali umane nella SLA. L'invio è avvenuto il 13 Luglio 2009.

Ottenute le dovute certificazioni ed autorizzazioni, partirà la prima fase della sperimentazione clinica sui pazienti.

Il progetto è stato sostenuto anche dalla Fondazione Cellule Staminali, che annovera, tra i suoi soci fondatori, l'Istituto Superiore di Sanità, il Vescovato di Terni, la Fondazione Carit e il Comune di Terni.

PROTOCOLLO TRIAL CLINICO DI FASE 1

La sperimentazione proposta riguarda l'utilizzo di cellule staminali neurali adulte in un gruppo di pazienti affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica in uno studio di fase 1.

Verrà istituita una Commissione Consensus costituita da esperti del settore. Tale commissione stabilirà i parametri del protocollo clinico e la scheda di trattamento dei pazienti. Inoltre la Commissione valuterà i dieci pazienti da sottoporre al trial e stabilirà i criteri di valutazione della risposta clinica e della tossicità della terapia cellulare.

LE MODALITÀ E I TEMPI DI REALIZZAZIONE DEL PROGETTO

Fase 1:	
identificazione della fonte del materiale di partenza da cui stabilire le linee cellulari e definizione dell' accordo per l'eventuale reperimento del tessuto fetale cerebrale (0- 1.5 mesi ca).	Completato
Fase 2:	
implementazione dei protocolli di screening del materiale fetale cerebrale (lo scopo è di selezionare esclusivamente tessuti che diano origine a linee). Il tempo previsto è compreso tra i 1 5-6-mesi circa. Questa parte di progetto verrà svolto presso i laboratori Neurothon ubicati sia presso l'Università degli Studi di Milano-Bicocca e Ospedale Niguarda Cà Granda che presso la Banca delle Cellule Staminali di Terni.	Completato
Fase 3:	
analisi sul potenziale tumorigenico e saranno valutate le caratteristiche funzionali ed immunogenica delle cellule prodotte in GMP. Il tempo previsto per questa analisi di qualità e sicurezza delle cellule è compreso tra i 6 mesi e i 12 mesi ca. progetto verrà svolto presso i laboratori Neurothon ubicati presso l'Università degli Studi di Milano-Bicocca e Niguarda	Completato.
Fase 4:	
deposito di tutta la documentazione necessaria a supportare la richiesta della certificazione della Banca Delle Cellule Staminali di Terni in accordo alla normativa Europea "Good manufacturing practice (GMP)" per la produzione di cellule "clinical grade". Concomitante deposito della richiesta di certificazione peresso l'Agenzia del farmaco.	Completato.
Fase 5:	
Organizzazione della "Commissione Clinica Consensus" costituita da neurologi, neurochirurghi, psicologi e biologi, che definiranno i parametri del protocollo clinico, contribuiranno alla scelta dei pazienti da sottoporre alla terapia cellulare.	Completato.
Fase 6	
Preparazione del progetto di fase da sottoporre all'approvazione dell'Istituto Superiore di Sanità, commissione clinica di Fase I. Per lo svolgimento di tale fase è richiesta la presenza di un assistente e presentazione dello stesso con relativa documentazione	Completato Luglio 2009.
Fase 7	
Inizio produzione linee cellulari cerebrali umane in condizioni di GMP. Il tempo richiesto di circa 3-4 mesi per ogni linea di cellule, a partire dal momento in cui la prima coltura cellulare viene avviata. e questa parte di progetto verrà realizzata presso il laboratorio sito presso l'AOSP di Terni.	In fase di avvio
Fase 8	
Trial clinico di fase I mediante trapianto delle suddette cellule staminali cerebrali umane Clinical Grade nel midollo spinale di un massimo di 10 pazienti affetti da SLA. Data supposta di avvio dipendente dalla tempistica di autorizzazione.	Ipotizzata per Dicembre 2009-Marzo 2010.

LA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)

La **Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA)**, anche nota come morbo di Lou-Gehrig o malattia di Charcot, è una **malattia con esito inevitabilmente mortale, con il decesso che avviene a tre-cinque anni dalla diagnosi iniziale**. Il significato letterale è: raggrinzimento (sclerosi) della porzione laterale (laterale) del midollo spinale e perdita del trofismo o nutrimento muscolare (amiotrofica). In termini meno tecnici, si ha distruzione dei motoneuroni (cellule nervose che controllano direttamente la contrazione dei muscoli volontari necessari al movimento) con conseguente indebolimento progressivo, fino alla paralisi.

In funzione del fatto che siano compromessi inizialmente i motoneuroni primari o secondari, i sintomi possono variare ma, inevitabilmente, comprendono debolezza, difficoltà di movimento. **Fascicolazioni, scialorrea e progressiva paralisi di TUTTA la muscolatura corporea**, eccezion fatta per la muscolatura estrinseca degli occhi, degli sfinteri e del cuore.

Si sviluppa in questo modo una patologia progressivamente invalidante, attraverso la quale il paziente vede letteralmente svanire la possibilità di controllare il proprio corpo, sino a raggiungere lo stato terminale.

Per via del fatto che **la funzione mnestica e quelle cognitive ed emozionali rimangono assolutamente intatte** per tutto il perdurare della malattia, e che le recenti tecniche di supporto vitale permettono di mantenere il paziente in vita per periodi di tempo estremamente lunghi, si viene a creare una situazione in cui il paziente SLA rimane prigioniero vigile ed attento nel proprio stesso corpo senza avere modo di controllarne i movimenti o di potere comunicare con l'esterno, anche per molti anni.

Si tratta quindi di una **patologia** non solo gravemente invalidante, ma **anche terribile e devastante dal punto di vista psicologico**. La patologia SLA è talmente orribile che gli stessi medici e personale sanitario coinvolti nella terapia e supporto al malato necessitano spesso di assistenza psicologica.

L'origine della malattia

La causa della malattia è ignota, sebbene esista un 15% dei casi totali in cui sembra possibile evincere una ereditarietà. I modelli sperimentali ed i più recenti risultati della ricerca convergono nel suggerire che una forma particolare di tossicità mediata da glutammato e stress di tipo ossidativo mediati da superossidi e radicali liberi giochino un ruolo critico nella morte dei motoneuroni primari e secondari nella SLA. Recentemente, è stato dimostrato il ruolo giuocato nello sviluppo della SLA di processi infiammatori cronici.

Le cure

Eccezion fatta per il farmaco chiamato RILUTEK che ha mostrato qualche efficacia nel rallentare la progressione della malattia in alcuni casi, senza riuscire a fermarla, non esiste alcuna cura né parziale né risolutiva per la SLA. Ad oggi il supporto al paziente include la gestione del sintomo e cure palliative.

Alcuni Dati Statistici*

L'incidenza della SLA in Italia varia da 0.5 ad 1.9 casi per centomila abitanti/anno. Il che significa che circa 1000 nuovi casi di SLA verranno diagnosticati nel solo 2004, con un totale di centinaia di migliaia di pazienti in tutto il mondo.

SCLEROSI MULTIPLA (SM)	MALATI Mondo 3.000.000 Italia 52.000
	PROSPETTIVA INCIDENZA MALATTIA IN ITALIA 1.800 nuove diagnosi all'anno, vale a dire 5 nuovi casi al giorno Viene colpita 1 persona ogni 1100 (1 ogni 700 in Sardegna)
	ETA'/SESSO Tra i 15 e i 50 anni, con un acume tra i 20 e i 30 anni Colpisce più le donne che gli uomini
SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA (SLA)	MALATI Mondo 500.000 Italia 7.000
	PROSPETTIVA INCIDENZA MALATTIA IN ITALIA 2/3 nuovi malati ogni 100.000 persone ogni anno, per circa 1.500 nuovi malati 3/5 anni di sopravvivenza dalla comparsa della malattia, solo il 10% dei malati può sopravvivere fino a 10 anni.
	ETA'/SESSO Compare mediamente non prima dei 40 anni Colpisce più gli uomini (2,1%) delle donne (1,2%)
MALATTIA DI ALZHEIMER	MALATI Mondo 26 milioni Italia 900.000
	PROSPETTIVA INCIDENZA MALATTIA IN ITALIA 80.000 nuove diagnosi all'anno (tra l'1,4% e l'1,55% sul totale della popolazione e queste cifre sono destinate a raddoppiare entro il 2050).
	ETA'/SESSO Compare mediamente non prima dei 60 anni (il 5% dopo i 65 anni; il 20/40% dopo gli 80 anni) Colpisce più le donne che gli uomini

Costi Sociali**

Il costo medio annuo per persona è di **Euro 40.000**, per un totale annuo di **Euro 1.600.000.000**:

- **Euro 43.000** - per i malati che hanno ancora un certo grado di autonomia
- **Euro 55.000** - per i malati non più autosufficienti
- **1.300 ore** di assistenza annuale per malato da parte di famiglia e/o amici e professionisti
- **1.4000.000 giornate di lavoro** perso da parte di malato e famigliari, per una media di 6 settimane ciascuno.

*Fonte: Associazione Italiana Sclerosi Multipla

**Riferiti principalmente a SM e SLA in Italia

Le cellule Neurali: una speranza di cura per la Sla

Data la natura e lo sviluppo di questa malattia, **il trapianto di cellule staminali emerge come una delle terapie potenzialmente efficaci nel rallentare, bloccare e, forse, risolvere la Sla.**

Questa ipotesi è stata recentemente rinforzata dalla scoperta alla quale ha partecipato in termini di co-responsabile il direttore scientifico di NEUROTHON, Prof. Angelo Vescovi, che l'iniezione di cellule staminali cerebrali è in grado di curare la sclerosi multipla in un modello di topo. Queste sperimentazioni, pubblicate un anno fa sulla più prestigiosa rivista scientifica mondiale *NATURE*, sono ora state estese a modelli di scimmia utilizzando le stesse cellule staminali cerebrali umane di cui il Prof. Vescovi è lo scopritore.

Questi studi aprono la strada alla sperimentazione di cellule staminali cerebrali nei pazienti affetti da SLA poiché dimostrano che le cellule staminali cerebrali sono in grado di portarsi in prossimità di zone in cui processi di morte cellulare sono in corso e di bloccarli, normalizzando la situazioni tramite il rilascio di sostanze nutritive e rigenerative.

Lo stato delle conoscenze disponibile a NEUROTHON è tale per cui sono già disponibili cellule staminali cerebrali umane e la conoscenze necessarie a coltivarle, moltiplicandole fino a raggiungere il numero di cellule necessario per la sperimentazione su pazienti affetti da SLA.

Da sottolineare il fatto che, ad oggi, tali cellule e la possibilità di sviluppare questo approccio sperimentale terapeutico sono disponibili esclusivamente in Italia, presso NEUROTHON. Si rende quindi necessario implementare e sviluppare la produzione di cellule staminali cerebrali umane in un ambiente laboratoristico in cui le strutture di supporto, il personale ed i protocolli permettano la coltivazione delle cellule staminali cerebrali in condizioni di sterilità tali per cui esse possano essere utilizzate nei pazienti affetti da SLA. Questa procedura sarà sviluppata presso la struttura a regime GMP (Good Manufacturing Practice) che garantisce lo svolgimento appropriato di questa procedura, sito presso l'Ospedale di Terni.

ALLEGATO 1 – DESCRIZIONE TECNICA DEL PROGETTO

Modelli Preclinici che inducono a sperare un'efficacia sull'uomo della terapia sperimentale basata su cellule staminali cerebrali per malattie neurodegenerative

Obiettivi principali del progetto

Permettere l'applicazione di nuove terapie sperimentali a base di cellule staminali cerebrali umane su pazienti affetti da SLA. Questo implicherà la caratterizzazione e produzione di linee cellulari staminali cerebrali di origine umana in condizioni di standardizzazione e sterilità assoluta (good manufacturing practice o GMP), idonee quindi allo svolgimento di studi clinici di Fase 1.

I. QUALITÀ

La preparazione comprende cellule staminali cerebrali non autologhe e il tipo di controllo di eventuali contaminazioni deve essere indirizzato sia verso il processo di produzione che verso il prodotto finito.

I.1 Specifiche del processo di produzione

Il processo di produzione consiste nell'identificare la fonte del materiale di partenza da cui isolare cellule staminali cerebrali umane, nell'isolamento e crescita di tali cellule e nell'amplificazione delle stesse secondo protocolli standard ottimizzati. Le cellule verranno poi criopreservate fino al momento dell'utilizzo.

I.2. Reagenti e materiali.

Sono necessari per la produzione di linee cellulari staminali cerebrali umane i seguenti reagenti:

Soluzione fisiologica (per uso clinico)

Terreno per cellule (per uso clinico)

FGF basic (per uso clinico)

EGF (per uso clinico)

Hormon mix (per uso clinico)

Materiale monouso sterile per la coltivazione delle cellule "clinical grade"

I reagenti scelti sono idonei allo scopo prefissato specificare.

Tutti devono presentare la certificazione richiesta per l'uso clinico. Pur trattandosi di reagenti utilizzati solo per la coltivazione in vitro delle cellule e non somministrati direttamente al paziente, la loro scelta deve cadere tra i prodotti forniti con certificato di produzione secondo "GMP". Lo stesso vale per il materiale monouso di cui deve essere allegata certificazione.

I.3. Modalità di trattamento delle cellule

Le modalità con cui le cellule staminali cerebrali verranno isolate, separate, coltivate, caratterizzate sono in accordo con i protocolli pubblicati in letteratura e secondo modalità "GMP" (Vescovi et al., Methods Mol Biol. 2002;198:115-23).

I.4. Prodotto finito

Il prodotto finito consiste in una sospensione di cellule staminali cerebrali non autologhe. Linee cellulari staminali cerebrali umane verranno prodotte secondo parametri "GMP", dopo accurata caratterizzazione, verranno certificate idonee per l'utilizzo in protocolli clinici di terapia in studi di fase I per malattie neurodegenerative.

I.5. Struttura/laboratorio per la preparazione

L'intero procedimento richiede dai 6 ai 18 mesi ed è effettuato in strutture appositamente dedicate.

Verrà utilizzata una struttura barrierata con accesso separato e sistema di condizionamento e sterilizzazione dell'aria, dotata delle apparecchiature idonee al trattamento delle cellule e alla conservazione dei reagenti e sottoposta a controllo periodico di efficienza.

La struttura dedicata alla manipolazione delle cellule presenta le caratteristiche richieste dalla normativa relativa alla "Good Manufacturing Practice" (GMP).

II. TOSSICITÀ

II.1 Specifiche del processo di produzione

Si tratta di cellule non autologhe che saranno trattate con materiali per uso clinico e pertanto si richiedono studi specifici di tossicità "in vivo".

II. 2 Genotossicità

Le linee cellulari staminali cerebrali verranno caratterizzate dal punto di vista immunologico (definizione di immunofenotipo) e patologico (assenza di virus, batteri e funghi contaminanti). Verrà inoltre determinato il cariotipo di ogni linea cellulare per verificare l'integrità dello stesso.

II. 3 Tumorigenicità

Le linee cellulari staminali cerebrali verranno caratterizzate dal punto di vista tumorigenico. Verrà cioè verificato che le cellule trapiantate non diano origine a processi proliferativi di tipo tumorale.

II. 4 Farmacodinamica

Gli studi di farmacodinamica si basano sul saggio della capacità da parte delle cellule di esprimere una funzione documentabile e quantizzabile.

III. ANALISI DEL PROTOCOLLO CLINICO

Criteri di inclusione e di esclusione dei pazienti e Scheda di trattamento definiti dalla consensus

Verranno definiti dalla Commissione Consensus i criteri di inclusione e di esclusione dei pazienti e sarà elaborata una scheda di trattamento del paziente.

Obiettivi dello studio

Lo studio ha come obiettivo primario la valutazione della tossicità del trattamento. L'obiettivo secondario è rappresentato dalla risposta biologica, funzionale e clinica al trattamento.

Numero dei pazienti

Viene previsto di arruolare un numero totale di 10 pazienti .

Condizioni della sperimentazione:

1. I reagenti ed i materiali inclusi i fattori di crescita etc da utilizzare per la coltivazione ex vivo delle cellule debbono essere di tipo "clinical grade" e non per "research use only" Anche il materiale monouso utilizzato per la manipolazione delle cellule deve essere del tipo "clinical grade" e deve essere chiaramente indicato;
2. dovranno essere indicate le professionalità specifiche per il controllo di qualità del processo.
3. La preparazione dovrà essere eseguita in accordo con le GMP secondo quanto stabilito dal Comunicato del Ministero della Salute pubblicato sulla G.U. n.46 del 23 febbraio 2002 riguardante l'autorizzazione alla produzione di prodotti per impiego in sperimentazioni cliniche.
4. Lo studio clinico dovrà essere inserito dal richiedente, ai sensi del Decreto Dirigenziale 25/5/2000, nei registri informatizzati costituenti L'Osservatorio Nazionale sulla Sperimentazione Clinica, istituito dalla Direzione Generale Valutazione Medicinali e Farmacovigilanza al sito web <http://oss-sper-clin.sanita.it>. Inoltre dovranno essere tenuti in considerazione gli adempimenti previsti dal Decreto Ministeriale 2 marzo 2004, per i quali si è in attesa della emanazione del Decreto previsto all'articolo 4. Ai sensi del D.P.R. 439/2001, art. 10, il richiedente dovrà inviare all'Istituto Superiore di Sanità e al Ministero della Salute il rapporto sui risultati al termine della sperimentazione clinica di fase I.

Il comitato etico dovrà sorvegliare il rispetto delle condizioni per lo svolgimento della sperimentazione prevista.

La sperimentazione clinica dovrà essere condotta nel rispetto delle norme di Buona Pratica Clinica (DM 27 Aprile 1992 e successive modifiche).