

Flora Peyvandi: L'obiettivo della mia presentazione e della maggior parte dell'attività dell'ISTH nei prossimi anni, è la formazione, soprattutto nel difficile campo della terapia genica, nonché capire come quest'ultima funziona, cosa implica per il paziente, per il medico e come ottenere le risposte alle nostre domande.

Il trattamento dell'emofilia è una terapia sostitutiva basata sulla somministrazione endovenosa del fattore carente della coagulazione. Nel caso dell'emofilia A si esegue la somministrazione di fattore 8. Nel caso dell'emofilia B si somministra il fattore 9.

C'è stato un notevole cambiamento nel trattamento dei pazienti affetti da emofilia e una grande evoluzione dagli anni '50 quando i pazienti erano trattati con sangue intero. Successivamente, si è sviluppato il trattamento con FFP (Fresh Frozen Plasma, plasma fresco congelato), con crioprecipitati e, a partire dagli anni '70, con prodotti derivati dal plasma. In questi anni, sfortunatamente abbiamo vissuto un periodo molto negativo nel trattamento a causa dell'infezione dei pazienti affetti da emofilia con il virus dell'epatite C e dell'HIV.

In seguito, negli anni '90, dopo che i gene del fattore 8 e 9 sono stati clonati, è stato possibile produrre i prodotti ricombinanti di fattore 8 di prima generazione arrivati sul mercato nel '92, mentre nel '94 è stato prodotto il primo fattore 9 ricombinante di seconda generazione. Nel tempo, la qualità dei prodotti ricombinanti è migliorata sempre di più, con prodotti che presentavano sempre meno proteine di origine umane e, pertanto, sempre più sicuri.

Ciò significa che il problema dell'HIV e dell'HCV è stato in parte risolto, come la maggiore parte dei problemi relativi alle infezioni trasmesse dai prodotti emoderivati. Arriviamo quindi al 2015, con il fattore 8 ricombinante di quarta generazione, che non contiene alcun tipo di proteina di origine umana.

La maggior evoluzione riguarda la sicurezza. Ci sono stati dei netti miglioramenti e abbiamo compreso appieno come i due sistemi di inattivazione virale con trattamento termico e detergente/solvente e l'ulteriore tipo di purificazione, come il filtraggio, e le nuove tecniche hanno reso il prodotto sempre più sicuro.

Allo stesso tempo, anche le strategie di trattamento del paziente stavano cambiando. All'inizio i pazienti erano trattati solo al momento dell'emorragia con un trattamento a domanda. In seguito abbiamo compreso che i quadri clinici dei nostri pazienti affetti da emofilia lieve o moderata erano significativamente diversi rispetto a quelli con livelli di attività inferiori all'1% , ossia pazienti con emofilia grave.



Il numero di episodi emorragici spontanei nei pazienti con fattori residui minimi, circa 1-2-3%, era molto inferiore rispetto al paziente grave. Questo costituiva un buon insegnamento per i nostri medici che potevano cambiare il fenotipo dei pazienti mediante la profilassi. Un trattamento che prevede una regolare infusione endovenosa del fattore carente della coagulazione con l'obiettivo di modificare il quadro delle manifestazioni emorragiche nei pazienti. Tutto questo è ancora valido per i pazienti affetti da emofilia A con 2-3 infusioni endovenose alla settimana e per i pazienti affetti da emofilia B con due infusioni alla settimana.

La sicurezza migliorava notevolmente ma per coloro che dovevano sottoporsi ancora a 2-3 infusioni endovenose alla settimana, soprattutto bambini e adolescenti, non era per niente facile. Era complicato, soprattutto se l'accesso venoso del ragazzo non era perfetto né ottimale. Per i genitori non era affatto semplice. Poi sorgevano problemi come trombosi, infezioni, complicando ancora di più una situazione già molto difficile.

Questo era dovuto alla breve emivita dei fattori, che era associata alla frequenza delle iniezioni e accadeva spesso di avere un picco di fattore e una concentrazione minima immediatamente dopo. Quindi, i livelli risultavano subito alti dopo l'iniezione e molto più bassi dopo 8-12 ore. Ciò significava che i nostri pazienti non erano completamente protetti perché i livelli erano instabili: era proprio questo l'aspetto della terapia che doveva essere migliorato. I nostri pazienti dovevano ricevere una protezione maggiore.

I prodotti standard, tuttavia, stavano davvero cambiando la qualità di vita dei nostri pazienti, grazie ai trattamenti domiciliari e alla profilassi, sebbene non fossero ancora ottimali. La ragione era proprio questa: negli ultimi dieci anni, il trattamento dell'emofilia è migliorato notevolmente grazie a nuove opzioni terapeutiche e abbiamo cercato di ottimizzare la gestione dei pazienti con e senza inibitori.

Ma che cos'è un inibitore? Gli inibitori sono anticorpi, principalmente contro il fattore 8 e talvolta contro il fattore 9, che neutralizzano l'attività del fattore stesso. I pazienti non potevano più essere trattati con il fattore 8 e necessitavano di una terapia più intensiva e anche più costosa, denominata agente bypassante.

Quali sono le nuove opzioni terapeutiche di cui parliamo? Negli ultimi anni si sono sviluppate tre strategie che rappresentano il nuovo tipo di trattamento e, attualmente, si stanno facendo ancora degli enormi passi avanti. La prima strategia prevede prodotti con emivita estesa, la seconda consiste di una terapia non sostitutiva e la terza è la terapia genica. Ora proverò a mostrare a che punto siamo con i risultati di ogni singola categoria di prodotto.



Per quanto riguarda i prodotti con emivita estesa, sono stati utilizzati due tipi di strategia. La prima, a sinistra, è la PEGilazione, ovvero un accoppiamento chimico di polietilenglicole che viene legato al fattore 8 o 9 ricombinante, in grado di aumentare il volume idrodinamico delle molecole. In questo modo si previene (clearance) l'eliminazione renale di questa molecola. Le dimensioni della molecola di polietilenglicole potrebbero essere diverse, da 5 kilodalton a 10, 20, 40 o persino 60 kilodalton.

La seconda categoria di prodotti prevedeva proteine di fusione che consistono nella fusione di un frammento cristallizzabile, Fc, che è una regione di un'immunoglobulina IgG oppure albumina, che può essere legata al fattore ricombinante 8 o 9. Anche questa strategia riduce l'eliminazione renale della molecola e incrementa l'emivita del prodotto in circolo. Inoltre, il frammento Fc e l'albumina vengono riciclati tramite il recettore del frammento Fc sulla superficie delle cellule endoteliali, che aumenta l'emivita delle molecole.

Come già detto, le tecnologie sono la PEGilazione e le proteine di fusione. Diverse aziende hanno provato a utilizzare queste due strategie, producendo in totale quattro prodotti per il fattore 8, tre prodotti PEGilati e uno con fattore 8 ricombinante fuso al frammento Fc, nonché tre prodotti con emivita estesa per il fattore 9, ognuno con un tipo diverso di tecnica: un prodotto glicoPEGilato, un prodotto di fusione con Fc e uno con l'albumina.

La domanda principale è quale di questi prodotti ha una migliore sicurezza ed efficacia e se abbiamo dati sufficienti per capire, in qualità di medici, quale prodotto è più sicuro o migliore rispetto agli altri.

Ho provato a riassumere tutti i dati e sembra che, per il fattore 8, si stia ottenendo un aumento dell'efficacia fino al 50-60% e questo risultato si è rivelato più o meno simile per tutti i prodotti. Inoltre, se facciamo un'associazione, l'effetto che questo tipo di incremento ha avuto sulla vita dei pazienti è di ridurre il numero delle infusioni annuali di circa il 30-35% nei casi di emofilia A.

Inoltre, che dire della sicurezza? Come ricorderete, ho spiegato che la profilassi è un metodo per mantenere il livello del fattore 8 o del fattore 9 superiore all'1%, ma con i prodotti standard era molto difficile ottenere un livello minimo del 3-5% per la protezione dei pazienti. Con questi prodotti possiamo vedere che alcuni pazienti hanno raggiunto fino al 3% o persino un valore leggermente superiore.

Se mettiamo insieme questi dati, possiamo concludere che grazie all'utilizzo dei prodotti con emivita estesa, i pazienti affetti da emofilia A grave possono passare a un fenotipo moderato. Ciò significa un numero inferiore di



emorragie e infusioni. I dati raccolti dall'esperienza clinica reale permetteranno di capire l'effettiva efficacia di questi prodotti.

Per quanto riguarda l'emofilia B, abbiamo visto che i prodotti con emivita estesa per il fattore 9 agiscono molto meglio e i risultati erano decisamente più promettenti. Un incremento fino a 3-6 volte è stato osservato per i prodotti di fusione con Fc e con l'albumina e anche per i PEGilati. Ciò significa che il numero di infusioni nei pazienti affetti da emofilia B era associato a una riduzione pari a quasi il 50-60-65%. In particolare, il livello di concentrazione minima era aumentato in maniera notevole fino a 5-10 unità internazionali. Nell'ambito del quadro clinico dei pazienti, significa che quelli affetti da emofilia grave potevano passare a un fenotipo lieve. Questo significa un notevole cambiamento della qualità di vita per i pazienti con emofilia B.

Se dobbiamo trarre delle conclusioni per i prodotti con emivita estesa del fattore 9, possiamo affermare di aver centrato l'obiettivo. Per il fattore 8 possiamo concludere di aver raggiunto un risultato parziale. La riduzione delle infusioni del 30-35% per il fattore 8 è interessante ma non possiamo fermarci a questo risultato.

Perché esiste questo limite? Il numero di infusioni è stato ridotto, un livello più alto di concentrazione minima è stato raggiunto e le emorragie sono diminuite, però una maggior quantità di dati clinici reali sono necessari in futuro, in quanto non abbiamo ottenuto il risultato che ci aspettavamo.

Perché questo sta succedendo? Il fattore 8 circola legato a un trasportatore, che è il fattore di von Willebrand. L'emivita del fattore Willebrand in circolo è di 18 ore. Non possiamo avere un'estensione per il fattore 8 maggiore di quella del fattore di von Willebrand se non cambiando la nostra strategia e questo è il motivo per cui i prodotti di nuova generazione con emivita estesa contengono un frammento del fattore di von Willebrand (due di questi sono già disponibili nell'ambito degli studi clinici ma non sul mercato).

La prima molecola è il fattore 8 ricombinante Fc a cui è legato il frammento D'D3 del fattore di von Willebrand e XTEN, che è un polipeptide biodegradabile in grado di ridurre l'eliminazione renale. La seconda molecola è il fattore 8 ricombinante a catena singola fuso con il frammento D'D3 del fattore di von Willebrand a cui è legata l'albumina, un prodotto con emivita estesa di nuova generazione.

Se osserviamo i risultati della prima molecola che ho menzionato, il fattore ricombinante Fc, von Willebrand, e XTEN sembra molto interessante e lo studio clinico di fase 1/2a in pazienti affetti da emofilia grave ha mostrato un'estensione fino a 37 ore e l'attività media del fattore 8 era del 13% ogni cinque giorni e del 5,6% dopo sette giorni dall'infusione. E questo cambia



significativamente la qualità di vita dei pazienti affetti da emofilia A anche in futuro.

Passiamo al secondo gruppo di trattamenti, la terapia non sostitutiva per pazienti affetti da emofilia che ha un diverso meccanismo di azione. Qui non viene somministrato il fattore 8 o il fattore 9 ma è basato su un meccanismo d'azione diverso. Si può andare ad inibire un anticoagulante naturale permettendo così la generazione di trombina e, in tal modo, ottenere un'emostasi più efficace. Questo può avvenire tramite l'inibizione della proteina C attivata oppure mediante l'inibizione dell'inibitore della via del fattore tissutale utilizzando degli anticorpi monoclonali. Possiamo regolare la trascrizione dell'antitrombina silenziando il suo RNA, ottenendo nuovamente l'effetto anticoagulante, oppure possiamo utilizzare un metodo completamente differente, bypassando o riproducendo il fattore 8 mediante un anticorpo monoclonale bispecifico contro il fattore 9 attivato e il fattore 10.

Sono sicura che in futuro potremmo trovare molti altri nuovi tipi di strategie, ma questo è quello che sappiamo sull'emostasi, che è un insieme di meccanismi di azione diversi tra loro. Questo significa che misurare i fattori 8 e 9 non basta: quando utilizziamo questi prodotti dobbiamo capire quale tipo di dosaggio utilizzare e in che modo valutarne l'efficacia, soprattutto durante l'emorragia, quando combiniamo questi prodotti con altri tipi di agenti e prodotti emostatici.

Gli unici prodotti già disponibili sono gli anticorpi umanizzati bispecifici, che illustrerò a breve, gli altri sono ancora in fase di sperimentazione clinica, alcuni di essi sono in fase 2 prossimi alla fase 3 e presto molti di questi prodotti potrebbero essere disponibili. SerpinPC è in fase preclinica e presto sarà in fase 1.

Una strategia di trattamento completamente nuova, denominata ACE 910 o emicizumab, è un anticorpo chimerico umanizzato bispecifico contro il fattore 9 attivato e il fattore 10. Questo prodotto simula la funzione di cofattore del fattore 8 che con un braccio si lega al fattore 9 attivato e con l'altro braccio al fattore 10, per permettere al fattore 9 attivato di catalizzare l'attivazione del fattore 10. Questo tipo di prodotto sta cambiando notevolmente il trattamento di pazienti affetti da emofilia A, e potrebbe essere utilizzato nei pazienti con e senza inibitore, come già è stato dimostrato.

L'FDA e l'EMA hanno approvato emicizumab per la profilassi in pazienti affetti da emofilia A sia adulti che pediatrici, con o senza inibitori. All'inizio sono stati utilizzati 3 mg/kg una volta alla settimana per le prime quattro settimane, passando poi a 1,5 mg una volta alla settimana come dose di mantenimento. Ora questo intervallo potrebbe passare a ogni due settimane e, in futuro, passare persino a un trattamento ogni quattro settimane.



Questo farmaco non potrebbe essere utilizzato per un trattamento a domanda durante un'emorragia acuta ma è utile solo per la profilassi. Questo prodotto è ora disponibile negli Stati Uniti per entrambi i gruppi di pazienti con e senza inibitori e in Europa è disponibile principalmente per pazienti con inibitori, mentre in altri Paesi europei potrebbe essere disponibile per il trattamento anche dei pazienti senza inibitori.

All'inizio dello studio clinico con emicizumab, ci sono stati tre episodi di microangiopatia trombotica, visti in associazione al trattamento con il complesso protrombinico attivato utilizzato con un elevato dosaggio nelle prime 24 ore. Successivamente si è capito che la combinazione di questo farmaco potrebbe essere pericolosa per i pazienti, quindi si è cercato di modificare la strategia terapeutica puntando sull'uso di altri agenti bypassanti e, in seguito, non sono stati riportati altri casi di TMA.

Sono stati riportati alcuni eventi trombotici e dieci decessi, di cui tre durante l'utilizzo del prodotto ad uso compassionevole. È stato riportato poi un unico caso di anticorpo neutralizzante contro il farmaco. Questi dati sono ora disponibili, soprattutto per il report sulla mortalità che, invece non abbiamo per tutti gli altri tipi di prodotti. Pertanto, dobbiamo avere un ottimo sistema di monitoraggio dopo che i prodotti sono stati registrati per ottenere i dati sulla sicurezza e sull'efficacia non solo per questo farmaco ma anche per tutti quelli nuovi che saranno disponibili in futuro, con lo scopo di comprendere il modo in cui agiscono e la loro sicurezza. Finora, il numero riportato è quello che ho mostrato nelle diapositive.

In sintesi, potremmo affermare che le nuove strategie terapeutiche sembrano cambiare significativamente il trattamento del paziente e avere un notevole impatto sul controllo delle emorragie rispetto ai prodotti standard usati nella cura attuale dei pazienti con e senza inibitori. Alcuni problemi di sicurezza restano ugualmente e richiedono l'applicazione di strategie per ridurre i rischi, alcune delle quali sono già iniziate e necessitano di una maggiore comprensione perché il paziente trattato, soprattutto con una terapia non sostitutiva, lo si deve considerare come un paziente moderato e non più come un paziente grave. Per questo, abbiamo bisogno di sapere di più sul modo in cui trattarlo durante l'emorragia acuta.

La mia raccomandazione sarebbe un'osservazione a lungo termine e piani educativi per pazienti e medici. Abbiamo bisogno di insegnare ai nostri medici non molto esperti in questo campo, ma anche ai nostri pazienti, che questi farmaci sono diversi e devono essere analizzati meglio e dobbiamo capire meglio come questi farmaci agiscono.

L'ultima categoria, ossia la terapia genica, consiste nella sostituzione del gene non funzionale con un gene funzionale esogeno in grado di determinare un'espressione a lungo termine del gene non funzionale.





Gli studi preclinici di terapia genica sono iniziati nel '97 e sono continuati fino al 2006: il primo studio clinico, utilizzava il vettore AAV2, che è stato utilizzato da Avigen nel 2006, nell'emofilia B. Tuttavia, l'espressione è rimasta solo per un breve periodo di tempo. In seguito, quasi quattro anni dopo, il gruppo del professor Amit Nathwani e Ted Tuddenham dell'University College di Londra, con i colleghi del St. Jude's Children's Research Hospital, ha utilizzato un nuovo vettore AAV8 e sono stati trattati i primi pazienti affetti da emofilia B grave. I primi sei pazienti sono stati trattati con tre diversi dosaggi di vettore e hanno mostrato un buon risultato. Poi, il numero dei pazienti è aumentato fino ad arrivare a dieci e ad oggi sono trascorsi circa 9 anni dall'inizio della terapia genica e nessun problema è stato finora riscontrato a livello di sicurezza. Inoltre, il livello di espressione è rimasto quasi stabile. Questo è un risultato molto importante nel campo dell'emostasi ottenuto da questo gruppo a Londra.

Dopo aver ottenuto questo risultato, diverse aziende hanno iniziato a utilizzare la strategia della terapia genica con vettori adeno-associati con differenti dosaggi e, in seguito, è stata inserita anche una variante genica conosciuta come Padua, che è in grado di aumentare il livello di espressione del fattore 9 con cui è iniziata la seconda generazione di terapia genica fino a raggiungere un livello di 18-33% come riportato nello studio clinico di Spark. Tale espressione è stata osservata anche nello studio di uniQure e tutto questo sta cambiando il quadro del trattamento di pazienti affetti da emofilia B grave.

Per l'emofilia A, come sapete, la terapia genica è ancora più complicata, perché il gene è di dimensioni maggiori e più complesso. Pertanto, sono stati utilizzati diversi metodi e strategie, come l'ottimizzazione dei codoni, l'eliminazione del dominio B e l'utilizzo di un promotore specifico per il fegato. L'espressione genica in vivo in topi e primati è stata eseguita nel 2004-2011. Il primo studio clinico di terapia genica sugli esseri umani è stato eseguito per la prima volta utilizzando AAV5 di BioMarin, il cui risultato è stato pubblicato su New England Journal of Medicine, con esiti interessanti.

Ora, in questa tabella è possibile vedere in che modo le cose si stanno muovendo. Diverse aziende stanno provando ad utilizzare diversi livelli di vettore mediante AAV2, AAV5 e AAV8. Ancora, come già detto, diverse espressioni del fattore 8 sono state ottenute. BioMarin è riuscita a mantenere un livello di espressione del fattore 8 per circa tre anni e si tratta sicuramente di un risultato sorprendente. Ora ci auguriamo di vedere un buon risultato così come è stato riportato da BioMarin nello studio clinico di fase 3 presentato durante l'ISTH di quest'anno a Melbourne. Anche altre aziende stanno riportando risultati interessanti.



Se dovessi riassumere quello che ho appena riportato in questa presentazione di mezz'ora, direi che oltre a ciò che ho affermato sui prodotti ad emivita estesa e sulla terapia non sostitutiva, anche la terapia genica sembra essere un approccio efficace nella gestione dell'emofilia e potrebbe offrire una strategia di trattamento a lungo termine. Infine, in futuro, l'utilizzo di altri tipi di vettore, come i lentivirali o persino strategie "genome editing" potrebbero fornire una cura definitiva. Dunque possiamo dire che i risultati ottenuti dagli studi clinici sulla terapia genica, che utilizzano un vettore virale adeno-associato, mostrano decisamente un'espressione a lungo termine per il fattore 9 e anche per il fattore 8 come riportato durante l'ISTH.

Ovviamente, nei confronti di tutti questi pazienti, la nostra società ha un'enorme responsabilità per quanto riguarda la formazione di tutti i medici, dei ricercatori ma anche dei pazienti, relativamente al monitoraggio a lungo termine sulla sicurezza e sull'efficacia. Inoltre, abbiamo bisogno di definire una serie minima di dati che sarà disponibile a breve per ogni centro. Inoltre ogni paziente trattato con terapia genica dovrà essere inserito in un database, a livello nazionale e internazionale. Gli enti di regolamentazione dovrebbero avere accesso a questi database e fornire chiare informazioni sull'eventualità che tali tipi di strategie possano essere efficaci come stiamo osservando oggi.

Problemi critici. Questi risultati sono ottimi ma io ritengo che ci sia ancora da verificare attentamente la durata dell'espressione del fattore di coagulazione nella terapia genica. Abbiamo bisogno di capire perché dopo 8-12 settimane dall'infusione, si verifica un aumento degli enzimi epatici e qual'è l'elemento che causa tale aumento in alcuni pazienti. Inoltre, è necessario comprendere i profili di sicurezza di diversi sierotipi di AAV. L'effetto del processo di produzione del vettore e il livello di espressione, la variabilità tra i diversi pazienti e da un batch all'altro del vettore.

La potenziale genotossicità dei vettori è un argomento estremamente importante: dobbiamo capire se i vettori sono in grado di integrarsi nel fegato. Dobbiamo capire se vi sono rischi, la percentuale di tale integrazione e se è sicura: in futuro, sarebbe davvero importante per noi avere alcuni dati sulla biopsia del fegato di pazienti trattati con la terapia genica.

Infine, dobbiamo comprendere quale tipo di dosaggio di laboratorio utilizzare, perché altrimenti ciò che otteniamo con uno studio clinico differisce dall'altro e non possiamo confrontare l'efficacia dei risultati conseguiti con due diversi tipi di strategia.

Vi ringrazio molto per l'attenzione.

