INFORMATIVA PER IL TRATTAMENTO CON CAR-T CELLS

Gent. mo / ma Sig. / ra _____
questo documento informativo è stato redatto dal personale medico del CAR-T Team. Esso viene periodicamente aggiornato e revisionato in base allo stato dell'arte in materia.

Nell'informativa sono illustrate **il meccanismo d'azione delle CAR-T, le indicazioni terapeutiche, l'efficacia in termini di risposta al trattamento e gli eventuali effetti collaterali.**

Il processo si articola in fasi successive che prevedono:

- **Raccolta dei linfociti;**
- **Eventuale congelamento e conservazione dei linfociti;**
- **Invio dei linfociti presso le Cell Factory delle ditte farmaceutiche Kite-Gilead o Novartis per la produzione delle Car-T cells**
- **Decongelamento e infusione delle Car-T cells;**

La lettura e la corretta comprensione delle informazioni di seguito riportate l'aiuteranno a prendere una decisione consapevole. Le chiediamo di leggere attentamente le informazioni contenute in questo documento prima di dare il consenso alla procedura di raccolta e di infusione delle cellule CAR-T.
Il personale sanitario indicato in fondo alla presente informativa è a sua disposizione per eventuali chiarimenti.

SITUAZIONE CLINICA/CONTESTO

CAR-T: cosa sono? Indicazioni terapeutiche, efficacia ed effetti collaterali

Le "CAR-T" (acronimo dall'inglese "Chimeric Antigen Receptor T cell therapies" ovvero "Terapie a base di cellule T esprimenti un Recettore Chimerico per antigene") sono nuove terapie personalizzate contro il cancro che agiscono direttamente sul sistema immunitario del paziente per renderlo in grado di riconoscere e distruggere le cellule tumorali (immunoterapie). Le CAR-T rientrano tra le cosiddette terapie avanzate, frutto dei progressi scientifici nel campo della biotecnologia cellulare e molecolare. Sono, più nello specifico, terapie geniche, poichè agiscono attraverso l'inserzione di materiale genetico all'interno delle cellule dell'organismo umano. Le CAR-T utilizzano specifiche cellule immunitarie (i linfociti T), che vengono estratte da un campione di sangue del paziente, modificate geneticamente e coltivate in laboratorio ("ingegnerizzate") per essere poi re-infuse nel paziente per attivare la risposta del sistema immunitario contro la malattia.
La tecnologia CAR-T, altamente innovativa, è stata inizialmente sviluppata dall'Università della Pennsylvania. Il primo trattamento è stato somministrato nel 2012 negli Stati Uniti a una bambina di 7 anni che non rispondeva alle terapie classiche. Si è finora rivelata efficace per alcuni tumori ematologici, anche se in tutto il mondo sono in corso sperimentazioni per altre indicazioni terapeutiche.
La produzione e la somministrazione di una terapia CAR-T richiedono una procedura complessa, che coinvolge specifiche figure professionali ed è articolata in più fasi: 1. Prelievo: i linfociti T vengono prelevati dal sangue del paziente in un centro trasfusionale autorizzato, mediante un processo che consente di isolarli dal sangue periferico (leucaferesi), rimettendo in circolo i restanti elementi ematici. I linfociti T vengono successivamente inviati alla struttura che si occuperà dell'ingegnerizzazione genetica. 2. Ingegnerizzazione genetica: i linfociti T del paziente vengono geneticamente modificati, in strutture altamente qualificate per la produzione di terapie avanzate. Utilizzando un virus inattivato (vettore virale), viene aggiunto al DNA dei linfociti un gene

ricombinante che permette di esprimere sulla superficie dei linfociti T una proteina, nota come Recettore dell'Antigene Chimerico (CAR). Grazie a questo recettore, i linfociti T modificati (CAR-T cells) sono in grado di riconoscere un antigene specifico presente sulla superficie delle cellule tumorali e legarsi ad esse. Le cellule CAR-T vengono moltiplicate in laboratorio, congelate e successivamente inviate al centro che dovrà somministrare il trattamento. 3. Chemioterapia pre-trattamento (linfodepletiva): prima dell'infusione, il paziente è sottoposto a una chemioterapia di preparazione per permettere ai linfociti T modificati di espandersi e attivarsi nell'organismo. 4. Infusione: dopo la chemioterapia, le cellule CAR-T vengono infuse nel paziente, con un procedimento simile a una trasfusione di sangue. L'infusione avviene in centri ad alta specializzazione per il trattamento delle leucemie e dei linfomi, con disponibilità di accesso alla terapia intensiva. 5. Monitoraggio: dopo l'infusione, il paziente resta in ricovero per alcuni giorni e viene costantemente monitorato per reazioni avverse al trattamento. Nelle quattro settimane successive alla dimissione, il paziente deve comunque rimanere nei pressi di una struttura clinica qualificata per essere sottoposto a regolari controlli.

Le terapie CAR-T rappresentano la prima forma di terapia genica approvata per il trattamento della leucemia linfoblastica B e di alcune forme aggressive di linfoma non-Hodgkin. Le terapie CART che hanno ottenuto l'Autorizzazione all'Immissione in Commercio (AIC) nell'Unione Europea sono: • Kymriah (tisagenlecleucel), autorizzato il 22 agosto 2018 • Yescarta (axicabtagene ciloleucel), autorizzato il 23 agosto 2018 e sono indicate per il trattamento di: -pazienti pediatrici e giovani adulti fino a 25 anni di età affetti da leucemia linfoblastica acuta a cellule B che non abbiano mai risposto alla chemioterapia, o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche allogeniche o dopo almeno 2 linee di chemioterapia (Kymriah); -pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B o DLBCL (Kymriah e Yescarta) / linfoma primitivo del mediastino a cellule B o PMBCL (Yescarta) già sottoposti ad almeno 2 linee di terapia sistemica.

Le CAR-T rappresentano per queste malattie linfoproliferative un'ulteriore opzione terapeutica, e sono state studiate in pazienti nei quali le precedenti strategie standard (chemioterapia e trapianto di cellule staminali emopoietiche) non si sono dimostrate efficaci. Attualmente, i pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta a cellule B (B-ALL) trattati in prima linea con protocolli polichemioterapici hanno probabilità di guarigione anche superiori all'85% e circa il 60-70% dei pazienti con linfoma non Hodgkin di tipo DLBCL o PMBCL può ottenere un controllo di malattia a lungo termine (o la guarigione) con gli attuali protocolli immunochemioterapici di prima linea, seguiti o meno da radioterapia. La terapia standard di seconda linea è in entrambi i casi basata sulla possibilità di accesso al trapianto di cellule staminali emopoietiche (da un donatore compatibile nel caso della leucemia, dallo stesso paziente nel caso dei linfomi) in seguito a risposta ad una chemioterapia di salvataggio. Per questo motivo, le terapie CAR-T sono indicate per pazienti che non abbiano mai risposto alla chemioterapia o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche o dopo almeno 2 linee di chemioterapia (sono quindi terapie "di terza linea").

A causa delle reazioni avverse - anche gravi - che possono verificarsi con la terapia con CAR-T, l'idoneità al trattamento deve essere attentamente valutata caso per caso da medici ematologi esperti nel trattamento delle leucemie e dei linfomi, anche in considerazione del quadro clinico complessivo del paziente (ad esempio la presenza di gravi patologie concomitanti renali, epatiche, cardiache, infettive che possano metterlo a rischio di vita). La complessità e le tempistiche richieste per la procedura terapeutica, che include anche un trattamento di chemioterapia linfodepletiva pre-trattamento, impongono che il quadro clinico del paziente sia tale da garantirne la stabilità fino al momento dell'infusione.

Rispetto alle terapie "convenzionali", le CAR-T permettono di ottenere remissioni complete anche in fasi di malattia molto avanzate. Inoltre, a un anno dall'infusione di CAR-T, la maggior parte dei pazienti che ha ottenuto una remissione è ancora viva e libera da malattia. Negli studi clinici valutati ai fini dell'Autorizzazione all'Immissione in Commercio (AIC) della terapia CAR-T per la leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B refrattaria, in recidiva post-trapianto o in seconda o ulteriore recidiva, sono stati osservati i seguenti dati di efficacia: • l'81% dei pazienti che ha

ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa della leucemia; • l'80% dei pazienti che ha ottenuto una remissione completa di malattia era ancora libero da malattia 6 mesi dopo l'infusione della terapia CAR-T; • il 76% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T era ancora in vita a distanza di un anno dal trattamento. Per il trattamento del linfoma B diffuso a grandi cellule B (Diffuse Large B Cell Lymphoma - DLBCL) e del linfoma primitivo del mediastino a cellule B (Primary mediastinal B-cell Lymphoma – PMBCL) dopo fallimento di due o più linee di terapia sistemica, negli studi clinici delle terapie CAR-T autorizzate si è invece osservato che: • il 40-47% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa del linfoma; • il 65% dei pazienti che ha ottenuto una remissione completa era ancora libero da malattia a distanza di 12 mesi dall'infusione; • il 50-60% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T era ancora in vita a un anno dal trattamento (Schuster SJ et al, NEJM 2019; Locke FL et al, Lancet Oncology 2018; Neelapu SS et al, NEJM 2017).
Tuttavia l'utilizzo di terapie CAR-T è associato al rischio di eventi avversi anche gravi. In particolare:
-la sindrome da rilascio di citochine (CRS). La CRS è caratterizzata dalla possibile comparsa di febbre, abbassamento della pressione arteriosa, aumento della frequenza cardiaca, brividi e riduzione dell'ossigeno nel sangue ed è dovuta all'intensa risposta infiammatoria che si sviluppa in seguito all'attivazione delle cellule CAR-T nell'organismo. È stata osservata in una percentuale variabile tra il 58% e il 93% dei pazienti e, nella maggior parte dei casi, si manifesta entro 7-14 giorni dalla somministrazione della terapia. Il 12-47% dei pazienti ha presentato una CRS grave, che in alcuni casi ha richiesto il ricovero in terapia intensiva, e in rari casi è risultata fatale. In caso di CRS grave sono somministrati farmaci specifici per ridurre i livelli di sostanze infiammatorie in circolo (per esempio tocilizumab o cortisonici);
-reazioni avverse neurologiche. Le più comuni osservate sono grave alterazione dello stato di coscienza (encefalopatia), tremore, incapacità di esprimersi o di comprendere informazioni scritte o verbali (afasia), delirio. Nella maggior parte dei casi si presentano entro le 8 settimane successive alla somministrazione della terapia CAR-T, in una percentuale variabile tra il 21% e il 65% dei pazienti. La durata media di queste alterazioni è stata di 14 giorni, con scomparsa completa dei sintomi nel 98% dei pazienti. Il 13-31% dei pazienti ha presentato reazioni avverse neurologiche gravi (potenzialmente letali);
-sindrome da attivazione macrofagica: caratterizzata da febbre ed abbassamento dei valori dell'emocromo. Tale complicanza si verifica raramente ma è particolarmente grave per la vita.
-sebbene non osservate, alcune possibili criticità legate all'ingegnerizzazione delle cellule sono rappresentate dallo sviluppo di virus capaci di replicarsi e infettare l'organismo e dall'insorgenza di tumori che possono originarsi dalle cellule geneticamente modificate. Per tale ragione, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha recentemente richiesto l'implementazione di un registro dei pazienti trattati per monitorarli fino a quindici anni dopo l'infusione.

PROCEDURA/TRATTAMENTO PREVISTO

Generazione dei linfociti CAR-T

1- **Raccolta di linfociti da aferesi.**
La procedura di raccolta dei linfociti (linfocitoferesi) si effettua utilizzando un dispositivo medico dedicato detto separatore cellulare su cui viene allestito un Kit di raccolta, sterile e monouso, che consente attraverso un sistema di connessioni di far passare in modo continuo il sangue dal paziente alla macchina e viceversa. All'interno del separatore cellulare il sangue viene poi sottoposto a centrifugazione e ciò determina la separazione delle varie component cellulari con la possibilità di raccogliere la frazione desiderata (in questo caso i linfociti T). Previ accordi con il Medico Ematologo Richiedente, il Medico responsabile della procedura effettua la raccolta quando il numero dei linfociti circolanti è ≥ 500 CD3+/mmc. In casi particolari, previo accordo anche con la Ditta Farmaceutica produttrice e con l'accordo del CAR-T Team, è possibile effettuare raccolte

anche con valori inferiori. Per poter effettuare la procedura di raccolta in aferesi è necessario disporre di accessi venosi adeguati per cui al paziente verranno posizionati due aghi a livello della regione volare dell'avambraccio (ovvero a livello delle pieghe del gomito), uno per l'uscita e l'altro per il rientro del sangue. In caso di difficoltà al reperimento delle vene periferiche, può essere necessario il posizionamento di un Catetere Venoso Centrale (CVC). Quest'ultima procedura viene di solito eseguita da personale medico esperto e comporta il reperimento di una grossa vena centrale (generalmente la vena femorale) con successivo inserimento di un catetere a doppio lume. Nei pazienti pediatrici la procedura viene eseguita in leggera sedazione, previa consulenza di un anestesista/rianimatore pediatrico. Il catetere viene posizionato subito prima dell'avvio della procedura e rimosso dal personale medico dell'Unità di Raccolta al termine della stessa dopo verifica del raggiungimento della dose. Durante la procedure vengono infuse al paziente soluzione fisiologica e anticoagulante (ACD-A) per evitare che il sangue coaguli all'interno dei tubi del kit di raccolta. L'anticoagulante utilizzato è un chelante del calcio.
La linfocitoaferesi può durare approssimativamente 3-4 ore. La durata dipende dal numero di cellule CD3+ circolanti, dal numero delle cellule totali da raccogliere e dal flusso del sangue mantenuto durante la procedura. La quantità totale di prodotto raccolto non supera in genere un volume di 400 ml con una minima contaminazione di altre componenti cellulari (neutrofili, globuli rossi e piastrine).

1.2 Controindicazioni, effetti collaterali, rischi, complicanze della procedura di aferesi
Durante la procedura di raccolta in aferesi **il paziente** può presentare eventi avversi quali:

- formazione di ematomi nel punto di inserzione degli aghi (frequenza nella nostra casistica 2,8%);
- vertigini, ipotensione fino alla perdita dei sensi (0,01%);
- formicolio intorno alle labbra e sul viso, formicolio sulle dita delle mani, senso di vuoto allo stomaco fino a crampi agli arti inferiori e superiori, sintomi dovuti all'ipocalcemia da anticoagulante (5,6%);
- rarissimi incidenti gravi, quali embolie polmonari, arresto cardiocircolatorio; nell'esperienza del nostro Servizio di aferesi non si sono mai verificati incidenti gravi.

1.2 Alternative a causa della non idoneità alla raccolta di linfociti
Qualora decidesse di non effettuare la raccolta di linfociti, non potrà portare a termine il programma terapeutico che Le è stato proposto. Queste decisioni dovranno essere prese nell'ambito di un colloquio con i clinici ematologici che potranno proporLe le alternative possibili qualora non acconsenta o non sia idoneo alla procedura di aferesi (ad es: protocolli terapeutici alternativi che non prevedano l'infusione delle Car-T).

2. Criopreservazione dei linfociti T raccolti (solo per il prodotto Novartis)
Il prodotto raccolto verrà sottoposto in laboratorio a procedure di manipolazione che consentono il congelamento dei linfociti per una conservazione a lungo termine. I linfociti vengono sottoposti ad un abbattimento di volume e ad un congelamento mediante l'utilizzo di una sostanza di crioprotezione e di albumina umana che garantiscono il mantenimento della vitalità e della funzionalità cellulare al decongelamento. Ovviamente i linfociti possono essere utilizzati **esclusivamente** dal paziente che le ha raccolti e per le finalità previste in questo trattamento sanitario. I linfociti vengono conservati in contenitori di stoccaggio sotto monitoraggio della temperatura e sotto allarme in caso di eventuali guasti del sistema. In ogni caso, vengono effettuati controlli di laboratorio per verificare qualità e sicurezza del prodotto.

2.1 Invio dei linfociti presso le Cell Factory delle ditte farmaceutiche Kite-Gilead o Novartis per la produzione delle Car-T cells
Il prodotto viene consegnato dal laboratorio di manipolazione cellulare che provvederà all'invio a fresco (per Yescarta) o criopreservato (per Kymriah) alle cell-factory delle ditte farmaceutiche dove

avviene la modifica genetica dei linfociti per l'espressione del recettore CAR. Le informazioni relative al paziente e alla leucoaferesi vengono inserite nei portali informatici delle aziende farmaceutiche produttrici al fine di programmare la spedizione nelle sedi di produzione delle cellule CAR-T.
Il processo di ingegnerizzazione dei linfociti richiede un tempo medio di circa 4 settimane dal momento in cui viene effettuata la linfocitoaferesi. E' possibile che il processo di manipolazione genetica possa non essere quantitativamente sufficiente determinando così il fallimento della procedura e quindi l'impossibilità del paziente a ricevere la terapia con linfociti CAR-T. Tale evento è considerato molto raro ed in genere è condizionato da un numero molto basso di linfociti T di partenza. Nel caso sopra descritto il paziente dovrà essere avviato a terapia alternativa.

2.2 Rischi della raccolta, manipolazione, conservazione e decongelamento dei linfociti
Durante l'intera procedura di raccolta, lavorazione il prodotto può andare incontro a:

- possibilità di una contaminazione batterica;
- rottura della sacca durante ognuna delle fasi di raccolta, trasporto, manipolazione, conservazione e decongelamento;
- anomalie durante la fase di congelamento o durante le movimentazioni e/o la conservazione che possono comportare deterioramento qualitativo e/o quantitativo del prodotto cellulare con perdita di vitalità e/o funzionalità cellulare;
- decongelamento accidentale del prodotto: contro tale rischio vengono adottati sistemi di monitoraggio continuo delle temperature e di gestione degli allarmi dei contenitori di stoccaggio che ne consentono l'immediato intervento in caso di emergenza;
- è possibile che il processo di manipolazione genetica possa non essere quantitativamente sufficiente determinando così il fallimento della procedura e quindi l'impossibilità del paziente a ricevere la terapia con linfociti CAR-T. Tale evento è considerato molto raro ed in genere è condizionato da un numero molto basso di linfociti T di partenza. Nel caso sopra descritto il paziente dovrà essere avviato a terapia alternativa.

3. INFUSIONE DELLE CAR-T
Il prodotto CAR-T criopreservato ed ingegnerizzato ritorna al laboratorio di partenza dopo circa 4 settimane. Il reparto programma il ricovero del paziente per l'infusione. L'infusione delle cellule CART deve essere ritardata se un paziente presenta una delle seguenti patologie:
- reazioni avverse gravi non risolte (in particolare reazioni polmonari, reazioni cardiache o ipotensione), anche dovute a precedenti chemioterapie;
- infezione attiva non controllata o malattia infiammatoria;
- malattia attiva del trapianto contro l'ospite (GvHD)
- significativo peggioramento clinico del *burden* di malattia nei pazienti con leucemia o rapida progressione del linfoma dopo chemioterapia linfodepletiva.

Yescarta è stabile per un anno (≤ -150°C).
Kymriah è stabile per 9 mesi (≤ -150°C).

Il paziente riceve chemioterapia linfodepletiva prima dell'infusione delle cellule CAR-T, allo scopo di favorire l'espansione in vivo delle cellule infuse. Il paziente viene ricoverato in reparto generalmente 1-2 giorni prima l'inizio della chemioterapia di linfodeplezione preparatoria all'infusione delle cellule CAR-T. Tutta la degenza verrà effettuata in camera singola a pressione positiva.
Al momento del ricovero il paziente viene visitato per escludere l'insorgenza di patologie acute impreviste che controindichino la procedura; vengono inoltre ripetuti gli esami di laboratorio routinari (emocromo, biochimico e quadro emostatico).
Prima di iniziare la chemioterapia linfodepletiva vengono richieste le seguenti consulenze:

- Visita anestesiologica da parte dei rianimatori del CAR-T team, per effettuare la valutazione del paziente, delle sue comorbidità.
- Valutazione neurologica da parte dei neurologi del CAR-T team, per una visita neurologica basale prima della somministrazione delle cellule CAR-T.
- Valutazione cardiologica, comprensiva di ecocardiogramma e refertazione ECG da parte del cardiologo del CAR-T team (se non eseguita recentemente).

Viene richiesto il posizionamento di un catetere venoso centrale.

Il paziente viene pre-medicato con paracetamolo ed antistaminico. L'infusione deve avvenire per gravità o mediante una pompa peristaltica, attraverso un accesso venoso centrale.

3. Decorso Post Infusione

Nei 10gg dopo l'infusione, i pazienti devono essere monitorati quotidianamente per identificare segni e sintomi di potenziale CRS, eventi neurologici e altre tossicità. Si deve considerare l'ospedalizzazione per i primi 10gg dopo l'infusione o ai primi segni/sintomi si sindrome da rilascio da citochine e/o eventi neurologici.

I consulenti (neurologo, cardiologo e rianimatore) si impegnano qualora chiamati dal medico di reparto ad essere prontamente reperibili per le valutazioni di loro competenza.

I pazienti devono essere istruiti a rimanere nelle vicinanze (entro 2h di viaggio) di un centro clinico qualificato per almeno 4 settimane dopo l'infusione.

Dopo la dimissione i pazienti devono continuare ad essere monitorati in regime di DH. Nell'osservazione durante questo primo periodo visita e esami diagnostici sono volti all'identificazione e gestione di:

-neurotossicità ad insorgenza tardiva

-complicanze infettive e ripresa immunitaria

-ripresa della normale autonomia e vita quotidiana

La rivalutazione di malattia viene effettuata a +30 e +90 giorni, considerando sempre la possibilità di ottenere miglioramenti della risposta ottenuta fino a 180 giorni.

In caso di progressione di malattia e necessità di valutazione per ulteriori linee terapeutiche, il paziente proseguirà l'iter terapeutico.

Al momento della dimissione verrà consegnata una lettera in cui vengono specificati la terapia a domicilio, e gli appuntamenti in ambulatorio per valutare il suo benessere e lo stato della sua malattia con esami di rivalutazione.

Le comunichiamo inoltre che i dati relativi alla sua infusione di CAR T cells saranno raccolti e trasmessi a un registro internazionale di trapianti (EBMT) e all'AIFA.

DISSENSO/REVOCA

In qualsiasi momento della procedura il paziente/utente ha diritto a revocare il consenso. In caso di dissenso non sarà possibile portare a termine il programma terapeutico e questo potrà incidere negativamente sul suo stato di salute. In ogni caso il dissenso/revoca non pregiudicherà in alcun modo le cure assistenziali e i rapporti con i sanitari.

PRIVACY

Il trattamento dei dati personali avverrà secondo quanto definito dal Regolamento UE 679/2016, come descritto nell'Informativa aziendale sul trattamento dei dati personali. A tal fine Le verrà richiesto di sottoscrivere apposito consenso informato.

SANITARI REFERENTI

Per qualsiasi ulteriore chiarimento, il paziente può richiedere informazioni al Medico che ha illustrato la procedura e al personale Medico delle due unità cliniche in cui viene effettuato il trapianto autologo e delle altre unità coinvolte:

Ematologia

Prof Mauro Di Ianni	085-4252301	mauro.diianni@ausl.pe.it
Dr.ssa Elsa Pennese	085-4252838	elsa.pennese@ausl.pe.it
Dr.ssa Prassede Salutari	085-4252724	prassede.salutari@ausl.pe.it
Dr.ssa Antonella Fornaro	085-4252518	antonella.fornaro@ausl.pe.it
Dr.ssa Daniela Onofrillo	085-4252726	daniela.onofrillo@ausl.pe.it

Servizio di Aferesi Terapeutica

Dr.ssa Cecilia Passeri	085 4252886	cecilia.passeri@ausl.pe.it
Dr.ssa Ornella Iuliani	085 4252886	ornella.iuliani@ausl.pe.it

Laboratorio di Manipolazione Cellulare

Dr.ssa Tiziana Bonfini	085 4252372	tiziana.bonfini@ausl.pe.it
Dr.ssa Ida Villanova	085 4252374	ida.villanova@ausl.pe.it

Per ricevuta:

_____ data: _____/_____/_____

Firma del pz