

21 MARZO 2010  
ASSEMBLEA  
ASSOCIAZIONE  
VENETA  
LOTTA  
ALLA  
TALASSEMIA

LA RELAZIONE  
DEL PROFESSOR  
GAMBARI

# IMPIEGO CLINICO DEL RESVERATROLO E ALTRE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE

Servizio a cura di Corinna Canè

Domenica 21 Marzo, durante l'assemblea dell'Associazione Veneta per la Lotta alla Talassemia, il Prof. Roberto Gambari, Direttore scientifico del ThalLab ("Laboratorio di ricerca sulla terapia genica e farmacogenomica della talassemia"), che opera presso il Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare dell'Università di Ferrara, ha tenuto una conferenza sul tema: **"Impiego clinico del Resveratrolo e altre prospettive terapeutiche"**.

Nella nostra ultima intervista con lui, che abbiamo pubblicato nel mese di maggio 2008, il Prof. Gambari aveva elencato gli obiettivi del ThalLab di Ferrara per la ricerca, parlando di tre categorie di molecole alle quali rivolgeva l'attenzione: quelle nuove di sintesi non ancora utilizzate in terapia, quelle conosciute e utilizzate nella pratica clinica su altre patologie, ed una terza categoria, costituita dai cosiddetti

"antiossidanti", somministrabili sotto il controllo medico come "ricostituenti". Le definiva molto sicure dal punto di vista della tossicità e alcune di queste con funzione di induzione dell'emoglobina fetale in cellule coltivate *in vitro*. Il prof. Gambari affermava testualmente: "...alcune potrebbero essere assunte, sotto il controllo del clinico di riferimento, tenendo presente una il fatto che alcune manifestano una attività biologica che permette di utilizzarle in talassemia con due obiettivi: allungare la vita del globulo rosso e indurre l'emoglobina fetale".

A Rovigo il Prof. Gambari ha illustrato come, nel laboratorio da lui diretto, siano stati sviluppati nuovi sistemi sperimentali, tra cui ingegnosi biosensori cellulari, complementari ai precursori eritroidi isolati da pazienti, un sistema sperimentale già utilizzato da tempo presso il ThalLab.

"Ovviamente, per portare un farmaco o una mo-

lecola dalla ricerca sulle cellule alla ricerca clinica - ha detto testualmente - un passaggio potrebbe essere basato su sistemi sperimentali costituiti da animali, allo scopo di determinare se un farmaco funziona "in vivo". Ora, anche se al mondo esistono già molti sistemi animali, fra cui i topolini transgenici che mimano, seppur in modo incompleto, gli effetti della talassemia, noi a Ferrara abbiamo iniziato un progetto molto difficile, che è quello di creare delle linee di topolini transgenici che avessero, incorporati nel loro genoma, i geni per la globina beta con le mutazioni della talassemia presenti con grande frequenza, nella nostra regione. Per quanto riguarda i biosensori - ha continuato - volevo citare il lavoro di tre ricercatrici, Alessia Finotti, Giulia Breveglieri e Francesca Salvatori (quest'ultima una nostra paziente talassemica), le quali hanno sviluppato un vettore in grado di mettere in evidenza molecole che hanno un'attività preferenziale sul promotore

*per la globina gamma e, conseguentemente, di identificare molecole presumibilmente in grado di indurre la produzione di emoglobina fetale. Questo modello si è rivelato di grande interesse perché consente di velocizzare lo screening di centinaia di molecole. A che punto siamo invece con la produzione di animali transgenici? Questo processo è iniziato circa 8-9 anni fa e l'idea primitiva era di usare un approccio diverso, creando cioè degli embrioni di topo contenenti cellule staminali trasdotte con i geni di interesse. In realtà abbiamo ottenuto i migliori risultati attraverso una collaborazione con Telethon e l'Università di Torino (con il gruppo della Prof.ssa Altruda), microiniettando in ovociti fecondati di topo proprio i geni che a noi interessano, opportunamente mutagenizzati dal nostro gruppo*

## LA SPERIMENTAZIONE PER L'INDUZIONE DELL'EMOGLOBINA FETALE

### Il progetto internazionale chiamato "Human virtual pathology"

*di Ferrara per ottenere i topi transgenici con i geni della beta globina contenenti le mutazioni più frequenti nel nostro territorio.*

*L'obiettivo è trattare il topolino con molecole in grado poi di essere proposte anche per l'intervento sui pazienti.*

*Adesso entriamo nell'ambito della sperimentazione clinica".*

Nel mese di maggio del 2009 in un altro incon-

tro il prof. Gambari aveva parlato ancora dell'induzione dell'emoglobina fetale, ricordando che erano state discusse presso l'INH (l'equivalente americana dell'Istituto Superiore di Sanità) le linee guida per incentivare una sperimentazione a livello mondiale sull'induzione di emoglobina fetale.

*"Parlando di network - ha proseguito - devo dire con soddisfazione*

**L'Assemblea dell'Associazione Veneta durante la relazione del professor Gambari**



che, dopo l'esperienza di ITHANET, siamo presenti in un progetto europeo che sta partendo. In questi giorni sto compilando una richiesta di finanziamento che scadrà il 18 Aprile. Questo Progetto, dal punto di vista dei pazienti è molto interessante, avendo come obiettivo la creazione di quella che viene chiamata "human virtual pathology" cioè un malato virtuale, nel nostro caso di talassemia, aiutando il clinico nel definire il management del singolo paziente talassemico, indirizzandosi eventualmente a quella che potremmo definire terapia personalizzata".

Sull'argomento degli inibitori dell'emoglobina fetale, il Prof. Gambari ha ricordato molecole "interessanti come la **Rapamicina** e l'**Everolimus** che, tra l'altro, sono state recentemente sperimentate a Palermo *in vitro* e, in una prima fase, i collaboratori di Palermo hanno confermato l'effetto che era stato rilevato negli esperimenti condotti a Ferrara. Per quanto ne sappiamo inizierà a breve con un primo intervento clinico usando l'Everolimus, prodotto da Novartis, su un paziente presso l'ospedale Cervello di Palermo.

"Abbiamo dati molto interessanti - ha detto - che sostengono l'eventuale utilizzo di molecole già sfruttate nella terapia di altre patologie per indurre l'emoglobina fetale nel paziente talassemico. Che cosa bisognerebbe fare in

## LA CONFERENZA DEL PROF. GAMBARI

# «Sul Resveratrolo dobbiamo evitare che si crei una sorta di «fai da te della terapia»»

### Il richiamo è rivolto perché il prodotto è in commercio ed accessibile a tutti

questo caso? Bisognerebbe mettere insieme tutti i dati clinici già disponibili al mondo sull'induzione dell'emoglobina fetale, discutere in modo critico tutte le molecole proposte da tutti i gruppi universitari e non interessati nella sperimentazione preclinica, compreso il nostro, per cercare di capire quali molecole meritano di essere incentivate per la sperimentazione clinica, controllata e multicentrica. Questo è un lavoro che andrebbe fatto anche da ricercatori che lavorano sulla terapia genica".



E veniamo all'argomento oggetto del titolo della relazione e cioè ad una terza classe di molecole potenzialmente interessanti, della quale fa parte il **Resveratrolo**.

Anche in questo caso preferiamo riportare fedelmente quanto detto dal prof. Gambari, perché la materia è molto delicata ed importante.

"Ci sono tre punti che vanno attentamente considerati:

- 1) molti prodotti come il Resveratrolo sono di libero accesso sul mercato,
- 2) hanno costo basso,
- 3) hanno una via di somministrazione semplice.

Noi però dobbiamo riflettere con grande accuratezza e serietà su un possibile rischio che si corre usando queste molecole. È quello che, per intendersi, definirei il "fai da te in terapia", cioè una terapia che il paziente si auto procura senza controllo clinico perché chiunque è in grado di ordinare il Resveratrolo o altri prodotti naturali simili su

*internet e chiunque è in grado di andare a verificare qual è la dose consigliata dalla ditta che commercializza questi prodotti. Ben capite che questo approccio noi non lo condividiamo, perchè iniziative di questo genere devono comunque essere eseguite sotto il controllo clinico, altrimenti si ottiene una sorta di anarchia dell'auto-somministrazione, che non è quello che noi vogliamo per arrivare alla risposta clinica.*

*Per quanto riguarda il Resveratrolo, la sua storia inizia nel 2001 da un articolo in cui questa molecola è stata saggiata sul sistema K562, che il nostro laboratorio ha contribuito nel diffondere come sistema molto utile per individuare molecole di interesse nelle applicazioni sul differenziamento eritroide. Il Resveratrolo è presente nel vino rosso e in altri prodotti naturali e viene commercializzato da molte ditte essenzialmente come antiossidante.*

*Per quanto riguarda applicazioni nel campo della talassemia, il resveratrolo sembra molto interessante, in quanto, oltre all'attività antiossidante è un potente induttore di emoglobina fetale in precursori eritroidi isolati da pazienti talassemici. Entrambe queste attività sono di interesse per il paziente talassemico. Ci aspettiamo infatti che la vita dei precursori eritroidi e delle cellule da questi generate sia, in presenza di Resveratrolo, molto più lunga. E questo è il primo effetto. Il secondo effetto potrebbe essere,*

## IL THALLAB PER UNA RICERCA PRECLINICA

### Dopo l'approvazione ottenuta dai Comitati Etnici per l'attivazione dei trial clinici

*in vivo, lo stesso effetto che il Resveratrolo mostra in vitro, cioè indurre l'emoglobina fetale.*

*L'anno scorso abbiamo nel nostro laboratorio valutato l'effetto di molte preparazioni di Resveratrolo, commercializzate di differenti ditte, e abbiamo dimostrato che diverse preparazioni hanno un effetto diverso sul differenziamento eritroide e sull'induzione dell'emoglobina fetale. In seguito a questi esperimenti abbiamo contattato una particolare ditta che ci ha garantito di fornirci le formulazioni necessarie di Resveratrolo gratuitamente per eventuali trial clinici che noi andremo a proporre. Inoltre, ci hanno garantito un supporto tecnico-scientifico per formulare un protocollo efficace, includendo la fase molto delicata delle modalità e dalla tempistica di somministrazione (alla mattina, prima o dopo i pasti ecc..).*

*Ovviamente, va ricordato che la via che dalla ricerca di base ci permette di arrivare al trial clinico è molto lunga. Dalla*

*ricerca di base si passa alla ricerca applicata preclinica sulle cellule del paziente, alla ricerca utilizzando modelli animali (anche se quest'ultima può essere evitata in particolari situazioni). È molto importante arrivare ad identificare un gruppo clinico interessato ad iniziare un percorso di trasferimento alla clinica delle ricerche applicate che abbiamo ottenuto importanti riscontri pre-clinici. Ovviamente non si può iniziare nulla senza l'approvazione del Comitato Etico dell'ospedale o dell'università, approvazione che è richiesta per attivare il trial clinico pilota che poi può condizionare i protocolli applicati in futuro. È questo un lavoro molto pesante che deve essere portato avanti da molti ricercatori e da persone che lavorano in sinergismo fra loro. Quello che posso dire è che abbiamo identificato tre protocolli diversi a seconda dei tre laboratori clinici e devo dire che per due di queste iniziative abbiamo avuto l'approvazione del protocollo da parte del Comitato*

*Etico (sia dell'ospedale di Ferrara che di Pisa). Abbiamo anche un terzo gruppo che è disponibile a programmare con noi una sperimentazione clinica, il gruppo della Dottoressa Amal El Beshlawy del Cairo in Egitto.*

*L'anno scorso abbiamo iniziato una collaborazione con loro, e siamo stati finanziati per trasferire ricercatori dall'Egitto in Italia e viceversa.*

*Diamo un po' più di particolari sui trial clinici: il numero dei pazienti dovrebbe essere intorno ai dieci, la lunghezza del trattamento di novanta giorni e il dosaggio di 500 mg di Resveratrolo al giorno. Eseguiremo periodicamente prelievi di sangue per verificare se abbiamo, durante il trattamento, una modifica di livello di emoglobina fetale prodotta. Inoltre, saranno valutati eventuali effetti collaterali, perché ovviamente ogni comitato etico esige che in presenza di un minimo effetto collaterale il trattamento venga interrotto".*

In conclusione, le iniziative del ThalLab sembrano riuscire a portare la ricerca pre-clinica ad una prima applicazione in campo clinico. Il protocollo clinico è stato definito, l'approvazione dei Comitati Etici ottenuta e l'attivazione dei primi trial clinici.

**Una foto del gruppo di ricercatori con il professor Gambari**

## UN FINANZIAMENTO DA TELETHON AL GRUPPO DI RICERCA DEL THALLAB

Al Prof. Roberto Gambari ed al suo gruppo del ThalLab è stato concesso un finanziamento da parte di Telethon.

*"Il progetto - come si legge nel comunicato pubblicato da "Il Resto del Carlino" - cerca di indirizzare le ricerche per facilitare la terapia personalizzata del paziente talassemico, in base al genotipo.*

*Proprio per verificare in vivo protocolli terapeutici, il Progetto prevede di sviluppare e caratterizzare modelli in vivo costituito da topi transgenici che riproducano le alterazioni dovute alla più frequenti mutazioni presenti nel nostro territorio (beta 39, IVS-110, IVSI-1 e IVSI-6).*

*L'attività di ricerca sarà condotta da oltre 12 ricercatori, la maggior parte non strutturati e può essere monitorata consultando il sito del ThalLab (Laboratorio di Ricerca per la Terapia Genica e Farmacogenomica della Talassemia, [www.talassemiaricerca.it](http://www.talassemiaricerca.it)).*

*Può contare sull'aiuto di validi ricercatori esteri, tra i quali il Prof. Stefano Rivella (Cornell University, New York) e il Prof. Eitan Fibach (Hadasah Hospital, Jerusalem, Israel)".*

Ricordiamo che le ricerche del Prof. Gambari sono sostenute anche e soprattutto dalla Associazione Veneta per la Lotta alla Talassemia e dalla Associazione per la Lotta alla Talassemia di Ferrara, dalla Fondazione Cassa di Risparmio di Padova e Rovigo e da BioPharmaNet.

