

UN GENE IN MISSIONE SPECIALE

un "viaggio" nella terapia genica per
la distrofia muscolare di Duchenne



Duchenne
Parent
Project
aps



con il patrocinio di



OSSERVATORIO
TERAPIE
AVANZATE



INTRODUZIONE

Il concetto di terapia genica nasce negli anni 70, frutto dell'avvento delle nuove tecniche del DNA ricombinante che hanno permesso ai ricercatori di costruire pezzi di DNA contenenti sequenze geniche desiderate (una sorta di Lego della genetica), ma è solo negli ultimi anni che sta diventando una realtà per alcune malattie genetiche e rare.

La terapia genica è una delle prime terapie avanzate e di precisione a essere state ideate e ha l'obiettivo di combattere una patologia non trattandone i sintomi, ma mirando direttamente alle sue basi genetiche. Il concetto base di questa strategia terapeutica è di **fornire all'organismo una copia sana del gene difettoso**, il cosiddetto "gene terapeutico", o un altro gene che possa compensarne il malfunzionamento nelle cellule colpite dalla malattia. Il trasferimento del gene negli organi e nei tessuti è **mediato da vettori virali**, ovvero virus modificati che agiscono in questo contesto come veri e propri veicoli.

Nonostante la semplicità concettuale, l'applicazione concreta della terapia genica nei pazienti è una vera e propria sfida di salto agli ostacoli, alcuni dei quali - come vedremo nel caso della distrofia muscolare di Duchenne - imposti dalle esigenze specifiche della patologia.

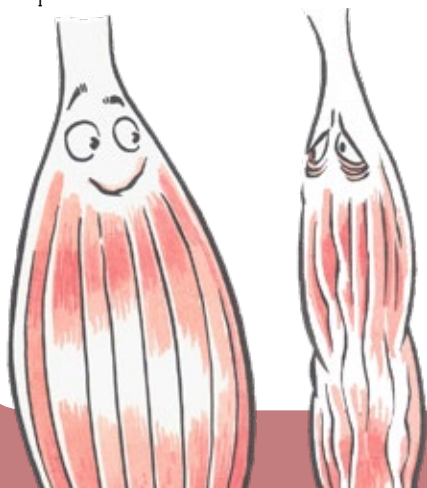


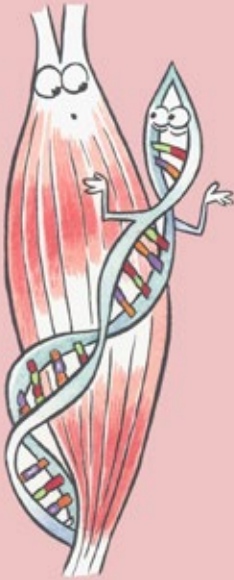
La distrofia muscolare di Duchenne (DMD) è una patologia genetica rara che colpisce il tessuto muscolare. I pazienti affetti da DMD mostrano una fragilità di tutti i muscoli che progredisce nel tempo portando alla perdita graduale della loro funzione. Oltre alla perdita della funzionalità degli arti inferiori e superiori, nel corso del tempo anche il cuore e il diaframma vengono colpiti portando a un deficit della funzionalità cardiaca e respiratoria.

Le cause genetiche della DMD sono state chiarite nel 1986 con l'identificazione del gene della distrofina, in cui si localizzano i difetti genetici (chiamati tecnicamente mutazioni) responsabili della comparsa della patologia.

Questo gene fornisce le informazioni necessarie a produrre la distrofina, una proteina fondamentale per l'integrità e la funzionalità delle cellule muscolari. È l'assenza di distrofina la causa della degenerazione muscolare nei pazienti con la Duchenne.

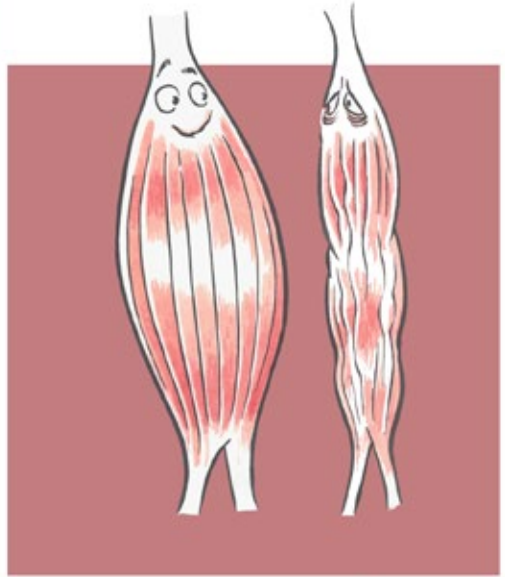
Una terapia genica per la Duchenne ha quindi come obiettivo il trasferimento di una versione funzionale del gene della distrofina in grado di ripristinare la produzione della proteina in tutti i muscoli del paziente. Una vera e propria impresa, considerando le centinaia di muscoli presenti nel nostro corpo.



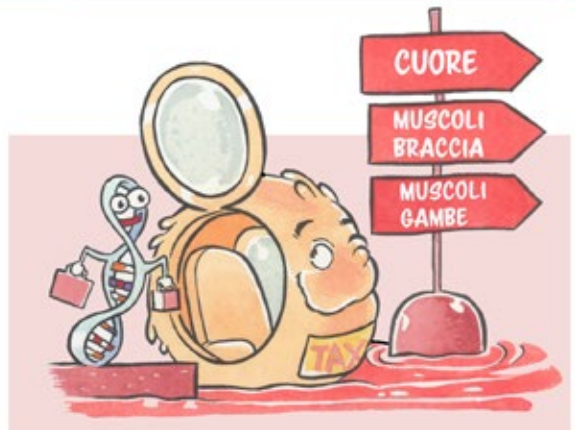


La distrofia muscolare di Duchenne è una patologia genetica rara che colpisce i muscoli.

Col passare del tempo i muscoli perdono progressivamente la loro funzionalità.



La causa è un difetto nel gene della distrofina.



La terapia genica si propone di trasferire una versione funzionale del gene della distrofina in tutti i muscoli del corpo.

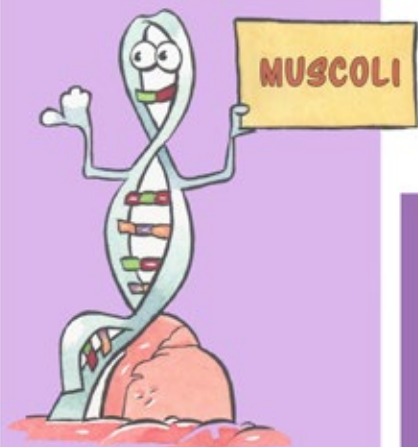
LA DESTINAZIONE FINALE DEL NOSTRO GENE DELLA DISTROFINA E' DUNQUE IL MUSCOLO, MA COME POTRA' FARE A RAGGIUNGERLO?

C'è bisogno di un veicolo che possa "prendere a bordo" il gene e dargli un passaggio verso l'interno del corpo. È qui che entrano in gioco i virus che, opportunamente modificati, si rivelano vettori adeguati per il trasporto dei geni.

Esistono molti tipi di virus, ognuno dei quali ha preferenze per un tipo cellulare specifico; è quindi importante scegliere il vettore virale giusto per veicolare il nostro gene a destinazione. Alcuni sottotipi di una famiglia di virus chiamati adeno-associati (AAV), ad esempio, hanno una spiccata preferenza per il muscolo e sono, tra le altre cose, privi di effetti patogeni.

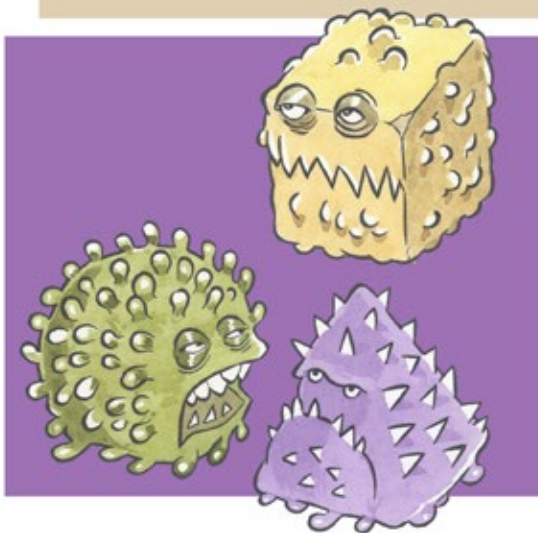
Prima che il gene salga a bordo il virus AAV deve però essere modificato. I virus sono infatti molto piccoli e per poter ospitare un qualsiasi gene è necessario, innanzitutto, fare spazio eliminando i geni virali. Questo, al tempo stesso, trasforma il virus in un innocuo veicolo, incapace di replicarsi, privo di attività indesiderate e utile per l'obiettivo.





Per raggiungere i muscoli
il gene ha bisogno di un
passaggio...

... è qui che entrano in gioco i virus



I virus adeno-associati (AAV)
hanno le caratteristiche giuste
per essere usati come vettori.

I geni virali vengono
eliminati: il virus diventa
un veicolo innocuo, ossia
un vettore, adatto a
trasferire il gene nei
muscoli.



Il vettore virale è pronto e sembrerebbe fatta se solo non fosse per un piccolo particolare... **COME E' POSSIBILE CONCILIARE LE ENORMI DIMENSIONI DEL GENE DELLA DISTROFINA CON IL RISTRETTO SPAZIO DISPONIBILE NEL VIRUS?**

Il gene della distrofina è infatti il gene più grande presente nel nostro genoma e servirebbe un virus AAV molto più capiente per poterlo contenere tutto. Data la capienza limitata di questi virus, l'unica possibilità per risolvere il problema è ridurre le dimensioni del gene senza comprometterne, però, la funzione.

Missione impossibile? In realtà no, perché esistono in natura forme insolitamente piccole ma funzionali della distrofina che sono presenti in alcuni pazienti con distrofia muscolare di Becker (BMD) sorprendentemente poco sintomatici. Questo ha dato lo spunto ai ricercatori per creare delle forme ridotte del gene che fossero le più piccole forme possibili, in grado comunque di conservarne la funzione. Nascono così le mini- e micro-distrofine!

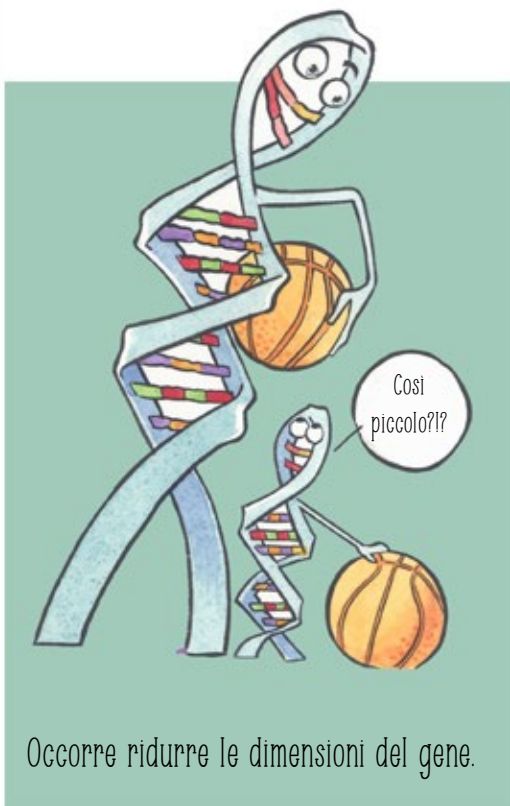


Queste varianti del gene sono state ottenute, quindi, rimuovendo le zone meno importanti per la funzione della distrofina e mantenendo quelle indispensabili. Ma attenzione: anche se il nostro "mini/microgene" è stato ottimizzato, non possiamo ancora sapere in quale misura sarà in grado di svolgere la sua funzione... solo il tempo e le sperimentazioni cliniche attualmente in corso potranno fornire una risposta esaustiva a questa domanda.

Il vettore virale è pronto...



...ma il gene è TROPPO GRANDE!



Occorre ridurre le dimensioni del gene.

Sono state scoperte forme piccole ma funzionali di distrofina in alcuni pazienti con la BMD...

... Da qui nasce l'idea delle mini- e micro-distrofine: varianti del gene ottimizzate da utilizzare nella terapia genica



Il gene della distrofina è finalmente a bordo e pronto a partire:

DA DOVE INIZIA IL SUO VIAGGIO?

La strada migliore per raggiungere ogni muscolo è la rete dei vasi del circolo sanguigno: il viaggio del virus con il gene della mini/microdistrofina inizia con un'iniezione intravenosa che catapulta vettore e gene nel traffico cellulare del flusso di sangue. La comparsa del vettore virale, però, non passa inosservata dall'organismo: si tratta, a conti fatti, di un intruso, che viene rapidamente riconosciuto come estraneo dall'esercito cellulare del sistema immunitario del ricevente. Alcune cellule si attivano prontamente per cercare di eliminarlo, mentre altre si organizzano per schedarne l'identità, creando anticorpi specifici pronti a bloccare un eventuale successivo 'attacco'.

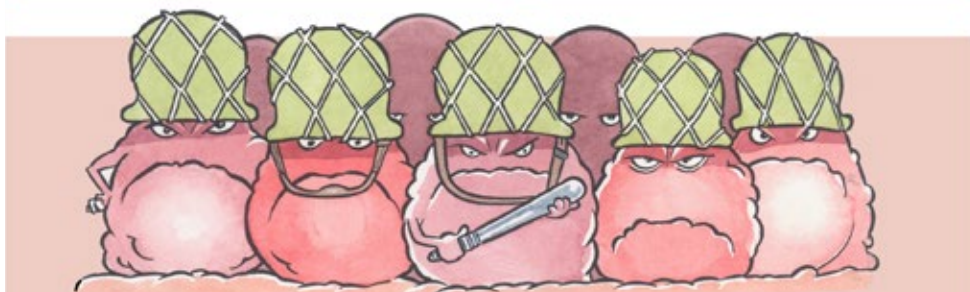
Questo meccanismo di autodifesa, così utile per la nostra sopravvivenza, può rappresentare un grande ostacolo e rischio per la terapia genica mediata da vettori virali. Per chi ha già sviluppato gli anticorpi per uno specifico virus, il trattamento di terapia genica con un vettore originato da quel virus scatenerebbe una risposta immunitaria che ne provocherebbe la rimozione immediata, ponendo anche possibili rischi per la salute del ricevente.

Per questo motivo, non solo uno specifico trattamento di terapia genica può essere somministrato una sola volta nella vita, ma tutti coloro che in precedenza sono entrati in contatto con lo stesso tipo di virus AAV non possono ricevere il trattamento. Questa eventualità può riguardare tra il 20 e il 50% della popolazione, anche a seconda dello specifico vettore virale impiegato.



Il viaggio inizia: vettore e gene vengono immessi nel flusso sanguigno ma il loro ingresso non passa inosservato...

... alcune cellule del sistema immunitario cercano di eliminarli...



... altre creano anticorpi per bloccarne un futuro attacco.
Per questo il trattamento può essere somministrato una volta sola...

... e le persone che sono già entrate in contatto con lo stesso virus AAV non possono ricevere il trattamento.



Superando varie peripezie nel loro viaggio, vettore e gene arrivano nelle cellule muscolari e qui si separano. Mentre il nostro vettore virale viene demolito, il gene rimane intatto e libero di sistemarsi accanto al DNA cellulare dove può finalmente iniziare a dare il via alla sua missione: esprimere la micro/mini distrofina.



ATTENZIONE PERO': QUANTI VETTORI AVRANNO SUPERATO LE DIFFICOLTÀ INCONTRATE NEL PERCORSO E QUANTE CELLULE MUSCOLARI AVRANNO EFFETTIVAMENTE RAGGIUNTO?

Per ottimizzare le probabilità di successo è necessario riuscire a raggiungere quante più cellule muscolari possibili. Per questo motivo, il trattamento prevede la somministrazione di quantità molto elevate di vettori virali che siano sufficientemente alte da essere il più efficaci possibile mantenendone al tempo stesso i livelli di sicurezza.

La questione delle quantità necessaria di virus introduce un'altra grossa sfida nel percorso della terapia genica per la Duchenne.

Al momento, infatti, le tecnologie disponibili permettono di soddisfare la produzione delle quantità di virus necessarie a condurre gli studi clinici su pochi pazienti, ma per produrre quantità adeguate a un potenziale impiego esteso sono necessari ulteriori investimenti, risorse e tempo a cui si sta iniziando a fare fronte.

Superando varie peripezie nel loro viaggio...



...vettore e gene arrivano nei muscoli e si separano...

Il gene si sistema accanto al DNA cellulare dove può iniziare la sua missione



Ci sono ancora tante domande senza risposta

Quanti vettori?
Quante cellule?



Sarà efficace
nel tempo?

C'è infine un'ultima domanda a cui nuovamente solo il tempo potrà fornire una risposta: **QUANTO A LUNGO DURERÀ L'EFFETTO DELLA TERAPIA?**

Poiché il mini/microgene trasferito non si inserisce nel DNA cellulare, quando il muscolo cresce o viene rigenerato per riparare un danno, non c'è nessuna possibilità di aumentare anche la quantità di mini/microdistrofina originariamente trasferita. Nel tempo dunque, il muscolo nel suo insieme ne disporrà in quantità proporzionalmente minore. Ciò implicherebbe che una terapia genica somministrata in giovane età, sebbene vantaggiosa perché mirata a proteggere i muscoli in una fase in cui i danni non sono ancora troppo severi,

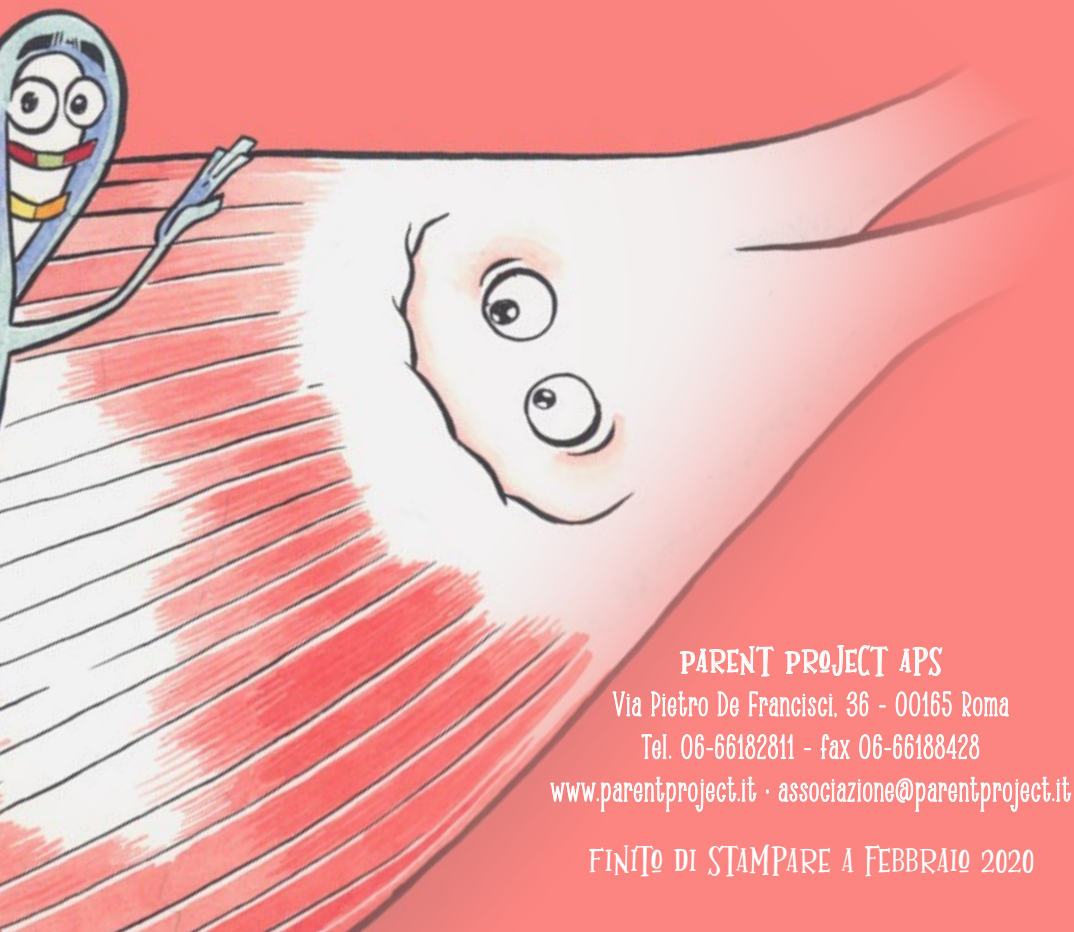
potrebbe esaurire con la crescita il suo potenziale terapeutico. D'altra parte la cellula muscolare che è stata raggiunta dal mini/microgene dovrebbe essere resistente al danno e quindi non necessitare la sostituzione con una nuova cellula. In ultima analisi solo il tempo potrà fornire una risposta esaustiva a questa domanda.



GUARDANDO AVANTI

La terapia genica, per quanto seguita con forte interesse da parte della comunità di pazienti, è ancora in fase di sperimentazione e non tutte le domande hanno già delle risposte.

La collaborazione e la sinergia tra comunità scientifica e associazioni di pazienti continua ad andare avanti nella ricerca di tutte le soluzioni possibili affinché, com'è stato negli ultimissimi anni per altre patologie rare, anche la terapia genica per la DMD possa diventare una realtà.



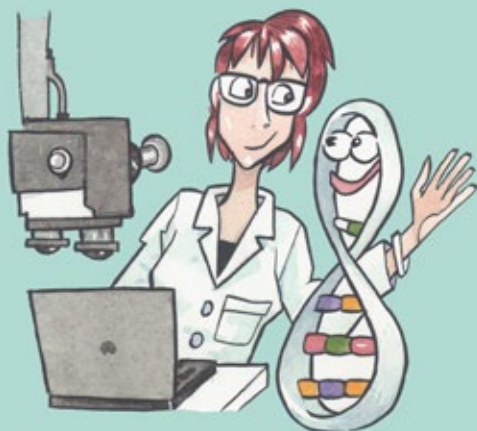
PARENT PROJECT APS

Via Pietro De Francisci, 36 - 00165 Roma

Tel. 06-66182811 - fax 06-66188428

www.parentproject.it - associazione@parentproject.it

FINITO DI STAMPARE A FEBBRAIO 2020

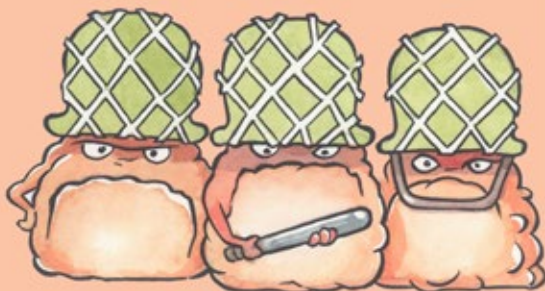


**Duchenne
Parent
Project**
aps

Testi a cura di
UFFICIO SCIENTIFICO
PARENT PROJECT APS

Progetto grafico
UFFICIO COMUNICAZIONE
PARENT PROJECT APS

seguici su: www.parentproject.it



Illustrazioni
MAURO TALARICO

La brochure è stata realizzata grazie ad un
educational grant di



SAREPTA
THERAPEUTICS



SOLID
BIOSCIENCES

