

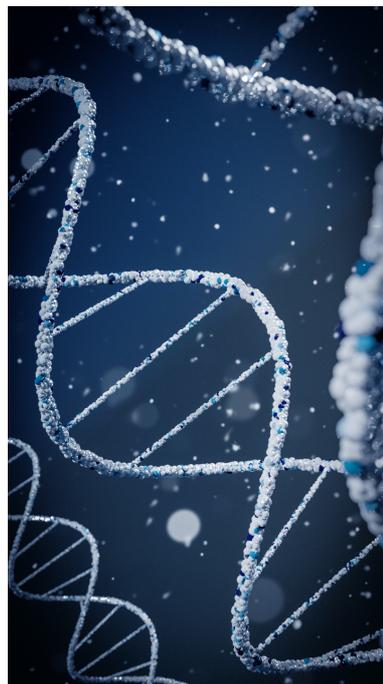


Guida alle terapie cellulari e geniche

La terapia genica sta rivoluzionando la medicina nei confronti delle persone affette da patologie rare e potenzialmente letali, offrendo loro la possibilità di una vita più lunga e più sana. In alcuni casi, un singolo trattamento una tantum può fornire enormi benefici per tutta la vita, non solo ai pazienti, ma anche alle loro famiglie e alla società in generale.

Terapia genica è il nome collettivo attribuito a quelle terapie in cui il materiale genetico di un paziente viene riparato o ristrutturato ai fini dell'efficacia terapeutica.

Il concetto di terapia genica consiste nel risolvere un problema genetico all'origine. Se, per esempio, in una malattia ereditaria (solitamente recessiva) una mutazione in un determinato gene determina la produzione di una proteina disfunzionale, la terapia genica potrebbe essere usata per fornire una copia di questo gene che non contiene la mutazione deleteria, e quindi produce una proteina funzionale. Questa strategia è chiamata terapia genica di sostituzione.



Le terapie geniche sono ancora in fase di studio per la malattia di Pompe, anche se i processi di sviluppo stanno diventando ben noti grazie alle terapie autorizzate per altre malattie. La ricerca e le sperimentazioni cliniche sono infatti estremamente importanti e di grande valore, perché volte a garantire la sicurezza e l'efficacia di queste terapie nel lungo termine. È probabile che ci vorranno diversi anni affinché si riesca a sviluppare una terapia genica di successo per la malattia di Pompe, capace di poter o meno soddisfare le aspettative attuali.

La terapia genica si classifica in due tipi:

Terapia genica delle cellule somatiche

Nella terapia genica delle cellule somatiche (Somatic Cell Gene Therapy, SCGT), i geni terapeutici interessano solo il singolo paziente e non vengono ereditati dalla prole. La terapia genica somatica rappresenta la ricerca clinica e di base, in cui il DNA terapeutico viene utilizzato per il trattamento della malattia.

Tali disturbi del singolo gene, come la malattia di Pompe, sono buoni candidati per la terapia cellulare somatica.

Linea germinale

Nella terapia genica della linea germinale (Germline Gene Therapy, GGT), le cellule germinali (sperma, ovuli e ovuli fecondati) vengono modificate mediante l'introduzione di geni funzionali nei loro genomi. La modifica di una cellula germinale fa sì che tutte le cellule dell'organismo contengano il gene modificato. Il cambiamento è quindi ereditario e trasmesso alle generazioni successive. Molti Paesi vietano l'applicazione della GGT nell'uomo sia per motivi tecnici ed etici, sia perché non vi sono sufficienti conoscenze sui possibili rischi per le generazioni future, e sia perché, rispetto alla SCGT, i rischi risultano essere più elevati.

Terapie geniche per la malattia di Pompe

Attualmente, per la malattia di Pompe, sono in corso di studio tre diverse strategie SCGT:

1. Virus adenoassociati (AAV)

Per replicarsi, i virus introducono il loro materiale genetico nella cellula ospite, inducendo il macchinario cellulare di quest'ultima a utilizzarlo come modello per le proteine virali. Gli scienziati sfruttano questa condizione per sostituire il materiale genetico di un virus con materiale genetico terapeutico.

Nella terapia a base di AAV (*Adeno Associated Virus [virus adenoassociati]*) viene utilizzato l'involucro di tali virus. Si tratta di un virus innocuo, poiché al vettore AAV vengono rimossi i geni che causano la malattia, in modo da perdere efficacia, e viene aggiunto il gene di interesse. Esistono diversi sottotipi di AAV, indicati da un numero. Ad esempio, il sottotipo AAV5 o AAV8 ha come bersaglio il fegato, mentre il sottotipo AAV1 ha come bersaglio le cellule muscolari.

Il costrutto vettore/gene è difficilmente integrato nel genoma umano (all'interno dei cromosomi che trasportano il DNA), ma persiste come entità cromosomica extra. Ciò ha delle conseguenze, perché quando una cellula si divide, la duplicazione del costrutto AAV non avviene come in tutti gli altri DNA, ma si diluisce nel tempo, man mano che le cellule si dividono (ad es. le cellule staminali del sangue).

Nel caso della malattia di Pompe, la terapia di solito è progettata per colpire il fegato o le cellule muscolari. Il cervello viene protetto dall'infezione tramite una membrana nota come barriera emato-encefalica (BEE), pertanto non ci si aspetta che questi tipi di terapie geniche con AAV correggano le cellule malate nel cervello o nel sistema nervoso centrale (SNC). Esistono altri vettori AAV che possono colpire il cervello, ma questi non sono attualmente in fase di valutazione per la malattia di Pompe.

Solitamente le terapie geniche con AAV vengono somministrate sotto forma di infusione singola, una tantum, per via endovenosa (EV), anche se probabilmente i sistemi sanitari insisteranno per condurre un monitoraggio regolare, per molti anni, dopo l'infusione.

I due tipi di terapie geniche con AAV includono:

Fegato mirato

Queste terapie forniscono DNA terapeutico al fegato per produrre continuamente una copia sana dell'enzima carente nella malattia di Pompe (alfa-glucosidasi acida [Acid Alpha Glucosidase, GAA]). Questo enzima sano viene quindi distribuito alle cellule dell'organismo (ad eccezione di quelle del sistema nervoso), in particolare alle cellule muscolari, in modo simile a un'infusione continua di terapia enzimatica sostitutiva (Enzyme Replacement Therapy, ERT).

Muscolo mirato

Queste terapie forniscono il DNA terapeutico direttamente alle cellule muscolari (fibre), in modo da poter annullare il difetto genetico nel DNA muscolare. Le cellule muscolari trattate dovrebbero quindi essere in grado di produrre l'enzima GAA per ripristinare la normale funzione muscolare e arrestare la progressione della malattia.

Guida alle terapie cellulari e geniche

Vantaggi delle terapie geniche con AAV

- Distribuzione del gene in maniera relativamente semplice
- Difficile integrazione nel DNA dell'ospite
- Riduzione delle probabilità di sviluppare un tumore
- Indipendenza dalla mutazione GAA del paziente

Svantaggi delle terapie geniche con AAV

- Sviluppo della risposta immunitaria al vettore AAV tale da non poter ripetere il trattamento
- Assenza di idoneità per tutti i pazienti dovuta ad anticorpi preesistenti
- Perdita di efficacia della terapia nel tempo
- Possibile sviluppo di tossicità epatica a dosi virali elevate
- Nei bambini, diluizione dell'AAV dovuto alla crescita del bambino nel tempo
- Impossibilità di trattare i pazienti affetti da malattia di Pompe infantile classica via fegato prima dei ~4 anni di età a causa della crescita e diluizione della terapia
- Difficoltà a raggiungere il cervello.

2. Terapia genica lentivirale

La terapia genica lentivirale è una tecnica che preleva le cellule staminali del paziente dal midollo osseo, le modifica al di fuori del corpo (ex vivo) in un ambiente sterile, quindi le reintroduce nel corpo in sostituzione di quelle prelevate. Poiché tale tecnica prevede la modifica permanente delle cellule staminali, essa ha il potenziale di fornire una terapia che duri per tutta la vita dopo un solo intervento. Fornisce anche efficacia terapeutica nel SNC. Un esempio recente è dato dall'approvazione dell'EMA (*European Medicines Agency [Agenzia europea per i medicinali]*) della terapia genica lentivirale per il trattamento della LDM (leucodistrofia metacromatica), un disturbo correlato alla malattia di Pompe a carico del SNC.

La procedura di trattamento prevede diversi passaggi che potrebbero richiedere alcune settimane per essere completati:

1. Preparare il corpo per far sì che le cellule staminali del midollo osseo vengano rilasciate nel flusso sanguigno.
2. Prelevare sangue dal paziente per raccogliere una quantità sufficiente di cellule staminali del midollo osseo.
3. Modificare le cellule staminali raccolte in un ambiente sterile, inserendo un vettore lentivirale contenente il gene terapeutico.
4. Preparare il midollo osseo utilizzando un agente di preconditionamento, ad es. il busulfano.
5. Somministrare un'infusione endovenosa (EV) di cellule staminali del midollo osseo modificate.
6. Il midollo osseo diventa una fabbrica vivente per la proteina terapeutica, fornendo una fonte continua di ERT nel sangue.
7. Le cellule derivate dal midollo osseo attraversano la barriera emato-encefalica e secernono la proteina terapeutica nel SNC.

Vantaggi delle terapie geniche lentivirali

- Un solo intervento per il trattamento permanente
- Possibilità di trattare anche il SNC
- Indipendenza dalla mutazione GAA del paziente

Guida alle terapie cellulari e geniche

- Ha dimostrato sicurezza in molteplici sperimentazioni cliniche per altre malattie ed è stata recentemente approvata per la LDM
- Possibile adeguatezza per i pazienti affetti da malattia di Pompe infantile classica, indipendentemente dall'età
- Nessuna esclusione di pazienti in base agli anticorpi antivirali

Svantaggi delle terapie geniche lentivirali

- Si integrano nel DNA delle cellule staminali del midollo osseo: utilizzo di un basso dosaggio per ridurre al minimo il rischio di danni al DNA.
- Gli agenti di preconditionamento sono invasivi e richiedono un dosaggio attento per evitare effetti collaterali. La procedura fa parte dei regimi standard di trapianto di midollo osseo, che, ad oggi, sono procedure cliniche molto sicure e applicate in tutto il mondo.

3. Oligonucleotidi antisenso (ASO o AON)

Gli oligonucleotidi antisenso sono in grado di influire sul trattamento dell'RNA e modulare l'espressione proteica. Questo tipo di terapia può essere applicato, per esempio, per le mutazioni GAA che influiscono sul processamento dell'RNA. Nei pazienti a esordio tardivo di origine europea, circa il 90% di tutti loro presenta la stessa mutazione GAA c.-32-13T>G (IVS1) che influisce sul processamento dell'RNA. Sono stati generati AON (*Antisense Oligonucleotides* [*oligonucleotidi antisenso*]) in grado di correggere il processamento dell'RNA nelle cellule dei pazienti con mutazione IVS1, ma anche in pazienti con altre mutazioni più rare.

Riquadro 1: L'RNA è il trascritto che si ottiene dal DNA e dal quale si producono le proteine. L'RNA, come le proteine, ha vita breve e, per produrre le proteine, deve essere creato su richiesta. L'RNA non altera il DNA, è solo una sua copia. Dopo l'uso, si degrada. Gli AON che modulano (correggono) l'RNA devono quindi essere somministrati regolarmente. Gli AON vengono modificati chimicamente per migliorarne la stabilità; una volta assorbiti dalle cellule, sono molto più stabili rispetto alle proteine. Si prevede pertanto che, laddove somministrati in clinica, gli AON richiedano infusioni regolari meno frequenti rispetto alla ERT.

Vantaggi degli oligonucleotidi terapeutici antisenso per la malattia di Pompe

- Ripristino della normale produzione di proteine GAA
- Diverso meccanismo rispetto alla ERT, pertanto potrebbe apportare dei benefici ai pazienti che non rispondono bene alla ERT
- Possibilità di combinazione con la ERT
- Adatti alla maggior parte dei pazienti affetti da malattia di Pompe a esordio tardivo di origine europea, in quanto portatori della mutazione IVS1 che può essere corretta con gli AON

Svantaggi degli oligonucleotidi terapeutici antisenso per la malattia di Pompe

- Somministrazione a vita: *non* è un trattamento una tantum
- Effetti collaterali al momento sconosciuti
- Non adatti ai pazienti affetti da malattia di Pompe a esordio infantile classica
- Specifico per mutazione: solo per pazienti con una mutazione particolare

Guida alle terapie cellulari e geniche

Risposta immunitaria alle terapie geniche

Come per altre terapie, per es. la terapia enzimatica sostitutiva (ERT), potrebbe verificarsi una risposta anticorpale alle terapie geniche. Nei casi lievi, tale risposta può essere gestita con farmaci comuni fino alla scomparsa dei sintomi, ma alcune persone possono sviluppare anticorpi che neutralizzano la terapia impedendo al principio attivo di funzionare come dovrebbe.

Attualmente è in corso una ricerca volta a comprendere la risposta anticorpale alle nuove terapie e potrebbero essere sviluppate delle misure per prevenire o rimuovere gli anticorpi durante il trattamento. Ciò aggiunge complessità ai protocolli di terapia genica, ma tali misure dovrebbero essere necessarie solo durante il trattamento e quindi, per la maggior parte delle persone, solo una volta nella vita.

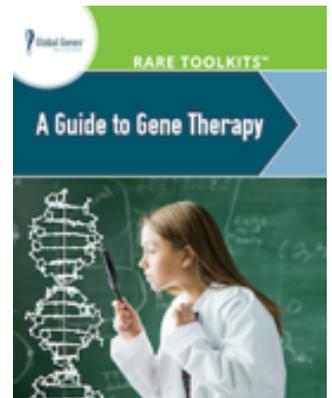
Un esempio di trattamento per la gestione degli anticorpi è la plasmaferesi, o scambio plasmatico terapeutico (Therapeutic Plasma Exchange, TPE). Si tratta di un processo trasfusionale di sostituzione del sangue: il sangue del paziente viene prelevato da una vena, il plasma contenente gli anticorpi viene sostituito con plasma filtrato o non affetto e infine reintrodotta nell'organismo. Un esempio di questa procedura è disponibile qui:

<https://www.verywellhealth.com/plasma-exchange-ms-treatment-2440905>

Altre letture sulle terapie cellulari e geniche

Il numero di risorse online da poter consultare per saperne di più sulle terapie cellulari e geniche è sempre più crescente. L'Associazione internazionale Pompe (International Pompe Association, IPA) e lo specialista possono fornire spiegazioni, ma ulteriori informazioni possono essere recuperate anche su siti Web quali:

1. Brochure sulla scienza della terapia genica: è possibile scaricare questa brochure alla pagina <https://sparktx.com/scientific-platform-programs/about-gene-therapy/>
2. Video dell'ASGCT (*American Society of Gene & Cell Therapy* [Società Americana di Terapia Genica e Cellulare]): www.asgct.org/education/pompe-disease
3. Il toolkit di Global Genes si è concentrato sulla terapia genica <https://globalgenes.org/wp-content/uploads/2018/11/Guide-to-Gene-Therapy-Toolkit-spread-DIGITAL-1.pdf>



La terapia genica: le risposte alle vostre domande

Video presentato in formato Q&A (*Questions & Answers [domande e risposte]*), presentato dall'Organizzazione nazionale per i disturbi rari (National Organization for Rare Disorders, NORDD).

L'ultima aggiunta alla [Videoteca sulle malattie rare di NORDD](#) è una serie di quattro video sull'editing del genoma.



Informazioni sulle sperimentazioni cliniche

Esistono diversi gruppi di ricerca che studiano la terapia genica per la malattia di Pompe, ciascuno in diversi stadi. Alcune di queste potenziali terapie sono già state testate in sperimentazioni cliniche, mentre altre sono in fase preclinica e di test sugli animali.

Le informazioni sugli studi di ricerca che reclutano pazienti affetti dalla malattia di Pompe sono disponibili su siti Web nazionali e internazionali, ad esempio:

- www.ClinicalTrials.gov
- www.clinicaltrialsregister.eu

e sul sito Web IPA www.worldpompe.org.

Riconoscimenti

Desideriamo ringraziare i nostri consulenti medici per il loro contributo e la revisione di questo documento:

Dott. Pim Pijnappel, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Paesi Bassi.

Prof. Emerito Arnold Reuser, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, Paesi Bassi.

Esclusione di responsabilità: IPA non avalla alcuno dei prodotti, farmaci, trattamenti o informazioni riportati in queste pagine. Gli articoli sul sito Web IPA sono destinati esclusivamente a scopo informativo. Consigliamo vivamente di discutere tutti i farmaci, trattamenti e/o prodotti con il proprio medico.