



**LA TERAPIA GENICA: LA PIÙ IMPORTANTE
INNOVAZIONE TERAPEUTICA AL SERVIZIO
DEI PAZIENTI**

MARINA CAVAZZANA

Sono estremamente onorata di ricevere questa riconoscenza prestigiosa dell'Accademia dei Lincei una delle istituzioni scientifiche più antiche d'Europa a cui appartengono donne e uomini di statuto scientifico eccezionale.

Veneziana d'origine mi sono laureata all'Università di Padova e specializzata in Pediatria fra l'ospedale St Louis a Parigi et Padova, per poi raggiungere definitivamente l'Ospedale Necker - Enfants Malades

dove mi sono dedicata a migliorare l'approccio terapeutico per diverse malattie genetiche, fra queste l'anemia falciforme occupa un posto di primo piano per varie ragioni.

L'anemia falciforme è la malattia genetica con la più alta prevalenza mondiale. Si stima che più di 8 milioni di persone soffrano di questa patologia e ogni anno nascono più di 500 000 neonati malati. Si tratta di una patologia ematologica caratterizzata da sintomi di gravità variabile che comprendono un'anemia cronica, stanchezza ed episodi ricorrenti di crisi vaso-occlusive associate a dolori intensi, infezioni, necrosi di diversi organi e tessuti et infarti cerebrali di gravità ed estensione variabile. Ritroviamo con una più grande frequenza questa anemia cronica nel bacino mediterraneo, in Africa, nei Caraibi ma anche in India, e in America Latina specialmente in Brasile. In Francia, l'incidenza dell'anemia falciforme è di circa 1/1000 con una grande variabilità territoriale: nella regione parigina l'incidenza è di 1/550 mentre nei Caraibi questo valore aumenta a 1/280 nascite, e complessivamente su tutto il territorio francese si contano 400 nascite /anno ed è stato recentemente introdotto lo screening neonatale per tutta la popolazione.

Per ottimizzare il percorso di cura di questa patologia è stato creato un centro di referenza nazionale che include diversi centri "coordinatori", fra cui l'ospedale dove lavoro da più di 30 anni. All'ospedale Necker-Enfants Malades, ospedale Universitario a cui è associato un attivo Istituto di ricerca sulle malattie genetiche, l'Istituto Imagine, è seguita una vasta coorte di pazienti: 700 bambini e >500 adulti; la coorte adulta è presa in carico nel mio dipartimento, grazie alla Dottorssa Laure Joseph, che ha anche creato un centro completamente dedicato alle donne incinte drepanocitarie che necessitano di un percorso ben preciso durante la gravidanza per evitare interruzioni di gravidanza che possono essere causate dalla malattia. Il dipartimento che ho l'onore di dirigere all'Ospedale Necker-Enfants Malades non solo segue questa importante coorte di pazienti ma anche ha tutta l'esperienza per raccogliere e correggere geneticamente le cellule staminali di questi pazienti. Infatti, questo dipartimento oltre ad avere un day hospital e dei letti di ricovero con degenza superiore alle di 24 ore presenta un laboratorio accreditato per la correzione genica delle cellule staminali di pazienti con malattie genetiche. La dimostrazione dell'efficacità della terapia genica risale alla fine degli anni 90/inizio anni duemila quando la nostra equipe e quella di Milano hanno dimostrato che questo approccio porta alla guarigione definitiva di bambini con deficit immunitari.

Lo schema di base del modo operativo non è cambiato molto: si raccolgono le cellule staminali del paziente (o dal midollo osseo o dal sangue periferico dove le cellule sono mobilizzate) e dopo la loro purificazione in un laboratorio a elevati standard di qualità e sicurezza si introduce un vettore virale che potremmo definire come il cavallo di Troia capace di “inserire” nel genoma del paziente una nuova informazione genica che complementa il gene difettoso. Da quei primi esordi che beneficiavano di condizioni fisiopatologiche vantaggiose molti progressi sono stati realizzati a cui ho avuto il grande onore e la responsabilità di partecipare. Questi progressi sono stati essenziali per correggere l’anemia falciforme, tramite un approccio che presenta (per diverse ragioni che spiegherò) una sfida terapeutica particolarmente impegnativa.

Nell’adulto ogni molecola di emoglobina presenta quattro subunità, due catene alfa e due catene beta. A livello genetico l’anemia falciforme è una malattia autosomica recessiva causata nella quasi totalità dei casi dalla stessa variante patologica nel gene della catena beta dell’emoglobina sul cromosoma 11; questa variante patologica provoca la sostituzione di un amminoacido: l’acido glutammico è quindi sostituito dalla valina; ne risulta la produzione di una emoglobina anomala chiamata *hemoglobina S* (da *sickle* in inglese che significa

falce) con struttura e caratteristiche fisico -chimiche differenti da quelle dell'emoglobina sana. In presenza di una bassa tensione di ossigeno, come è il caso nella rete capillare, l'emoglobina S polimerizza, precipita nel globulo rosso (GR) conferendogli una forma allungata e incurvata che ricorda la falce. I GR non possono più circolare all'interno dei vasi capillari formando ingorghi alla circolazione sanguigna con danno tissutale ischemico e dolore acuto e cronico. I globuli malati vanno facilmente incontro ad emolisi in più d'avere una più breve durata di vita (10-20 giorni). Le conseguenze sono quelle legate alla riduzione della quantità di ossigeno nei tessuti e alla comparsa dei fenomeni vaso-occlusivi responsabili di gravi danni a tutti gli organi. Esistono diversi trattamenti palliativi che includono l'uso di farmaci come l'hydroxyurea (che può indurre la produzione di HbF in modo transitorio e avere un'azione antinfiammatoria riducendo il numero dei globuli bianchi circolanti) le trasfusioni di globuli rossi da donatori sani. Tuttavia, la sola cura definitiva è rappresentata dal trapianto di midollo osseo da un donatore compatibile familiare, raramente disponibile. In questo contesto, la terapia genica si presentava ai nostri occhi come una promessa terapeutica ad alto potenziale curativo soprattutto per pazienti senza donatore compatibile.

Ma quali erano le sfide che dovevamo affrontare:

- La produzione di GR giornaliera è di circa qualche centinaio di miliardi con un ritmo di 2 a 3 milioni per secondo, quindi, la correzione genica delle cellule staminali deve essere molto elevata.
- La specificità dell'azione di trasporto dell'ossigeno richiede che sia prodotta esclusivamente nei globuli rossi e non in altre cellule del sangue quindi la conoscenza approfondita della fisiopatologia di questa anemia era necessaria.
- La catena beta dell'emoglobina falciforme è prodotta in quantità normale ed entra in competizione con la catena introdotta geneticamente nella formazione del tetramero dell'Hb.
- La mobilitazione nel sangue periferico delle cellule staminali dei pazienti (che permette di raccogliere più facilmente queste cellule) non era possibile per il rischio di scatenare un evento vaso-occlusivo severo che poteva portare al decesso.

L'introduzione di scoperte fondamentali sugli elementi regolatori la produzione di Hb, l'uso dei lentivirus capaci di accomodare larghe unità trascrizionali, la messa a punto di una tecnica ottimizzata di raccolta et correzione genetica delle cellule staminali, l'esperienza clinica del trapianto in questa situazione patologica ci ha permesso di trattare e definitivamente curare il primo paziente affetto da drepanocitosi nel 2017, paziente oggi adulto con una remissione stabile e complete della malattia che possiamo definire guarito. Abbiamo così fornito a tutta la comunità medica la prova che questa malattia poteva essere guarita attraverso terapia genica.

Malgrado I risultati clinici ottenuti abbiamo assistito negli ultimi 5-10 anni all'apparizione di altri tipi di ostacoli.

Il prezzo richiesto dall'industrie o dalle biotech per queste terapie innovanti che desideriamo restino accessibile a tutti in modo egualitario è non sostenibile dal nostro sistema sanitario; per questo in collaborazione con l'Istituto Imagine, l'AP-HP et l'AFM abbiamo sviluppato un nuovo vettore che vogliamo sia disponibile a tutti i pazienti.

Questo vettore presenta dei significativi miglioramenti nella sua costruzione, infatti, si tratta di un vettore

capace non solo di produrre l'emoglobina terapeutica, ma anche di diminuire i livelli di HbS tossica attraverso la produzione di una molecola di RNA che impedisce la produzione dell'emoglobina S. Inoltre, servendoci dell'intelligenza artificiale, abbiamo generato un algoritmo capace di definire dei criteri che ci permettono di introdurre una preparazione specifica al trapianto per evitare al massimo l'insuccesso di questa terapia.

Questo nuovo studio clinico è in corso di realizzazione in Francia e se permetterà di ottenere, come lo speriamo, gli stessi risultati ottenuti nella fase sperimentale, vorremmo introdurlo in Francia e poi in Europa a un prezzo sostenibile per i nostri modelli sanitari.

Il fine è che meno del 40% di HbS e >di 60% di Hb terapeutica siano prodotte dando origine così a un fenotipo di portatore asintomatico della malattia.

Per finire vorrei ringraziare tutti i miei collaboratori in Francia nel mondo e in Italia in particolare che mi hanno permesso il raggiungimento di questi risultati tutti motivati dal desiderio di migliorare la vita dei pazienti e delle loro famiglie.