



NEXT

DI MAURO GIACCA



Introduzione

DI GIUSEPPE DI TANO

L'Ospedale è il luogo dove quotidianamente svolgiamo la gran parte della nostra attività clinica e non solo. Ma oltre alle corsie, agli ambulatori clinici e diagnostici, alle sale di interventistica c'è un mondo parallelo, quello dei Laboratori di Ricerca, di cui non possiamo, per forza di cose, avere una costante e specifico aggiornamento. Da questo numero apriamo una finestra verso questo mondo. Si chiama NEXT e il Prof. Mauro Giacca, uno dei più prestigiosi ricercatori italiani, Professore di Scienze Cardiovascolari e attuale Head of the School of Cardiovascular and Metabolic Medicine & Sciences del King's College di Londra, sarà il nostro osservatore speciale che ci selezionerà cosa succede nei Laboratori di ricerca sperimentale applicata e transazionale, con uno sguardo analitico particolare verso le ricadute più innovative per la nostra pratica clinica e terapeutica.

Come le tecnologie dell'RNA stanno cambiando la terapia medica

Farmaci a RNA per le malattie cardiovascolari

In questo primo editoriale della serie NEXT, parliamo di farmaci a RNA per le malattie cardiovascolari. Dopo i vaccini per il COVID-19, l'attenzione per le tecnologie a RNA è letteralmente esplosa. Ma l'idea di utilizzare l'RNA come strumento terapeutico non è nuova. Di fatto, una serie di piccoli RNA terapeutici sono già stati approvati per l'uso clinico in Europa e negli Stati Uniti per diverse patologie, tra cui diverse dislipidemie

Sono sostanzialmente due i tipi di RNA che si possono considerare a fini terapeutici, classificati secondo la loro lunghezza. Gli RNA corti (di solito intorno a 20 nucleotidi) possono essere sintetizzati chimicamente; quelli più lunghi, tipicamente RNA messengeri (mRNA) che codificano per una proteina, sono invece prodotti

in laboratorio con una tecnica di trascrizione in vitro, che sfrutta un enzima di un fago per copiare, sotto forma di RNA, un gene a DNA. I piccoli RNA non codificanti includono corti segmenti di RNA che si appaiano con l'RNA di un gene bersaglio e ne inibiscono la funzione (oligonucleotidi antisenso o ASO), RNA a doppio filamento

che intercettano il meccanismo dell'interferenza a RNA (siRNA) e diminuiscono i livelli di un mRNA bersaglio per via enzimatica, e aptameri, ovvero RNA che si legano a una proteina bersaglio in virtù della loro conformazione tridimensionale. Ad oggi, sono già stati approvati per la pratica clinica 10 ASO, 6 siRNA e 2 aptameri. A testimonianza



della letterale esplosione di queste tecnologie, complessivamente 14 di questi nuovi farmaci sono stati approvati soltanto negli ultimi 5 anni. In ambito cardiovascolare, alcune di queste molecole hanno come bersaglio gli mRNA di proteine che controllano i livelli lipidici (l'ASO **volanersorsen** contro Apoc3 per la chilomicronemia familiare e il siRNA **inclisiran** contro PCSK9 per l'ipercolesterolemia familiare) o la transtiretina nelle forme familiari e sporadiche di amiloidosi epatica e, più recentemente, cardiaca (l'ASO **inotersen** e gli siRNA **patisiran** e **vutrisiran**). Il successo di questi piccoli RNA terapeutici è sostanzialmente dovuto a due importanti avanzamenti tecnologici. Il primo riguarda la possibilità di modificare chimicamente la sequenza degli acidi nucleici in modo da renderli stabili una volta iniettati nei pazienti. A differenza del DNA e dell'RNA naturali, in questi piccoli RNA il legame tra i nucleotidi è modificato con la sostituzione di un ossigeno con uno zolfo nel gruppo fosfato e il ribosio contiene nei gruppi chimici aggiuntivi, con lo scopo complessivo di rendere le molecole resistenti alle nucleasi cellulari. Questo allunga in maniera sostanziale l'emivita di questi farmaci (ad esempio, la terapia con inclisiran prevede la somministrazione per via sottocutanea ogni 6 mesi). Il secondo avanzamento è stato lo sviluppo di tecnologie per la veicolazione di queste molecole. Nel caso di patisiran, questa avviene utilizzando la medesima metodica dei vaccini di Pfizer e Moderna, basata sull'uso di nanoparticelle lipidiche (LNP), ottenute mescolando 4 diversi lipidi

con l'acido nucleico. Nel caso delle molecole che hanno come bersaglio gli mRNA espressi dalle cellule del fegato, gli ASO o i siRNA possono essere coniugati allo zucchero GalNac che ha come bersaglio il recettore ASGPR espresso in maniera selettiva negli epatociti. Questa tecnologia basata su GalNac sta ora consentendo lo sviluppo di altre molecole contro le dislipidemie. Tra queste vi sono **pelacarsen** e **olpasiran** contro Lp(a), il principale trasportatore di fosfolipidi ossidati nel plasma, **vupanorsen** contro ANGPTL3, un inibitore delle lipasi, e **olezarsen** contro Apoc3 per l'ipertrigliceridemia severa. **Eplontersen**, invece, è lo stesso ASO di inotersen ma coniugato con GalNac e ha come bersaglio l'mRNA della transtiretina epatica. Oltre a queste molecole, almeno altri 15 piccoli RNA sono nelle ultime fasi della sperimentazione clinica per altre condizioni patologiche, tra cui anche l'ipertensione resistente al trattamento. Per quanto riguarda gli mRNA, i due unici esempi di utilizzo clinico rimangono i vaccini di Pfizer/BioNTech e di Moderna. Il premio Nobel per la Medicina o la Fisiologia assegnato lo scorso mese a Drew Weissman e Katalina Kariko non è direttamente dovuto allo sviluppo di questi vaccini, ma alla scoperta di come poter modificare chimicamente gli RNA lunghi senza che questi vengano distrutti o risultino tossici. Se si somministra una molecola di RNA naturale più lunga di una ventina di nucleotidi, le cellule riconoscono questo RNA come estraneo, e attivano i meccanismi dell'immunità innata, una risposta che si è originariamente

evoluto per difendere le cellule dalle infezioni da parte dei virus che hanno come genoma appunto l'RNA. L'attivazione dell'immunità innata porta alla produzione di interferone e di altre proteine difensive, che alla fine determinano la morte delle cellule infettate e una malattia infiammatoria nell'organismo. All'inizio degli anni 2000 alla Perelman School of Medicine dell'Università della Pennsylvania a Filadelfia, Kariko e Weissman avevano scoperto che la sostituzione dell'uracile nell'mRNA con lo pseudouracile o altri nucleotidi modificati analoghi blocca il riconoscimento da parte delle proteine dell'immunità innata. Questa tecnologia è stata alla base della creazione di Moderna a Boston e BioNTech in Germania. Le sperimentazioni più interessanti per gli mRNA rimangono quelle per produrre vaccini contro i tumori. L'esempio più eclatante viene da uno studio condotto al dicembre 2019 all'agosto 2021 al Memorial Sloan Kettering Cancer Centre di New York in collaborazione con BioNTech su 16 pazienti con adenocarcinoma del pancreas (una patologia con l'80% di probabilità di recidiva dopo chirurgia e chemioterapia e un tasso di sopravvivenza di meno del 30% a 5 anni, numeri rimasti immutati negli ultimi 20 anni). Ciascuno di questi pazienti è stato vaccinato con una miscela di mRNA che portavano la sequenza dei geni trovati mutati dopo aver analizzato, in maniera individuale per ciascun paziente, le mutazioni presenti nel tumore. La risposta a questi vaccini personalizzati è stata strabiliante: metà dei pazienti trattati hanno



mostrato una risposta immunologica contro le cellule tumorali e in questi il tumore non si è ripresentato fino a 18 mesi, quando si è concluso il periodo di osservazione dello studio. Molti di questi pazienti potrebbero essere definitivamente guariti. Sono diverse le possibili applicazioni della tecnologia a mRNA in ambito cardiovascolare. Considerando che l'emivita degli mRNA è relativamente breve (al contrario di quella dei piccoli RNA, che possono durare mesi), gli obiettivi terapeutici sono solitamente acuti. Una delle applicazioni considerate è la somministrazione di mRNA che codificano per proteine che proteggono il cuore nelle prime fasi dopo l'infarto del miocardio, idealmente iniettati immediatamente dopo la rivascolarizzazione.

Oppure di mRNA che stimolano la proliferazione dei cardiomiociti per ottenere la rigenerazione cardiaca, un processo che è ancora attivo durante lo sviluppo fetale ma si arresta improvvisamente alla nascita e potrebbe essere rimesso in moto da un cocktail di mRNA in grado di ripristinarlo. Purtroppo, a differenza della tecnologia GalNac per il fegato, non sono state ancora identificate molecole che consentano di indirizzare ASO, siRNA o mRNA ad altri organi o tessuti, come il cuore. Per questo motivo, l'unica maniera di veicolare queste molecole al cuore si basa sulla loro somministrazione tramite cateterismo coronario o iniezione diretta nel miocardio dopo cateterismo intraventricolare. A differenza delle piccole molecole

chimiche tradizionali, l'utilizzo degli RNA a fini terapeutici offre due enormi vantaggi: primo, consente di utilizzare come bersaglio (per i piccoli RNA) o strumento terapeutico (per gli mRNA) virtualmente qualsiasi gene dell'organismo (le piccole molecole chimiche hanno come bersaglio le proteine). Secondo, tutti farmaci a RNA sono basati sulle medesime tecnologie, ed è solo la sequenza dei nucleotidi a cambiare, consentendo quindi una versatilità di sviluppo e produzione uniche. Per questi motivi, il numero dei farmaci a RNA che saranno disponibili nel prossimo decennio è destinato rapidamente ad aumentare, consentendo applicazioni innovative in tutti gli ambiti della medicina clinica. ♥

