

L'inefficacia di AAV2 in queste sperimentazioni non è peraltro sorprendente, se si considera che il polmone e, più in generale, tutto l'epitelio respiratorio non fanno parte dei pochi tessuti post-mitotici che sono naturalmente permissivi alla trasduzione con AAV. È tuttavia possibile che l'utilizzo di sierotipi diversi (in particolare, AAV5) possa risultare più efficace in futuro.

Parallelamente all'insuccesso complessivo dei vettori virali, più di una decina di sperimentazioni cliniche si sono avvalse di metodologie non-virali per il trasferimento del gene CFTR nell'epitelio respiratorio. In generale, la maggioranza di questi studi hanno fornito la dimostrazione, quale prova del principio, che i sistemi di trasferimento non-virali possono portare ad una ricostituzione della funzione di CFTR fino a circa il 25% del normale. A differenza dei vettori virali, tuttavia, queste formulazioni non-virali – prevalentemente basate su liposomi o lipidi cationici –, possono essere somministrate in maniera ripetuta, in modo da migliorare quindi l'efficienza complessiva di ricostituzione funzionale. Sistemi non virali per il trasferimento genico di CFTR sono attualmente impiegati in alcune estese sperimentazioni cliniche, compiute grazie al sostegno prevalente delle associazioni dei pazienti affetti dalla malattia negli Stati Uniti e nel Regno Unito.

Terapia genica delle distrofie muscolari

Lo sviluppo di metodologie che consentano un trasferimento di geni sicuro, efficiente e di lunga durata nel muscolo scheletrico rappresenta uno dei traguardi più importanti della terapia genica. Infatti, da un lato il muscolo è il tessuto in cui si manifestano, spesso in maniera drammatica, una serie di difetti ereditari delle proteine che collegano il citoscheletro alla matrice extracellulare, tali da portare allo sviluppo di varie forme di distrofia muscolare. Dall'altro, in virtù della sua accessibilità ed estensione, il tessuto muscolare rappresenta una potenziale sorgente per il rilascio di proteine nella circolazione sanguigna, consentendo quindi la possibilità di sviluppare terapie genetiche per curare i disordini della componente solubile del sangue (ad esempio, i difetti della coagulazione) o di fornire fattori con azione locale (ad esempio, fattori proangiogenetici nella terapia della patologia ischemica degli arti inferiori).

Distrofina e proteine associate alla distrofina

Le distrofie muscolari congenite comprendono un gruppo eterogeneo di gravi malattie neuromuscolari a carattere degenerativo, determinate geneticamente, che causano atrofia progressiva della muscolatura scheletrica, con uno spettro fenotipico ampio e spesso molto grave. Nove tipi principali di difetti sono canonicamente classificati come distrofie muscolari propriamente dette (Tabella 4.2), ma esistono più di 100 malattie diverse che hanno aspetti simili a questo tipo di patologie. Inoltre, la maggioranza delle distrofie muscolari sono in realtà malattie sistemiche, il cui quadro clinico interessa, oltre che il muscolo scheletrico,

anche il cuore, il tratto intestinale, il sistema nervoso, le ghiandole endocrine, la cute, l'occhio e altri organi.

La maggior parte dei geni che causano una distrofia muscolare codificano proteine che collegano il citoscheletro alla matrice extracellulare, prevalentemente rappresentate dalla distrofina e dalle proteine ad essa associate. La distrofina (427 kDa) è una lunga proteina filamentosa che si localizza sul versante citoplasmatico della membrana plasmatica delle fibre muscolari striate (sarcolemma), particolarmente concentrata in corrispondenza delle giunzioni neuro-muscolari.

Tabella 4.2. Distrofie muscolari

Malattia	Gene mutato
Distrofia muscolare di Duchenne (DMD)	Distrofina
Distrofia muscolare di Becker (BMD)	Distrofina
Distrofia muscolare di Emery-Dreifuss	Emerina, lamina A o lamina C
Distrofia dei cingoli (LGMD)	Più di 15 geni diversi <ul style="list-style-type: none"> autosomiche dominanti LGMD 1A: miotilina LGMD 1B: lamina A/C LGMD 1C: caveolina 3 e altre autosomiche recessive LGMD 2A: calpaina-3 LGMD 2B: disferlina LGMD 2C: γ-sarcoglicano LGMD 2D: α-sarcoglicano LGMD 2E: β-sarcoglicano LGMD 2F: δ-sarcoglicano e altre
Distrofia facio-scapolo-omeroale o di Landouzy-Dejerine (FSHD)	Non noto
Distrofia miotonica o malattia di Steinert (MD)	DMPK (DM1) e ZNF9 (DM2)
Distrofia oculo-faringea (OPMD)	Poly(A)-binding protein nuclear 1 (PABPN1)
Distrofia muscolare distale (DD)	Geni diversi (disferlina, titina, desmina e altri)
Distrofia muscolare congenita (CMD)	Geni diversi (laminina α 2-merosina, fukutina, collagene di tipo VI, integrina α 7, e altri)

La proteina è composta da 4 domini strutturali: una regione N-terminale (*actin-binding domain*, ABD); un dominio a bastoncino centrale composto da una serie di ripetizioni composte da un fascio di tre α -eliche, simili a quelle della spectrina; un dominio ricco in cisteine (*cystein-rich domain*, CR) e una regione C-terminale (*C-terminal domain*, CT) (Fig. 4.7a). La regione N-terminale si lega ai filamenti di actina, mentre il dominio CR è essenziale per legare e localizzare sul sarcolemma un complesso di proteine denominato “complesso di glicoproteine associate alla distrofina” (*dystrophin-associated glycoprotein complex*, DGC), che ha la funzione di connettere il citoscheletro interno alla cellula alla matrice extracellulare, stabilizzando quindi il sarcolemma mentre la fibra muscolare alternativamente si allunga e si accorcia. Oltre a questo ruolo strutturale, la distrofina e le proteine del DGC partecipano ad una variegata serie di processi di segnalazione intracellulare. Sia nell'uomo sia nei modelli animali, la mancanza della distrofina causa anche la carenza secondaria, sul sarcolemma della fibra muscolare, delle proteine del DGC.

IL DGC è composto da più di 10 proteine (Fig. 4.7b). La componente centrale del complesso è il distroglicano, che viene inizialmente sintetizzato come singola proteina e successivamente tagliato per generare il β -distroglicano (43 kDa), una proteina transmembrana, e l' α -distroglicano (156 kDa), che si associa al primo sulla parte esterna del sarcolemma. La porzione intracellulare del β -distroglicano si associa direttamente al dominio CR della distrofina, che a sua volta si connette al citoscheletro di actina. L' α -distroglicano, extracellulare, stabilisce invece legami con diverse componenti della matrice extracellulare, in particolare con la laminina $\alpha 2$ (merosina), ancorata alla membrana basale. Un altro sub-complesso di proteine essenziali del DGC è quello dei sarcoglicani, che si associano lateralmente al distroglicano. Si tratta di 4 molecole transmembrana (α -, β -, γ - e δ -sarcoglicano, rispettivamente di 50, 43, 35 e 35 kDa), che si associano in stechiometria uguale a formare un eterotetramero, il sub-complesso SG. Altre proteine che fanno parte del DGC sono la distrobrevina e le sintrofine, che si associano al dominio CT della distrofina, e il sarcospan, una proteina transmembrana. Infine, è associata più lassamente al DGC la caveolina-3, un'isoforma della caveolina specifica del muscolo.

Distrofie muscolari di Duchenne e di Becker

La distrofia muscolare di Duchenne (DMD) è la più frequente delle distrofie muscolari, con un'incidenza di circa 1:3500 bambini maschi. La malattia, ereditata in forma recessiva quale carattere legato al sesso, è causata da un difetto del gene della distrofina, localizzato sul cromosoma X. Difetti dello stesso gene causano anche la distrofia muscolare di Becker (BMD), che ha un'incidenza inferiore (1:20.000) e un decorso clinico più mite.

Il gene della distrofina ha una lunghezza di 2.4 Mbp e possiede 79 esoni e 8 promotori tessuto-specifici; il gene richiede 16 ore per essere interamente trascritto, e, dopo lo *splicing*, l'mRNA che ne deriva ha 14 kb, di cui 11 kb corrispondono

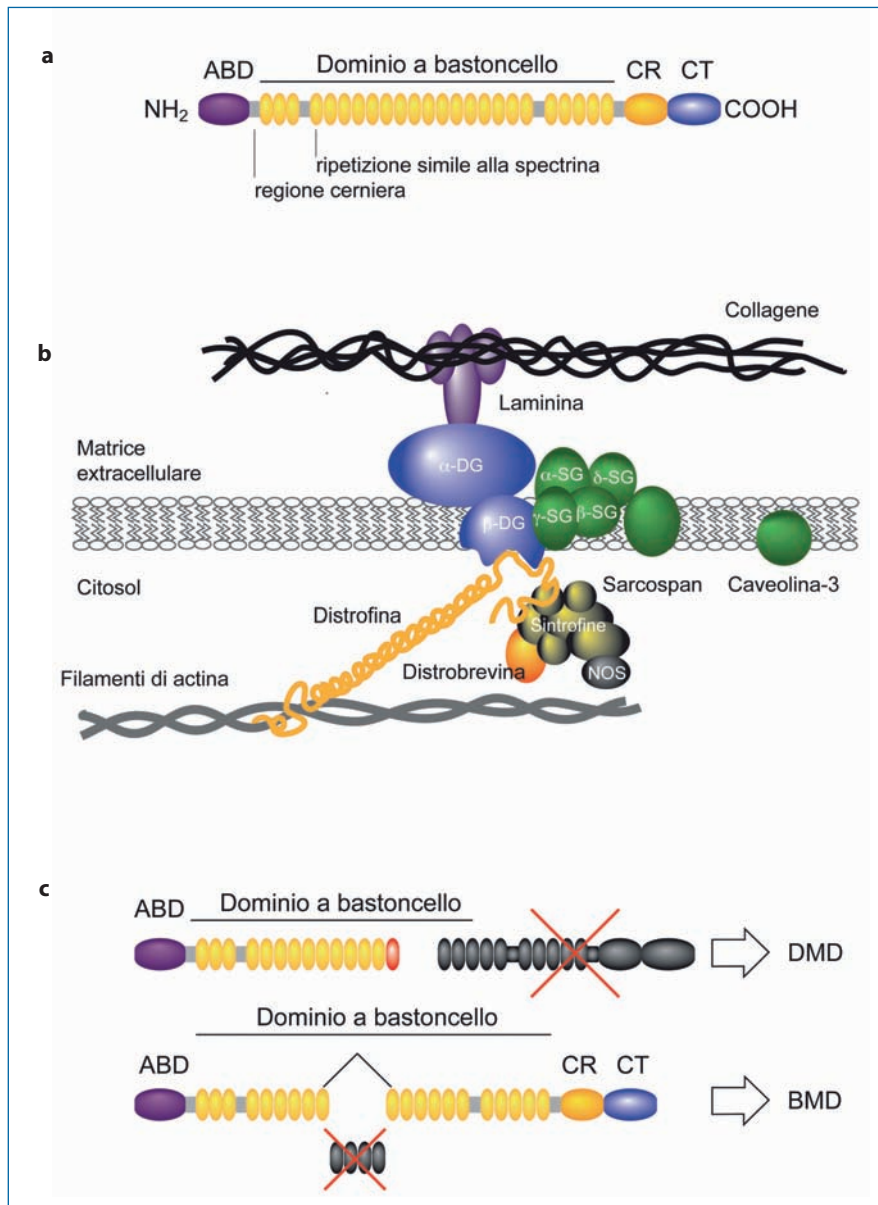


Fig. 4.7. Distrofina e complesso distrofina-glicoproteine (DGC). **a** Domini strutturali della distrofina. *ABD*, dominio che lega l'actina; *CR*, dominio ricco in cisteine; *CT*, dominio C-terminale; **b** rappresentazione schematica dei maggiori costituenti del DGC (vedi testo per la descrizione); **c** mutazioni della distrofina. Le mutazioni che determinano la produzione di una proteina troncata prematuramente usualmente causano la distrofia muscolare di Duchenne (*DMD*); quelle che invece determinano delezioni nella porzione centrale della proteina tuttavia lasciando intatti i domini N- e C-terminali sono responsabili di una patologia più mite, che porta alla distrofia muscolare di Becker (*BMD*)

alla porzione codificante; la proteina è composta da 3685 amminoacidi ed ha una massa di 427 kDa. Il gene è prevalentemente espresso nel muscolo scheletrico, nel cuore e nei neuroni corticali.

È stato identificato un numero elevato di mutazioni del gene della distrofina; circa 2/3 di queste mutazioni sono delezioni che prevalentemente si localizzano in due aree del gene, una corrispondente ai primi 20 esoni del gene e l'altra centrata intorno agli esoni 45-53. Il rimanente 1/3 dei pazienti porta mutazioni puntiformi che causano l'introduzione di codoni di STOP, il cambiamento della cornice di lettura, la modificazione dei segnali di *splicing*, o mutazioni a livello del promotore. Nei pazienti con DMD, la distrofina è quantitativamente molto ridotta o è assente il dominio CT; nei pazienti con BMD, i livelli della proteina sono ridotti ma ancora visualizzabili, e i domini ABD (N-terminale) e CT sono solitamente integri. Quindi, le distrofine presenti nei pazienti BMD usualmente portano delezioni nel dominio centrale a bastoncino della proteina (Fig. 4.7c).

La DMD ha un decorso ingravescente e devastante. Alla nascita, i bambini maschi affetti sembrano normali, e i primi sintomi insorgono tra i 3 e i 5 anni di vita sotto forma di blanda debolezza muscolare, che si manifesta con la difficoltà nel salire le scale, alzarsi nella posizione seduta o con l'incespicare frequente. Con il passare del tempo, la muscolatura si indebolisce progressivamente. Solitamente entro i 10 anni di vita gli individui affetti sono costretti sulla sedia a rotelle, e molti decedono entro il ventesimo anno di età. Non esistono attualmente terapie per la malattia, se non quelle di supporto. Infine, è importante ricordare che, oltre al muscolo scheletrico, i pazienti con DMD e BMD mostrano un interessamento più o meno marcato del cuore, interessamento che diventa progressivamente più rilevante quanto più sopravvivono i pazienti e spesso evolve in una forma franca di cardiomiopatia dilatativa.

Terapia genica delle distrofie muscolari di Duchenne e di Becker

La terapia genica delle distrofie muscolari presenta importanti problemi concettuali e tecnologici. Il muscolo scheletrico, infatti, costituisce il 40% dell'intera massa corporea, e richiede quindi lo sviluppo di tecnologie di trasferimento genico estremamente efficaci e diffusive. Inoltre, il tessuto muscolare è costituito da fibre multinucleate, incapaci di dividersi, e la cui omeostasi è mantenuta dalla replicazione e fusione di cellule staminali altamente specializzate, le cellule satelliti. È in realtà possibile trasdurre stabilmente *ex vivo* le cellule satelliti per sfruttarne il potenziale rigenerativo; tuttavia, queste cellule sono capaci soltanto di un limitato numero di duplicazioni, dopo le quali entrano in uno stato di senescenza; questa caratteristica, quindi, ne previene attualmente il possibile utilizzo a fini terapeutici.

Diverse sperimentazioni precliniche hanno avuto come obiettivo il trasferimento genico del cDNA della distrofina o delle sue varianti più corte in due comuni modelli animali naturali di DMD, il topo *mdx*, il cui gene della distrofina ha una singola mutazione puntiforme che causa la prematura terminazione della

traduzione, e il cane *xmd*, un *golden retriever* la cui distrofina porta una diversa mutazione puntiforme che causa l'esclusione dell'esone 7 dalla proteina. Mentre i topi *mdx* giovani, diversamente dai bambini con DMD, mostrano un fenotipo clinico minimo, con poca e nessuna fibrosi delle fibre muscolari, i cani neonati *xmd* mostrano caratteristiche cliniche gravi assimilabili a quelle della malattia umana. A partire dal topo *mdx*, nel corso degli anni sono stati sviluppati altri modelli animali con gradi variabili di patologia, tra cui i topi *u-dko*, in cui non è presente né la distrofina né l'utrofina (vedi in seguito) e i topi *m-dko*, in cui, oltre alla distrofina, non è presente il fattore di trascrizione MyoD; entrambi questi topi sviluppano una distrofia muscolare che riproduce la maggior parte delle caratteristiche della malattia umana.

Questi modelli animali sono stati utilizzati per lo sviluppo di un'estesa serie di strategie di trasferimento genico a livello pre-clinico. Un primo approccio è consistito nell'utilizzo del cDNA intero della distrofina sotto forma di plasmide, inoculato direttamente nel muscolo al fine di sfruttare l'intrinseca capacità delle fibre muscolari di internalizzare DNA nudo presente nell'ambiente extracellulare. La prima sperimentazione clinica di terapia genica per le distrofie muscolari, conclusasi nel 2004, è consistita proprio nell'iniezione di un plasmide che esprimeva l'intero cDNA della distrofina sotto il controllo del promotore dei geni precoci del citomegalovirus (CMV) nel muscolo radiale di 9 pazienti con DMD o BMD. I livelli di trasduzione e quelli di espressione del gene terapeutico sono risultati relativamente bassi e la distribuzione della distrofina disomogenea. Per aumentare l'efficienza di trasfezione dopo l'iniezione diretta del plasmide, possono essere impiegate diverse strategie, che includono l'utilizzo di polimeri anfifilici assemblati a blocchi alternati, gli ultrasuoni, gli ultrasuoni insieme a microbolle, o l'elettroporazione.

Molto più efficaci, per ora nei modelli animali di DMD, si sono rivelati i sistemi di trasferimento genico basati sui vettori virali. L'intero cDNA della distrofina (14 kb) o anche la sua porzione codificante (11 kb) risultano troppo lunghi per essere clonati nei vettori AAV, lentivirali o adenovirali di prima generazione. Tuttavia, i vettori adenovirali di prima generazione possono contenere il cDNA dell'utrofina, una proteina codificata da un gene diverso posto sul cromosoma 6 e molto omologa alla distrofina sia dal punto di vista funzionale che strutturale. L'utrofina è normalmente presente alla giunzione neuromuscolare delle fibre muscolari mature, ed è anche espressa sul sarcolemma delle fibre muscolari fetali e del muscolo rigenerante. L'utrofina è anche espressa sul sarcolemma dei muscoli dei pazienti con DMD; tuttavia, i suoi livelli sono troppo bassi per vicariare la funzione della distrofina. L'iperespressione di utrofina esogena utilizzando vettori adenovirali è risultata essere in grado di migliorare in maniera significativa la patologia dei modelli animali di DMD, dal momento che la proteina riesce ad associarsi funzionalmente con le proteine del DGC, aumentandone il loro livello sul sarcolemma. Tuttavia, il trattamento con questi vettori è inficiato dalla risposta infiammatoria suscitata e, soprattutto, da quella immunitaria, che porta alla distruzione delle cellule trasdotte con il vettore nell'arco di 10-15 giorni e previene ogni possibilità di re-inoculazione.

I vettori adenovirali che mancano di tutti i geni virali (vettori *gutless* o *helper-dependent*) hanno un'ampia capacità di clonazione (>30 kb) e possono quindi contenere il cDNA per l'isoforma muscolare completa della distrofina (14 kb). Inoltre, questi vettori persistono per tempi molto prolungati *in vivo*, generando una minima risposta infiammatoria e immunitaria; tuttavia, questi vettori sono difficili da preparare e non sono ancora giunti alla fase di sperimentazione clinica.

I vettori AAV sono senz'altro gli strumenti di trasferimento genico nel muscolo scheletrico più efficaci in questo momento, in virtù del loro specifico tropismo per questo tessuto e, molto importante, della persistenza prolungata dell'espressione dei geni che essi veicolano, in assenza di risposta infiammatoria o immunitaria dell'ospite. Tuttavia, questi vettori presentano un'importante limite nella loro capacità di clonazione, che non può eccedere le 4.5 kb. Questo limite può comunque essere rispettato grazie alla possibilità di ottenere delle varianti della distrofina molto più corte che comunque mantengono la maggior parte delle proprietà funzionali della proteina *wild type*. Partendo dalla caratterizzazione delle mutazioni riscontrate in diversi pazienti con forme relativamente meno gravi di BMD e corroborando queste osservazioni nei modelli animali, sono state infatti ottenute delle minidistrofine (~6-7 kb) e diverse microdistrofina (~4 kb) in grado di vicariare in maniera soddisfacente la funzione della proteina parentale (Fig. 4.8). Queste versioni ridotte della distrofina presentano delezioni comuni della regione centrale a bastone e nel dominio C-terminale della proteina parentale, lasciando intatti i domini

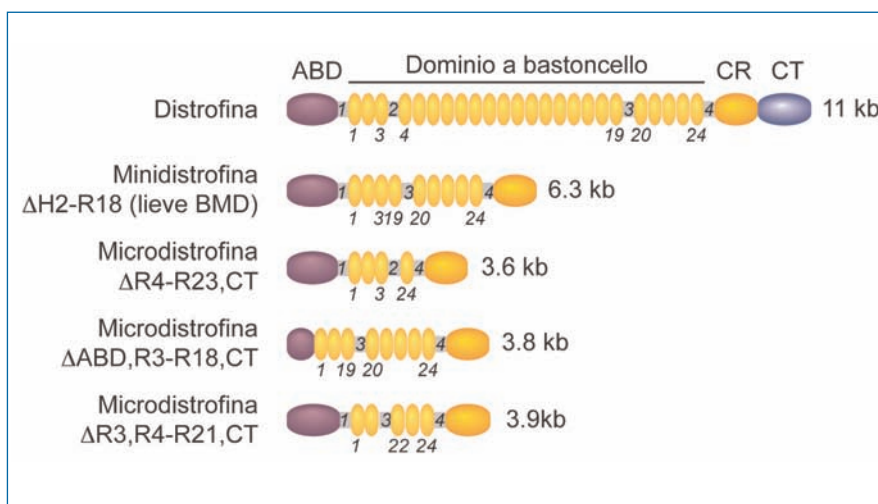


Fig. 4.8. Mini- e micro-distrofina. La Figura mostra la struttura di una mini-distrofina e di tre micro-distrofina. Queste proteine compensano la mancanza della distrofina nei modelli animali di malattia. La composizione dei domini simili alla spectrina di queste proteine (numeri sotto la struttura) è indicata in relazione alla proteina *wild type*

funzionali essenziali della proteina, in particolare quello ricco in cisteine (CR). Le minidistrofine hanno una dimensione tale da poter essere veicolate da vettori adenovirali, le microdistrofie anche da vettori AAV. In effetti, vettori AAV in grado di trasferire il gene per una microdistrofina si sono rivelati molto efficaci nel ripristinare la funzionalità muscolare nei modelli animali di DMD. Sulla base di questi risultati, è iniziata una sperimentazione clinica di Fase I/II, basata sull'inoculazione di un vettore AAV5 che veicola una minidistrofina nel bicipite di una serie di pazienti con DMD.

Come discusso sopra, ogni auspicato successo terapeutico nei pazienti dipende in larga misura dalla possibilità di iniettare i vettori per via endovenosa (anche in maniera distrettuale), e dalla loro capacità di diffondere a quante più fibre muscolari possibile. Questo processo, tuttavia, richiede che i vettori, presenti nel sangue, siano in grado di passare le giunzioni tra le cellule endoteliali dei vasi, o che le attraversino mediante un processo di transitosi, per giungere in contatto con il sarcolemma della fibra muscolare. AAV2 è estremamente inefficiente in questo processo, a meno che la permeabilità endoteliale non sia indotta aumentando a livello distrettuale la pressione sanguigna (ovvero iniettando i vettori esercitando una pressione idrodinamica). Alternativamente, nel topo *mdx* è possibile ottenere la trasduzione di più del 90% dei muscoli mediante l'utilizzo di un vettore AAV6 iniettato insieme con il fattore di crescita VEGF, un potente induttore di permeabilità vascolare. Infine, i vettori pseudotipizzati con i più recenti sierotipi di AAV, AAV8 e AAV9, sono capaci spontaneamente di alti livelli di trasduzione del muscolo e del cuore dopo inoculazione endovenosa, senza alcun trattamento permeabilizzante, in virtù dell'intrinseca capacità del loro capsido di oltrepassare la barriera endoteliale. Questi vettori, quindi, rappresentano i vettori AAV di scelta per il trasferimento genico nel muscolo scheletrico e nel cuore.

Alcune mutazioni della distrofina che causano la terminazione precoce della proteina o la rimozione di una porzione della regione centrale mantenendo la normale cornice di lettura nella metà C-terminale, generano delle proteine sufficientemente funzionali, tali da causare soltanto sintomi minori di tipo BMD. Al contrario, più del 75% dei pazienti con DMD hanno mutazioni del gene che cambiano la cornice di lettura dell'mRNA e determinano la sintesi di una distrofina troncata (Fig. 4.7c). Questi pazienti, quindi, potrebbero trarre giovamento se l'esone contenente il codone di STOP prematuro fosse escluso dall'mRNA (*exon skipping*). Questa strategia, illustrata nella Figura 4.9 utilizzando un esempio tratto da una recente sperimentazione - vedi in seguito - può essere perseguita mediante il trattamento delle cellule con oligonucleotidi antisenso (ASO) che si appaiano e quindi mascherino i normali segnali di *splicing* dell'esone interessato sul pre-mRNA, portando quindi all'esclusione dell'esone patologico dall'mRNA maturo. Dal momento che ASO con una struttura di DNA non modificata sono rapidamente degradati nella cellula, per indurre un'esclusione dell'esone più persistente possono essere utilizzati acidi nucleici modificati chimicamente, quali ASO fosforotioati, morfolino, LNA, PNA o ENA (vedi sezione sui Geni come farmaci). Queste modificazioni chimiche da un lato aumentano la resistenza alle nucleasi e dall'altro aumentano l'affinità di legame all'acido

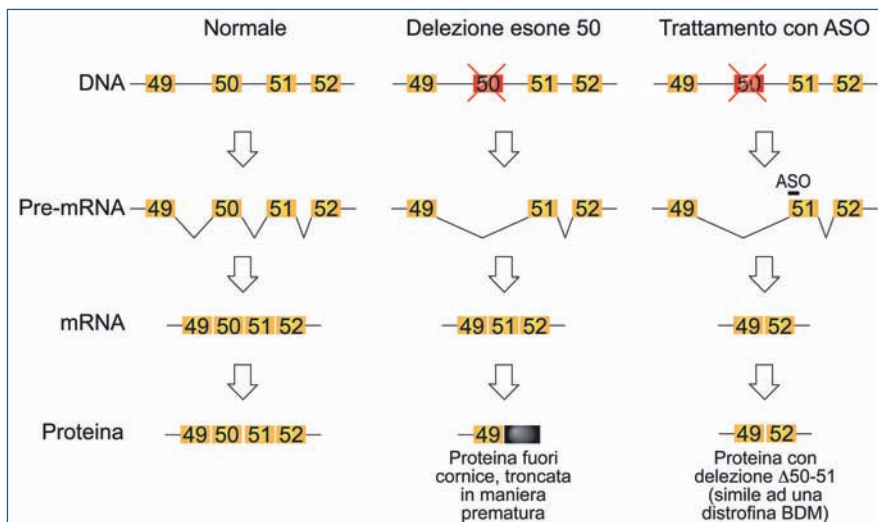


Fig. 4.9. Induzione di *exon skipping* mediante oligonucleotidi antisenso. Il pannello *a sinistra* mostra la composizione in introni ed esoni del gene normale della distrofina, nella regione tra gli esoni 49 e 52. In un paziente con una delezione dell'esone 50, a livello dell'mRNA l'esone 49 viene unito all'esone 51, il che genera uno slittamento della cornice di lettura e l'introduzione di un codone di STOP a livello dell'esone 51 (*pannello centrale*). Se le cellule sono trattate con un oligonucleotide antisenso (ASO) che si lega a una sequenza interna all'esone 51, indispensabile per l'inclusione di questo esone nel mRNA durante il processo di *splicing*, l'esone 51 viene escluso. Questo ripristina la cornice di lettura corretta del mRNA e consente la sintesi di una distrofina che, pur mancando degli amminoacidi codificati dagli esoni 50 e 51, è comunque funzionale (*pannello a destra*)

nucleico bersaglio. L'efficienza di queste diverse molecole nell'indurre l'esclusione dell'esone nelle cellule in coltura è variabile; soltanto poche di queste molecole sono state effettivamente sperimentate in un modello animale costituito da un topo knock-in in cui è stato introdotto il gene umano della distrofina. Attualmente, due sperimentazioni cliniche per l'induzione di *exon skipping* sono in progresso. La prima verifica l'effetto di un ASO basato su uno scheletro fosforotioato contenente molecole di ribosio con modificazioni 2'-O-metile (2OMePS), la seconda su di un morfolino, inoculati entrambi prima per via intramuscolare e successivamente per via sistemica. I risultati iniziali della prima sperimentazione (basata sulla strategia delineata nella Figura 4.9) sono già disponibili. Questa sperimentazione era stata condotta iniettando l'ASO nel muscolo tibiale anteriore e analizzando le modificazioni istologiche indotte dal trattamento un mese dopo. I risultati ottenuti hanno dimostrato la ricostituzione dell'espressione della distrofina nel sarcolemma della maggioranza dei pazienti, con livelli totali di proteina pari al 3-12% del normale, un risultato quindi molto incoraggiante.

Terapia genica delle distrofie dei cingoli

Benché numericamente meno frequenti e di impatto socio-sanitario minore rispetto alla DMD, alcune delle distrofie causate da difetti delle proteine del DGC possono essere oggetto di grande interesse per la terapia genica in quanto tali proteine sono di dimensioni minori rispetto alla distrofina e quindi i cDNA che le codificano possono essere facilmente veicolati da vettori AAV. Questo è il caso di diverse distrofie dei cingoli (*limb-girdle muscular dystrophy*, LGMD). Queste comprendono un gruppo clinicamente e geneticamente eterogeneo di disordini neuromuscolari caratterizzati da debolezza dei muscoli prossimali del cingolo pelvico e del cingolo scapolare, di variabile gravità e progressività. Esistono almeno 5 forme di LGMD con eredità autosomica dominante (LGMD1, da A ad E) e almeno 10 forme con eredità autosomica recessiva (LGMD2, da A a J) (Tabella 4.2). In particolare, le forme gravi e ad esordio precoce sono solitamente causate da mutazioni nei geni che codificano il sarcoglicano α (LGMD 2D), β (LGMD 2E), γ (LGMD 2C) e δ (LGMD 2F). L'assenza di ciascuna di queste proteine causa la scomparsa dell'intero complesso dal sarcolemma, determinando quindi distrofia muscolare da un lato e cardiomiopatia dall'altro.

Il primo modello animale di LGMD ad essere disponibile è stato il criceto siriano (*Syrian hamster*) Bio14/6, che porta una larga delezione del gene del sarcoglicano δ , e sviluppa distrofia muscolare e cardiomiopatia dilatativa. Questo animale rappresenta un eccellente modello animale per lo sviluppo di approcci di terapia genica che abbiano come bersaglio sia il muscolo sia il cuore.

Recentemente, sono state condotte due sperimentazioni cliniche di Fase I/IIa in Francia e negli Stati Uniti per valutare la sicurezza e, in via preliminare, l'efficacia, dell'inoculazione intramuscolare in un singolo muscolo dell'avambraccio di vettori AAV1 che veicolavano i geni dei sarcoglicani γ ed α , rispettivamente, in pazienti con LGMD di tipo 2C e 2D. I primi risultati ottenuti dalla seconda di queste sperimentazioni hanno indicato che il trattamento è in grado di ripristinare l'espressione dell'intero complesso del sarcoglicano nei muscoli trattati, incoraggiando quindi l'allestimento di ulteriori studi clinici.

Terapia genica dell'emofilia

Con il termine di "emofilia" vengono indicate alcune malattie ereditarie dovute alla mancanza o al malfunzionamento di alcune delle proteine della coagulazione. La forma più comune (l'emofilia A) è dovuta a un difetto del gene che codifica il Fattore VIII (FVIII) della coagulazione; l'emofilia B è invece dovuta a un difetto del Fattore IX (FIX). L'interesse della terapia genica per l'emofilia deriva da molteplici ragioni, che comprendono: 1) la disponibilità di modelli animali di malattia che mimano la patologia umana, di dimensioni sia piccole (topi *knock-out*) sia grandi (cane con emofilia B); 2) la possibilità di misurare l'efficacia del trattamento dal punto di vista funzionale con semplici saggi standardizzati che valutano l'efficienza della coagulazione; 3) l'esigenza di ottenere un

Terapia genica

Giacca, M.

2011, XXI, 240 pagg., Softcover

ISBN: 978-88-470-1988-1