

Monica Coenraads non ha bisogno di presentazioni perché è una donna veramente importante, è Presidente della RSRT ed è dal 1999 che si occupa con assiduità e fiducia della cura della Sindrome di Rett

Monica Coenraads



Buongiorno, sono Monica Coenraads, sono nata in Italia, vicino a Milano, ma mi sono trasferita negli Usa quando avevo 5 anni per cui non ho mai frequentato la scuola in Italia, però i miei genitori hanno insistito perché imparassi a scrivere e leggere l'italiano. Faccio un po' di fatica ad esprimermi in italiano specie per descrivere concetti scientifici.

Vorrei precisare che non sono una dottoressa, non sono un medico, ho un Master in Business Administration (MBA) ed ho cominciato a occuparmi della malattia dopo che è nata mia figlia che adesso ha 21 anni, per inciso ho anche altri due maschi di 20 e 18 anni. Da allora ho avuto l'opportunità di avvicinarmi a molti scienziati, ho imparato molto, ma di sicuro non sono una scienziata. Quando la bimba aveva tre anni ho creato la prima associazione, nel 1999, nello stesso anno in

cui Huda Zoghbi ha scoperto la causa della sindrome: una mutazione del gene MECP2. Quell'associazione si chiamava "Rett Syndrome Research Foundation" (RSRF) e vi ho lavorato fino al 2007, dal 2008 è stata creata la "Rett Syndrome Research Trust" RSRT (ormai 10 anni fa) e da allora ci occupiamo e supportiamo esclusivamente di ricerca.

RSRT, chi siamo

RSRT è un'organizzazione non-profit fondata nel 2008 con un unico scopo: **Curare la Sindrome di Rett**



Circa il 95% di ogni dollaro ricevuto finisce nel nostro programma di ricerca

La RSRT è un'organizzazione non-profit fondata nel 2008 con un unico scopo: curare la Sindrome di Rett.

È un'organizzazione virtuale in cui lavorano 6 persone, con funzioni e sedi diverse, sparse per l'America, che si adoperano per supportare e finanziare la ricerca: in una decina di anni sono stati finanziati per la ricerca 47 milioni di dollari. Naturalmente raccolgono denaro e cercano di tenere basse le spese. Infatti circa il 95% di ogni dollaro ricevuto finisce nel nostro programma di ricerca.

RSRT non fa solo finanziamento alla ricerca

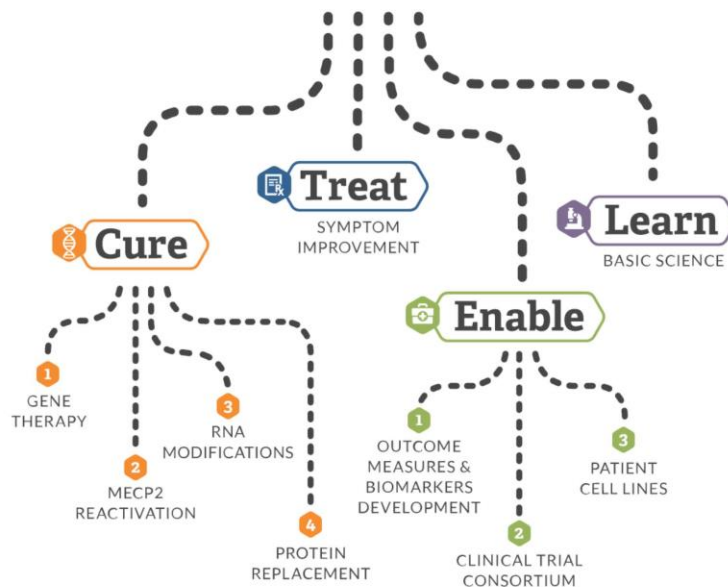


In questa diapositiva mostro il piano di ricerca della RSRT per i prossimi tre anni. Si cerca anche di mantenere i collegamenti tra diverse entità collegate/interessate al mondo della ricerca: gli scienziati, le famiglie e sempre più, negli ultimi tempi, le compagnie farmaceutiche e coloro che intendono investire in bio tecnologie. Tentativo di collegare tutti per gli scopi della ricerca.

THE Roadmap

L'ultimo anno, RSRT ha implementato un piano di ricerca "trasformativa", consistente di quattro obiettivi altamente integrati:

"CURA", "TRATTAMENTO", "ABILITARE", "IMPARA"



Lo scorso anno abbiamo lanciato il nostro piano di ricerca per i prossimi tre anni, ma abbiamo impiegato quasi due anni a parlare, incontrarci, fare meeting, per capire quali erano le aree in cui avremmo potuto determinare il massimo del progresso. La maggior parte dei nostri soldi va per la cura; questa è stata divisa in 4 aree, per obiettivi:

1. la terapia genetica [NdR Per **terapia genica** (in inglese *Gene Therapy*) si intende l'inserzione di materiale genetico ([DNA](#)) all'interno delle [cellule](#) al fine di poter curare delle [patologie](#) (es. [malattie genetiche](#)).]
2. riattivazione di MECP2
3. MODIFICA DELL' RNA
4. strategia per aggiustare/sostituire le proteina

Questi approcci possono essere applicati a qualsiasi mutazione o delezione del MECP2.



Alla base del nostro piano ci sono quattro approcci all'avanguardia per attaccare la sindrome di Rett alla sua base, le mutazioni nel gene *MECP2*.

Questi approcci possono essere applicati sia alle mutazioni che alle delezioni del gene *MECP2*.

Alla base del nostro piano ci sono quattro approcci all'avanguardia per attaccare la sindrome di Rett alla sua base, le mutazioni nel gene *MECP2*.

Questi approcci possono essere applicati sia alle mutazioni che alle delezioni del gene *MECP2*.

Una cura potrebbe essere possibile proprio perché Adrian Bird ha dimostrato che nell'animale malato, la sindrome di Rett è reversibile. Viene mostrato il noto video di due topolini, geneticamente mutati, trattati ad Edimburgo 10 anni fa

Grazie ad un trucco, un artificio genetico, siamo in grado di riaccendere il gene.

Nel video viene mostrato un topolino deprivato di *MECP2* che, se non si interviene, muore in una settimana; dopo 14 settimane si rivede il topo trattato. I risultati sono eclatanti. Il topo trattato recupera tutte le abilità motorie di cui era stato deprivato.



Terapia genica



Il trattamento, in questo caso, è stato realizzato con un artificio che, purtroppo non può funzionare allo stesso modo nelle nostre bambine.

Il 2° video mostra un esperimento del 2014 : il topo che non si muove ha la mutazione, quello che si muove ha ricevuto un'iniezione di terapia genica [Ndr: il video è visibile su you tube:

<https://www.youtube.com/watch?v=eBxPU6pdvhY>]

Terapia genica



Terapia genica

Il concetto di terapia genica è molto semplice: dare copie sane del gene *MECP2* per compensare alla copia mutata . Questo vale per le malattie causate da un unico gene mutato.

Terapia genica

Il concetto di terapia genica e' molto semplice: dare copie sane del gene *MECP2* per compensare alla copia muatata

A che punto siamo con la terapia genica intesa come vera cura?
Ci sono almeno tre casi in cui la terapia genica è stata approvata dall'FDA, per alcune patologie che vedete nella tabella sotto. Un paziente con una di queste malattie può essere inviato dal suo medico al centro specifico per il trattamento.

In Italia la GSK (con ricercatori italiani) ha messo a punto la terapia genica per l'ADA-SCID, disponibile sul mercato.

[**ndr:** L'ADA-SCID è una rara patologia che appartiene al gruppo delle immunodeficienze severe combinate (SCID), è una malattia molto rara: si stima che nascano 15 nuovi casi all'anno in Europa e 350 nel mondo. Grazie a un accordo siglato nel 2010 con la multinazionale farmaceutica GlaxoSmithKline, a partire dal maggio 2016 la terapia genica è [disponibile sul mercato con il nome di Strimvelis](#) ed è accessibile a tutti i pazienti dell'Unione europea]



Terapia genica

A che punto siamo con la terapia genica intesa come vera cura?

Medicina approvata	Bersaglio (target)	Target	Data di approvazione
Kymriah	Leucemia linfoblastica acuta	Pediatrica e adolescenziale	Aug 30, 2017
Yescarta	Linfoma a Cellule B	Adulta	Oct 18, 2017
Luxturna	Distrofia della retina	Pediatrica e adulta con mutazione RPE65 confermata	Dec 19, 2017

“...40 terapie geniche potrebbero essere approvate entro il 2022 tra 932 approcci

-- Scott Gottlieb, responsabile FDA, Dec 2017

Due di queste terapie geniche sono state approvate con un'unica sperimentazione, la terza dopo due sperimentazioni per via dei risultati drammatici ottenuti.

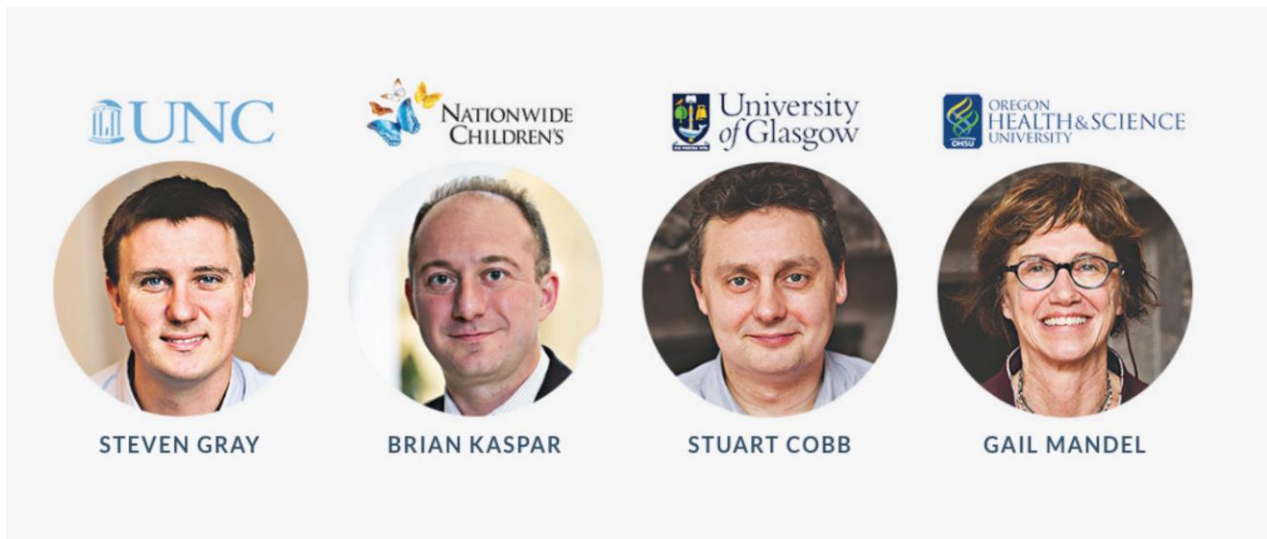
Io ed i miei consiglieri ci siamo detti di mettere insieme scienziati esperti di sindrome di Rett con quelli che sono esperti di terapia genica. Per cui abbiamo lanciato un Consorzio di Terapia Genica già nel 2014

Terapia genica

**RSRT ha finora investito \$5.8 milioni*

Il consorzio di Terapia Genica originario e' stato lanciato nel 2014

- Determinare se la terapia genica puo' essere un valido strumento terapeutico
- Lavorare su i vettori e costrutti genetici/ottimizzazione/dose/modalita' di somministrazione
- I risultati sono migliori delle aspettative



Terapia genica

Il consorzio di Terapia Genica originario è stato lanciato nel 2014

*RSRT ha finora investito \$5.8 milioni

- Determinare se la terapia genica può essere un valido strumento terapeutico
- Lavorare su i vettori e costrutti genetici/ottimizzazione/dose/modalità di somministrazione
- I risultati sono migliori delle nostre aspettative

Kaspar, il secondo scienziato che vedete nella foto, lavorava per una compagnia che si occupava di SMA, nel giugno 2017 ha detto che si sarebbe occupata anche di RTT



Terapia genica

Giugno 2017 – Rett syndrome e' stato annunciata come candidato

Febbraio 2018 – e' stato annunciato l'inizio di un clinical trial fra un anno

Maggio 2018 – Novartis compra AveXis



Contiamo di beneficiare enormemente dallo sforzo di AveXis nello sviluppo di terapia per la SMA, l'atrofia muscolare spinale.

L' FDA ha approvato la terapia genica per la SMA (atrofia muscolo spinale).

Nel giugno 2017 è stato annunciato che la prossima candidata per la sperimentazione sarebbe stata la sindrome di Rett; e nel febbraio del 2018 è stato annunciato che tra un anno avrà inizio un trial clinico con la RTT. Naturalmente ci vorrà l'autorizzazione della FDA che dovrà analizzare tutti i dati a supporto della bontà della tesi: esistono migliaia di pagine di dati da analizzare.

Infine nel maggio 2018 la compagnia farmaceutica Novartis (Svizzera) ha acquistato la AveXis.

Contiamo di beneficiare enormemente dallo sforzo di AveXis nello sviluppo della terapia realizzata per l'atrofia muscolare spinale (SMA).

La azienda ha comunicato di voler lavorare con molta rapidità sulla RTT. Le famiglia, fuori dell' America, avranno quindi più possibilità di partecipare alla cura, perché se la terapia va bene, la terapia sarà disponibile in molti paesi. La Novartis ha una buona capacità produttiva ed il desiderio di espandere la terapia. Sono state fatte tante sperimentazioni su altre malattie.

La Novartis ha la capacità di immettere prodotti sul mercato in tanti paesi ed è molto interessata ad espandere la loro terapia. Ha una grande capacità di condurre la terapia genica. Queste sono tutte buone notizie. Novartis ha già fatto 4 o 5 sperimentazioni cliniche, per la SMA, ed hanno quindi esperienza con sperimentazioni sui bambini. Stanno disegnando questa sperimentazione e se i risultati saranno drammatici l' NBA potrebbe, se lo ritiene opportuno, approvare la cura anche solo con una o due sperimentazioni.



Attuale consorzio di terapia genica



Nel consorzio abbiamo aggiunto James Wilson nel consorzio di terapia

genica (Pensilvania) 30 anni che opera in un grande gruppo (200 persone, lavorano con lui)

Speriamo che la terapia genica possa dare risultati drammatici, abbiamo spazi per migliorare e mandare avanti la seconda generazione di terapia genica. Vogliamo lavorare per essere sicuri di quello che facciamo. Obiettivi della terapia genica sono quelli di ottimizzare i regolatori chiave e la struttura del gene, migliorare I metodi di “consegna” al cervello e testare altri vettori di terapia genica.

Non vogliamo mettere troppa carne sul fuoco: C'è un detto in America: Non si possono mettere tutte le uova nello stesso canestro (chi troppo vuole nulla stringe)

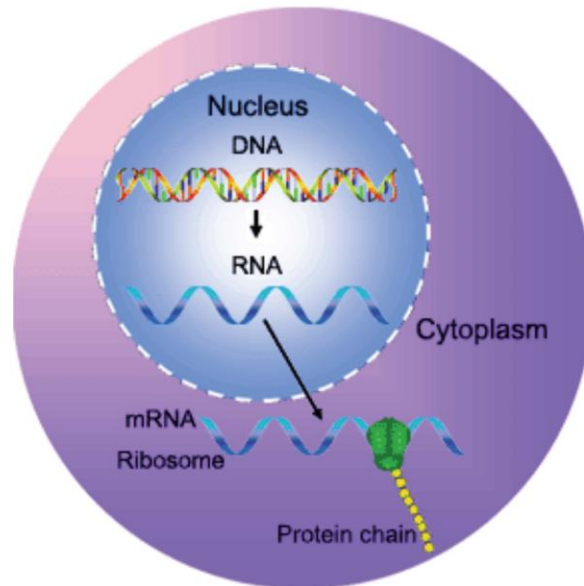


Obiettivi del consorzio di terapia Genica

- Ottimizzare i regolatori chiave e la struttura del gene
- Migliorare I metodi di “consegna” al cervello
- Testare altri vettori di terapia genica

Modifiche dell'RNA

L'RNA è la copia del DNA di ogni gene che viene letto dal ribosoma, l'organello che compie la sintesi proteica



L'RNA è la copia del DNA di ogni gene che viene letto dal ribosoma, l'organello che compie la sintesi proteica

Modifiche dell'RNA

Vantaggi:

- Mantenere la regolazione propria del gene
- Correggere solo le copie mutate del gene

Stiamo cercando vari modi di modificare l'RNA, attraverso editing e trans-splicing

Le modifiche dell'RNA possono essere fatte in un'unica somministrazione con il indiscutibili vantaggi:

Mantenere la regolazione propria del gene e Correggere solo le copie mutate del gene. Si stanno utilizzando tecniche di modifica dell'RNA, come l' editing ed il trans-splicing.

Con la terapia genica si potrebbe dare troppo MECP2 e questo potrebbe causare danni nella persona (sappiamo che nell' uomo disturbi sono correlati, sia con la carenza di MECP2 che con l'eccesso, come nel caso delle duplicazioni). Utilizzando l' RNA non c'è il rischio di dare troppo MECP2.

Esistono due metodi per intervenire sull' RNA, due possibili modalità di intervento

Nel primo si aggiusta ogni mutazione, per esempio la T158M (la più comune) specificamente per questa e poi per ciascuna altra mutazione. Sarebbe naturalmente molto più complesso perché per ogni mutazione dovresti avere una specifica terapia.

Il 97% delle mutazioni e delezioni sono sull'esone 3 e 4.

[Ndr: Sebbene siano molto meno avanzati della terapia genica, questi approcci offrono vantaggi per la regolazione del livello di proteina MeCP2 in ciascuna cellula. L'approccio di **editing** dell'RNA perseguito dal laboratorio Mandel ha dimostrato il più alto tasso di correzione riportato fino ad oggi, al 72%. La **transplicing dell'RNA** è un approccio alternativo che ha il potenziale per correggere oltre il 97% di tutte le mutazioni di MECP2 con una singola terapia. Gli sforzi attuali sono focalizzati sull'ottimizzazione dell'efficienza per modificare l'RNA e sullo sviluppo rapido di queste terapie verso studi clinici].

Monica al riguardo consiglia di vedere un video pubblicato sulla pagina di RSRT che spiega in modo molto semplice alcune di queste stupefacenti tecniche.

[Ndr: ottenere MeCP2 può essere fatto a livello di DNA, mRNA o proteina. Stuart Cobb sta lavorando su tutti questi approcci in parallelo. Il suo lavoro con la terapia genica viene svolto nell'ambito del Consorzio di Terapia Genica.

Sappiamo che sia il DNA che gli approcci proteici potrebbero avere una complicazione a causa di potenziali problemi di dosaggio (troppo MeCP2 potrebbe essere dannoso). Quindi il Dr. Cobb sta anche perseguendo una tecnologia alternativa chiamata Spliceosome-Media RNA Trans-Splicing (SMaRT). Questa tecnologia consente di suddividere una mutazione e di ripararla nell'RNA, l'intermedio tra il DNA e le proteine nella cellula. Il vantaggio è che questo approccio evita qualsiasi potenziale problema di sovraespressione che potrebbe derivare dalla modifica diretta del DNA o dall'assunzione di proteine extra. L'approccio del Dr. Cobb mira a correggere le mutazioni nel trascritto di RNA intermedio, consentendo al gene MECP2 e al prodotto di proteina MeCP2 di rimanere sotto normali controlli di espressione genica. La tecnologia SMaRT sfrutterà il fatto che le trascrizioni dell'RNA sono modificate per creare molecole più piccole che contengono il modello finale per produrre la proteina]

Quello che faremo e che impareremo per inserire il DNA nella cellula attraverso un vettore, sarà possibile, si potrà fare anche per l' RNA.

Sostituzione della Proteina



Sostituzione della Proteina

Nel terzo approccio, vogliamo sostituire la proteina mutata con quella sana, da essere somministrata regolarmente ai pazienti

Sfide:

- Possiamo dare abbastanza proteina nel cervello?

Vantaggi:

- E' possibile cambiare la dose
- Si puo' terminare la terapia in ogni momento

Nel terzo approccio, vogliamo sostituire la proteina mutata con quella sana, che dovrebbe essere somministrata regolarmente ai pazienti. La sostituzione della proteina è l'approccio più difficile da affrontare, perché è estremamente difficile trasferire le proteine direttamente nel cervello e dovremmo attuare questa terapia con una frequenza elevata (anche un paio di volte al mese). Il rapporto costo/benefici deve essere valutato sulla base delle incertezze (quanta proteina va somministrata) ed i vantaggi(durante la terapia possiamo decidere di cambiare la dose o anche sospendere la terapia. Il progresso in questa area non è stata così rapida. La sfida è quanta proteina possiamo portare nel cervello e ancora non lo sappiamo.

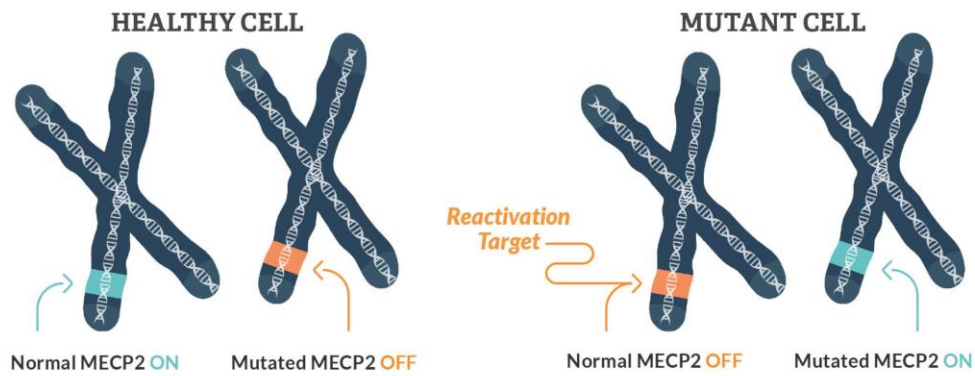
4° ed ultimo obiettivo della CURA è la

Riattivazione del gene MeCP2



Riattivazione del gene MeCP2

In questo approccio la RSRT ha investito finora \$6.5 milioni.



In questo approccio la RSRT ha investito finora \$6.5 milioni.

Riattivazione del gene MeCP2



Riattivazione del gene MeCP2

Screening di sostanze terapeutiche

- Diversi screening di “small-molecule” sono stati eseguiti
- Una parte di queste molecole sono state selezionati per studi successivi (follow-up study)
- Il progetto del Dott. Cerase

Strategie

- CRISPR
- Zinc Finger Proteins

Il progetto è curato dal Dott. Cerase e punta allo screening di “small-molecole” terapeutiche e si avvale di Strategie innovative come

CRISPR [NdR: CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), traducibile in italiano con brevi ripetizioni palindrome raggruppate e separate a intervalli regolari) è il nome attribuito a una famiglia di segmenti di DNA contenenti brevi sequenze ripetute e le Zinc Finger Proteins (ZNFs) [NdR: proteine con ampio range di funzioni come la capacità di interazione con il DNA, RNA, ed altre proteine].

Il gene MECP2 è sul cromosoma X. Le bambine hanno due X, ma in ogni cellula ce ne è uso solo dei due che è attivo ovvero il 50%. Una cellula è normale se il mecp2 normale è sul X attivo; è mutata se, al contrario, sul X attivo c'è il mecp2 mutato.

I tentativi di trovare sostanze che riattivano l' X inattivo hanno portato finora risultati molto modesti, perché tutte le molecole finora screenate hanno prodotto riattivazioni molto piccole e per di più sono abbastanza tossiche tali che forse si potrebbero dare forse a pazienti gravissimi che hanno un cancro, ma non certo a bambine come la RTT.

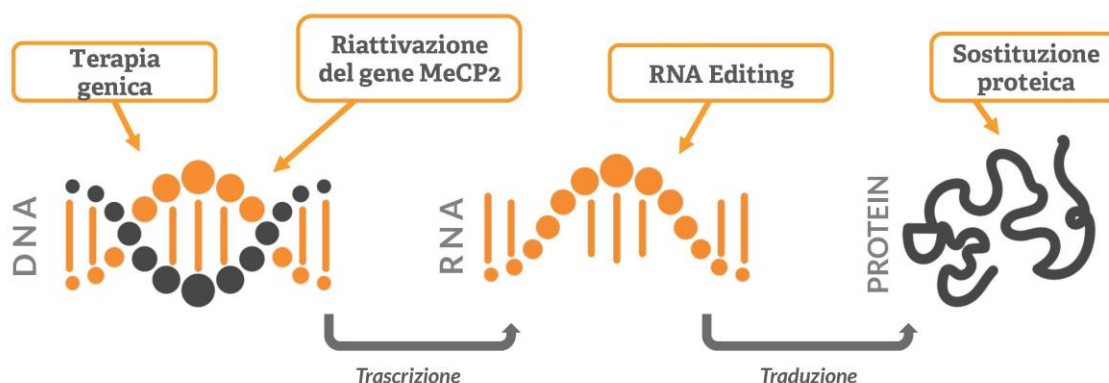
Per questo si stanno studiando strategie diverse, nuove, biologiche come CRISPR per portare alcune molecole direttamente al X spento e per accendere l' MECP2 sano.

Su questo argomento potete vedere la presentazione del dott Andrea Cerase: si riattiva specificatamente solo il gene, anche questo aspetto richiede tanto studio e si avvale di nuove tecnologie

Di seguito illustriamo un sommario delle strategie che stiamo usando: dal gene alla proteina.



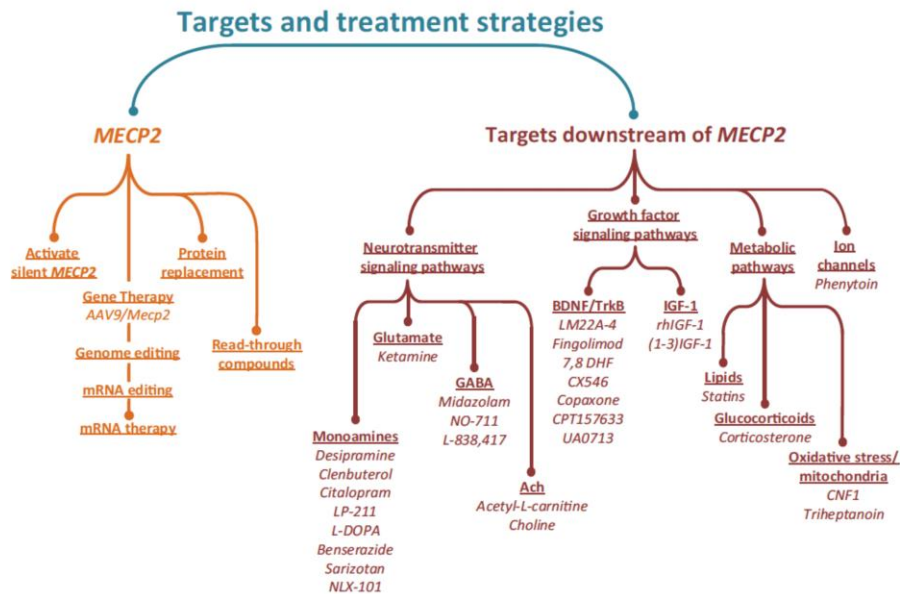
Dal gene alla proteina



Nello schema potete vedere in sequenza il DNA, l' RNA e la proteina. Al livello del DNA sono indicate la terapia genica e la riattivazione del MECP2, a livello dell' RNA l' editing ed infine, al livello delle proteine la loro sostituzione.



Interventi “a valle”



Interventi a valle. Si potrebbero tante altre cose e che costano molto e non aggiustano la malattia alla base. Questo è il caso del glutatione, del BDNF oppure dell' IGF1.

Ci sono tanti metaboliti che vanno su e giù. Alcuni sintomi potrebbero migliorare. Ma non è questa la nostra priorità, tuttavia se dovesse venire l'evidenza di importanti risultati non escludiamo in assoluto di non poter intervenire ed investire.

Dovremmo comunque essere molto cauti nell' affidarci a questa strategia.



Abilitare (Enable)

In questi anni ogni discussione che ho avuto con varie compagnie farmaceutiche ha puntato l'attenzione su come disegniamo la sperimentazione, come misuriamo i sintomi, cosa che è molto difficile per la RTT; diverso è il discorso per quanto riguarda la SMA infatti quello che possiamo osservare in questa malattia sono parametri molto chiari come la sopravvivenza o la ventilazione artificiale; i pazienti con SMA muoiono prima dei 2 anni quindi, nei pazienti trattati possiamo misurare il tempo di sopravvivenza e la necessità di respirazione assistita. Alcuni parametri che possiamo considerare in altre malattie sono molto semplici e facilmente misurabili, per esempio la quantità di colesterolo, oppure la Pressione arteriosa in mg/Hg, ma misurare le abilità manuali, l' ansia o la deambulazione, non è facile, consideriamo per esempio che ottenere dei risultati visibili in una bambina RTT trattata, ma che non aveva mai camminato

prima richiede molto tempo e forse molta riabilitazione. Per cui stiamo cercando se c'è qualche marker che mi dice a che punto siamo della malattia. Occorre denaro per pagare il personale nella clinica. Supporto per le cliniche stress e depressione. Obiettività e semplicità. Finché c'è una sperimentazione clinica ci sono i soldi della casa farmaceutica, ma quando la sperimentazione finisce non ci sono più i soldi per sostenere i medici che invece avevano già acquisito esperienza e abbandonarli significa spreco di preziose risorse umane e scientifiche.



Impara

Il nostro investimento nella ricerca di base ci ha portato a nuovi e promettenti stadi di ricerca

RSTT continuerà a fare leva su queste scoperte scientifiche per orientare il nostro programma terapeutico



Il Consorzio MeCP2, con oltre a \$9 milioni di investimento ha reso possibile una serie di scoperte che sono direttamente correlate con I nostri progetti di ricerca.

IMPARA

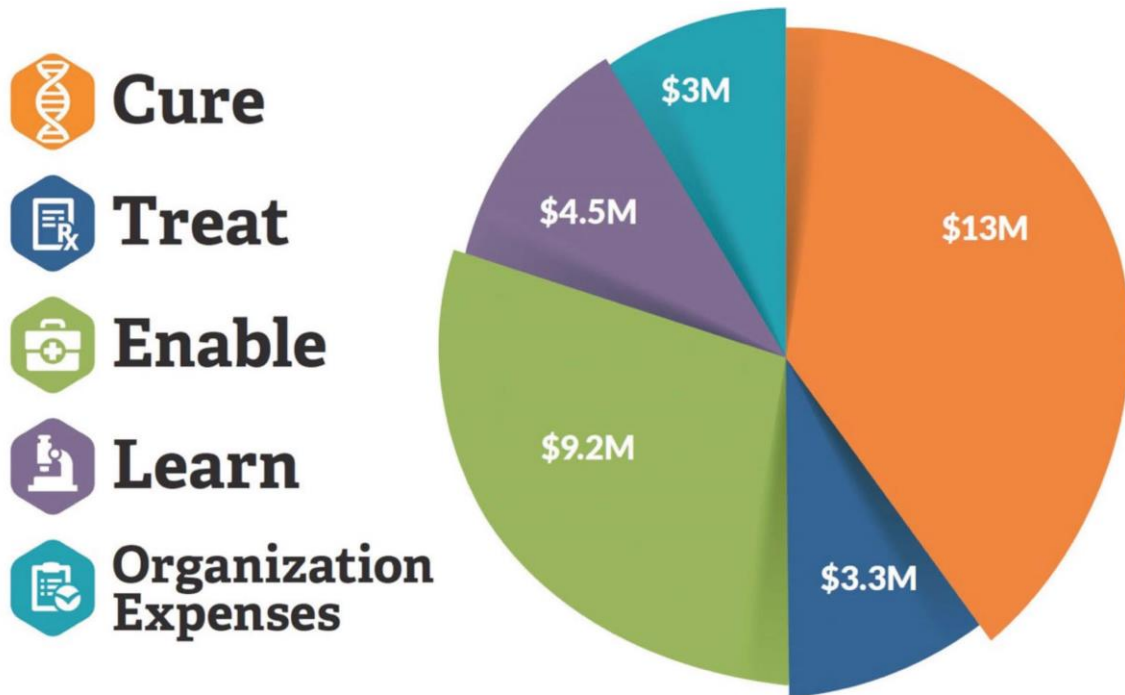
Il nostro investimento nella ricerca di base ci ha portato a nuovi e promettenti stadi di ricerca

RSTT continuerà a fare leva su queste scoperte scientifiche per orientare il nostro programma terapeutico

Il Consorzio MeCP2, con oltre a \$9 milioni di investimento ha reso possibile una serie di scoperte che sono direttamente correlate con i nostri progetti di ricerca.

Nell'ultima diapositiva potete vedere la distribuzione dei costi fin qui sostenuti per ciascuna delle aree interessate dalla ricerca.

THE Roadmap



Grazie!

GRAZIE

Domande: Donatella Cecconi

- 1) Quando partirà la sperimentazione sulla' uomo?
- 2) dove verrà effettuata la sperimentazione: all' estero e anche in Italia?
- 3) quali saranno i criteri per la selezione delle bambine candidate?

non ho le risposte per tutte queste domande

Siamo comunque in attesa dell' autorizzazione di FDA

Chi dovrà essere trattato per primo: ci sono tante opinioni diverse al riguardo, trattare le più giovani o le più adulte ?

L'inizio della sperimentazione è auspicata per gennaio marzo 2019

In genere le sperimentazioni partono dagli USA, ma non possiamo escludere che questa volta la Novartis estenda la sperimentazione all' Europa. LA prima sperimentazione potrebbe riguardare all' inizio un gruppo piccolo (15- 20 persone) e il trattamento sarà erogato a ciascuna con un intervallo di un mese ed oltre. Il dosaggio sarà sicuramente più basso di quello considerato ottimale. Se i miglioramenti fossero drammatici (eclatanti) probabilmente la commercializzazione potrebbe partire in tempi brevissimi. In ogni caso è necessario che la FDA dia l'autorizzazione o esprima pareri su eventuali altre fasi della sperimentazione.

I genitori che parteciperanno devono sapere che dovranno sopportare rischi importanti. Senza rischio non c'è progresso.

Domanda di Salvatore Franzè (Presidente Pro Rett): Qualora l'impatto della sperimentazione dia risultati negativi, si rischia di avere un blocco della ricerca in questa direzione?

Una volta che c'è un'industria (Novartis od altri) è questa che deve decidere sulla base dei risultati e su quella economica se proseguire o stoppare. In ogni caso, anche nella eventualità di risultati

insoddisfacenti, abbiamo comunque altri consorzi che mandano avanti la ricerca e che possono cercare altre industrie ed altre soluzioni.

Segue Intervento di Andrea Cerase (vedi)