

Intervista - Dieci domande alla “nostra ricercatrice”

“Il mio impegno per la speranza”

Abbiamo incontrato la dott.ssa **Mirella Meregalli**, il tecnico di laboratorio finanziato dal Fondo DMD che opera per le attività inerenti a indagini di biologia molecolare e indagini immunoistologiche. Assunta con un contratto a tempo determinato di tre anni dall’Università degli Studi di Milano attualmente è impegnata presso il dipartimento di Scienze Neurologiche della Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico di Milano diretto dal Prof. Nereo Bresolin. A distanza di qualche mese dall’inizio del contratto la dottoressa si sta concentrando nell’ambito del programma di ricerca sulla distrofia muscolare in particolare allo studio delle cellule staminali nella terapia delle malattie neuromuscolari. Con lei abbiamo fatto il punto della situazione sulla ricerca; ne è uscito un quadro interessante.

Innanzitutto crediamo che il suo lavoro riguardi le cellule staminali, ci può brevemente dire due parole su cosa sono queste cellule?

Le cellule staminali sono cellule non specializzate dotate della singolare capacità di trasformarsi in diversi tipi di cellule del corpo. Le cellule staminali hanno rivoluzionato la medicina, la loro conoscenza infatti ha aperto la strada alla possibilità di riparare specifici tessuti o riprodurre organi. La cellula staminale è una cellula caratterizzata dalla capacità di autorinnovamento, nel senso che a ogni processo duplicativo esse danno origine a due cellule di cui una resta staminale e l’altra si differenzia in una cellula matura di un determinato tessuto (cellule ematiche, nervose, muscolari etc.) Attualmente esistono due possibili sorgenti di cellule staminali: le staminali embrionali e le staminali dell’adulto. Entrambe hanno pregi e difetti.

Attualmente in medicina queste cellule sono già state impiegate? Se sì, dove e in che modo sono state usate? Se no, perché non è stato possibile impiegarle ancora?

Il trapianto di cellule staminali potrebbe costituire una prospettiva terapeutica per numerose patologie neurodegenerative e neuromuscolari al momento incurabili, che sono dovute ad eventi geneticamente determinati. Tale ipotesi si basa sulla loro capacità di costituire nuovo tessuto che potrebbe sostituire quello danneggiato dalla malattia o di fornire un supporto trofico alle cellule affette. Le cellule staminali potrebbero rappresentare una sorgente cellulare per il morbo di Parkinson, i traumi del midollo spinale, la sclerosi laterale amiotrofica, la sclerosi multipla le distrofie muscolari e per lo stroke. Probabilmente però, non tutti i disordini neurologici sono buoni candidati per le terapie cellulari, in quanto il limite della riparazione anatomica richiesto per realizzare un recupero funzionale significativo è differente in varie circostanze patologiche, secondo diversi fattori di fondo: la natura della malattia, l’identità dei sistemi di un neurone in questione e della complessità delle reti neurali interessate. Nel caso del morbo di Parkinson, per esempio, cellule staminali immortalizzate di derivazione neuronale sono state recentemente introdotte come potenzialmente interessanti candidati a scopo terapeutico. Anche nella terapia della lesione del midollo sono state avviate alcune sperimentazioni precliniche che prevedono l’impiego di cellule e scaffold.

In particolare Lei cosa sta studiando di queste cellule?

L’attività di ricerca del laboratorio è incentrata principalmente nella ricerca di un nuovo approccio terapeutico alla Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) che unisca l’utilizzo delle cellule staminali e la terapia genica. Attraverso questa tecnica è possibile modificare geneticamente le cellule staminali in modo tale che ri-esprimano un gene della distrofina più corto ma funzionale. In questo modo sarà possibile utilizzare le cellule del paziente stesso riducendo i problemi di rigetto da parte del sistema immunitario. In particolare abbiamo focalizzato l’attenzione sulla frazione cellulare esprime l’antigene di membrana CD133, marker tipicamente espresso dalle cellule

staminali ematopoietiche. La valutazione delle potenzialità miogeniche di queste cellule è stata condotta sia con approcci sperimentali in vitro che in vivo utilizzando un modello murino di distrofia muscolare immunodepresso (topo scid/mdx). Per questo motivo abbiamo eseguito uno studio clinico di Fase I per dimostrare la non tossicità di queste cellule staminali una volta trapiantate in un muscolo distrofico. Il risultato di questo studio ci ha permesso di confermare la sicurezza del prodotto cellulare e la sua potenzialità muscolare. Attualmente stiamo conducendo diversi studi che prevedono la combinazione della terapia cellulare e genica su modelli di cani affetti da distrofia muscolare, siamo molto orgogliosi di dire che questi studi stanno dando ottimi risultati che ben ci fanno sperare per una futura applicazione nei bambini DMD.

Abbiamo spesso sentito parlare, durante gli eventi organizzati per raccogliere fondi, di Exon Skipping può gentilmente farci capire cosa significa e come si potrà utilizzare questa metodica per combattere la Distrofia?

L'exon skipping è una terapia per la DMD, ancora in via sperimentale, che si basa sull'utilizzo di innovative metodologie di ingegneria genetica quali piccole molecole a RNA, vettori virali che consentono di eliminare il danno indotto dalla mutazione agendo sull'RNA messaggero che codifica per la distrofina. Il risultato è la sintesi di una proteina più corta ma funzionale.

L'Exon Skipping quindi è ancora in fase di studio anche se ci sono diversi lavori di sperimentazione in corso nel mondo

Recentemente è stato completato il trial clinico di AVI BioPharma e Prosensa: la nota società biofarmaceutica olandese ha concluso con successo il trial di fase 2 per la somministrazione sistemica dell'oligonucleotide antisense PRO-051. La prima sperimentazione è stata effettuata su 4 ragazzi DMD, di età compresa tra gli 8 e i 16 anni, con singole iniezioni di PRO-051 nel muscolo tibiale anteriore. I dati positivi riscontrati hanno permesso la progettazione e l'avvio di una seconda sperimentazione, questa volta con la somministrazione dell'AON direttamente nella circolazione sanguigna. Questa seconda strategia permetterebbe agli AON di raggiungere i vari distretti del corpo ed agire così su tutti i muscoli colpiti da distrofia. Anche questa volta i risultati si sono rivelati molto incoraggianti.

Quali sono attualmente gli ostacoli più impegnativi da dover affrontare per rendere attuale una correzione del gene?

Sicuramente uno degli ostacoli più importante è la somministrazione degli oligonucleotidi antisense che consentono lo skipping. Perché la somministrazione sia stabile è necessario inserire queste piccole molecole ad RNA o DNA all'interno di vettori virali con i problemi che ne conseguono dovuti alle eventuali reazioni allergiche dell'organismo.

Ovviamente nessuno può prevedere il futuro ma, secondo Lei, quanto tempo ci vorrà ancora per poter pensare a una sperimentazione concreta, non chiediamo una risoluzione, ma almeno qualcosa che possa alimentare le speranze di questi ragazzi. Non chiediamo illusioni o false strade pseudoscientifiche come quelle sulle staminali in Cina, ma studi pieni di speranza e paradossalmente di speranza.

A mio parere non siamo lontani da una possibile sperimentazione clinica e sicuramente non parliamo dei così detti "viaggi della speranza" alla ricerca di un sogno ma di qualcosa di concreto con reali basi scientifiche e mi fa piacere dire che c'è sicuramente un network internazionale focalizzato a raggiungere questo scopo.

Abbiamo letto che il vettore costituisce forse il vero problema dell'Exon Skipping ma in aggiunta a quanto già ci ha detto come si potrà ovviare a questo ostacolo?

Ci sono diverse strutture impegnate nella sintesi di vettori virali GMP i cui rischi sono ridotti al minimo. Anche in Italia, recentemente, sono stati fatti grossi passi in avanti per migliorare la

sicurezza dei vettori virali applicati alla terapia genica. Vorrei infatti ricordare che sono stati approvati tre studi che prevedono l'utilizzo di vettori lentivirali, in particolare applicati alla terapia nelle leucodistrofie e nel deficit della adenosina deaminasi (ADA).

Può farci il punto della stato attuale della ricerca sulla distrofia in genere e sulla Duchenne in particolare sia a livello internazionale sia a livello Italiano?

Attualmente la ricerca sulla DMD ha fatto molti passi in avanti sia da un punto di vista nazionale che internazionale. Diversi trial clinici sono terminati e a tal proposito vorrei ricordare il trial dell'Imperial College di Londra coordinato dal prof. Muntoni e quello avviato da Prosensa.

Attualmente sono stati avviati diversi trial clinici: un trial clinico di fase I avviato dal Nationwide Children's Hospital prevede il reclutamento di bambini di età compresa tra 5 e 12 anni e l'utilizzo di un vettore adenovirus associato ricombinante contenente il gene della mini-distrofina (una distrofina più corta ma funzionante). Il vettore verrà iniettato intramuscolo nei due bicipiti e il follow up dei bambini è previsto per due anni dopo l'iniezione. La Prosensa Therapeutics ha avviato il reclutamento per un trial clinico che prevede l'utilizzo dell'oligonucleotide PRO044 in bambini DMD portatori di mutazioni intorno all'esone 44 nel gene della distrofina, il cui skipping potrebbe portare alla sintesi di una distrofina funzionante. AVI BioPharma, Inc ha avviato un trial di fase I/II per determinare la sicurezza di una iniezione nella circolazione di un morfolino-oligomero diretto contro l'esone 51 (AVI-4658 PMO). Per ultimo vorrei ricordare il trial clinico dell'Ospedale San Raffaele di Milano coordinato dal prof. Cossu in cui è coinvolto anche il dott. Torrente che prevede il trapianto di mesoangioblasti isolati da fratelli HLA compatibili dei bambini DMD.

Vorrei inoltre portare alla vostra attenzione il sito www.clinicaltrial.gov in cui è possibile seguire tutti i trial clinici in atto, già conclusi e quelli che ancora reclutano pazienti con i relativi criteri di inclusione ed esclusione.

Vale la pena investire su progetti di ricerca per eventuali terapie future o forse sarebbe meglio concentrarci su come curare meglio questi ragazzi investendo su progetti che garantiscano un futuro migliore e più durevole? Noi del Fondo abbiamo scelto entrambe le strade; infatti oltre a sostenere ricercatori che si debbano interessare di cercare nuove strade e nuovi progetti terapeutici, come fa Lei, cerchiamo anche di sostenere sperimentazioni che si occupino di migliorare la qualità di vita di chi vive adesso, quotidianamente questa malattia. Cosa ne pensa?

Innanzitutto vorrei dire che purtroppo la ricerca in Italia non è considerata e finanziata come dovrebbe ed è solo grazie alla generosità delle associazioni dei genitori che noi ricercatori possiamo lavorare con più tranquillità. Nel caso di patologie così serie e invalidanti come la DMD è assolutamente necessario sostenere sperimentazioni che si occupino di migliorare la qualità di vita dei ragazzi. E' inoltre sicuramente importante pensare anche alla tranquillità delle famiglie e dare loro il maggiore supporto psicologico per affrontare ciò che purtroppo li attende. Vorrei, quindi, cogliere la bella opportunità che mi è stata data con questa intervista per ringraziare l'Associazione Amici di Emanuele che mi consente di dedicarmi per altri tre anni con serenità alla ricerca sulla DMD.

La ringraziamo per il tempo che ci ha dedicato e per le belle parole di speranza che ci trasmesso. Siamo sicuri che solo il tempo potrà essere testimone dei successi che la scienza sta rincorrendo ma siamo certi che ci arriveremo.

Cogliamo l'occasione per invitarla sin da adesso all'evento che si terrà in prossimità del Natale, come lo scorso anno dove ci fu la sua presentazione. L'augurio è quello di poter raccontare queste novità e le eventuali conquiste scientifiche al fine di far trascorrere a tutti un Natale di speranza.

Grazie e buon lavoro, il Fondo DMD