

8 Gennaio The few

*Mai, nel campo dei conflitti umani,
così tanti dovettero così tanto a così pochi"*
Winston Churchill 20 agosto 1940

La frase pronunciata da Winston Churchill mi fa pensare a quel “piccolo grande gruppo” di ricercatori che hanno reso possibile la realizzazione in tempi record del 1° primo vaccino anti covid. *La frase si riferiva ai valorosi sforzi degli equipaggi del Fighter Command della Royal Air Force che al tempo stavano combattendo la battaglia d'Inghilterra, la battaglia aerea cruciale con la Luftwaffe tedesca, in cui era in gioco la sopravvivenza stessa della Gran Bretagna .*

"I pochi" (The few) divenne la denominazione con cui furono da quel momento identificati i piloti del Fighter Command che avevano preso attivamente parte alla battaglia.

Le Analogie con la “guerra” anti covid che stiamo combattendo sono suggestive, dobbiamo alla ricerca di base (i few) se oggi possediamo una prima rudimentale arma per passare dalla difesa all’attacco. Purtroppo è operativa anche una quota di incapaci (few) quelli che i francesi chiamano “les incompetents”, che non riesce ad organizzare una somministrazione efficiente dei vaccini nel rispetto della *Teoria di Owen sulla devianza organizzazionale : ogni organizzazione ha un numero di posti che saranno occupati da incapaci.*

I primi tentativi di utilizzare l'*mRNA* esogeno *in vivo* sono iniziati più di 25 anni fa, solo negli ultimi anni, numerosi studi hanno dimostrato le eccezionali capacità dell' *mRNA* di suscitare potenti risposte immunitarie contro i patogeni capace di rappresentare proponendosi come una possibile piattaforma per lo sviluppo di vaccini (Weissman, Expert Rev Vaccines 14: 265-281, 2015; Sahin et al. , Nat Rev Drug Discov 13: 759-780, 2014).

Per passare alla realizzazione di un vaccino efficace l’azione del *mRNA* doveva essere ulteriormente potenziata attraverso l’introduzione di *nucleotidi modificati* e diventava cruciale la scelta di un veicolo efficiente e sicuro. I “few” di questa fase decisiva sono stati, in particolare, il team di ricercatori di **Katalin Karik**, di **Norbert Pardi** del Dipartimento di Medicina, Università della Pennsylvania, e principalmente i ricercatori del **Vaccine Research and Development** della **Pfizer** coordinati da **Edward Walsh** dell’Università di Rochester che hanno messo a punto alcuni prototipi di vaccino.

Il vettore

Tra i potenziali vettori non virali, la scelta è caduta su una classe di *nanoparticelle lipidiche ingegnerizzate, sintetizzabili* con relativa facilità, capaci di proteggere l'*mRNA* dalla degradazione, e veicolabili al distretto tessutale desiderato mediante decorazione superficiale con ligandi e, se necessario, codelivered con adiuvanti. Le *nanoparticelle* esposte a fluidi biologici adsorbono biomolecole sulla loro superficie formando una corona biomolecolare che stabilisce a livello molecolare, le interazioni e l'impatto che il complesso appena formato ha su cellule e organismi. Nel siero del sangue, le *nanoparticelle lipidiche* formano complessi con una distribuzione dimensionale da 30 nm a oltre 500 nm (Gunnarsson SB 2018). Un limite delle nanoparticelle lipidiche è la loro conservazione a temperature non inferiori ai 70 gradi Celsius , creando problemi dallo stoccaggio, alla logistica, fino alla fase finale della somministrazione.

Potenziamento

Gli mRNA contenenti 1-metilpseudouridina purificato in HPLC hanno mostrato una eccellente capacità di traslazione. La *Pseudouridina* è una delle basi rare (o insolite o minori) ritrovabile nella struttura secondaria del tRNA. Il nome stesso ne dice la funzione, ovvero è una finta uridina.

La differenza uridina tra e pseudouridina sta nel punto di attacco del ribosio. L'uridina forma, come le altre basi, legandosi al pentoso, un legame β -N-glicosidico con rimozione di una molecola d'acqua. Ciò significa che l'uridina impegna nel legame un atomo di azoto in posizione 1. La PseudoUridina invece forma un legame C-glicosidico con il pentoso, ciò significa che l'atomo impegnato nel legame è il Carbonio in posizione 5.

*La somministrazione di LNS di mRNA uridinati attraverso via endovenosa e intraperitoneali e, in misura minore, intramuscolare e intratracheale correlavano con una traduzione attiva dell'mRNA nel fegato dopo 1-4 giorni. In particolare gli mRNA contenenti pseudouridine mostravano una maggiore capacità di traslazione rispetto agli mRNA non modificati quando testati su cellule di mammifero e lisati o somministrati per via endovenosa nei topi a dosi di **0,015-0,15 mg / kg**. L'mRNA erogato e la proteina codificata potevano essere rilevati nella milza dopo 1, 4 e 24 ore dopo l'iniezione, dove entrambi i prodotti erano a livelli significativamente più alti quando veniva somministrato l'mRNA contenente pseudouridina.*

Conclusioni

Questi risultati indicavano che la veicolazione attraverso **LNS di mRNA uridinati** fosse un approccio efficace per migliorare la stabilità e la capacità di traslazione dell'mRNA diminuendone l'immunogenicità in vivo ed aprivano la strada per la sperimentazione clinica di fase 3

RIFERIMENTI

-Karikó K et al

Incorporation of pseudouridine into mRNA yields superior nonimmunogenic vector with increased translational capacity and biological stability.

Mol Ther. 2008 Nov;16(11):1833-40.

-Pardi N et al.

Expression kinetics of nucleoside-modified mRNA delivered in lipid nanoparticles to mice by various routes.

J Control Release. 2015 Nov 10;217:345-51

-Walsh EE et al

Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates.

N Engl J Med. 2020 Dec 17;383(25):2439-2450

-Reichmuth AM et al.

mRNA vaccine delivery using lipid nanoparticles.

Ther Deliv. 2016;7(5):319-34.

-Gunnarsson SB et al.

Analysis of nanoparticle biomolecule complexes.

Nanoscale. 2018 Mar 1;10(9):4246-4257.

To be continued...