

11. Maggio

## Matthew, Paul e il sequenziamento "ultra rapid"

*Pattinando sopra un ghiaccio sottile,  
la sola speranza di salvezza sta nella velocità.*

Ralph Waldo Emerson

### **Le storie di Matthew e Paul nel racconto di Euan Ashley**

#### **La storia di Matthew**

Circa un anno fa, quando Matthew aveva 13 anni, una fastidiosa tosse e febbre alta lo portarono in uno studio medico locale. *"Pensavamo fosse l'influenza, o forse il COVID"*, ha detto Jenny Kunzman, la madre di Matthew. *"Quella tosse era il primo segno di una miocardite, l'infiammazione del cuore che rende difficile per l'organo pompare sangue al resto del corpo."*

I test successivi all'ospedale locale di Matthew rivelarono una situazione terribile: il suo cuore stava cedendo. Il suo medico raccomandò alla famiglia di volare immediatamente all'ospedale di **Stanford** per le cure.

Ore dopo, Matthew e suo padre, Matthew Kunzman, Sr., arrivarono allo **Stanford Hospital**. Jenny Kunzman è arrivata il giorno dopo e ha scoperto che le condizioni di suo figlio erano progressivamente peggiorate. Matthew era miracolosamente in vita.

Ci sono due ragioni per cui un tredicenne per lo più sano sperimenta questo tipo di insufficienza cardiaca. Uno è noto come miocardite e si verifica quando le cellule immunitarie "sciamano" nel pericardio, migrazione innescata da un *virus* o da un micidiale *stress corporeo*. L'altro è una causa genetica, una mutazione in un gene coinvolto nella funzione cardiaca.

Conoscere la differenza, è fondamentale. La miocardite è spesso reversibile e con un trattamento specifico si può ripristinare una corretta funzione cardiaca. Ma se le condizioni di Matthew fossero genetiche, probabilmente l'unica soluzione possibile sarebbe un trapianto di cuore".

Gorzynski un componente del team coinvolto nel progetto sequenziamento avvicinato ai genitori di Matthew, spiegando la possibilità far partecipare il ragazzo allo studio. *"Ci hanno detto che c'era questa nuovissima ricerca su cui stavano lavorando per cercare di accelerare il processo di diagnosi"*, ha detto Jenny Kunzman. *"Ci hanno chiesto se fossimo disposti a partecipare e abbiamo detto: 'Assolutamente.' Volevamo quante più informazioni possibili per cercare di capire quale fosse la causa"*.

Utilizzando pochi millilitri di sangue di Matthew, il team ha iniziato il processo di sequenziamento genetico rapido. Nel giro di poche ore, i dati di sequenziamento hanno mostravano che la condizione era in una sequenza anomala del DNA.

Grazie a queste informazioni Matthew veniva immediatamente inserito nella lista dei trapianti di cuore. Ventuno giorni dopo, ricevette un cuore nuovo; oggi, circa un anno dopo, sua madre dice che sta *"eccezionalmente bene"*.

## La storia di Paul

Paul **3 mesi** è arrivato al pronto soccorso pediatrico di **Stanford** con *convulsioni inspiegabili*. Fu subito chiaro che il bambino soffriva di una forma di epilessia, ma non si conosceva esattamente la causa dei sintomi.

I ricercatori hanno sequenziato il genoma di Paul, analizzando i dati attraverso *algoritmi di rilevamento delle mutazioni* incrociandoli a dati di genomica noti della malattia.

Contemporaneamente hanno richiesto *test diagnostici clinici standard* per i biomarcatori del sangue associati a convulsioni di origine genetica. Poco più di **otto ore** dopo, grazie ai dati di *sequenziamento rapido*, il team ha avuto la risposta: le convulsioni di Paul ane paziente erano dovute a una mutazione in un gene chiamato **CSNK2B**.

*Questo gene codifica per la subunità beta della casein chinasi II, una protein chinasi onnipresente che regola le vie metaboliche, la trasduzione del segnale, la trascrizione, la traduzione e la replicazione. L'enzima è composto da tre subunità, alfa, alfa primo e beta, che formano un oloenzima tetrameric. Le subunità alfa e alfa prime sono catalitiche, mentre la subunità beta svolge funzioni regolatorie. L'enzima si localizza nel reticolo endoplasmatico e nell'apparato di Golgi. Per questo gene sono state trovate due varianti di trascrizione che codificano per diverse isoforme.*

Nel giro di poche ore, i dati di sequenziamento hanno mostrato che la condizione era radicata nella genetica. Se il team si fosse affidato solo ai test standard, all'epoca non sarebbe stata fatta alcuna diagnosi, anche se è probabile che ulteriori test dopo molte settimane fine avrebbero fatto emergere la diagnosi corretta per il paziente.

I *test standard* esaminano il sangue di un paziente per i marcatori associati alla malattia, ma "scansionano" solo una manciata di geni ben documentati. I laboratori commerciali, che spesso eseguono questi test, sono lenti nell'aggiornare le molecole per le quali effettuano lo screening, il che significa che può volerci molto tempo prima che *le mutazioni che causano malattie* scoperte di recente vengano integrate nel test. E questo può portare a diagnosi mancate.

Il sequenziamento rapido del genoma potrebbe essere un importante punto di svolta per i pazienti affetti da malattie genetiche rare. E' possibile *scansionare* l'intero genoma di un paziente per tutte le varianti geniche suggerite dalla letteratura scientifica, anche se quella variante è stata scoperta solo il giorno prima. Inoltre, se un paziente non riceve inizialmente una diagnosi genetica, c'è ancora speranza che si possa identificare una nuova variante collegata alla malattia del paziente.



## **Un anno fa... Baedeker/Replay del 11 Maggio 2021**

*Per una protezione immunitaria globale: i vaccini a nanoparticelle*

"Il mondo avanzava implacabilmente verso un'economia che, utilizzando i progressi tecnologici, cercava di ridurre i 'costi umani', e qualcuno pretendeva di farci credere che bastava la libertà di mercato perché tutto si potesse considerare sicuro. Ma il colpo duro e inaspettato di questa pandemia fuori controllo ha obbligato per forza a pensare agli esseri umani, a tutti, più che al beneficio di alcuni", aggiunge. "Voglia il Cielo che non ci dimentichiamo degli anziani morti per mancanza di respiratori, in parte come effetto di sistemi sanitari smantellati anno dopo anno", prosegue. "Che un così grande dolore non sia inutile, che facciamo un salto verso un nuovo modo di vivere e scopriamo una volta per tutte che abbiamo bisogno e siamo debitori gli uni degli altri, affinché l'umanità rinasca con tutti i volti, tutte le mani e tutte le voci, al di là delle frontiere che abbiamo creato".

Con queste parole dell' Enciclica Fratelli Tutti, Papa Francesco si rivolge all'umanità globalizzata che sta a fatica e non senza resistenze , cominciando a realizzare la necessità di avere a disposizione un arsenale di vaccini per mettere momentaneamente al sicuro l'intero pianeta dalle popolazione mondiale da Sars-2 e dalle varianti attuali e future amplificando la quantità e la qualità (efficacie e sicurezza) dei vaccini attualmente disponibili. Sedici dipartimenti dell' Università di Washington stanno mettendo a punto un vaccino basato su milioni di nanoparticelle, ognuna tempestate con 60 domini di legame del recettore spike SARSCoV-2 (RBD) in una matrice altamente immunogenica capaci di indurre anticorpi neutralizzanti 10 volte superiori al picco stabilizzato in prefusione nonostante una dose 5 volte inferiore. Il risultato è un vaccino a subunità, comprendente il dominio di legame del recettore spike SARS-CoV-2 visualizzato su una nanoparticella proteica (RBD-NP),

Quando i primi prototipi di questi vaccini a nanoparticelle sono stati iniettati negli animali questi hanno risposto producendo una marea di anticorpi contro il coronavirus, molto più di quanto prodotto da un vaccino contenente l'intero picco. Successivamente i topi vaccinati risultavano protetti dall'infezione da coronavirus . Il dato che gli anticorpi indotti dalle nanoparticelle RBD si legano a più epitopi distinti fa presumere che potrebbero intercettare le varianti (Walls AC, 2021) Le nanoparticelle quando vengono coniugate con adiuvanti differenti promuovono, nei primati non umani, una robusta immunità contro SARS-CoV-2 grazie alla produzione di anticorpi con capacità neutralizzante (nAB) fino a 154 giorni dopo la vaccinazione. In particolare alcuni adiuvanti (AS03, CpG-Alum, AS37 e Alum ) conferiscono una protezione significativa contro l'infezione da SARS-CoV-2 nelle faringe, nelle narici e nel lavaggio broncoalveolare (.S Arunachalam P, 2021). La risposta nAb ai virus vivi si mantiene inalterata fino a 180 giorni dopo la vaccinazione con RBD /AS03 includendo una marcata protezione.

L'immunizzazione RBD-NP ha neutralizzato in modo incrociato la variante B.1.1.7 in modo efficiente, ma ha mostrato una risposta ridotta contro la variante B.1.351. Mentre RBD-NP/AS03 ha dimostrato una riduzione di 4,5 volte nella neutralizzazione di B.1.351, il gruppo RBD-NP / AS37 ha mostrato una riduzione di 16 volte, suggerendo differenze nell'ampiezza della risposta nAb indotta da questi adiuvanti. Questi dati evidenziano l'efficacia del vaccino adiuvato RBD-NP nel promuovere l'immunità protettiva contro SARS-CoV-2 e hanno aperto la strada alla valutazione clinica di questo vaccino negli studi clinici di Fase I / II attualmente in svolgimento (Arunachalam PS 2021 )

Nel panorama delle Istituzioni e delle Company impegnate nella sperimentazione di vaccini a nanoparticelle un contributo importante verrà dai ricercatori dell'esercito statunitense del Walter Reed Army Institute of Research (WRAIR) che hanno creato un vaccino con nanoparticelle innovativo basato su una piattaforma di ferritina, che offre un approccio flessibile per intercettare più varianti di SARS-COV-2 e potenzialmente anche altri coronavirus. Il vaccino, chiamato SpFN (nanoparticella ferritina spike) si distingue nel panorama del vaccino COVID-19 per il suo design a sferico a multi-faccia che consente una presentazione ordinata e ripetitiva della proteina spike del coronavirus al sistema immunitario, una strategia che può aiutare a fornire una protezione più ampia.

Gli studi preclinici dimostrano che Il vaccino SpFN, somministrato due volte entro un intervallo di 28 giorni, induce una risposta helper dei linfociti T CD4 polarizzati Th1 e un titolo medio geometrico di anticorpi neutralizzanti nAB (picco di 52.7739 contro il virus wild-type, con attività contro SARS -CoV-1 e con un decremento trascurabile nei confronti delle varianti. Gli animali vaccinati con SPFN hanno dato una risposta ad alte dosi di SARS-CoV-2 che si è tradotta in una rapida eliminazione del virus replicante nelle vie aeree superiori e inferiori e nel parenchima polmonare. Il potente e ampio profilo di immunogenicità di SpFN ed i test di efficacia supportano la sua utilità come piattaforma candidata per betacoronavirus ed in particolare per Sars-cov-2. **In conclusione...**  
**(Per continuare vai all'originale)**