

4. Ottobre

The Few

A chi legge

L' 8 gennaio del 2021 BADEKER pubblicava il report che segue i cui contenuti sono stati ripresi, integrati e perfezionati in oltre 30 report successivi dal 2021 ad oggi 4ottobre2023.(Vedi archivi 2021 e 202)

8 Gennaio 2021

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 organizzativa : 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*).

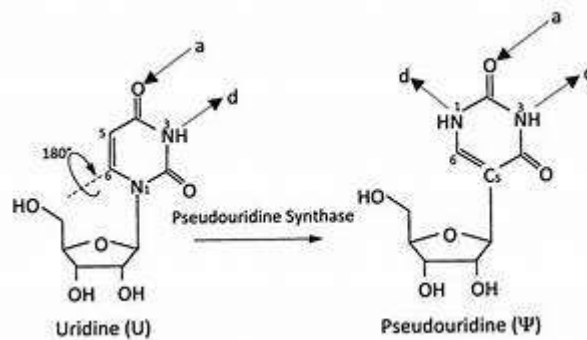
Per passare alla realizzazione di un vaccino efficace l’azione del mRNA doveva essere ulteriormente potenziata attraverso l’introduzione di nucleotidi modificati e diventava cruciale la scelta di un veicolo efficiente e sicuro. I “few” di questa fase decisiva sono stati, in particolare, il team di ricercatori 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. Potenziamiento 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...

Il Premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina di quest'anno è stato assegnato congiuntamente a **Katalin Karikó e Drew Weissman** per le scoperte che hanno consentito la creazione di un nuovo tipo di vaccino, inclusi alcuni dei primi che proteggevano dal COVID-19, ha annunciato oggi l'Assemblea del Nobel.



Il premio riconosce la ricerca pionieristica della coppia sull'RNA messaggero (mRNA), i filamenti genetici che trasportano le istruzioni per la produzione delle proteine codificate dal DNA ai siti di assemblaggio all'interno delle cellule. Lavorando insieme all'Università della Pennsylvania (UPenn), **Karikó e Weissman** hanno dimostrato all'inizio degli anni 2000 che era possibile smorzare le risposte infiammatorie del corpo agli mRNA prodotti in laboratorio apportando modifiche chimiche specifiche alle basi componenti delle molecole: scoperte che hanno consentito a gruppi futuri per fornire mRNA nelle cellule umane per produrre proteine virali, come la molecola spike su SARS-CoV-2.

"Karikó e Weissman hanno fatto scoperte fondamentali sull'importanza delle modifiche di base nell'mRNA, eliminando un importante ostacolo alle applicazioni cliniche basate sull'mRNA", afferma Rickard Sandberg, membro dell'Assemblea del Nobel. "Sulla base di questa tecnologia dell'mRNA, così come della ricerca condotta da altri sulla proteina stabilizzata del picco e sul

rilascio di mRNA utilizzando nanoparticelle lipidiche, sono stati sviluppati e approvati in tempi record due vaccini a mRNA altamente efficaci contro COVID-19”.

"Questa è una meravigliosa scelta del Premio Nobel", afferma **Anthony Fauci**, ex direttore dell'Istituto nazionale americano per le allergie e le malattie infettive, che aveva Weissman come collega nel suo laboratorio. *"[È] il classico esempio di una collaborazione durata anni e anni su un problema molto, molto difficile. ... Hanno perseverato ostinatamente e hanno fatto una scoperta che ha già trasformato molte aree della ricerca biomedica"*.

Mentre i vaccini tradizionali contengono tipicamente una versione indebolita o uccisa di un agente patogeno, proteine chiave dell'agente patogeno prodotte in laboratorio o virus geneticamente modificati per produrre quelle proteine nel corpo, l'mRNA da solo può istruire le cellule a produrre particolari proteine che innescano le risposte immunitarie. Il seme dell'idea del vaccino a mRNA è stato piantato negli anni '80, in seguito allo sviluppo di tecniche per generare i filamenti genetici in laboratorio. Ma le molecole di mRNA prodotte in laboratorio hanno innescato risposte immunitarie potenzialmente dannose.

I ricercatori hanno provato a riprodurre alcune di queste modifiche nell'mRNA in laboratorio e poi a presentare le molecole risultanti alle cellule immunitarie chiamate cellule dendritiche. Nel 2005, hanno riferito sulla rivista Immunity che la sostituzione di una base di mRNA chiamata uridina con basi modificate presenti in natura come la pseudouridina potrebbe ridurre notevolmente la risposta infiammatoria. Negli anni successivi, hanno sviluppato ulteriormente il lavoro, dimostrando nel 2008 che l'uso della pseudouridina poteva aumentare la quantità di proteine prodotte dalle cellule che assorbivano l'mRNA. Hanno inoltre svelato il meccanismo cellulare alla base dei loro risultati .

Il lavoro è stato ripreso da diverse aziende negli anni 2010, concentrandosi inizialmente sui vaccini contro il **virus Zika e MERS-CoV**, il coronavirus che causa la sindrome respiratoria del Medio Oriente. Tale ricerca è stata fondamentale per il rapido sviluppo di vaccini in grado di fornire la proteina "spike" di un altro coronavirus, SARS-CoV-2, nelle cellule umane subito dopo l'inizio dell'epidemia di COVID-19: le prime autorizzazioni normative per i vaccini mRNA sono state concesse nel dicembre 2020 a Pfizer e BioNTech (che fino a poco tempo fa impiegavano Karikó come vicepresidente senior) e a Moderna. (Science ha profilato Moderna , e gran parte del primo lavoro sull'mRNA, nel 2017.)

Dall'inizio della pandemia, questi e altri tipi di vaccini contro la SARS-CoV-2 sono stati somministrati più di 13 miliardi di volte a livello globale.

Oltre a onorare una scoperta che ha aperto una nuova strada di ricerca, il Premio Nobel potrebbe avere un impatto pratico sulla diffusione dei vaccini contro il COVID-19, suggerisce **Olle Kämpe**, vicepresidente del comitato che ha scelto i vincitori del premio di quest'anno. Sebbene Kämpe ritenga improbabile che le persone fermamente contrarie ai vaccini ci ripensino, si aspetta che ***"l'assegnazione di un premio Nobel per questo vaccino contro il COVID-19 possa far sì che le persone esitanti prendano il vaccino ed siano sicure che sia molto efficace e sicuro"***.

Sebbene la produzione di grandi quantità di vaccini a mRNA sia complessa, sono comunque più veloci e più semplici da realizzare rispetto ai vaccini basati su altre strategie. In questi casi, vengono utilizzati bioreattori giganti per far crescere enormi quantità di virus, batteri o cellule che

sintetizzano la proteina patogena chiave. L'approccio mRNA sintetizza semplicemente biochimicamente la sequenza genetica della proteina desiderata e la racchiude in una nanoparticella lipidica per proteggere il filamento dalla distruzione.

Una delle strade più promettenti per i vaccini a mRNA è la possibilità che possano innescare risposte immunitarie che attaccano i tumori. **Jessica Foster**, oncologa del *Children's Hospital di Filadelfia*, lavora da tempo su questa potenziale applicazione con Karikó. *"Questo premio è davvero meritato", afferma Foster. "[La sua] grinta e determinazione nel seguire la scienza, nonostante molti le dicessero che non avrebbe potuto avere successo, sono fonte di ispirazione per tutti. È una scienziata brillante, un mentore incredibile e un modello per le scienziate di tutto il mondo. I progressi nella biologia dell'mRNA da lei scoperti cambieranno le nostre vite per i secoli a venire".*

Sebbene nessun farmaco basato sull'mRNA sia stato ancora approvato per curare una malattia, piuttosto che per prevenirla, come fanno i vaccini, Moderna, altre aziende e laboratori accademici hanno candidati negli studi clinici. Sono progettati per produrre proteine terapeutiche nel corpo per condizioni che vanno dalla fibrosi cistica alle malattie cardiache.

Thomas Perlmann, segretario generale dell'Assemblea del Nobel e del Comitato per il Nobel, ha osservato nella conferenza stampa di oggi che Karikó *"non ha mai ricevuto una sovvenzione R01 dal [National Institutes of Health], il che è un chiaro segno che ha lottato e non ha ottenuto il riconoscimento per l'importanza della sua visione. ... E forse questo dice qualcosa sulla situazione dei finanziamenti e anche sull'essere donna, sull'essere straniera e così via."* Karikó diventa solo la tredicesima donna a ricevere il Premio Nobel per la Fisiologia e la Medicina nei suoi oltre 120 anni di storia.

"Il Premio Nobel oggi riconosce decenni di scrupolosa ricerca e la convinzione che un giorno la tecnologia dell'mRNA avrà applicazioni utili", afferma **Soumya Swaminathan**, che ha ricoperto il ruolo di capo scienziato presso l'Organizzazione mondiale della sanità fino al 2022 e ora presiede una fondazione a Chennai, in India. *"Il successo dei vaccini a mRNA contro il COVID ha ora aperto un'intera impresa di ricerca con potenziali terapie e vaccini sia per le malattie trasmissibili che per quelle non trasmissibili".*

La scienza ha nominato i vaccini contro il COVID-19 la loro svolta dell'anno nel 2020 .

Karikò Story



Si dice che Karikó, professoressa di ricerca presso l'Università di Szeged in Ungheria e consulente esterno di BioNTech in Germania, sia stata "sopraffatta" dall'annuncio, soprattutto perché ha sopportato decenni di scetticismo sul suo lavoro ed è stata addirittura retrocessa dall'Università di Szeged. Pennsylvania a metà degli anni '90 a causa della mancanza di fondi per la sua ricerca. È ancora professore a contratto presso la scuola di medicina Perelman dell'università.

Karikó è cresciuta in una piccola città dell'Ungheria centrale, dove la sua famiglia viveva in un'unica stanza senza acqua corrente, senza frigorifero e senza televisione. Dopo aver conseguito un post-doc presso l'Accademia ungherese delle scienze a Szeged, ha venduto la sua macchina, ha cucito i soldi nell'orsacchiotto di sua figlia e si è trasferita con la famiglia a Filadelfia, negli Stati Uniti.

Ha incontrato Weissman, ora professore di ricerca sui vaccini presso la scuola di medicina Perelman, alla fine degli anni '90 tramite una fotocopiatrice del dipartimento dell'Università della Pennsylvania, dove Karikó stava stampando documenti di ricerca. La coppia ha stretto una partnership e ha iniziato a studiare l'mRNA come potenziale terapeutico, inizialmente utilizzando i fondi di Weissman per finanziare i loro esperimenti.

Karikó aveva precedentemente dichiarato al Guardian di non aver mai dubitato che il loro approccio avrebbe funzionato. *"Ho sempre desiderato vivere abbastanza a lungo da vedere approvato qualcosa su cui ho lavorato"*, ha detto.

BioNTech e Moderna hanno concesso in licenza la tecnologia dell'mRNA modificato sviluppata da Karikó e Weissman per i loro vaccini. Weissman ha continuato a sviluppare candidati vaccini a RNA contro l'influenza, l'herpes e l'HIV.

Lunedì, parlando all'annuncio del premio a Stoccolma, il presidente del comitato Nobel, la professoressa **Gunilla Carlsson**, ha sottolineato che la loro scoperta è stata fondamentale per rendere la piattaforma del vaccino mRNA adatta all'uso clinico, rapidamente, quando ce n'era più bisogno. *"Penso che in termini di salvataggio di vite umane, soprattutto nella fase iniziale della pandemia, sia stato molto importante"*, ha affermato.

Il lavoro di Karikó e Weissman è stato precedentemente riconosciuto con il **premio Breakthrough** da 2,2 milioni di sterline e numerosi altri premi internazionali.

La professoressa Katalin Karikó e il professor Drew Weissman condivideranno il premio di **11 milioni di corone svedesi (823.000 sterline)** annunciato lunedì dall'Assemblea del Nobel presso il Karolinska Institute di Stoccolma.