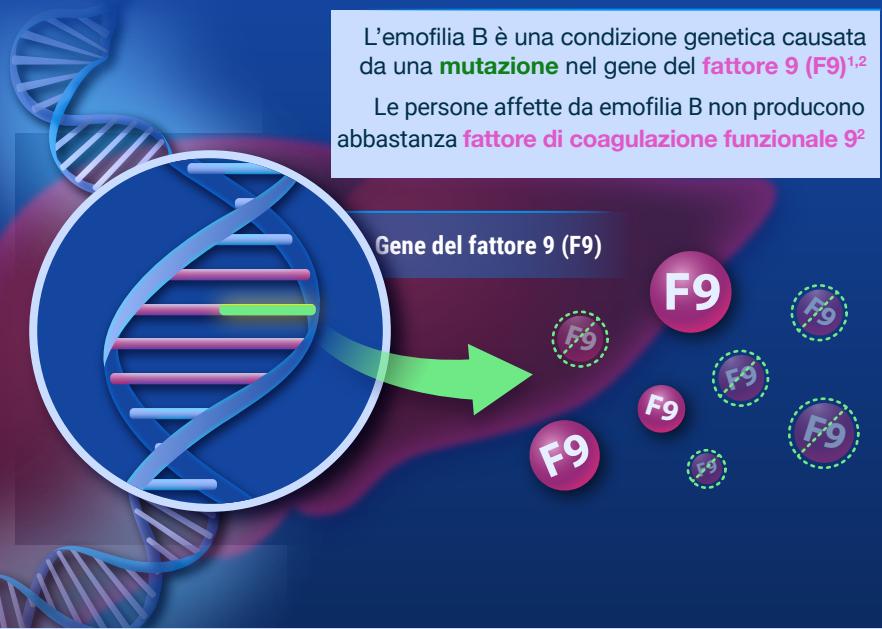


Inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B

Per la comunità dell'emofilia B

SOLO PER USO REATTIVO

L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B è sperimentale e l'efficacia e la sicurezza non sono state valutate da alcuna autorità regolatoria



L'inserzione di geni mira a insegnare permanentemente all'organismo come produrre il fattore di coagulazione a lungo termine, senza la necessità di una terapia sostitutiva del fattore di routine³

Che cos'è l'inserzione genica?

L'inserzione di geni è un tipo di editing genetico in cui un gene terapeutico può essere aggiunto con precisione a specifiche sezioni di DNA per ripristinare la capacità dell'organismo di agire come dovrebbe³



L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR è un tipo di editing genetico in fase di studio nell'emofilia B. Aggiungendo un gene del fattore terapeutico 9, l'organismo può produrre il fattore di coagulazione funzionale 9 da sé³⁻⁵



In altre parole...

I geni sono come il manuale di istruzioni dell'organismo. A volte, gli errori ortografici nel manuale ("mutazioni") fanno sì che l'organismo salti una delle istruzioni di cui ha bisogno per produrre un prodotto funzionale, come il fattore 9 nei pazienti con emofilia B. L'obiettivo dell'editing genetico è correggere attentamente tali errori ortografici o inserire le istruzioni corrette nel manuale, in modo che l'organismo possa funzionare come dovrebbe e il fattore 9 possa essere prodotto⁶

Progressi tecnologici che portano all'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per studi sperimentali sull'emofilia B



Inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR per l'emofilia B

L'inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR è un processo in due fasi:^{4,5}

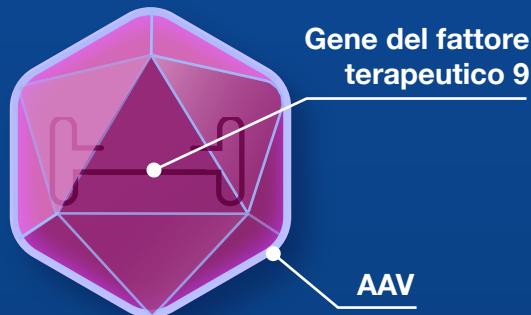
Passaggio 1: Erogazione del gene del fattore terapeutico 9 e di CRISPR

La terapia viene somministrata mediante infusione endovenosa e include due componenti che vengono erogati alle cellule epatiche bersaglio^{4,5}



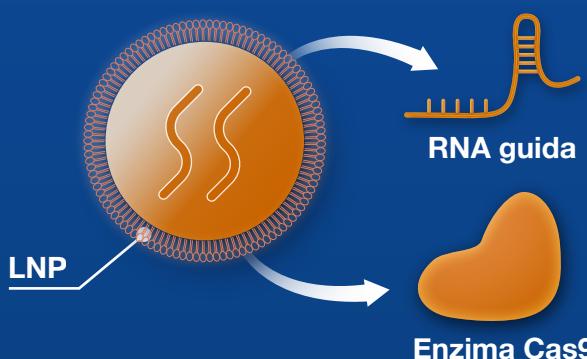
Innanzitutto, il gene **terapeutico del fattore 9** viene erogato alle cellule epatiche per fornire le istruzioni per la produzione del **fattore di coagulazione 9**^{4,5,8,19}

Quindi, viene somministrato **CRISPR**. CRISPR è uno strumento preciso che consente l'inserzione mirata di geni in una posizione specifica nel DNA^{4,5,9}



Il **gene del fattore terapeutico 9** viene erogato alle cellule epatiche bersaglio utilizzando un vettore virale noto come virus **adeno-associa**to (**Adeno-Associated Virus, AAV**), che naturalmente è in grado di rilasciare il DNA^{4,5,8,20,21}

Gli **AAV** sono stati modificati, rimuovendo e sostituendo il loro materiale genetico originale con il **gene del fattore terapeutico**^{9,8,19,21}



La tecnologia **CRISPR** è costituita da due parti che cooperano per l'inserzione del gene: un filamento **di RNA guida** e un enzima **Cas9**^{3,9,22}

Pacchetti appositamente progettati, noti come **nanoparticelle lipidiche (LNP)**, sono molecole a base di grassi che aiutano a trasportare la tecnologia CRISPR in una posizione precisa nel fegato²³



Approfondimento

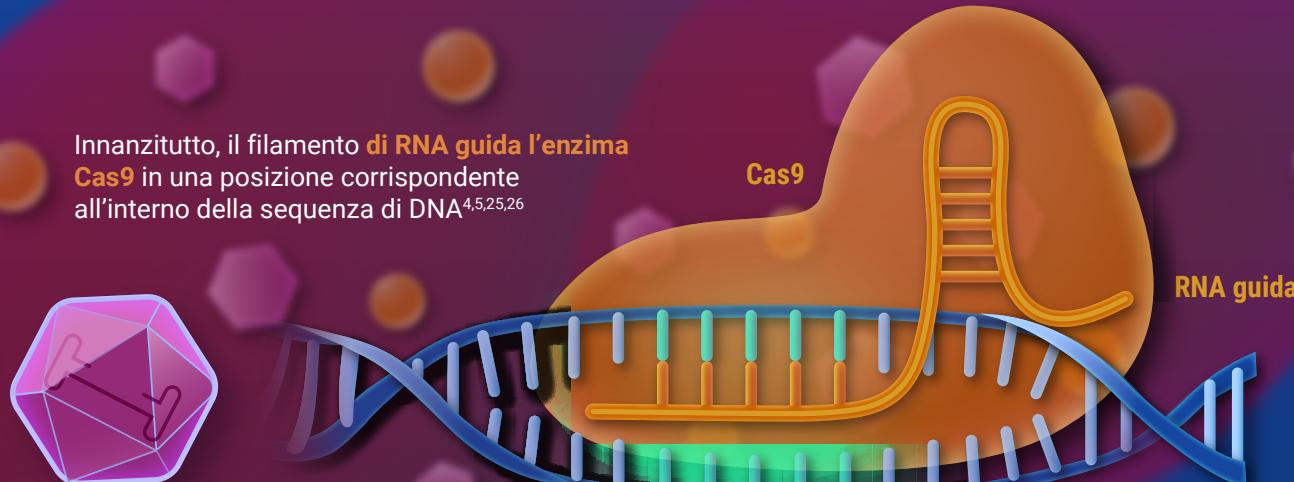
CRISPR è uno strumento versatile. L'inserzione mirata di geni basata su CRISPR per l'emofilia B è una terapia *in vivo*, il che significa che l'inserzione di geni avviene nelle cellule epatiche all'interno dell'organismo. Con le terapie geniche *ex vivo*, le cellule dei pazienti vengono rimosse e modificate al di fuori del laboratorio prima di essere reintrodotte nell'organismo^{4,5,24,25}

L'inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR è un processo in due fasi:^{4,5}

Passaggio 2: Inserzione mirata del gene del fattore terapeutico 9

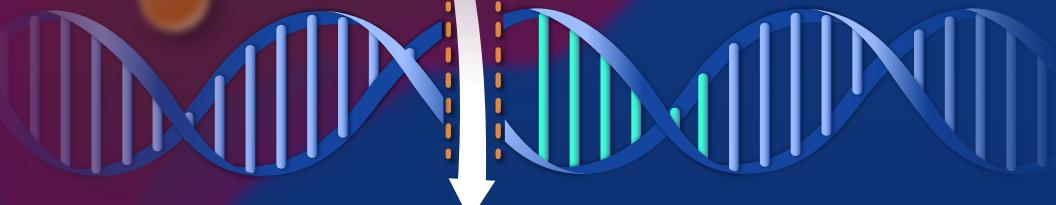
Una volta all'interno delle cellule epatiche, CRISPR è progettato per creare un'apertura nel DNA in una posizione precisa in cui può essere inserito il **gene del fattore terapeutico**^{9,4,5,25}

Innanzitutto, il filamento di RNA guida l'enzima Cas9 in una posizione corrispondente all'interno della sequenza di DNA^{4,5,25,26}



Gene del fattore terapeutico 9

Quindi, l'enzima Cas9 crea una piccola apertura^{4,5,25}



...dove viene inserito il gene del fattore terapeutico 9^{4,5,25,27}



Approfondimento

L'RNA guida l'enzima Cas9 in una posizione corrispondente all'interno della sequenza del DNA. Solo allora l'enzima Cas9 creerà una piccola apertura per l'inserzione del nuovo gene²⁵



L'aggiunta del gene F9 terapeutico è progettata per aiutare l'organismo a produrre il **fattore funzionale 9** utilizzando le istruzioni del gene terapeutico^{3,5}

Inserzione mirata di geni sperimentale basata su CRISPR per l'emofilia B...



... è realizzata su solide basi di ricerca genetica in continuo sviluppo ed è in fase di studio in studi preclinici e sperimentazioni cliniche²⁶



Approfondimento



...attualmente può essere somministrata una sola volta. Oggi i vettori virali utilizzati nel trattamento possono essere introdotti nell'organismo solo una volta, perché la risposta immunitaria dell'organismo può impedirne la nuova somministrazione²⁴

Se il trattamento non ha successo, i pazienti possono parlare con i loro operatori sanitari della possibilità di tornare in sicurezza alla loro routine di trattamento precedente o ad altre opzioni di trattamento che non utilizzano AAV^{4,5,26}



...ha come bersaglio le cellule epatiche (cellule non riproduttive), quindi il gene terapeutico e i suoi effetti non sono destinati a essere trasmessi alla prole^{4,5}



Approfondimento



...è auspicabile per uso pediatrico^{4,5}

L'inserzione mirata del gene basata su CRISPR può essere adatta all'uso pediatrico, poiché la ricerca traslazionale indica che il trattamento è duraturo anche con l'accrescimento del fegato^{4,5}



...è un trattamento che dura tutta la vita, dopo una dose singola per l'emofilia B senza la necessità di una terapia sostitutiva del fattore di routine^{4,5,24,26}

1. National Bleeding Disorder Foundation. Hemophilia B. <https://www.hemophilia.org/bleeding-disorders-a-z/types/hemophilia-b>. Accessed March 11, 2024.
2. National Organization for Rare Disorders. Hemophilia B. <https://rarediseases.org/rare-diseases/hemophilia-b/>. Accessed March 11, 2024.
3. American Society of Gene and Cell Therapy. Gene Editing. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/gene-editing>. Accessed March 11, 2024.
4. Regeneron. Data on file.
5. Sabin L. Novel approaches for gene-based therapies: Targeted gene insertion of Factor 9 as a potential durable treatment for hemophilia B. Lecture presented at: American Society of Hematology; 2023; San Diego, CA.
6. American Society of Gene and Cell Therapy. Hemophilia. <https://patienteducation.asgct.org/disease-treatments/hemophilia>. Accessed April 11, 2024.
7. Hastie E et al. *Hum Gene Ther.* 2015;26:257-265.
8. Wang D et al. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18(5):258-378.
9. Guo N et al. *J Adv Res.* 2022;40:135-152.
10. Glybera. Summary of Product Characteristics. UniQure biopharma; 2012.
11. US Food and Drug Administration. FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-novel-gene-therapy-treat-patients-rare-form-inherited-vision-loss>. Accessed March 13, 2024.
12. Luxterna. Summary of Product Characteristics. Novartis Europharm Limited; 2018.
13. National Bleeding Disorder Foundation. FDA approves first gene therapy to treat adults with hemophilia B. <https://www.hemophilia.org/news/first-hemophilia-b-gene-therapy-approved-by-fda>. Accessed March 13, 2024.
14. Hemgenix. Summary of Product Characteristics. CSL Behring GmbH; 2023.
15. US Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for patients with sickle cell disease. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapies-treat-patients-sickle-cell-disease>. Accessed March 13, 2024.
16. Casgevy. Summary of Product Characteristics. Vertex Pharmaceuticals Limited; 2024.
17. US Food and Drug Administration. FDA approves first gene therapy for adults with severe hemophilia A. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-gene-therapy-adults-severe-hemophilia>. Accessed March 13, 2024.
18. Intellia Therapeutics. Intellia Therapeutics Announces First Patient Dosed in the Phase 3 MAGNITUDE Study of NTIA-2001 as a Single-Dose CRISPR-Based Treatment for Transthyretin Amyloidosis with Cardiomyopathy. <https://ir.intelliatax.com/news-releases/news-release-details/intellia-therapeutics-announces-first-patient-dosed-phase-3>. Accessed March 20, 2024.
19. American Society of Gene & Cell Therapy. Viral vector overview. [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/sept-launch-website-material/viral_vector_overview-\(7\).aspx?_ga=2.48894181.291594531.1716920733-636341200.1705006481&_gl=1*1hml908*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_6FB6X4L6XF*MTcxNjkyMDczMy4yNS4wLjE3MTY5MjA3MzMlAuMC4w*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4wLjE3MTY5MjA3MzMlMuMC4wLjA](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/sept-launch-website-material/viral_vector_overview-(7).aspx?_ga=2.48894181.291594531.1716920733-636341200.1705006481&_gl=1*1hml908*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_6FB6X4L6XF*MTcxNjkyMDczMy4yNS4wLjE3MTY5MjA3MzMlAuMC4w*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4wLjE3MTY5MjA3MzMlMuMC4wLjA). Accessed March 13, 2024.
20. American Society of Gene & Cell Therapy. What is gene therapy? [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/what-is-gene-therapy.aspx?_gl=1*mfd0r*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjA4NTUUuMC4w&_ga=2.48290405.291594531.1716920733-636341200.1705006481](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/what-is-gene-therapy.aspx?_gl=1*mfd0r*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjA4NTUUuMC4wLjA.*_ga_6FB6X4L6XF*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjA4NTUUuNTMuMC4w&_ga=2.48290405.291594531.1716920733-636341200.1705006481). Accessed March 13, 2024.
21. Mietzsch M, Agbandje-McKenna M. *Ann Rev Virol.* 2017;4(1):iii-v.
22. Uddin F, et al. *Front Oncol.* 2020;10:1387.
23. Kazemian P, et al. *Mol Pharmaceutics.* 2022;19(6):1669-1686.
24. American Society of Gene and Cell Therapy. Vectors 101. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-101/vectors-101>. Accessed March 13, 2024.
25. Asmamaw M, Zawdie B. Biologics: Targets and Therapy. 2021;15:353-361.
26. American Society of Gene and Cell Therapy. How does gene editing work? [https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/gene-editing-infographic-\(1\).aspx?_gl=1*whqa23*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjEzNjguMC4wLjA.*_ga_6FB6X4L6XF*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjEzNjguNjAuMC4w&_ga=2.54655592.291594531.1716920733-636341200.170500648](https://asgct.org/global/documents/patient-ed-infographics/gene-editing-infographic-(1).aspx?_gl=1*whqa23*_ga*NjM2MzQxMjAwLjE3MDUwMDY0ODE.*_ga_Q37QKR6TCJ*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjEzNjguMC4wLjA.*_ga_6FB6X4L6XF*MTcxNjkyMDczMy4yNS4xLjE3MTY5MjEzNjguNjAuMC4w&_ga=2.54655592.291594531.1716920733-636341200.170500648). Accessed March 13, 2024.
27. American Society of Gene and Cell Therapy. Gene Therapy Approaches. <https://patienteducation.asgct.org/gene-therapy-approaches>. Accessed March 11, 2024.