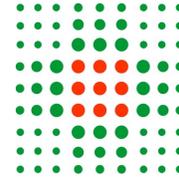




**Dipartimento
di Neuroscienze
e Riabilitazione**



**SERVIZIO SANITARIO REGIONALE
EMILIA-ROMAGNA**
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Ferrara

Riparare i freni

Verso una terapia genica “meccanicistica” per l’epilessia

Michele Simonato

Cos'è l'epilessia

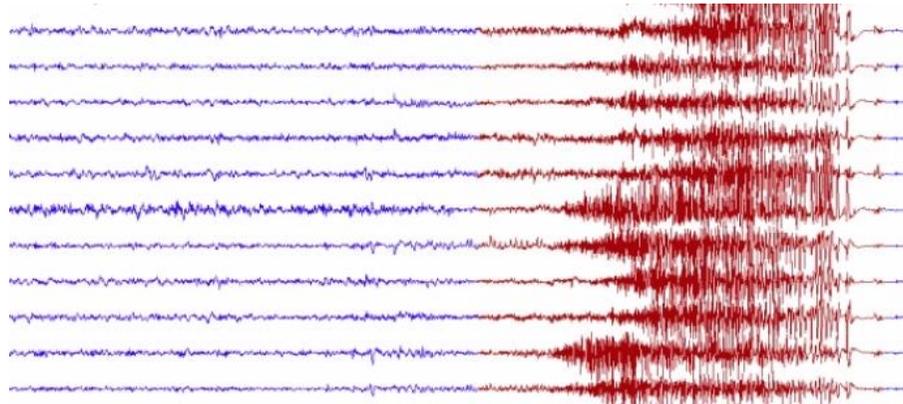
έπιλαμβάνομαι

essere colto di sorpresa

essere invaso

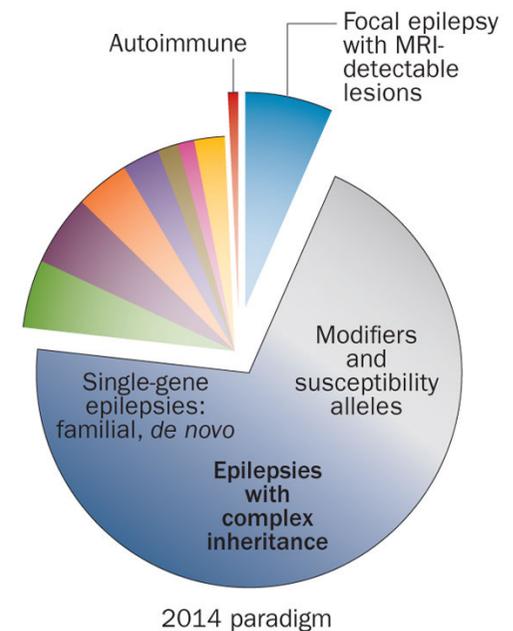
Che cos'è l'epilessia

- Un **insieme di malattie** caratterizzate da crisi (attacchi) spontanei e non prevedibili.
- Una **crisi epilettica** consiste nella transitoria comparsa di segni e sintomi dovuti ad attività neuronale anormale, eccessiva e sincrona.
- Le crisi epilettiche sono associate a scariche anormali di ampiezza eccessiva all'EEG, e sono spesso associate a perdita di coscienza.



Classificazione

- **Crisi:**
 - **Focali**, quando originano in una porzione del cervello.
 - **Generalizzate**, quando investono tutto il cervello:
 - Es. tonico-cloniche, assenze, miocloniche.
- **Epilessia:**
 - **Genetica.**
 - **Strutturale-metabolica (lesionale).**
 - **Di origine sconosciuta.**



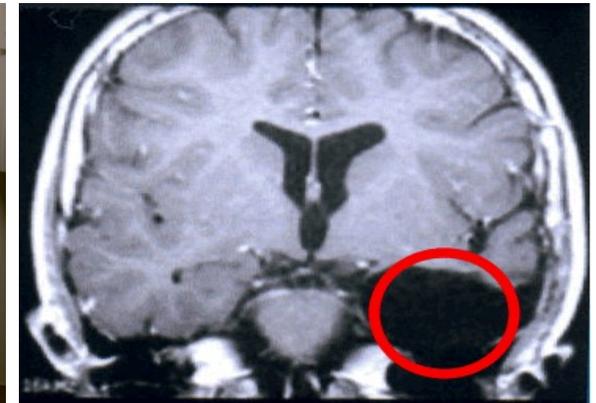
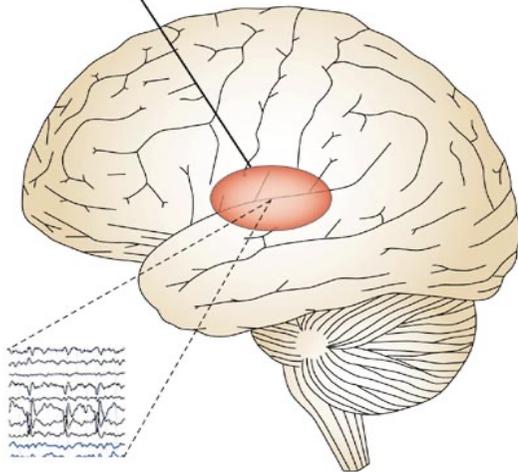
I numeri dell'epilessia

- **700 milioni:** persone che presentano una crisi epilettica nell'arco della propria vita.
- **60 milioni:** persone con epilessia al mondo (più delle persone con sclerosi multipla, Parkinson, paralisi cerebrale e distrofia muscolare insieme).
- **10.000** nuovi casi di epilessia ogni giorno.
- Più di **60.000** casi ogni anno di morte improvvisa causata da epilessia.
- **Un terzo** dei pazienti non risponde alla terapia.

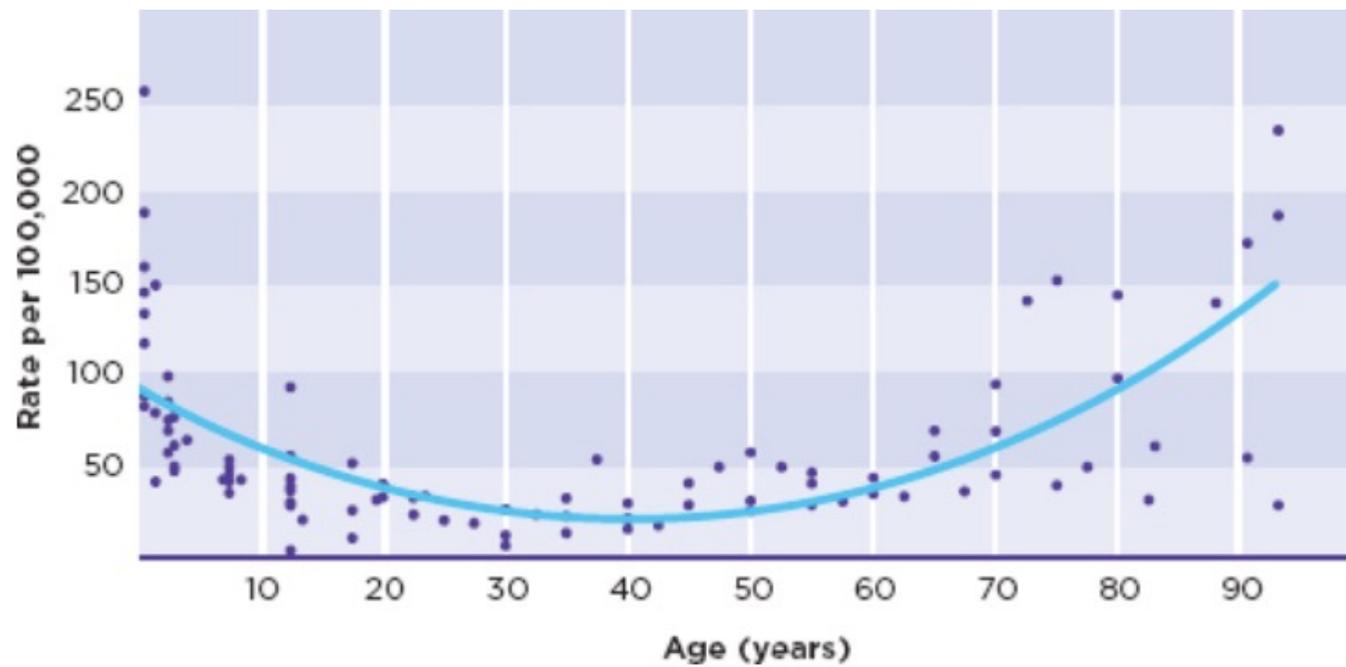
Alternative terapeutiche

- In selezionati casi di pazienti **farmaco-resistenti**, un'opzione terapeutica è la **resezione chirurgica** dell'area epilettogena.

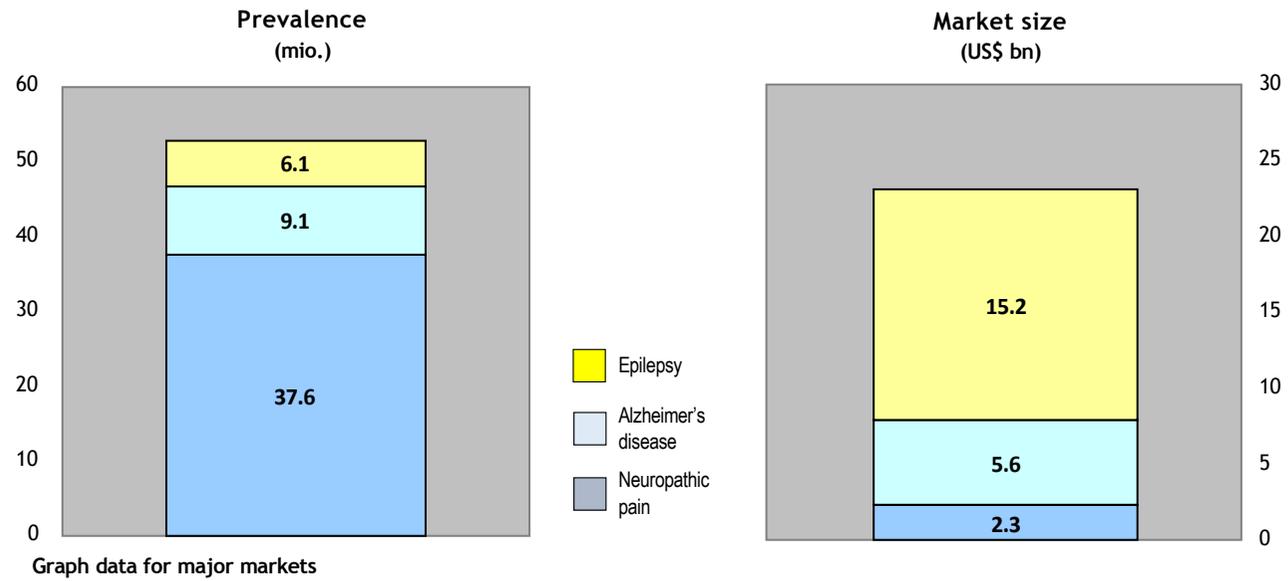
Characteristics of the epileptogenic focus:
Increased excitability
(decreased GABAergic activity)



Il “sorriso” dell’epilessia



Costi



Source:
Business Insights and Datamonitor [‘Big Pharma’ Turns to Biologics for Growth to 2010, May 2006, DMHC2190]

Criticità

- Più del 70% delle persone con epilessia nei Paesi in via di sviluppo **non ha accesso alle terapie**.
- L'epilessia è molto più delle crisi – la vita delle persone con epilessia è condizionata da **pregiudizi**, dalle **co-morbidità**, e dagli effetti collaterali della terapia.



TRENTA ORE
per la **VITA**

MIGLIAIA DI BAMBINI OGNI ANNO SONO VITTIME DI CRISI EPILETTICHE, MA IL MONDO TACE.
#epilessiaparliamone

invia un sms o chiama da rete fissa il
45546
dal 2 al 17 ottobre

**I MIEI ATTACCHI
NON FANNO
NOTIZIA.**

Bisogni terapeutici in epilessia

- Trattamenti più tollerabili che non influiscano sulla qualità della vita.
- Trattamento della resistenza alla terapia (1/3 dei pazienti) e trattamento delle sindromi difficili (Dravet, Lennox-Gastaut, spasmi infantili, ...).
- Trattamento delle comorbidità (depressione, deficit cognitivo, deterioramento della memoria).
- Terapia antiepilettogena/disease modifying.
- Trattamenti specifici per età/sexo.
- Valutazione in tempo reale della soglia alle crisi, in modo da rendere non necessario un trattamento farmacologico continuo.

(Galanopoulou et al., Epilepsia 2012)

(Simonato et al., Lancet Neurol 2014)

(Pitkanen et al., Epilepsia 2019)

Bisogni terapeutici in epilessia

- Trattamenti più tollerabili che non influiscano sulla qualità della vita.
- **Trattamento della resistenza alla terapia** (1/3 dei pazienti) e trattamento delle sindromi difficili (Dravet, Lennox-Gastaut, spasmi infantili, ...).
- Trattamento delle comorbidità (depressione, deficit cognitivo, deterioramento della memoria).
- Terapia antiepilettogena/disease modifying.
- Trattamenti specifici per età/sexo.
- Valutazione in tempo reale della soglia alle crisi, in modo da rendere non necessario un trattamento farmacologico continuo.

(Galanopoulou et al., Epilepsia 2012)

(Simonato et al., Lancet Neurol 2014)

(Pitkanen et al., Epilepsia 2019)

Criticità

- Più del 70% delle persone con epilessia nei Paesi in via di sviluppo **non ha accesso alle terapie.**
- L'epilessia è molto più delle crisi – la vita delle persone con epilessia è condizionata da **pregiudizi**, dalle **co-morbidità**, e dagli effetti collaterali della terapia.
- La nostra conoscenza dei meccanismi alla base delle epilessie è **lacunosa**.

freno
GABA



acceleratore
Glutamato



Alterations in GABA-A receptor subunit composition
in temporal lobe epilepsy:
pathogenetic role and foundation
for a mechanistic, combinatorial gene therapy

GABA GT



Finanziato
dall'Unione europea
NextGenerationEU

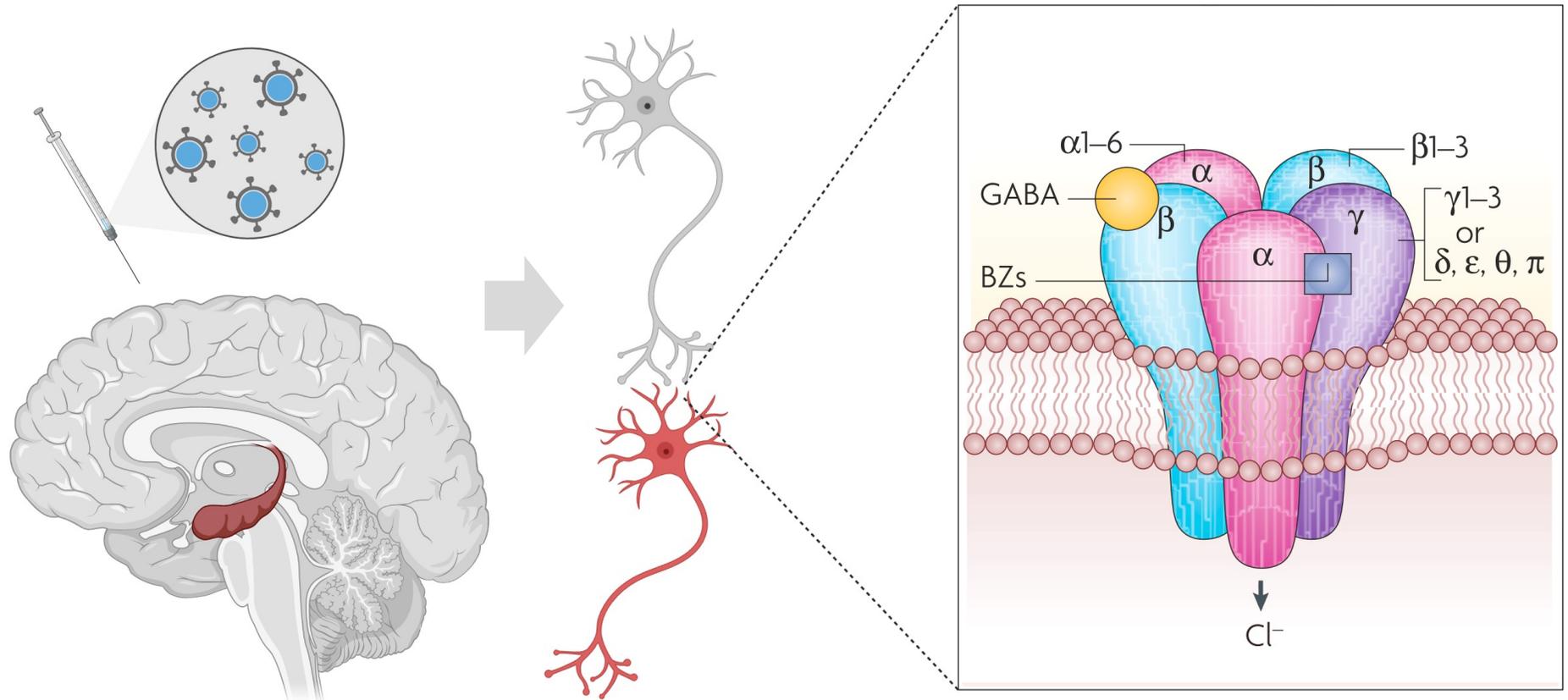


Ministero della Salute

Idea progettuale

- Sviluppare una terapia genica per epilessie parziali farmaco-resistenti
- **Razionale:**
 - I DREADDs (designer receptors exclusively activated by designer drugs) hanno due problemi a livello traslazionale:
 - I transgeni sono proteine non fisiologiche → pox reazione immune
 - I farmaci sono nuovi e vanno caratterizzati
- **Obiettivo:**
 - Identificare alterazioni-chiave nella composizione dei recettori GABA-A
 - Sviluppare vettori mirati per correggere le alterazioni, e potenziare così la risposta fisiologica al GABA endogeno ma anche quella a BARB e BDZ

GENE THERAPY FOR TLE EXPLOITING GABA_A RECEPTORS



Team

- UO1 (Ferrara): modelli animali (pilocapina, SSSE); espressione delle subunità GABA-A
- UO1 (Milano San Raffaele): espressione delle subunità GABA-A; sviluppo e caratterizzazione dei vettori
- UO2 (NeuroMed): elettrofisiologia ex vivo (ratto e uomo); raccolta dei tessuti umani
- UO3 (Milano Besta): archivio di tessuti umani; raccolta dei tessuti umani

Obiettivi

- WP1: Characterization of the alterations in GABA-A receptor subunit composition in hippocampal neuronal cells in the natural history of mesial temporal lobe epilepsy (mTLE).
- WP2: Characterization of the alterations in GABA-A receptor physiology in hippocampal neuronal cells in the natural history of mTLE.
- WP3: Development of a gene therapy platform for the modulation and correction of mTLE-induced alterations in GABA-A receptor function.

WP1

Characterization of the alterations in GABA-A receptor subunit composition in hippocampal neuronal cells in the natural history of mesial temporal lobe epilepsy (mTLE)

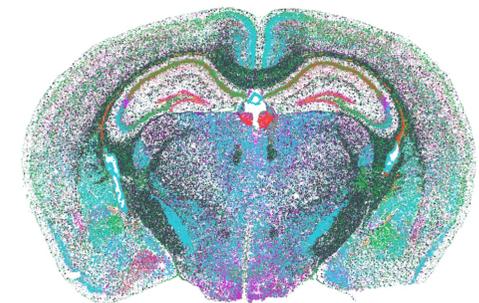
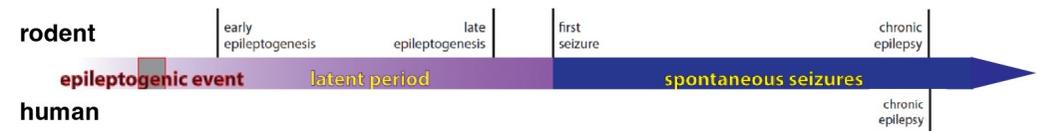
- Modelli: pilo e SSSE; pazienti TLE

- Time points:

- Modelli (con monitoraggio telemetria video-EEG): prima dello SE; latenza (5gg dopo SE); prima crisi spontanea; 2 settimane dopo la prima crisi; 2 mesi dopo la prima crisi
- Pazienti: corrispondenti all'ultimo time-point

- Analisi:

- *Spatial transcription analysis*: misura dell'espressione delle diverse subunità in sezioni di tessuto
- Verifica istologica: IF



WP2

Characterization of the alterations in GABA-A receptor physiology in hippocampal neuronal cells in the natural history of mTLE

- Modelli: pilo e SSSE; pazienti TLE
- Time points:
 - Modelli (con monitoraggio telemetria video-EEG): prima dello SE; latenza (5gg dopo SE); prima crisi spontanea; 2 settimane dopo la prima crisi; 2 mesi dopo la prima crisi
 - Pazienti: corrispondenti all'ultimo time-point
- Analisi:
 - Fettine acute
 - Patch clamp

WP3

Development of a gene therapy platform for the modulation and correction of mTLE-induced alterations in GABA-A receptor function

- Vettori: Lenti
- Vector design:
 - In base a WP1 e WP2
- Messa a punto:
 - Procedura già fatta
- Testing:
 - Modelli murini

Ce la possiamo fare?

Clinical trial #NCT04601974 (University College of London)



- Phase I/IIa clinical trial investigating the safety of a lentiviral gene therapy using an engineered potassium channel in patients with refractory epilepsy.
- Recruiting **patients with refractory neocortical epilepsy** who are being evaluated for surgical resection of the seizure focus.
- The vector will be administered via intracerebral infusion to the area scheduled for resection.
- Primary objective: test safety.
- Secondary objectives: look at delayed onset adverse events and indicators of efficacy.



Clinical trial #NCT05419492 (ENDEAVOR) (Encoded Therapeutics)



- Phase 1/2, multicenter study to evaluate the safety and efficacy of ETX101 in participants with **SCN1A-positive Dravet syndrome** aged 6 to 36 months.
- ETX101 is a non-replicating, recombinant adeno-associated viral vector serotype 9 (rAAV9) comprising a GABAergic regulatory element (reGABA) and an engineered transcription factor that increases transcription of the SCN1A gene.
- ETX101 is intended as a one-time intracerebroventricular (i.c.v.) administration.
- Primary objective: test safety.
- Secondary objectives: look at delayed onset adverse events and indicators of efficacy.

Atrofia muscolare spinale

The NEW ENGLAND
JOURNAL *of* MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

NOVEMBER 2, 2017

VOL. 377 NO. 18

Single-Dose Gene-Replacement Therapy for Spinal Muscular Atrophy

J.R. Mendell, S. Al-Zaidy, R. Shell, W.D. Arnold, L.R. Rodino-Klapac, T.W. Prior, L. Lowes, L. Alfano, K. Berry, K. Church, J.T. Kissel, S. Nagendran, J. L'Italien, D.M. Sproule, C. Wells, J.A. Cardenas, M.D. Heitzer, A. Kaspar, S. Corcoran, L. Braun, S. Likhite, C. Miranda, K. Meyer, K.D. Foust, A.H.M. Burghes, and B.K. Kaspar

CONCLUSIONS

In patients with SMA1, a single intravenous infusion of adeno-associated viral vector containing DNA coding for SMN resulted in longer survival, superior achievement of motor milestones, and better motor function than in historical cohorts. Further studies are necessary to confirm the safety and efficacy of this gene therapy.

Storia di Tenley



Ce la possiamo fare?



We don't know how **strong** we are
until being strong is the only **choice**

Non sappiamo quanto possiamo essere forti
fino a quando non abbiamo altra scelta che essere forti

Ringraziamenti

Barbara Bettegazzi
Stefano Cattaneo
Lucia Crippa
Martina Bonfanti
Cristina Porcari
Iris Giupponi



Silvia Zucchini
Chiara Ruzza
Mario Barbieri
Marie Soukupova
Annunziata Guarino
Laila Asth
Valentina Arlotti
Pietro Marino
Pietro Pola
Cristiana Pareo
Ester Cocciolo
Nicolò Birtolo



OSPEDALE SAN RAFFAELE



**Funded by the
European Union**
NextGenerationEU

Progetti di Rilevante
Interesse Nazionale
PRIN 