2° COMUNICAZIONE ORALE

ID: 185 - Sinergia tra terapia genica mediata da AAV e modulazione di stress ossidativo nel modello animale della malattia di Pompe.

Anna Valanzano2, Carla Damiano2, Rosa Maritato2, Antonia Assunto1, Nadia Minopoli1, Maria Rosaria Tuzzi2, Alessia Medugno2, EmanuelaD'Andretta2, Enrico Maria Surace2, Giancarlo Parenti2, Antonietta Tarallo2, Edoardo Nusco1
1 Istituto Telethon di Genetica e Medicina (TIGEM), Pozzuoli, Italia, **2** Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, Italia

Background La malattia di Pompe (MP) è una miopatia metabolica ereditaria causata dal deficit dell'enzima lisosomiale α-glucosidasiacida (GAA), con conseguente accumulo di glicogeno. Molteplici pathways e funzioni cellulari secondariamente alterati (come autofagia, infiammazione, funzione mitocondriale e stress ossidativo), in aggiunta al difetto enzimatico primario, possono influenzare la cascata patogenetica della malattia e la risposta alle terapie. Attualmente, la Terapia Enzimatica Sostitutiva (ERT) è l'unico trattamento approvato, mentre approcci alternativi, anche basati sull'utilizzo di Vettori Adeno-Associati (AAV) sono ancora in fase sperimentale. Lo scopo del presente studio è di valutare gli effetti della combinazione di terapia genica e modulazione genetica o farmacologica dello stress ossidativo.
Metodi Abbiamo utilizzato un costrutto AAV9-CMV-GAA. Per la modulazione di pathways di stress ossidativo e funzione mitocondriale abbiamo utilizzato costrutti recanti geni antiossidanti endogeni (AAV-CMV-Catalasi o SOD2) oppure abbiamo utilizzato antiossidanti farmacologici (N-Acetilcisteina - NAC). Per gli studi preliminari in-vitro abbiamo utilizzato cellule HEK293 e fibroblasti di pazienti affetti da malattie di Pompe. Gli studi in vivo sono stati effettuati nel modello murino della malattia (Gaa). I diversi vettori sono stati utilizzati da soli o in combinazione. I vettori sono stati somministrati per via sistemica alla dose di 3×10^{12} gc/kg a 4 settimane di età, e gli animali sacrificati dopo 4 settimane. Abbiamo utilizzato Real-Time PCR per valutare le copie genomiche dei vettori e l'espressione dei geni; dosaggio enzimatico per l'attività della GAA; Western blot e saggi biochimici specifici per analizzare livello di stress, ROS e per ossidazione lipidica.
Risultati In vitro, la co-espressione di GAA con Catalasi o SOD2 ha incrementato l'attività enzimatica rispetto al solo costrutto GAA. In-vivo, la co-iniezione di AAV9-CMV-GAA con AAV9-CMV-Catalasi ha determinato l'effetto migliore sull'attività enzimatica della GAA, con effetti più evidenti nel cuore, e più modesti in diaframma, gastrocnemio, quadricipite e fegato. I livelli di pP38, GR e LC3, ROS e per ossidazione lipidica hanno evidenziato una modulazione tessuto-specifica dello stress ossidativo e dell'autofagia in base ai vari trattamenti.
Conclusione La modulazione di pathways specifici può fornire un approccio complementare per potenziare la risposta terapeutica alla terapia genica.