

DI CHI SONO I GENI?

Giovedì, 22 agosto 2002, ore 15.30

Relatori:

Bruno Dallapiccola, Presidente Società Italiana di Genetica Umana; Piergiuseppe Pelicci, Direttore Dipartimento di Oncologia Sperimentale all'Istituto Europeo Oncologia; Mariagrazia Roncarolo, Direttore Istituto Telethon per Terapia Genetica

Moderatore:

Marco Pierotti, Direttore Dipartimento di Oncologia Sperimentale all'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano

Moderatore: Ringrazio gli amici del Meeting per l'onore di farmi continuare a fare un incontro sulla genetica. Questo incontro si svolge nell'ambito dell'Associazione Medicina e Persona e ringrazio il dott. Marco Greni per avermi aiutato a questo incontro.

Il genoma umano è stato l'incontro di due anni fa. Se vi ricordate era stato presentato come l'inizio della bozza della decifrazione del genoma. Recentemente in un congresso di Dublino a maggio Francis Collins – uno dei due padri del progetto menoma – ha annunciato che la completa decifrazione di tre miliardi di lettere che costituiscono il genoma umano, sarà sicuramente compiuta l'anno prossimo nel 2003. Prima di introdurre i tre graditi ospiti che svolgeranno il tema, in una breve introduzione ho scoperto che già prima di me altri hanno cercato di coniugare il tema che gli era stato proposto con l'argomento generale del Meeting (“La contemplazione della bellezza, il sentimento delle cose”).

So che chi ha fatto questo in politica ha suscitato un po' di scandalo e di scalpore. Spero di fare un'operazione simile con la genetica sollevando un altrettanto scandalo. Perché no?

Allora il sentimento delle cose chiaramente mi ricorda il riverbero, il flusso che proviene dalle cose.

Credo di aver letto che la questione più vicino a questo è quando ti arriva il sonno, il sonno stacca la presa ed uno si ricala nella realtà.

Questo sentimento delle cose non è una sensazione ma una cosa molto concreta con la realtà e per noi che ci occupiamo di genetica il sentimento delle cose viventi ultimamente è dato dai geni e dal loro funzionamento.

Un po' più difficile è cogliere in maniera concreta, in un ambito genetico razionale e meccanicistico, il concetto di bellezza. Ciò che normalmente è bello non è detto che in genetica lo sia.

Dallapiccola poco fa mi diceva “purtroppo io come genetista mi trovo davanti non al bello ma al brutto, che sono le malformazioni genetiche”. Quindi la bellezza va intesa in un altro senso, in un altro significato. Non certo quello che sul Corriere della sera esprimeva Francesco Alberini in un saggio intitolato “La bellezza: quella emozione

interrotta e struggente”. In tutta la sua tesi c’era un qualcosa di nostalgia per una azione interrotta, non compiuta.

Per noi invece conoscere vuol dire agire. Ma noi ci occupiamo di conoscenza, e sappiamo anche quant’è doloroso il processo della conoscenza intellettuale se non sostenuto da una affezione, che porta a concludere che ultimamente l’unica conoscenza possibile per l’uomo è quella affettiva. Per conoscere come funzionano i geni non basta comprendere i meccanismi di un processo biologico, si conosce soprattutto ciò che ci colpisce. Ed affetto significa essere colpiti, quindi corrispondenza: per essere colpiti occorre essere attratti, affascinati, cioè è necessaria la bellezza, e la bellezza è ciò che è fatto per me, che mi permette di conoscere una realtà e che questa realtà è fatta per me. La realtà dei miei geni è una delle cose più affascinanti, più fondamentali che riguardano l’esser umano.

L’altro punto del titolo del tema dice “contemplazione della bellezza”.

Contemplazione è un concetto che mette in relazione biunivoca chi contempla e chi è contemplato, cioè è un possedere ed un essere posseduto simultaneamente.

Nel nostro caso si propone un interessante paradosso. Se noi siamo fatti di geni, cioè lo strumento nostro conoscitivo, come è possibile che comprendiamo come funzionano questi ultimi. Normalmente nei nostri processi di ricerca scientifica ci creiamo degli schemi con i quali indaghiamo gli oggetti del nostro interesse. In questo caso lo strumento si fa oggetto di ricerca.

Come se ne esce da questo paradosso? Forse ricordando Francis Collins – il papà del genoma umano – il quale in ogni occasione non si stancava mai di ribadire che l’uomo è più della somma dei geni. Questo “di più” che caratterizza l’unicità dell’essere umano, può essere ben chiamato senso religioso, cioè quella dimensione che solleva domande da cui partono libertà e responsabilità: i due elementi che dovrebbero guidare e guidarci nella nostra ricerca scientifica della natura e della conoscenza dell’uomo.

Libertà cioè non vincoli alla ricerca libera purché questa sia responsabile, cioè abbia l’uomo al centro del suo interesse.

Per svolgere questo tema in questa prima tornata, prima di affrontare la domanda “di chi sono i geni?” ovvero “di chi è la realtà?”, i nostri amici relatori ci presenteranno tre aspetti. In particolare Bruno Dallapiccola, professore di genetica umana all’Università La Sapienza di Roma, Direttore della Scuola di specialità di genetica medica e Direttore scientifico dell’Istituto di ricovero e cura a carattere scientifico Ospedale Casa del sollievo e della sofferenza San Giovanni Rotondo, Direttore Scientifico dell’Istituto Mendel di Roma, presenterà un excursus sui nostri geni, da dove vengono, da quanto e come è stabile il genoma.

Il secondo relatore, Piergiuseppe Pelicci, Dipartimento di Oncologia Sperimentale Istituto Europeo di Milano, Professore ordinario di patologia generale Università Vita e Salute, Ospedale San Raffaele di Milano e Direttore del laboratorio di genetica molecolare delle leucemie dell’Istituto Firche (?) di oncologia molecolare di Milano, è il rappresentante dei cosiddetti cacciatori di geni; nella sua vita è andato alla ricerca di geni fondamentali per processi come il cancro, si è imbattuto in uno di questi, di

cui ci parlerà oggi, che è di per sé emblematico in quanto è coinvolto sia in processi cancerosi ma anche nell'invecchiamento.

Infine Maria Grazia Roncarolo, che è Direttore Istituto San Raffaele Telethon per Terapia Genetica di Milano e Professore associato in pediatria presso l'Università Vita e Salute dell'ospedale San Raffaele, ci presenterà degli esempi di terapia genetica, di genetica buona contrapposto alla genetica arrogante che cerca di manipolare il genoma umano. Qui abbiamo le risposte positive, la genetica per il bene dell'uomo.

Lascio la parola.

Bruno Dallapiccola: (vengono utilizzati lucidi/diapositive). Cercherò di dare delle risposte a tre problemi generali: da dove vengono i nostri geni, la plasticità e le mutazioni del nostro genoma ed infine, esemplificare varie situazioni che giustifichino perché ci sia così grande interesse ai nostri geni e perché vi ci si metta mano.

La prima domanda sembra banale. Da bambini ci dicevano che ce li portava la cicogna. Vedete però che sotto c'è un segnale inquietante della possibilità di fare i bambini con il sistema fotocopia, pensate alla clonazione. Ma non vorrei parlare di questo, ma segnalarvi invece due problemi generali del problema. La scelta dei nostri geni basata sulla venuta tradizionale del contributo apportato dai nostri genitori, attraverso l'eredità cromosomica, l'eredità citoplasmatica e poi ancora segnalarvi che c'è un inquietante problema che ci indica che oggi in Italia l'1% dei concepimenti non avviene secondo gli schemi tradizionali, ma su una gravidanza assistita o manipolata. Ed ecco allora giusta il riferimento che il Papa faceva domenica scorsa a Cracovia mettendo l'indice sul pericolo a qualcuno che si atteggia a creatore e voglia fare qualcosa al di là di quello che noi chiamiamo naturale.

Ci sono due atteggiamenti fondamentali che portano a queste manipolazioni. Innanzitutto la stupidità umana. La prossima diapositiva ci riporta indietro di pochi anni; voi tutti avete forse letto questo annuncio che è stato rilanciato dalla stampa italiana, la vendita di eurociti di modelle su Internet nell'intento che l'eurocita di una modella sia la promessa per fare un figlio più bello; niente di nuovo sotto il sole; trenta anni prima un ricco americano era riuscito a reclutare il liquido seminale di trenta premi Nobel nella convinzione che quel liquido seminale avesse creato dei figli più intelligenti.

Ma non è questa la manipolazione alla quale volevo fare riferimento.

Nella prossima immagine volevo ricordare che gli strumenti che abbiamo consentono veramente di manipolare o di andare ad indagare molto finemente all'inizio di una gravidanza o ancora prima dell'inizio del concepimento.

La prossima diapositiva vi fa vedere che l'elenco degli interventi di manipolazione è variegato; vi faccio vedere solo questa immagine che è la classica immagine di un procedimento in vitro dove una grande massa, la cellula uovo della mamma, viene aggredita dagli spermatozoi per dare via ad un nuovo concepito.

Ma vi sono degli interventi ancora più "virtuosi", nel caso di un maschio che è incapace di produrre gameti con capacità fecondante si preleva meccanicamente il

gamete e lo si introduce nell'ovocita, dove purtroppo si porta dentro non solo un genoma di un maschio, ma un genoma che proprio perché è stato prodotto in condizioni precarie ha un alto rischio di portare degli errori genetici.

La prossima diapositiva per farvi vedere che anche dopo poche ore dall'inizio di una gravidanza è possibile fare biopsie di questa vita nascente e fare indagini specifiche su malattie genetiche.

La punta di diamante di questa avventura riproduttiva e rivoluzionaria è rappresentata dalla clonazione. E è un vero peccato che una tecnica come questa, che ci serve per capire molto dell'orologio biologico, della biologia della cellula, che è fonte inesauribile di informazione anche su malattie, sia invece stata trattata in maniera del tutto diversa e pensata per fare risorgere individui estinti – cosa che a dir il vero è problematica - e per creare nuovi individui. Purtroppo questa non è una utopia.

La prossima diapositiva ci introduce in un concetto di tipo generale: comunque venga fatto il nostro genoma messo insieme, i genomi sono dinamici, mutano. La mutazione è anche alla base dell'evoluzione come ci ha insegnato Darwin.

La prossima diapositiva ci ricorda che per arrivare a questa, che è la formula dei cromosomi dell'uomo, ci sono voluti milioni di anni di evoluzione per arrivare al passaggio dalle scimmie all'uomo. Noi abbiamo oggi in alcune persone una traccia dell'ultima tappa di questa evoluzione. Il cromosoma due dell'uomo non è altro che la fusione di due cromosomi che vengono da scimmie vicine a noi e qualcuno mantiene ancora questa regione di instabilità che è una cicatrice, un segnale dell'evoluzione.

La prossima diapositiva, mostra un'evoluzione più fine che riguarda i geni. Noi siamo abituati sulla base della genetica mendeliana a guardare i caratteri così come si manifestano. I piselli hanno una superficie liscia piuttosto che rugosa, ma sappiamo che a quel fenotipo, a quel modo di esprimersi, non corrisponde sempre necessariamente lo stesso carattere genetico. Ci sono dei genotipi che possono essere diversi.

La prossima diapositiva mostra come siamo stati in grado in questi anni di ricostruire la storia dell'evoluzione di geni così come sono arrivati a noi. Questa è la storia dell'emoglobina, quella molecola importante che porta l'ossigeno nel sangue, sulla base dello studio delle modificazioni che sono avvenute negli amminoacidi; di questa molecola in animali diversi è stato possibile ricostruire l'albero genealogico. Lo stesso è capitato nello studio dell'origine delle popolazioni. Dalla culla africana queste modificazioni hanno portato questi uomini che hanno colonizzato il mondo ad avere aspetti fenotipici diversi.

La prossima diapositiva ci ricorda che queste modificazioni spesso riguardano dei polimorfismi cioè delle mutazioni estremamente comuni. Pensate ai gruppi sanguigni.

La prossima diapositiva. Vorrei richiamare un concetto generale. Non c'è dubbio che c'è una dinamicità dei nostri geni; il genoma umano che per sua natura è in evoluzione è soggetto a mutazioni. Un documento fondamentale del genoma umano ci richiama al rispetto di queste differenze che esistono tra le persone.

L'ultima osservazione riguarda il perché si mette mano ai nostri geni.

Io ho identificato alcuni tra i punti che mi sembrano più significativi.

Il primo per ricordarvi che si mette mano ai nostri geni perché si fa della ricerca. Il progetto genoma umano è una delle espressioni più importanti di uno sforzo culturale ed economico, fondamentale per arrivare a decodificare come siamo fatti. Perché è importante decodificare? Perché è la premessa di quella conoscenza che ci dovrebbe consentire di affrontare meglio le malattie a livello di prevenzione e terapia.

Questa fase genomica è già passata, siamo in una fase post-genomica ove c'è uno sforzo in cui si cercherà di capire la struttura dei geni e le modificazioni di questa struttura in funzione delle mutazioni. Passaggio fondamentale per arrivare ad un trattamento più mirato delle malattie.

La prossima diapositiva è per introdurre il prodotto principale della ricerca genetica nelle sue applicazioni mediche. Abbiamo isolato dei geni, abbiamo iniziato a studiarli, abbiamo a disposizione degli strumenti di laboratorio, dei test genetici che ci consentono di riconoscere queste differenze grosse associate a malattie.

Noi abbiamo la possibilità di utilizzare questi test per aiutare i clinici a fare delle diagnosi, per individuare soggetti che hanno ereditato un gene che li porterà a malattia e per individuare che portano un rischio, per misurare le differenze nella suscettibilità o resistenza alle malattie presenti in ciascun individuo.

Tempo fa è uscito un film in America ove si parlava di una società futura nella quale ci sarebbe stato il dominio dei test genetici, che avevano consentito di vedere le persone migliori geneticamente.

Siccome tutti abbiamo un genoma profondamente imperfetto è assai probabile che se prevarrà questa logica che porta a leggere le magagne presenti nel nostro genoma, diventeremo un po' tutti degli ammalati immaginari, dei malati di rischio.

La prossima diapositiva vorrei ricordare un messaggio. La miniaturizzazione delle tecniche diagnostiche ha fatto sì che la possibilità di aggredire il nostro genoma è diventato facile: basta una goccia, un bulbo di capello per andare a leggere le nostre differenze genetiche.

Da questo punto di vista siamo fortemente vulnerabili.

La prossima diapositiva ci ricorda che esistono quesiti ai quali non sappiamo rispondere adeguatamente. Dobbiamo innanzitutto domandarci chi merita di essere sottoposto a test genetici. In Italia c'è un abuso di test genetici. Abbiamo calcolato che circa il 40% dei test sono fatti senza indicazione e dietro c'è un costo. In Italia c'è la più alta concentrazione di laboratori che effettuano test genetici. Naturalmente il test genetico deve essere fatto con sistemi d'informazione, controlli di qualità, evitando quegli effetti negativi quali ghetizzazioni e discriminazioni.

La prossima diapositiva è per affrontare un terzo problema del perché si mette mano ai nostri geni.

C'è una ricerca guidata da interessi commerciali. Da alcuni anni ci sono grossi investimenti su intere popolazioni.

Dietro questo c'è subito il problema della possibilità che dietro questo vengano brevettati geni poi isolati. Un problema critico.

Un ultimo problema è mettere le mani sui genomi per cercare le differenze individuali che ci rendono più o meno sensibili o vulnerabili quando prendiamo una

certa medicina. Problema della farmacogenetica e farmacogenomica, cioè la ricerca di nuove molecole con finalità terapeutica.

Chiudo questo intervento con una prossima diapositiva ricordando che in tempi non sospetti, era pregenomica, un mio collega francese aveva scritto questo interessante volume “I nuovi pigmalioni” Già allora la scienza vedeva nel mito di Pigmalione – lo scultore di Cipro che fa uscire dal suo cesello la statua di una donna della quale si innamora e poi prega Afrodite di dar vita a questa statua – questo passaggio dalla materia alla vita è un po’ un simbolo di questa grande potenzialità che c’è dietro questa fucina dei genetisti.

Questa potenzialità della genetica non è venuta a meno. Quando nel dicembre del 1999 è stato sequenziato il primo cromosoma umano, la rivista Nature dedicava a questo evento la copertina e dava come immagine la rivisitazione dell’immagine michelangiolesca della creazione nella Cappella Sistina, per rivedere questo stesso concetto.

Subito dopo il sequenziamento del genoma umano un giornalista scriveva su una nota rivista italiana sul dibattito: “e adesso che abbiamo sequenziato il genoma, che cosa ci serve?”.

Io penso che non sia facile rispondere a questa domanda. Le due cose a cui tengo di più sono: primo un investimento nella ricerca, secondo una maggiore informazione e formazione.

Ogni volta che all’utenza arriva un messaggio enfatizzato, si crea un danno difficile da sanare.

Moderatore: Due riflessioni: La prima sul concetto di genoma, quando diciamo di sequenziare il genoma noi aggiungiamo in realtà che ogni genoma è diverso dall’altro.

La seconda sulla percentuale alta di riproduzione assistita. Io credo che qui sia mancato un dibattito di natura culturale, su cosa vuol dire vocazione alla maternità e paternità, che viene reclamata come il movente per questi tipi di procedure ed approcci.

C’è un confusione tra quella che è la trasmissione dei propri geni, che non è una vocazione ma una istintualità biologica, presente in ognuno come forza di evoluzione, e la vocazione alla maternità e paternità che non è generare figli ma crescerli.

Lascio la parola ora a Pelicci

Piergiuseppe Pelicci: Sono stato invitato a rappresentare quella categoria che clona i geni e dovrei cercare di dire perché lo facciamo e cosa ci aspettiamo di buono.

In questa prima diapositiva ho sintetizzato quello che cercherò di dire in questi venti minuti.

Cercherò di rispondere alla domanda perché cloniamo i geni.

Clonare i geni significa identificarli, isolarli dal genoma, ed usarli.

Noi lo facciamo per due motivi. Perché clonando una serie di geni impariamo rispetto alle funzioni biologiche; se partiamo da domande legate a malattie, clonare un gene

malattia significa identificare quel gene che in quel particolare tipo di tumore, è responsabile dell'evento tumorale stesso.

Quindi la prima aspettativa dalla clonazione di un gene è la comprensione di un fenomeno e dei meccanismi alla base di malattie.

La seconda aspettativa è la speranza di identificare un bersaglio, quel gene o geni ad esso vicini, che possono diventare il bersaglio per nuovi farmaci e per curare una malattia. E questa è una ricaduta della conoscenza.. Questi sono i due motivi principali, del perché isoliamo i geni e ne capiamo la funzione. Implicito in questo processo, è il problema della brevettabilità del gene, cioè la rivendicazione della proprietà del gene. Perché c'è la esigenza della brevettabilità?

Vediamo la prossima diapositiva. Userò come testimonianza la scoperta di un gene, quello dell'invecchiamento, fatta due tre anni fa. La scoperta di un gene risolve in sé problema di conoscenza e poi offre un bersaglio per l'identificazione di farmaci e processi utili per il mantenimento della salute o la guarigione della malattia. Da ciò l'esigenza della brevettabilità.

Dico due parole per quelli che sono i problemi aperti dell'invecchiamento. Un problema grosso è che di invecchiamento non si è molto studiato fino a 15/20 anni fa, motivo per cui nel campo dell'invecchiamento c'è un ritardo straordinario, ed è legato al fatto che l'invecchiamento è un fatto ovvio, intuitivo, tanto intuitivo che ha posto poche domande scientifiche, sia per l'invecchiamento in sé sia per le malattie associate ad esso.

Quelle poche cose – passiamo ora alla prossima diapositiva – che erano note e che si sono accumulate negli anni '60/'70 e che definiscono il problema, sono: primo che l'invecchiamento è controllato da fattori ambientali, e questo è intuitivo, ed è basato su esperimenti banalissimi. Se si prendono gruppi di topi e non si fanno mangiare, questi dimagriscono, calano di peso e vivono di più. Da qui nasce un messaggio che è possibile influenzare il fattore vita con fattori esterni.

Contemporaneamente è abbastanza chiaro che la durata della vita e l'invecchiamento, è un fattore genetico. Perché a dispetto della durata media della vita – che è cambiata clamorosamente nel tempo – la durata massima della vita è un carattere genetico, un valore pari a 120 anni per l'uomo, 3 anni per l'uomo; un valore immodificabile e abbastanza simile per ogni specie. È però diventato abbastanza ovvio che l'invecchiamento è geneticamente determinato perché si sono imparate a conoscere le malattie caratterizzate da un invecchiamento precoce alla base delle quali c'era una mutazione alla base di un gene.

Prossima diapositiva. Una vera e propria rivoluzione nel campo della conoscenza sull'invecchiamento c'è stata una decina di anni fa quando si è scoperto che provocando simili mutazioni di geni negli invertebrati, in particolare nella mosca e nel lombrico, era possibile allungare la durata della vita. Quindi distruggendo un singolo gene, si allunga la durata della vita. Come se avessimo dei geni che accorciano la durata della vita.

Prossima diapositiva. Quindi sostanzialmente una serie di problemi aperti, sono quelli indicati per quanto riguarda l'invecchiamento mammifero compreso l'uomo. Il primo problema è se, come nei vermi e nelle mosche, anche nell'uomo ci sono geni singoli

che da soli sono responsabili per il controllo della durata della vita e dell'invecchiamento. Altro problema: quanto incide l'ambiente e quanto i fattori genetici e qual è il ruolo dello stress nella durata della vita. In tutti gli invertebrati la cui vita è allungata per manipolazione genetica si ha una resistenza notevole allo stress ambientale, come se ci fosse una relazione esoterica tra stress e durata della vita.

Prossima diapositiva. Domande associate al problema dell'invecchiamento, banali ma irrisolte, sono ad esempio: invecchiamo perché le nostre cellule muoiono o perché si danneggiano? Quando siamo vecchi abbiamo meno cellule o le stesse ma che funzionano meno?

Prossima diapositiva. Poi c'è un grande problema, apparentemente filosofico ma molto tecnico per quanto concerne l'attività di un genetista. Se è vero che esistono geni che controllano la durata della vita, come è possibile che questi geni si siano trasmessi fino a noi durante l'evoluzione? E' evidente, secondo la teoria dell'evoluzione, che noi ereditiamo geni che sono vantaggiosi per l'individuo, mutazioni di geni che sono vantaggiose all'uomo. Per quale motivo dovremmo ereditare delle mutazioni che sono apparentemente svantaggiose perché eliminano l'individuo dal gruppo?

Ora se questo è giustificabile dal punto di vista filosofico o altro che io non so, è duro da spiegare da un punto di vista genetico perché non c'è mutazione svantaggiosa che possa essere selezionabile. Quindi questo rimane un grosso problema concettuale.

Prossima diapositiva. Qui inizia un breve racconto di quello che ha significato clonare un gene e manipolarlo per la comprensione del fenomeno dell'invecchiamento e per intervenire su di esso.

Due tre anni fa per errore abbiamo identificato un gene che è nel mammifero, responsabile del processo di invecchiamento. Noi cerchiamo di capire i geni in un modo molto elementare sul piano concettuale. Prendiamo un animale, togliamo quel gene e vediamo cosa succede. Questo si chiama genetica inversa. Togliendo il gene (che si chiama P66) si ha un allungamento della vita media dell'animale, più o meno di un terzo. Togliendo quel gene la vita si allunga e come ci si aspettava questi animali sono molto più resistenti allo stress.

Prossima diapositiva. In questi ultimi due anni abbiamo cercato di capire come questo gene riuscisse ad influenzare la durata della vita. Noi sappiamo che all'interno di ogni cellula c'è una centralina chiamata mitocondrio che produce energia in un modo particolare che coinvolge il trasferimento di elettroni. Purtroppo questo sistema non è perfetto; ogni tanto un elettrone scappa, esce dal filo e forma dei radicali liberi che sono sostanze tossiche molto pericolose per la cellula che la sovraccaricano di uno stress particolare – lo stress ossidativo – che causa molti danni.

Se lo stress causato da questi elettroni che sfuggono è molto forte, la cellula decide di morire. Se lo stress è meno forte i radicali liberi causano danno a carico di varie molecole, DNA, proteine, zuccheri, ma soprattutto DNA. Quindi l'effetto della produzione di radicali liberi è il continuo danneggiamento della cellula. La funzione di P66 è quella di regolare la produzione di radicali liberi. Più P66 c'è, e più c'è produzione di radicali liberi, cioè di una sostanza tossica che è responsabile di per sé

del processo di invecchiamento. Questo ha offerto la possibilità di identificare un meccanismo chiaro per effetto del quale noi mammiferi invecchiamo, ha rinforzato i problemi generali del perché abbiamo questi geni e spiega perché se noi eliminiamo questo gene l'animale vive più a lungo. Non solo. I radicali liberi sono responsabili di molte malattie associate all'invecchiamento, come complicanze del diabete, l'arteriosclerosi, malattie vascolari che contribuiscono alla morte che caratterizza l'era successiva a quella riproduttiva, cioè quella dell'invecchiamento.

Prossima diapositiva. In questo schema è riassunto quanto abbiamo capito di più grazie all'isolamento di un gene.

Prossima diapositiva. Molto evidente è che questo processo non solo ci consente di capire meglio, ma ci offre anche un bersaglio sul quale agire se uno, per esempio, ha interesse di migliorare il processo di invecchiamento o di trattare malattie associate all'invecchiamento. P66 è un target, un bersaglio per immaginare farmaci che possano inibire la funzione di P66.

Prossima diapositiva. Molto rapidamente vorrei discutere su come una volta che si identifica un bersaglio si può produrre un farmaco utile per combattere quella malattia o modificare quel processo biologico. Si parte dal bersaglio e si ha come obiettivo quello di avere una sostanza chimica che possa inibirla.

Come si può identificare questa sostanza? Mediante i cosiddetti screening: si prendono delle librerie di milioni di composti chimici e si assaggia uno per uno mediante robotizzazione per identificare quale ha un effetto inibitorio. Una volta identificato, occorre valicare questo composto. Si convalida l'efficacia sull'animale e si convalida successivamente la sua efficacia sull'uomo. Si ha quindi un farmaco. Il problema di questo processo che porta a questa identificazione di farmaci è che è estremamente lungo (10/15 anni ogni processo), è estremamente costoso, ed è ad altissimo rischio di insuccesso.

Prossima diapositiva. Quindi un problema: chi paga? Per farvi un'idea il budget della ricerca sul cancro è di 10/15 milioni di euro l'anno, per tutti i laboratori in Italia. Un processo del genere costa attorno 400/500 milioni. Siamo a livelli nettamente superiori. Allora non esiste nessun programma istituzionale di supporto per questi processi di discovery di farmaci. L'unico circuito efficiente è quello del capitale privato e cioè denaro investito a scopo di guadagno. Ora il problema per chi investe è come difendere l'investimento. La domanda è autentica da un punto di vista finanziario perché una volta identificato il farmaco, questo non ha nessun costo, cioè il costo di produzione è esiguo rispetto al costo di identificazione dello stesso. L'unico modo accettato per difendere l'investimento è la difesa della proprietà intellettuale, cioè la brevettazione. Un dominio sul mercato in assenza di competitori. Questo è il sistema attuale della scoperta e della trasformazione della scoperta in farmaco antimaleattia ed è il motivo per cui nasce il problema della brevettazione della scoperta a difesa dell'investimento che fa il capitale privato.

Moderatore: Ormai la genetica riguarda aspetti della vita umana che sembravano esserne immuni come fenomeni tipo l'invecchiamento che rimanevano nell'ambito così della intuizione. Qui vediamo che questo è un fenomeno riconducibile a dei geni

e al loro funzionamento. Hai toccato poi un aspetto molto importante: io credo che non possa sfuggire la questione ormai è ineludibile: il nostro paese rischia di essere in ritardo come lo è stato con i farmaci tradizionali, e cioè il fatto che nelle biotecnologie entriamo in un concetto in cui la ricerca oltre a essere un consumatore di risorse sta diventando anche un produttore di risorse. Passiamo la parola a Mariagrazia Roncarolo che ci parlerà della bellezza della terapia genica.

Maria Grazia Roncarolo: Ringrazio gli organizzatori per opportunità di essere qui oggi, è un'esperienza molto interessante per me. Il mio compito è un compito abbastanza facile perché alla fine di tutta questa discussione quello che io vi devo far vedere è che la genetica e quello che noi abbiamo imparato in questi anni quello che noi abbiamo visto come progresso della scienza di cui siamo stati testimoni oculari, ci porterà a una migliore medicina del futuro e anche a una migliore medicina di oggi. Abbiamo già visto dai relatori precedenti che grazie alla scoperta del gene e della funzione di questo gene siamo oggi in grado di fare una diagnosi precoce, preventiva; siamo in grado di scoprire le malattie prima che si manifestino, di scoprire nuovi farmaci, ma quello che siamo ancora più in grado di fare, ed è questo l'oggetto della mia relazione, è di curare quegli errori della natura che hanno portato a una malattia genetica. Questo è un processo su cui noi stiamo già lavorando già da molti anni e che in questa fase più recente ha avuto dei progressi veramente molto significativi che ci rendono veramente ottimistici. Oggi quello che dovremmo fare insieme è capire che cosa è la terapia genica e quali sono le potenzialità di questa terapia genica di questa ingegnerizzazione della cellula. Da diapositiva vi illustro il principio della terapia genica. Sappiamo che, come ci ha spiegato il professore Dalla piccola, una malattia genetica è un errore in un gene che codifica per una funzione spesso importante del nostro organismo. Un errore di questo gene si verifica all'interno di un cromosoma. Quello che noi possiamo all'interno della terapia genetica è andare a sostituire quel gene difettoso con un gene sano. A questo punto il gene sano ci ripristinerà una funzione che prima era difettosa o mancava. Per inserire questo gene sano noi utilizziamo delle particelle virali in modo che il gene entri dentro il cromosoma. Un volta entrato codificherà per la proteina. Sembra molto semplice, ma in realtà gli ostacoli sono numerosi, non ultimo il fatto che quel gene nuovo può essere riconosciuto come estraneo dal nostro sistema immune e quindi può essere fonte di uccisione della cellula che lo contiene. In realtà noi non siamo ancora in grado di fare una terapia genica proprio così sofisticata che ci consenta di inserire il gene del cromosoma dove vogliamo. Però sicuramente possiamo definire l'intervento medico della terapia genica come una modificazione intenzionale questa volta del materiale genetico di una cellula somatica per correggere un difetto di questa cellula, che può essere un difetto congenito o acquisito, o per dare a quella cellula, come nel caso dei tumori, una funzione nuova. In realtà quello che noi facciamo è che ingegnerizziamo il gene in laboratorio poi utilizziamo dei corrieri per portare il gene all'interno della cellula, ma non siamo ancora così bravi da portare il gene nel cromosoma giusto esattamente dove vogliamo. Lo portiamo un po' a caso lo portiamo dentro la cellula in uno dei cromosomi della cellula. A volte in più di uno e

ci aspettiamo che anche in questo inserimento a caso consenta il ripristino della funzione. Lo strumento che ci consente di trasportare questo gene dentro la cellula è quello che noi chiamiamo “i corrieri”. Utilizziamo in chimica soprattutto dei vettori virali ma sicuramente in futuro ci orienteremo sempre di più su vettori non virali. Che cosa vuol dire un vettore virale? E' un concetto molto semplice. Noi sfruttiamo delle capacità che hanno i virus che sono molto intelligenti perché sono in grado di entrare dentro la cellula. Alcuni virus, come i retro virus sono in grado di entrare dentro il nucleo della cellula e sono in grado di entrare dentro il nostro corredo genetico e di rimanerci per tutta la vita. Se noi utilizziamo questa capacità del retro virus possiamo ingegnerizzare questo retro virus e mantenerne le proprietà che vogliamo, cioè quella di entrare e restare, ma gli togliamo tutte le proprietà che possono essere dannose. Un retro-virus può anche essere in virus dell' HIV che ci dà una patologia estremamente pericolosa come l'aids, può essere un virus come il SND che ci dà una patologia importante. Quindi noi togliamo tutta quella che definiamo patogenicità e gli lasciamo le proprietà che vogliamo. Un esempio: la costruzione di un vettore retrovirale in cui noi inseriamo il gene terapeutico e in questo inserimento del gene terapeutico utilizziamo un altro artefatto che è una cellula riproduttiva, quella che noi chiamiamo una cellula packaging. Questa cellula ha tutta la strumentazione per impacchettare il nostro gene, ha perso la capacità di impacchettare il proprio DNA. Quindi noi inseriamo lì dentro il gene terapeutico che verrà impacchettato dalla cellula riproduttiva e costruiremo un vettore che ci consentirà di introdurre il gene non solo nella cellula difettosa ma anche di introdurlo nel corredo genetico della cellula difettosa. Quindi il vettore entra e il gene terapeutico entra dentro il corredo genetico. Poi quello che succede chiaramente la produzione di quello che chiamiamo RA messaggero è la produzione della proteina. Quindi è la proteina che garantisce il ripristino della funzione. Uno dei concetti importanti è che quando noi dobbiamo curare una malattia genetica dobbiamo essere certi che questo gene sano che noi inseriamo rimanga nella cellula in cui lo inseriamo, ma anche nelle cellule figlie. Quindi utilizziamo il vettore retro virale perché ha la proprietà di entrare dentro il nostro corredo genetico. Cosa vuol dire? Vuol dire che quando la cellula si divide in ognuna delle cellule figlie ci sarà sempre il gene terapeutico che codifica per quella proteina di cui abbiamo bisogno. Quali sono le cellule in cui noi possiamo fare questo giochino e inserire il gene terapeutico per curare una malattia? Ce ne sono molte e sicuramente questa non è una lista completa. Le cellule che noi usiamo più di frequente sono le cellule staminali del sangue del cervello o di altri tessuti. Se vogliamo fare una terapia genica del cancro utilizzeremo le cellule tumorali spesso utilizziamo anche il fegato come sistema di target e di deliver della proteina di interesse. Le cellule staminali che noi usiamo non sono le cellule staminali embrionali. Sono le cellule staminali di quel tessuto quindi sono le cellule staminali adulte che hanno una multipotenzialità, possono differenziarsi in più cellule figlie ma non sono le cellule embrionali che si possono differenziare in qualsiasi tessuto. Abbiamo detto che possiamo inserire il gene e che possiamo inserirlo in più cellule. Ci sono due approcci fondamentali. Se noi possiamo manipolare le cellule in cui inseriamo il gene in laboratorio, questa procedura di inserimento avviene appunto

nella provetta di laboratorio che noi definiamo l'approccio ex vivo. A volte non è possibile. Se noi abbiamo bisogno di inserire il gene terapeutico nel cervello è difficile manipolare le cellule del cervello e allora possiamo inserire la particella virale con il gene sano direttamente con iniezione nel cervello. Altrettanto nel fegato e altrettanto nel tumore. Adesso entriamo in quello che è storia di oggi. Abbiamo fatto un grosso sforzo negli anni passati nell'Istituto del TIGT del Telethon e del San Raffaele per cercare di curare un gruppo di malattie genetiche che sono le immunodeficienze combinate gravi. Malattie genetiche dovute ad un difetto di un solo gene con alterazione del sistema immunitario. Mi occupo di queste malattie da quando ero studentessa di medicina e vi posso dire che è stato un percorso molto lungo ma anche molto gratificante. Vent'anni fa i bambini morivano, oggi guariscono e conducono una vita normale. Per curare queste malattie abbiamo deciso di inserire il gene nella cellula staminale ematopoietica. Nel momento in cui noi lo inseriamo nella cellula madre, come vi ho già spiegato, questa è una cellula che dà origine a tutte le cellule figlie del sangue e quindi tutte le cellule figlie conterranno il gene sano. E' un concetto molto importante perché con questa procedura noi possiamo correggere l'immunodeficienza che chiaramente ha un difetto di queste linee cellulari, ma possiamo anche correggere un difetto dei globuli rossi del sangue o delle piastrine semplicemente inserendo il gene della cellula madre, perché quando questa cellula madre si dividerà e darà origine alla cellula figlia globuli rossi e piastrine, queste conterranno il gene sano. Come sono le cellule staminali? Sono delle cellule normali indistinguibili quasi dalle altre cellule del sangue, ma quello che noi possiamo vedere mettendo dentro queste cellule ad esempio un gene che codifica con la proteina verde, quando andiamo a vedere le cellule figlie queste cellule figlie che proliferano e formano delle colonie in vitro contengono il gene e questa è la dimostrazione che noi abbiamo inserito il gene nella cellula madre. Il nostro sforzo principale è stato quello di correggere questi difetti del sistema immune. Sono quelli che una volta chiamavano bull boy. Sono bambini che hanno un difetto genetico, di un gene solo, ma che è sufficiente a far sì che questi bambini non siano in grado di difendersi contro qualsiasi tipo di patogeno dell'ambiente esterno. Sono bambini che nascono normali, che nel primo anno di vita, se si prendono un raffreddore o una varicella o se li vacciniamo con vaccino attenuato, muoiono. E' una malattia devastante. Venti anni fa li mettevamo in una bull sterile di 2m x 2m e lì li tenevamo per anni perché non avevamo nessun modo di curarli. Poi abbiamo imparato a fare il trapianto di midollo osseo, di cordone ombelicale, di fegato fetale ecc. Oggi in questi bambini siamo in grado di fare la terapia genica. Sono bambini che non crescono perché hanno un difetto dell'immunità cellulare umorale ma anche un difetto metabolico, perché questa immunodeficienza combinata grave in realtà è dovuta a un difetto di un gene che codifica per un enzima, la denosim diaminasi. Questo enzima è fondamentale non solo per lo sviluppo del sistema immunitario, ma anche per il funzionamento di altri organi. Quindi è una malattia immunologica ma anche una malattia metabolica perché si accumulano delle sostanze tossiche per la mancanza di questa attività enzimatica e queste sostanze tossiche possono darci delle lesioni d'organo molto importanti. Vi ricordo che questi sono bambini che vent'anni fa

morivano nelle prime epoche di vita. Cosa facciamo con la terapia genica? Noi preleviamo il midollo (una procedura abbastanza di routine per gli ematologi che fanno trapianti di midollo) e inseriamo nella cellula staminale la cellula madre, quindi il gene sano e riinfondiamo la cellula del bambino. La cellula figlia linfocita funzionante contiene il gene sano e tutte le cellule del sistema ematopoietico. Questo è stato un passo avanti enorme perché ci ha consentito non solo di correggere il difetto immunologico e quindi di dare le difese a questi bambini che prima mancavano ma anche di correggere la malattia metabolica che dava la lesione d'organo. Quindi noi abbiamo dato un farmaco chemioterapico dalle dosi bassissime e quindi non a delle dosi tossiche che ha consentito alle cellule di farsi un po' di spazio e di avere un po' di vantaggio soprattutto all'inizio. Vi riassumo il risultato di un articolo pubblicato di recente su Science: abbiamo due bambini anzi adesso sono già tre grazie anche al contributo di Marco Breni e questi bambini sono sani. Sono bambini non italiani e sono ritornati al paese di origine e conducono una vita normale. Hanno un sistema immune che è in grado di difenderli dagli agenti patogeni esterni e dai virus che incontrano ogni giorno e hanno un sistema metabolico completamente detossificato e quindi completamente sano. E' un piccolo passo avanti. E' chiaro che è piccolo rispetto a tutto quello che abbiamo di fronte a noi. La prossima diapositiva ci fa vedere le malattie che noi possiamo curare nei prossimi cinque sette anni, quindi tempi abbastanza brevi con la terapia genetica. Sicuramente l'immunodeficienza è secondaria ma anche le malattie neo-degenerative del sistema nervoso centrale periferico, le distrofie muscolari, le malattie ematiche quali ad esempio il diabete e sicuramente le altre malattie del sangue delle altre cellule del sistema ematopoietiche che interessano i globuli rossi, le piastrine e non ultimo abbiamo l'ambizione di utilizzare la terapia genica per la cura del cancro. Che cosa ci manca per arrivare a questo risultato? Ci mancano dei fatti oggettivi. La prossima diapositiva ve li mostra. Dal punto di vista scientifico ci mancano sicuramente dei vettori più efficaci, ci mancano dei sistemi più efficienti che ci consentano di tradurre più cellule, di non dover far spazio di non dover creare un vantaggio selettivo. Secondo me quello che ci manca ancora più importante è un impegno della società a far sì che questa cosa succeda. Quando dico della società intendo un impegno di tutti è un impegno di dare fondi alla ricerca, di dare un'informazione corretta, di dare una cultura che sia in grado di comprendere che cosa sia la genetica buona, di creare dei centri integrati di ricerca e cure in cui gli scienziati e i medici possano parlarsi e confrontarsi sulle nuove innovazioni, promuovere l'industria tecnologica, e di aver un dibattito corretto e informato su quello che sono le tecnologie mediche. Grazie

Moderatore: La ricerca quando pone al centro l'uomo e i suoi bisogni ha dei risultati che sono nella loro ovvietà buoni per l'uomo.

Poche considerazioni: vorrei partire dalle ultime considerazioni della professoressa Roncarolo quando ci invita a portare in un consenso più ampio questi dibattiti sulla genetica e le sue conseguenze. Credo che oggi questo sia un esempio, un piccolo passo in questa direzione con un aula così piena di persone che hanno seguito attentamente. Credo anche che gli aspetti economici non vadano demonizzati una

delle ragioni per cui credo che la ricerca sia stata così insofferente è anche quello di considerare sempre un'attività umana a prescindere da un aspetto economico. L'aspetto economico è insito in ogni attività umana; è il fine quello che conta e quindi i problemi di brevetto di proprietà dei geni dei test genetici, che questa proliferazione che denunciava Bruno Dallapiccola non è un caso: sono dei test che i laboratori privati offrono a costi altissimi e in mancanza di qualsiasi regolamento: noi rischiamo o il far west di un'offerta indiscriminata o non appropriata o il proibizionismo che è altrettanto assurdo perché la sfida della conoscenza non può essere arrestata da leggi o da convincimenti personali ma è un cammino che siamo chiamati a percorrere e se guidati dal sentimento delle cose e dalla contemplazione della bellezza non può che portare al bene. Grazie