

Sul problema naturale verso artificiale in ambito biologico

Se l'ambito è quello della moderna biologia molecolare (riduzionismo), potremmo iniziare con una semplice considerazione: "dopo il sequenziamento del genoma umano ora riusciamo ad editarlo". Cosa significa?

Sono passati 20 anni dal sequenziamento del genoma umano di cui conosciamo composizione, trascrizione in RNA messaggero, in proteine, e loro varianti associate a malattie più o meno complesse. Grazie a tecniche sperimentali sempre più sofisticate la ricerca ha accumulato dati in quantità tali che solo metodi computazionali basati su Intelligenza Artificiale (Machine Learning) riescono ad elaborare. Quali sono in sintesi i traguardi raggiunti: 1) la conoscenza della struttura e funzione delle proteine umane, e in parte anche il ruolo che hanno in molte patologie; 2) la conoscenza della composizione ed organizzazione in cromosomi del DNA umano e dei siti di trascrizione; 3) la conoscenza e composizione dei vari tipi di RNA, tra cui quello messaggero che codifica per proteine; 4) i compartimenti cellulari dove gran parte delle biomolecole interagiscono per sostenere i processi biologici la cui attività è alla base delle funzioni vitali; 5) le caratteristiche salienti del sistema immunitario e la sua evoluzione durante l'età dell'individuo. Questo progredire delle conoscenze ha favorito la scoperta di nuovi farmaci che - anche se a volte in modo parziale - possono alleviare sofferenze. Va anche ricordato che in seguito a queste ricerche molecolari nei virus è stato possibile sintetizzare in meno di un anno un vaccino o dei vaccini efficaci contro l'attuale SARS COVID 19. Insomma, la manipolazione del DNA in senso lato ha sicuramente ampliato la conoscenza che l'uomo ha di se stesso...e ha aperto anche gravi problemi bioetici.

La novità più recente in questo scenario è sicuramente la possibilità ormai certa di potere *modificare* in maniera controllata il genoma delle varie specie, ma in particolare quello umano. Questa operazione viene detta editing o editaggio. E naturalmente questo pone ovvie problematiche di carattere etico. Se da un lato le applicazioni più ovvie sono le cosiddette terapie geniche che permetterebbero il recupero di quei geni che non funzionando provocano fenotipi problematici e quindi malattie anche disastrose, dall'altro l'idea di ingegnerizzare l'ovulo, o meglio il patrimonio genetico che è contenuto nell'ovulo, per fini di vario tipo è alle porte.

Per chiarezza cerchiamo di capire cosa è esattamente l'editing (Fig1 a e b):



Fig 1 a



Fig 1b

I tentativi di editare (modificare) il genoma delle varie specie ha storia antica. Ora, finalmente è stata individuata una tecnica di origine per altro naturale, che sapientemente utilizzata permette di compiere l'operazione con una precisione mai raggiunta prima. Nell'editing, prima viene individuato il tratto da sostituire (Fig 1 a), quindi questo viene rimosso da una proteina che tramite una ingegnerizzazione

preliminare (viene marcata con il tratto complementare alla porzione da sostituire) “taglia” con precisione unica a livello del singolo nucleotide (base: A, G, T, C). Il DNA che si forma tende naturalmente a chiudersi e quindi rimuovere la porzione di interesse, oppure in presenza del pezzo modificato (Fig. 1b) tende naturalmente ad incorporarlo. Come detto, la possibilità di modificare il DNA e quindi il genoma in modo da influenzare il flusso di informazione DNA-RNA- proteina e quindi il fenotipo che ne deriva ha una lunga tradizione, particolarmente in piante e animali. Ma è solo grazie alla scoperta di un processo che naturalmente viene utilizzato dai batteri quando sono infettati da virus che l'editing è diventato preciso e programmabile. La “forbice genetica” in questione è la proteina CRISPR che opportunamente modificata permette di rintracciare esattamente la parte da editare. Questa tecnica, dalla sua invenzione nel 2012, ha avuto un impatto così importante nella ricerca scientifica, che nel 2020 le due ricercatrici che prime l'hanno descritta hanno ricevuto come riconoscimento il Premio Nobel per la Chimica (Emmanuelle Charpentier and Jennifer A. Doudna) per lo sviluppo di un metodo per l'editing del genoma. La forbice genetica da loro sviluppata è uno degli strumenti più precisi della biologia molecolare, visto che il suo utilizzo ha già permesso di cambiare il DNA di piante, animali e microorganismi con una precisione estrema. Quindi l'ingegneria genetica è finalmente diventata precisa.

Ora una riflessione è necessaria: la natura stessa già conteneva questa informazione, visto che i batteri l'avevano “inventata” per sopravvivere agli attacchi dei virus. Nella mani sapienti di chi ha saputo individuarla e modificarla per renderla strumento efficace, la scoperta è diventata una forbice (arma) di elevata precisione (artificiale?).

Una prima applicazione è stata quindi l'ingegneria genetica di piante ed animali. Ma naturalmente ora il target è il genoma umano e la forbice genetica ha riproposto la terapia genica prima di tutto che aveva subito battute di arresto in seguito al problema appunto di sostituire dei geni malati con dei geni sani in modo preciso. E qui si apre il grande problema accennato della sostituzione del materiale nucleare in un ovulo.

Quando Claes Gustafsson, presidente del comitato per il premio Nobel della Chimica ha annunciato le motivazioni per cui dopo 8 anni dalla sua scoperta/invenzione il premio è stato assegnato alle due Dottoresse ha detto: ‘This technology has had a revolutionary impact on the life sciences, is contributing to new cancer therapies and may make the dream of curing inherited diseases come true’. E fin qui tutto bene e tanto ottimismo per applicare la tecnica ai fini di cura di malattie altrimenti impossibili da gestire.

Aggiungo una citazione dal sito della Fondazione Veronesi (<https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/i-blog-della-fondazione/il-blog-di-airicerca/ultima-frontiera-dellingegneria-genetica-cose-e-cosa-serve-il-sistema-crisprcas>) : “Le maggiori probabilità di successo sono attese per la cura di malattie del sistema immunitario. Le cellule immunitarie, infatti, si possono isolare, modificare in vitro e reintrodurre nel paziente una volta “corrette”. Questa strategia ha già permesso di generare in vitro linfociti T resistenti all’HIV”.

Sempre lo stesso sito però titola:

CRISPR/Cas su embrioni umani: un difficile conflitto etico

Perché? In sintesi nel 2015, uno studio molto controverso appare sulla rivista Protein&Cell ad opera di ricercatori cinesi, diretti dal Prof. Junjiu Huang, che hanno utilizzato la tecnica per correggere la mutazione genica della beta talassemia (nota anche come anemia mediterranea) in embrioni umani non vitali, ovvero destinati alla ricerca e non in grado di svilupparsi. Le conclusioni dello studio erano positive, in quanto alcuni degli embrioni sottoposti a taglio CRISPR/Cas e ricombinazione omologa avevano sostituito il gene corretto a quello mutato ed erano quindi “guariti”. I numeri, però, erano impietosi: solo 28 embrioni su 54 avevano subito il taglio di Cas e solo in quattro embrioni alcune cellule avevano effettuato la ricombinazione omologa riparatrice. Riviste prestigiose come Nature e Science hanno rifiutato la

pubblicazione dell'articolo per ragione etiche. L'eco intorno a questa ricerca è stato notevole risolvendo il problema dell'eugenetica e di come arrivare a delle strategie tali da evitare la ricerca sugli embrioni umani, che non sono vitali. A questo si aggiunge evidentemente il problema più generale degli OGM e di come regolamentare l'ingegnerizzazione del genoma delle specie. Deve intervenire una legislazione in ogni caso che ancora non si è mossa. In Italia è attivo un Comitato bioetico, il cui compito è appunto studiare questi tipi di problemi e cercare soluzioni possibili da proporre (<http://bioetica.governo.it/it>).

Le Scienze (2020, #11) riporta: "Alterare il DNA umano per creare bambini geneticamente modificati è vietato nella maggioranza dei paesi (non in Cina) in base alla Convenzione di Oviedo (4 aprile 1997, <https://www.enpam.it/wpcontent/repository/universaliamedia/CI/leggi/ConvenzioneOviedo.pdf>). La normativa italiana, però, lascia almeno in teoria uno spiraglio a questa possibilità, paradossalmente anche a causa di un articolo (#13) della legge sulla procreazione assistita (Legge 19 Febbraio 2004, n.40), che in origine voleva essere particolarmente restrittiva".

Ma la Corte costituzionale ha sancito il diritto per chi fa uso della procreazione assistita di avere un figlio sano. E qui si apre il dibattito su quel "sano" e su come forse un giorno qualcuno possa poi presentarsi con una fotografia per avere esattamente la copia vivente.

Rimanendo in tema, il problema eugenetico credo debba essere fronteggiato a livello statale, e credo anche che la convenzione di Oviedo debba poi essere rivista in modo da evitare che le più recenti scoperte non vengano utilizzate per giusti fini. E poi le domande: fino a che punto si può spingere a ricerca scientifica? Può il singolo ricercatore prendere decisioni? O non sarebbe meglio una regolamentazione generale che stabilisse ciò che è lecito e ciò che è illecito?

Bologna 15-05-2021

Rita Casadio

PS. Dalla Enciclopedia Treccani: **Convenzione di OVIEDO sui diritti umani e la biomedicina**. "Costituisce il primo trattato internazionale riguardante la bioetica, e rappresenta un pietra miliare per lo sviluppo di regolamenti internazionali volti a orientare eticamente le politiche della ricerca di base e applicativa in ambito biomedico, e a proteggere i diritti dell'uomo dalle potenziali minacce sollevate dagli avanzamenti biotecnologici. Promossa dal Consiglio d'Europa attraverso un comitato ad hoc di esperti di bioetica, e firmata a **Oviedo il 4 aprile 1997** nell'ambito di una solenne cornice diplomatica, la Convenzione è stata integrata da tre protocolli aggiuntivi: (a) un protocollo sul divieto di clonazione di esseri umani, **sottoscritto a Parigi il 12 gennaio 1998**; (b) un protocollo relativo al trapianto di organi e tessuti di origine umana, sottoscritto a Strasburgo il 4 dicembre 2001; (c) un protocollo addizionale riguardante la ricerca biomedica firmato il 25 gennaio 2005 a Strasburgo. La Convenzione non è stata adottata da tutti i paesi dell'Unione Europea: **Gran Bretagna, Germania, Belgio, Austria e altre nazioni non l'hanno sottoscritta, mentre altri paesi - tra cui Francia, Svezia e Svizzera - l'hanno sottoscritta ma non ancora recepita**. L'Italia ha recepito la Convenzione attraverso la legge del 28 marzo 2001 n. 145, ma non ha ancora predisposto gli strumenti per adattare l'ordinamento giuridico italiano ai principi e alle norme della Convenzione e dei Protocolli. La Convenzione è strutturata in 14 capitoli, per un totale di 38 articoli, preceduti da un preambolo che riporta i motivi ispiratori della Convenzione; **tra questi ha particolare rilievo il concetto che un uso improprio della biologia e della medicina può minacciare la dignità e i diritti dell'uomo**. Alcuni articoli, che riguardano essenzialmente il divieto di manipolazione genetica dell'uomo, la discriminazione su basi genetiche e l'uso di embrioni umani per la ricerca, non sono passibili di restrizioni e assumono quindi carattere di veri e propri principi incondizionati"

Cosa succede in EUROPA (piano 2020-2025): Esiste al momento un documento redatto dal Consiglio d'Europa e dal comitato bioetico europeo, che si occupa anche dell'editing genetico, ma il documento del 2019 deve essere recepito dai vari stati membri.