

INTERVISTA AL PROF. STEFANO RIVELLA

Il Prof. Stefano Rivella è Direttore del Jaffe Genetic Center del Dipartimento di Pediatria della Cornell University di New York e Assistant Professor in Genetic Medicine al Weill Medical College della stessa Università. La sua attività di ricerca è focalizzata principalmente sugli aspetti cellulari e molecolari responsabili degli aspetti patologici che si osservano in beta-talassemia, come l'eritropoiesi inefficace, l'aumento dell'assorbimento del ferro e la fragilità ossea. Inoltre, il Prof. Rivella si occupa dello sviluppo di vettori lentivirali per il trattamento della beta-talassemia.

Avete sperimentato o state per sperimentare il vettore TNS9 in cellule staminali prelevate da pazienti talassemici?

In collaborazione con il professor Eitan Fibach, saranno sperimentati i nostri vettori su cellule di pazienti talassemici. L'esperimento è suddiviso in tre fasi. Nella prima, che si svolge a New York, prepariamo e sperimentiamo i vettori su cellule normali. Nella seconda, che si svolge in Israele nel laboratorio del professor Eitan Fibach, i vettori saranno sperimentati su cellule prelevate da pazienti talassemici. L'esperimento consiste nel prelevare dal sangue di pazienti talassemici cellule che hanno il potenziale di maturare in eritrociti. Normalmente, nei pazienti talassemici queste cellule non riescono a giungere a maturazione. Le cellule saranno, quindi, infettate in vitro con i vettori lentivirali. Nella terza fase, le cellule saranno analizzate per valutare l'efficienza con cui il vettore si è introdotto nelle cellule del paziente, quanta emoglobina ha prodotto e, infine, come si presentano le cellule dopo il trattamento con il vettore. A questo stadio i test saranno fatti senza reintrodurre le cellule nel paziente. Questa sperimentazione potrebbe dimostrarsi molto importante, nel futuro, anche per capire l'efficacia del vettore per ogni paziente e in vitro, prima di un qualsiasi trattamento clinico.

La sperimentazione del vettore TNS9 in vitro su cellule di pazienti talassemici significa che la sperimentazione sui topi si può considerare conclusa?

No. Crediamo che ci sia ancora molto da capire e sperimentare per ottenere il vettore ideale. Anche se i vettori che abbiamo sviluppato potrebbero essere utilizzati per una prima fase di terapia genica (vedi sotto), sono sicuro che sia ancora necessario migliorare le loro prestazioni (per esempio il livello d'emoglobina prodotta) e investigare il loro effetto sulle cellule in cui il gene della globina umana è stato inserito in studi a lungo termine.

Avete creato un "nuovo vettore lentivirale". Quali sono le sue caratteristiche e in quale relazione si pone rispetto al "vettore TNS9"? Pensate di poterlo sperimentare a breve su cellule staminali prelevate da pazienti talassemici?

Uno dei punti che ritengo assolutamente necessario sviluppare è il fenomeno che va sotto il nome di mutagenesi inserzionale. Questo fenomeno è emerso prepotentemente quando in Francia in pazienti affetti da SCID (severe combined immunodeficiency disease) il vettore usato per curarli ha provocato tre casi di leucemia. I successivi studi hanno reso evidente che il vettore terapeutico, in questi tre casi, si era posizionato vicino a geni non attivi, "risvegliandoli". Sfortunatamente, l'attivazione di questi geni ha causato le leucemie. Personalmente credo che la comunità scientifica non conosca sufficientemente bene questo fenomeno e la probabilità con cui questo si possa verificare. Inoltre, non è chiaro come si possa prevenirlo. I nostri vettori contengono delle nuove sequenze chiamate isolatrici che potrebbero prevenire questi "risvegli". Ma è ancora tutto da dimostrare. Il lavoro in collaborazione con Eitan Fibach riguarda la sperimentazione sulle cellule staminali dei pazienti.

Quali sono le prospettive temporali per un eventuale trasferimento tecnologico dei risultati della sua ricerca sulla terapia genica al fine di una futura applicazione clinica?

La risposta è complessa. Nel nostro laboratorio ci occupiamo di creare e migliorare nuovi vettori per la cura della beta-talassemia e di offrire questi vettori ai centri medici. In questo momento stiamo collaborando con il professor Michel Sadelain che si occuperà del trial clinico. Negli Stati Uniti, lo sviluppo di un trial clinico richiede moltissimi esperimenti (per esempio studiare i vettori sui primati) per valutare il livello di mutagenesi inserzionale o altri aspetti non contemplati dagli studi sui topi. Inoltre c'è da chiarire se i pazienti dovranno andare incontro ad una mieloablazione totale prima dell'infusione del midollo trattato con il vettore. In Francia, per esempio, gli esperimenti sui primati non sono richiesti e la mieloablazione totale è accettata. Per questo motivo una sperimentazione clinica in Francia è già stata approvata e verrà probabilmente iniziata a breve usando un vettore che ricalca quello generato dai nostri gruppi a NY. Il gruppo che se ne occuperà è lo stesso che ha condotto la sperimentazione clinica sulla SCID. Vorrei aggiungere che, a mio parere, questa sperimentazione clinica è una sorta di scommessa che può portare a opposti risultati. Se tutto andrà bene significherà che i vettori che contengono la globina sono pronti per la clinica e si aprirà una nuova fase terapeutica. Se qualcosa andrà storto, ne soffriremo tutti e la ricerca verrà rallentata per alcuni anni. La mia speranza è che i pazienti non soffrano a causa di una sperimentazione che potrebbe essere ancora troppo giovane.

Lei lavora anche in stretta collaborazione con il Prof. Roberto Gambari per la riattivazione dell'emoglobina fetale. Al riguardo, qual è il progetto al quale sta lavorando e quali sono stati finora i risultati ottenuti e quali sono gli obiettivi futuri?

Una premessa: il gene che esprime l'emoglobina fetale negli adulti è inattivo. La sua riattivazione, nei pazienti talassemici, potrebbe enormemente giovare alla loro salute. I topi normali o affetti da talassemia non contengono il gene che produce l'emoglobina fetale, ma solo quella embrionale o adulta. In altre parole, mentre negli uomini si va a vedere se questi composti siano in grado di riattivare l'emoglobina fetale, nei topi si può saggiare se questi composti aumentano l'emoglobina adulta o riattivano i geni che esprimono l'emoglobina embrionale. Abbiamo iniziato a sperimentare alcuni dei composti isolati dal gruppo del professor Gambari. Abbiamo iniziato con un composto chiamato Angelicina e un secondo, definito dalla sigla DMSO. Altri composti saranno provati nei topi, soprattutto se le ditte farmaceutiche che ne detengono il brevetto ci aiuteranno ad acquistare questi prodotti a basso prezzo. Questi composti sono stati iniettati in topi normali e affetti da talassemia intermedia ed il loro sangue è stato estratto dopo il trattamento e spedito a Ferrara per l'analisi. A Ferrara stanno analizzando questi composti e penso che presto avremo delle informazioni sulla loro efficacia.

Alcune molecole prodotte nel ThalLab di Ferrara sono già state sperimentate in vitro su cellule eritroidi di pazienti talassemici. Quali sono le risposte attese dalla sperimentazione delle stesse molecole su topi transgenici?

La speranza è che le stesse molecole possano, nei topi, confermare le stesse osservazioni ottenute in vitro. Le limitazioni a cui potremmo andare incontro, tuttavia, sono molteplici. Per esempio, le stesse molecole, una volta iniettate in vivo, potrebbero essere degradate oppure le molecole potrebbero riconoscere le proteine umane che attivano l'emoglobina fetale ma non quelle murine.

Lei sta indagando anche altri campi che potrebbero essere di utilità nella terapia della talassemia. Mi riferisco, ad es., allo studio sull'espressione del gene chiamato "epcidina". Pensa che potrebbe essere di interesse per l'industria farmaceutica già impegnata nella ricerca sui chelanti del ferro?

I nostri studi hanno indicato che in topi affetti da beta-talassemia, la proteina epcidina è presente a bassi livelli, e questi livelli scendono parallelamente al diminuire dei livelli d'emoglobina. Siccome alti livelli d'epcidina limitano o prevengono l'assorbimento intestinale del ferro, la speranza è che si

possa somministrare l'epcidina per limitare questo fenomeno in pazienti affetti da beta-talassemia. Vorrei rilevare che, probabilmente, l'epcidina non è in grado di eliminare il ferro accumulato in seguito alle trasfusioni. La speranza è che possa coadiuvare la terapia chelante limitando l'assorbimento di ferro dalla dieta, soprattutto quando i livelli d'emoglobina scendono. In ogni caso, bisognerà innanzitutto dimostrare che la somministrazione della proteina riduce l'assorbimento di ferro senza causare effetti collaterali. Per questo motivo stiamo generando dei topi talassemici in cui studiare gli effetti dopo somministrazione di questa molecola. Per quanto riguarda l'industria farmaceutica sono ottimista che svilupperà interesse su una molecola così importante per il metabolismo del ferro.

Un altro importante campo d'indagine del suo gruppo riguarda lo “studio della struttura ossea in topi affetti da beta talassemia”. Ci può spiegare in che cosa consiste e quali prospettive terapeutiche può riservare per i pazienti talassemici?

Innanzitutto vorrei premettere che questo studio, come i precedenti, è nato dalla combinazione di una serie di eventi fortunati. Il primo consiste nel fatto che siamo stati in grado di generare il primo topo talassemico e che questo ci ha permesso di iniziare questi studi. Il secondo si basa sul fatto che la Cornell ci ha dato lo spazio e il supporto per intraprendere questi studi. Il terzo è che abbiamo trovato sulla nostra strada dei collaboratori importanti, come i professori Gambari, Fibach e Sadelain. Il quarto è l'incredibile supporto morale e finanziario che l'AVLT ci ha sempre dato. Il risultato è che il nostro laboratorio si è completamente dedicato allo studio della beta-talassemia, permettendoci di investire il 100% delle nostre energie su questo soggetto di ricerca.

Dato che la solidità delle ossa nei pazienti talassemici è notoriamente compromessa, abbiamo deciso di iniziare una collaborazione con il centro Hospital for Special Surgery (HSS) di New York, che ha una lunga esperienza nell'analisi della struttura fisica e istologica delle ossa. Dato che si conosce poco sulla causa della fragilità delle ossa in pazienti affetti da beta-talassemia e tanto meno che tipo di terapie adottare, abbiamo deciso di analizzare i nostri topi per capire se si possono utilizzare per rispondere a queste domande. Come prima cosa, abbiamo confermato che le ossa dei topi talassemici sono più fragili dei corrispondenti topi normali. Inoltre, abbiamo iniziato ad analizzare quale tipo di difetto cellulare potrebbe essere responsabile per questa aumentata fragilità. I nostri dati sono preliminari ma suggeriscono che, nei topi talassemici rispetto ai topi normali, ci sia uno sbilanciamento tra le cellule che producono le ossa e quelle che sono destinate a riassorbirle. La conoscenza approfondita di questo meccanismo potrebbe aiutarci ad isolare dei nuovi composti per riequilibrare questo rapporto cellulare e ripristinare la corretta struttura ossea.

(L'intervista è stata pubblicata sul periodico “EX” di Ravenna, n. 4, giugno 2005)

Come avevamo scritto nel precedente numero di “EX”, l'intervista è la riproposta, sotto altra forma, della relazione che il Prof. Rivella ha inviato all'AVLT alla fine di febbraio. Speriamo in tal modo di aver reso più accessibile a tutti la comprensione dei problemi affrontati nella relazione stessa. (e.z.)
