

# Giulio Cossu

## La trama della vita

La scienza della longevità e la cura dell'incurabile  
tra ricerca e false promesse



Marsilio NODI

Quanto tempo ci vorrà prima che ogni ospedale possa vantare un suo reparto di medicina rigenerativa? In cosa consiste esattamente? Ce la possiamo permettere? Come funziona davvero il mercato delle staminali? Su quali basi è possibile distinguere le terapie serie dalle truffe ideate da personaggi senza scrupoli? Infine, l'Italia è realmente così indietro nella ricerca come vorrebbero farci credere? Gli interrogativi a cui dare risposta sono molti e tutti importanti dal momento che, nonostante terapia genica e cellulare, *genome editing* e ingegneria dei tessuti siano ormai diffusi, è ancora limitata presso il grande pubblico la conoscenza di quell'ampio settore che li comprende tutti e va sotto il nome di medicina rigenerativa. A ricostruirne la storia e le vicende negli ultimi decenni è Giulio Cossu, ricercatore di fama internazionale, testimone diretto dell'avvicinamento progressivo a un limite: la cura perfetta.

A capo di realtà all'avanguardia prima in Italia e oggi in Inghilterra, Cossu ci guida in un appassionante viaggio alla scoperta delle ultime conquiste rese possibili da cellule staminali, tessuti composti in laboratorio, Crispr, terapie sempre più mirate e personalizzate, sgombrando il campo dalle mistificazioni dei ciarlatani e rispondendo alle obiezioni etiche e ideologiche. Rivivono in queste pagine successi e fallimenti di quarant'anni di studi: tutte le tappe della rivoluzione che sta cambiando in modo irreversibile il significato stesso delle parole «salute» e «cura».

GIULIO COSSU (Roma, 1953) vive a Manchester, dove insegna Medicina rigenerativa e si occupa di cellule staminali per la terapia delle distrofie muscolari. È stato professore di Biologia delle cellule staminali alla University College London e in precedenza professore di Istologia all'Università di Milano e alla Sapienza di Roma. È fellow dell'Academy of Medical Sciences, dell'Accademia dei Lincei, dell'European Academy of Science e dell'European Molecular Biology Organization. Ha fatto parte del Committee for Advanced Therapies dell'European Medicines Agency. È membro del Consiglio generale dell'Associazione Luca Coscioni, con cui collabora dalla fondazione, riconoscendone l'impegno per la ricerca scientifica in Italia.

**Giulio Cossu**

# **La trama della vita**

La scienza della longevità e la cura dell'incurabile tra ricerca e false promesse

Marsilio

In copertina: Diego Max, *Homem Retrô Botânico*, 2013 © Diego Max

© 2018 by Marsilio Editori® s.p.a. in Venezia

Prima edizione digitale 2018

ISBN 978-88-317-4417-1

[www.marsilioeditori.it](http://www.marsilioeditori.it)

[ebook@marsilioeditori.it](mailto:ebook@marsilioeditori.it)

Quest'opera è protetta dalla Legge sul diritto d'autore.

È vietata ogni duplicazione, anche parziale, non autorizzata.



[Seguici su Facebook](#)



[Seguici su Twitter](#)



[Iscriviti alla Newsletter](#)

# Indice

## Copertina

Abstract - Autore  
Frontespizio  
Copyright  
Esergo

## Introduzione

Un salto di paradigma  
Terapia cellulare e genica  
Cosa non è la medicina rigenerativa  
«Forever young»?  
Un testimone privilegiato

### 1. Alla ricerca di una cura (im)possibile. Una vita al microscopio

Quadrare la sfera  
Inizi ormai lontani  
L'incontro con le staminali  
Nuove strade di ricerca  
La scoperta dei topi blu  
La «stagione buona»  
L'affaire Francis  
Finalmente Manchester

### 2. Discendenti di Prometeo. Dalla rigenerazione alle cellule staminali

Il materiale e l'immaginario  
Chiedi alle cellule  
Le prime osservazioni settecentesche  
Altri casi di rigenerazione animale  
Dall'osservazione zoologica alla medicina  
«Stammzelle», le cellule staminali  
Cellule che curano cellule  
Le trasfusioni di sangue  
Il trapianto di midollo osseo  
Dal sangue ad altri tessuti  
Le ustioni gravi e i trapianti di epidermide

### 3. Una, nessuna, centomila. Successi e speranze della terapia cellulare

Staminali embrionali e riprogrammate  
Il morbo di Parkinson: i primi trapianti  
La distrofia muscolare: tanti approcci diversi

I primi trapianti cellulari per la distrofia e perché non funzionarono  
Mesoangioblasti: dai modelli animali alla sperimentazione sull'uomo  
Non c'è un piano B

L'infarto del miocardio. Dimensione diversa, analogo risultato  
Provando e riprovando, alla fine dovrà funzionare!

Il trapianto di cornea: quando i conti tornano

#### 4. Il gene altruista. La verità sulla terapia genica

Questioni di codice

Virus per la terapia genica

Curare le immunodeficienze congenite

Ada

Scid-X1

Un altro evento fatale a Filadelfia

I geni e la distrofia muscolare

Emofilie e talassemie: una speranza di guarigione imminente

Le malattie lisosomiali: i nuovi traguardi della terapia genica

L'epidermolisi bollosa: un successo italiano

#### 5. Una scienza di frontiera. La medicina rigenerativa di domani

«Unicuique suum». Le terapie personalizzate

Ingegneria dei tessuti: la pelle che abitiamo

Gli organoidi: avatar in miniatura

Fabbricare le cellule in laboratorio

Bistecche a prova di vegano

«De humani corporis fabrica». Costruire o curare embrioni umani

Il «genome editing»

La fonte dell'eterna giovinezza

#### 6. Le lumache di Voltaire. Divulgare, spiegare e coinvolgere

Siamo davvero usciti dal Medioevo?

Lo stato dell'arte in Italia

Saper divulgare. Il giornalismo scientifico sui media generalisti

Il mondo delle riviste scientifiche. Quando risultati certi si trasformano in  
«fake news»

L'avvento di Photoshop e l'etica delle pubblicazioni

Come affrontare il problema?

Accuse anonime e crisi della percezione della scienza

L'inchiesta: un processo etico?

Esiste una soluzione?

A caccia di profitti. Soldi e sanità

Il caso Glybera

Malattie molto o poco rare?

«I capitalisti non dovrebbero mai avvicinarsi ai sistemi sanitari pubblici»

Cliniche private: istruzioni per l'uso  
La novità del caso Vannoni in Italia  
Come evitare nuove Stamina?  
L'educazione scientifica nelle scuole  
Pragmatismo versus idealismo  
Non siamo soli: la crisi delle università nord-europee  
Insegnare la medicina rigenerativa

Un'altra medicina è possibile  
Il «problema» della scelta  
«Vita tua vita mea»

Ringraziamenti

*Ai miei figli Elena e Dario,  
i migliori esperimenti della mia vita*



## Introduzione

Ed ora, chi potrà far radunare per te gli dei /  
in modo che tu trovi la vita che tu cerchi?

*Epopèa di Gilgameš, III millennio a.C.*

Fino a una decina di anni fa, quando ancora vivevo in Italia, capitava spesso che qualcuno m'interpellasse: «Professore, tra quanto pensa che le cellule staminali arriveranno realmente a curare i pazienti?».

Pazientemente, tutte le volte, rispondevo che da circa mezzo secolo le staminali sono utilizzate nella pratica clinica quotidiana e che ad oggi hanno già salvato circa un milione di vite umane. Alla mia risposta seguiva solitamente l'espressione sbalordita dei miei interlocutori. Se da un lato trovavo divertenti quegli episodi, soprattutto per la sequenza di domande (spesso strampalate) a cui di solito davano avvio, dall'altro destavano in me crescente preoccupazione, perché meglio di qualunque statistica o sondaggio mi davano la misura di quanto la conoscenza generale del pubblico su tematiche come il funzionamento delle cellule, la medicina rigenerativa, la ricerca scientifica sul Dna e la genetica fosse – com'è del resto tuttora – molto vaga, infarcita per lo più di luoghi comuni e colma di incongruenze, quando non di vere e proprie menzogne o mistificazioni.

Con il passare del tempo diveniva sempre più difficile rimanere indifferente alla distanza che separa – è uno dei grandi mali del nostro tempo – la scienza e la comunità degli studiosi dalla sfera più ampia dei cittadini e dell'opinione pubblica. Una grande frattura alimentata dalla rivoluzione digitale che si sta allargando sempre più; una situazione che si è creata a monte, a causa delle moderne prassi nell'ambito della sperimentazione e della ricerca, e a valle, per le modalità di produzione e fruizione delle notizie sui social media, con un effetto che tende a polarizzare le posizioni e all'annullamento progressivo del senso critico e della conoscenza dei fatti, non più necessari quando diventa così semplice trovare conferma delle proprie opinioni nei post di milioni di utenti che la pensano come te.

Di fronte a questo diffuso appiattimento della conoscenza ho cominciato a sentire che il lavoro di scienziato come lo avevo concepito finora non era più sufficiente: volevo fare qualcosa per rendere partecipe il numero più ampio possibile di persone di quanto costantemente salta fuori dal cilindro nei

laboratori e nei centri di ricerca sparsi per il mondo, non solo per arginare la diffusione di teorie false e nozioni errate, che finiscono inevitabilmente per limitare gli orizzonti stessi della ricerca, ma per condividere, sopra ogni cosa, la gioia e il senso di meraviglia che solo avventure culturali come la mappatura del genoma umano, o la lenta ma progressiva sconfitta di malattie prima incurabili, possono generare. Dedicare molto tempo all'insegnamento della medicina rigenerativa a studenti di ogni età in Italia e nel Regno Unito, e impegnarmi a difendere la libertà della ricerca con l'Associazione Luca Coscioni, non mi sembrava ancora abbastanza. Ecco allora l'idea di scrivere, spinto da un'esigenza che riconosco fondersi con una matrice sociale: divulgare al di fuori della ristretta cerchia degli scienziati i risultati che stanno cambiando per sempre ciò che intendiamo per *salute, malattia e cura*.

La promessa di un sogno, di una grandiosa rivoluzione ha sempre affascinato l'uomo e si è depositata nei miti, nelle leggende e nelle saghe legate all'immortalità, all'ardire di poter chiedere per sé, o in prospettiva, per i propri figli e discendenti, la vita eterna. Il desiderio di conoscenza che caratterizza la specie umana si è da subito esercitato sulla possibilità di sconfiggere il nemico più temibile, la malattia e la morte, il misterioso destino che per quanto ci sforziamo non riusciamo ad accettare, ma anche la spinta originaria che ci ha condotto a progressi sempre più importanti nel campo della cultura e infine della scienza. La nascita della medicina rigenerativa configura oggi un vero e proprio cambio di paradigma, in grado di avvicinarci a questa incredibile prospettiva molto più concretamente dei traguardi che le religioni hanno provato a garantirci in passato.

Le scoperte che ripercorreremo insieme segnano, senza esagerazione, un passaggio epocale sul piano culturale e antropologico. Viviamo una fase straordinaria della ricerca biomedica, paragonabile solo alla scoperta dei vaccini o degli antibiotici: non tanto per il numero dei pazienti guariti, finora esiguo (se non consideriamo il trapianto di midollo, terapia ormai consolidata da decenni), ma perché per la prima volta nella storia siamo riusciti a manipolare, sostituire o riparare le nostre cellule e i nostri geni, avventurandoci in una galassia che solo qualche decennio fa sarebbe sembrata irraggiungibile. Una rivoluzione einsteiniana che, incurvandola, sconfigge e ribalta l'essenza stessa della medicina.

#### UN SALTO DI PARADIGMA

Fino a larga parte del XX secolo, il concetto di terapia si è retto sul fondamentale criterio della cura *ex adjuvantibus*. Con questa espressione si indica il processo per cui una diagnosi è supportata da un tempo di remissione

della patologia in seguito a un determinato tipo di trattamento. Così, ad esempio, se un paziente soffre di un dolore al colon, è possibile selezionare, preparare e somministrare un estratto di erbe dotate di certe proprietà (più tecnicamente, di uno specifico principio attivo) e constatare che quel dolore, in una certa percentuale di casi, cessa; si può quindi dire che il sintomo della malattia è stato neutralizzato. Tanto bastava per quietare gli animi e ritenere chiusa la questione; non era necessario – e nemmeno possibile, fino a tempi recenti – svolgere ulteriori approfondimenti per comprendere i meccanismi profondi alla base della guarigione. Nei secoli le proprietà curative di piante e unguenti sono state scoperte a volte per caso, altre per osservazione o ricerca, più in generale con il susseguirsi delle pratiche, per tentativi ed errori che si sono sedimentati pian piano alla base del nostro sapere fino a formare l'enciclopedia della conoscenza medica di stampo tradizionale, quella che nelle sue linee generali è familiare a tutti noi. È così che ha avuto origine e si è sviluppato anche il concetto di «farmaco»: un preparato assunto secondo diverse modalità e forme per effetto del quale, se tratto un certo numero di pazienti aventi sintomi corrispondenti, otterrò per una percentuale di essi un effettivo beneficio e un generale miglioramento delle condizioni di salute.

La visione innovativa sorta all'interno della medicina occidentale a partire dalla seconda metà del XIX secolo, sebbene con radici molto più antiche, è invece identificabile come *evidence-based medicine*, la medicina basata sull'evidenza razionale.

Uno dei primi esempi di questo approccio, commovente nella sua atrocità, ci viene raccontato dal geniale e controverso scrittore francese Louis-Ferdinand Céline, il quale, in pochi forse lo ricordano, si era laureato in medicina nel 1924 con una tesi sul medico Ignác Semmelweis<sup>1</sup>, uno degli eroi scientifici dell'Ottocento. Quest'ultimo, giovane medico ungherese, negli anni quaranta del secolo inizia a lavorare come assistente nella clinica di ostetricia dell'Ospedale generale di Vienna, il più moderno dell'epoca, in un periodo storico caratterizzato dall'elevato numero di morti delle puerpere che partorivano negli ospedali. Le cause di questi decessi, dovuti a una terribile malattia chiamata «febbre puerperale», erano inspiegabili.

Nell'ospedale dov'è impiegato Semmelweis ci sono due padiglioni per accogliere le partorienti. In uno prestano servizio gli assistenti e gli studenti di medicina, nell'altro unicamente le ostetriche per il loro tirocinio. È evidente a tutti che nel primo padiglione si muore di febbre puerperale molto di più che nell'altro, e con un tasso molto elevato, del 10% (rispetto a meno del 4% nel secondo padiglione). Per spiegare il fenomeno si invocano cause più o meno esoteriche, in realtà nessuno riesce a capire il perché. Gli studenti del primo padiglione sono costretti dai loro superiori a eseguire un elevato numero giornaliero di autopsie, e passano poi all'attività ostetrica senza lavarsi. Semmelweis sospetta, in seguito alla morte di un collega feritosi

accidentalmente durante un'autopsia, che qualche fluido dagli organi dei morti si trasmetta alle partorienti attraverso le mani degli operatori. Durante l'estate del 1847 costringe gli studenti a lavarsi le mani con cloruro di calce prima di entrare in ostetricia; ordina inoltre di cambiare più spesso le lenzuola dai letti delle partorienti. Grazie alle nuove norme igieniche, nel giro di pochi mesi il numero di donne morte per febbre puerperale crolla, fino a stabilizzarsi su una media dell'1,5%. Nonostante il successo evidente, l'ipotesi di Semmelweis che la malattia sia dovuta unicamente alle cattive condotte igieniche dei medici è estrema al tempo, e viene ignorata e ridicolizzata. Inoltre, avendo preso l'iniziativa senza l'avallo dei suoi superiori, viene allontanato dall'ospedale per motivi politici e finisce tragicamente i suoi giorni, come accade non di rado a chi precede di troppo la propria epoca. La sua storia tuttavia ci insegna che di fronte a più variabili, i padiglioni e gli operatori, la medicina basata sull'evidenza cerca di collegarne una sola con la malattia, presupposto per tentare di identificarne le cause (le mani sporche degli studenti) e quindi una terapia logica (il cloruro di calce).

Nel corso dell'Ottocento, le nuove conoscenze e i nuovi apparati tecnologici man mano messi a disposizione della medicina dalla chimica e dalla fisica (pensate al microscopio) facilitarono lo sviluppo della medicina basata sull'evidenza, consentendo la nascita della farmacologia moderna, attraverso la quale si è cominciato ad analizzare sempre più in dettaglio, su scala microscopica, gli effetti dei medicinali. È stato così possibile studiare con notevole precisione la distribuzione dei farmaci nel corpo e le modificazioni cui vanno incontro, tanto che oggi per quasi tutti siamo in grado di dire qual è la precisa strada molecolare grazie alla quale una sostanza ottiene l'effetto voluto. Investigando uno specifico stadio dell'azione farmacologica possiamo cercare di identificare progressivamente tutte le molecole, o più genericamente le vie, che non sono correlate all'effetto desiderato, ma che ne producono invece uno tossico. Si possono allora sviluppare nuovi prodotti, con simile struttura chimica, che mantengano l'effetto desiderato ma non quello tossico. Un farmaco di nuova generazione, di conseguenza, colpisce con estrema precisione il bersaglio, conservando un'altissima efficacia terapeutica e senza dare luogo ad alcun tipo di effetto collaterale. Dalla farmacologia il concetto si è poi esteso a molti altri ambiti della ricerca medica, in una sorta di filiazione concettuale. L'*evidence-based medicine* richiede pertanto una comprensione dei problemi e delle malattie di gran lunga superiore a quella *ex adjuvantibus*, e proprio per questo viene generalmente ritenuta la madre della medicina rigenerativa, che si basa sullo sviluppo di terapie per le quali si sono compiute indagini che hanno preso in considerazione l'intero spettro di complessità del fenomeno indagato.

L'*evidence-based medicine* abbraccia nel profondo il modello che rappresenta e incarna la società del XXI secolo: la *complessità*. A partire dagli

sconvolgimenti portati dalla relatività generale e dalla meccanica quantistica, passando per la teoria dell'informazione per poi approdare agli sviluppi della biologia e all'allargamento dei suoi metodi d'indagine e del suo linguaggio a molti altri settori della conoscenza, tra cui scienze umane e *cultural studies*, la complessità si configura come la chiave ermeneutica del nostro tempo, non da ultimo anche in ambito medico, come ben si intuisce dalle ricadute che pratiche come la manipolazione del genoma e la clonazione possono avere su un numero virtualmente infinito di altri ambiti operativi ed esistenziali. Nel caso della medicina rigenerativa, la complessità riguarda la natura delle malattie che si intendono curare, l'approccio eziologico con cui si intende curarle e lo stratificarsi delle conoscenze e degli attori necessari alla messa in moto funzionale del gigantesco organismo che serve a produrre le terapie.

A questa disciplina ho dedicato gran parte della mia vita professionale, avendo provato l'emozionante esperienza di assistere alla sua nascita e al suo sviluppo come settore della conoscenza umana che quando ero studente non solo non esisteva, ma se immaginato nelle sue possibilità tecniche sembrava ancora fantascienza. Ma non è tutto oro quello che luccica, e anche per la medicina rigenerativa si possono profilare dei punti critici (uno su tutti, la maggiore lentezza e complessità nello sviluppo delle terapie) così come applicazioni degradanti in genere dovute alla brama di profitto economico.

L'attuale paesaggio mondiale della medicina rigenerativa è infatti inquinato da quelle che si possono considerare vere e proprie imprese commerciali, spregiudicate *companies* (piccole aziende) e cliniche private che si autoproclamano avanguardia della medicina rigenerativa ma ben poco hanno a che fare con essa, dato che hanno palesemente abbandonato l'*evidence-based medicine* per ritornare al vecchio criterio della medicina *ex adiuvantibus*, accumulando ingenti profitti a livello globale. Esse procedono dichiarando che il paziente sta meglio se e quando scompaiono i sintomi di un determinato malanno, ma senza sapere né chiedersi cosa sia esattamente avvenuto all'interno del suo organismo. Ne sono un esempio le cosiddette «terapie» con cellule staminali mesenchimali, di cui parlerò negli ultimi capitoli, e che hanno purtroppo creato tante illusioni e sofferenze ai danni di pazienti trasformati in vere e proprie vittime. Da queste persone ammalate – umiliate e offese, mi verrebbe da dire evocando Dostoevskij, nella speranza ci sia poi un castigo per i colpevoli – vengono estratte quelle che sono solo presunte «cellule staminali», con il miraggio di una cura che si tramuta immancabilmente in disperazione al momento della scoperta del raggio: in realtà non si ha alcuna evidenza della natura di queste cellule, dato che vengono aspirate molto spesso dal tessuto adiposo poiché l'estrazione risulta meno invasiva<sup>2</sup>. A seguito di una loro purificazione, e solitamente di un'espansione in coltura, si procede a una re-inoculazione in vena nel paziente. In molti casi non vengono nemmeno utilizzate cellule prelevate dal

malato, ma provenienti da altra origine e spesso non verificate per gli antigeni d'istocompatibilità, che se uguali tra donatore e ricevente garantiscono migliori probabilità di sopravvivenza delle cellule trapiantate e riducono al contempo la probabilità di rigetto. Le *companies* in questione vendono le cure a peso d'oro, sostenendo che le cellule estratte svolgono un effetto antinfiammatorio, e fanno star meglio il paziente. Non vi è alcuna garanzia che ciò accada realmente, perché queste terapie non sono accompagnate e sorrette da pubblicazioni accreditate. Il 99,99% delle cellule iniettate endovena, infatti, nel giro di pochi secondi rimane intrappolato nei polmoni, dove entro un'ora viene attaccato dai macrofagi, le cellule del nostro corpo che distruggono e poi digeriscono cellule estranee, microbi e anche cellule morte. Com'è possibile che questo tipo di trattamento porti a un effetto terapeutico?

Questo esempio ribadisce l'importanza dell'*evidence-based medicine*: un approccio di questo tipo costringerebbe le *companies* a produrre come minimo uno studio su uno o più modelli pre-clinici, di solito costituiti da animali colpiti dalla stessa malattia, per verificare che quanto asserito avvenga effettivamente. È per questo che il nuovo paradigma è così importante, e non può che essere quello fondante non solo per la medicina rigenerativa di oggi, ma per tutta la scienza medica a venire, che sempre più deve cercare di avvicinarsi a questo limite ideale.

#### TERAPIA CELLULARE E GENICA

Per certi aspetti, i destini della scienza sono imperscrutabili come quelli dei personaggi di un'epopea, ed è proprio questo che ripercorreremo insieme: una storia popolata di personaggi piccolissimi e in apparenza fragili, a lungo rimasti ignoti, poi lentamente emersi dalle tenebre e diventati sempre più visibili, tangibili, rumorosi e centrali, fino a rivelarsi essenziali per il mantenimento della nostra vita, oggi ma sempre più in futuro: *i geni e le cellule*.

Queste entità biologiche stanno subendo infatti una clamorosa trasformazione dal punto di vista ontologico e funzionale: a mutare è la loro natura, da origine delle malattie a cura delle stesse. Esse ci appaiono oggi come veri e propri farmaci per un ampio insieme di patologie che si producono generalmente a partire da un errore genetico nel nostro Dna, detto «mutazione». A seguito di questi errori le cellule si ammalano, non funzionano più come dovrebbero e con esse a catena l'intero organismo.

Cosa significa, quindi, cercare di guarire i geni e cercare di guarire le cellule, e come mai esistono le due pratiche distinte di *terapia cellulare* e

*terapia genica* se di fatto le cellule dipendono dai geni, alla cui azione sono soggette? Non basterebbe sempre e comunque intervenire solo sui geni per curare le patologie? Una definizione precisa e un esempio aiuteranno a chiarire la differenza tra i due tipi di approccio alla cura.

La terapia cellulare è una nuova disciplina medica in cui il farmaco tradizionale è sostituito da cellule, mentre nella terapia genica esso è sostituito da uno specifico gene e dalla proteina che esso produce. È bene precisare che esiste una regione di sovrapposizione tra le due terapie, in cui le due tecniche combinate vengono usate assieme per arrivare alla massima efficacia, e sono infatti i protocolli di terapia genica mediata da cellule quelli che hanno ottenuto finora i maggiori successi clinici.

Supponiamo di trattare un paziente affetto da un'ustione alla cornea, con seguente perdita della vista. Se almeno parte di uno dei due occhi è salva, occorre prelevare dalla cornea superstite una piccola quantità di cellule da espandere in coltura, utilizzando fibrina, una proteina derivata dal sangue con cui si può formare una membrana manipolabile su cui coltivare le cellule, per generare una nuova cornea. Una volta preparato il nuovo tessuto, si trasferisce la cornea prodotta in laboratorio sull'occhio malato che lentamente guarirà, ristabilendo la normale capacità di visione. In questo caso la cellula o le cellule sane del paziente non sono state manipolate geneticamente, ma sono rimaste in tutto e per tutto uguali a quelle di origine, sono state fatte crescere di numero e poi la nuova popolazione è stata reinnestata: il paziente è cioè guarito *grazie alle sue stesse cellule*, che sono diventate a tutti gli effetti un farmaco. Nel caso appena descritto ci troviamo di fronte a una situazione di terapia cellulare pura.

Supponiamo ora di trovarci di fronte a un paziente affetto da una malattia al fegato causata dalla mutazione di uno specifico gene, che non consente la produzione di un particolare enzima, una proteina necessaria per svolgere un'azione metabolica importante per la vita della cellula. In questo caso posso intervenire con una terapia genica diretta. Una copia sana del gene mutato, che oggi si può costruire in laboratorio, viene inserita in un vettore virale, un virus modificato artificialmente per trasportare nelle cellule il gene «terapeutico» (anziché i geni patogeni, come avviene normalmente in natura). Il vettore viene poi iniettato nella vena porta che con il flusso sanguigno lo condurrà al fegato. Qui penetrerà negli epatociti, le cellule che compongono la maggior parte dell'organo e ne svolgono le funzioni fisiologiche. L'informazione genetica corretta derivante dal gene sano che abbiamo inserito nel vettore, permetterà agli epatociti di produrre l'enzima e con questo di ripristinare la funzione metabolica, prima impossibile. Quando utilizziamo il solo materiale genico, come nel caso appena descritto, abbiamo una terapia genica pura, in cui il gene è direttamente iniettato *in vivo*, nel corpo del paziente.

Se però prelevo delle cellule malate dal paziente, ne correggo il materiale genetico al di fuori del corpo (*ex vivo*), e reintroduco le cellule modificate (e quindi ora sane) nel corpo del soggetto, posso dire di avere un'azione combinata tra le due discipline, una commistione di terapia cellulare (le cellule sane così prodotte sono il farmaco), e terapia genica (ho eseguito delle modifiche *in vitro* sul materiale genetico per curare le cellule malate).

Curando i geni o le cellule di ogni singolo paziente, agisco nell'ambito della *medicina personalizzata*. Com'è intuibile, il salto di qualità rispetto ai farmaci tradizionali è enorme: se io espando e curo in laboratorio le cellule sane di Mario Rossi per curare una certa malattia di Mario Rossi, le cellule così prodotte, usate come farmaco e reintrodotte nel paziente, saranno efficaci per il solo Mario Rossi e saranno del tutto inefficaci (o perfino dannose) per un qualsiasi altro malato, per effetto della risposta immunitaria del corpo. Realizzare un farmaco singolo per un unico paziente è il nuovo paradigma reso possibile dalla medicina personalizzata. Naturalmente, questo tipo di approccio comporta ad oggi costi molto elevati, perché la cura, messa a punto in centri specializzati attraverso tecniche molto sofisticate e che richiedono spesso tempi lunghi, ha una sola possibile applicazione.

Immagino la domanda che molti di voi si staranno ponendo a questo punto: è giusto spendere un milione di euro di soldi pubblici per curare un solo paziente<sup>3</sup>, quando con quella cifra si potrebbero salvare migliaia di bambini, colpevoli solo di essere nati dalla parte sbagliata del mondo? La risposta alla domanda sull'opportunità della spesa pubblica destinata a questo tipo di ricerca è, almeno per me, «sì», e non solo dal punto di vista etico: quando curano davvero la malattia e restituiscono il paziente a una vita normale, le terapie di medicina rigenerativa rappresentano un risparmio per il sistema sanitario, perché eliminano i costi di assistenza e le cure palliative che a volte si protraggono per decenni e finiscono per gravare economicamente sui sistemi di welfare ben più del singolo trattamento. Il problema è arrivare a una terapia veramente efficace.

C'è da aggiungere che i costi esorbitanti dipendono anche dal fatto che pochissimi farmaci tra tutti quelli che iniziano una sperimentazione (sia tradizionale che di terapia cellulare o genica) arrivano all'approvazione per il mercato, superando progressivamente un percorso molto lungo che avremo modo di approfondire e che inizia con una sperimentazione pre-clinica, e poi si esaurisce con trial clinici di fase I, II e III. Anche i tempi di sviluppo sono molto dilatati, di solito si parla di almeno un decennio, e questo riduce a relativamente pochi anni il tempo in cui il farmaco sarà protetto dal brevetto prima che i *competitors* possano produrlo e venderlo a prezzi più bassi, non avendo avuto la necessità di coprire le spese di sperimentazione. Un bel grattacapo, insomma.

Se la terapia cellulare è quasi sempre medicina personalizzata, e in un



certo senso l'estrema personalizzazione costituisce una forte limitazione alle possibilità di applicazione soprattutto di natura economica, diverso è il caso della terapia genica, dove l'ingegnerizzazione di un singolo vettore virale può essere utile a trasferire il gene curato a tutti quei soggetti che presentano la specifica mutazione, condizione necessaria per prepararne una cura *ad hoc*. Prendiamo il caso dell'emofilia, malattia del sangue che ne rallenta la coagulazione. Se ingegnerizzo in laboratorio un vettore virale che permette il reinserimento nelle cellule del gene sano (ad esempio il fattore IX della coagulazione), lo posso usare in tutti i pazienti che presentano questa mutazione, migliaia di persone solo in Italia. È evidente che il salto di scala è ben diverso, sebbene per alcune malattie molto rare o addirittura rarissime il numero dei pazienti coinvolti possa essere ancora molto esiguo.

Per questo motivo, la terapia genica appare come la soluzione più diretta ed economica, ma purtroppo non è esente da seri problemi quali un'efficiente distribuzione del vettore virale a tutti i tessuti colpiti (pensate all'estensione dei muscoli o all'epidermide, che rappresentano una grande parte del nostro corpo) e alla risposta del sistema immunitario, che riconosce il vettore virale introdotto come estraneo e quindi cerca di eliminarlo, distruggendo con esso anche le cellule corrette (vedremo come si sta cercando di risolverli nel capitolo 4). Molti sono i tentativi di standardizzare e rendere universali queste cure, o se non altro di applicarle al più alto numero di pazienti possibile, in modo da favorire il realizzarsi di economie di scala che consentano di coprirne i costi. Non a caso un settore in cui numerose *companies* e molti centri di ricerca stanno investendo tempo e denaro è oggi quello della creazione della cosiddetta «cellula donatrice universale», una cellula che sia invisibile al sistema immunitario, e ne permetta quindi l'utilizzo su qualsiasi paziente: se però una cellula che è in grado di eludere il sistema immunitario dovesse diventare tumorale, come sarà possibile arrestarla o debellarla? La soluzione si configura come una sorta di lama a doppio taglio, dato che dopo essere faticosamente riusciti a curare la malattia (prima incurabile) di un paziente, ne causiamo un'altra altrettanto (per ora) incurabile, provocando un tumore che si potrebbe sviluppare a partire dalla cura stessa. Il dilemma non è così banale, soprattutto se si pensa che le cellule utilizzabili per questo tipo di operazione sono derivate dalle staminali embrionali o da quelle riprogrammate, le famose ESC e iPSc (che saranno trattate in dettaglio nel capitolo 3). Nonostante la capacità di differenziare in tutti i tipi cellulari del nostro corpo (*pluripotenza*), non tutte le cellule differenziano nel tipo cellulare desiderato. Qualcuna rimane indifferenziata e può quindi proliferare indefinitamente e, se non eliminata preventivamente, generare un tumore.

Comprendere le differenze tra i vari tipi di approccio e le finalità della medicina rigenerativa è fondamentale per capire cosa può aiutarci in futuro a far ricrescere un arto amputato o un organo danneggiato, se e perché potrebbe

avere senso farlo. Essendo una forma di medicina sperimentale che mira a *rigenerare* organi e tessuti danneggiati da traumi o malattie, o ad *aumentare* ed *espandere* il numero di cellule attraverso una serie di metodologie sperimentali che comprendono la terapia cellulare, la terapia genica e l'ingegneria dei tessuti, la medicina rigenerativa non comprende direttamente l'oncologia, anche se potrebbe intervenire successivamente a una terapia oncologica per aiutare la rigenerazione dei tessuti che sono sopravvissuti alla distruzione del tumore e ai correlati danni. Per curare un cancro non si ha bisogno di far (ri)crescere qualcosa, quindi di generare nuove cellule, ma si deve invece cercare di fermare qualcosa che cresce senza alcun controllo. Servono allora degli strumenti della terapia cellulare e della terapia genica che aiutino a distruggere il tumore o eventualmente a eliminare le sue metastasi. Si possono iniettare all'interno del tumore, ad esempio, dei vettori virali che causino una forte risposta immune, e che producano a loro volta delle sostanze che generano un'ulteriore forte risposta immune, nella speranza di stimolare il nostro sistema a distruggerlo. In questo caso si sta mettendo in atto una pratica di terapia genica che non è attribuibile al dominio della medicina rigenerativa, ma a un ambito oncologico, in cui il ruolo della medicina rigenerativa è al massimo ancillare. Ad esempio, la ricostruzione di una mammella asportata per un tumore attraverso tessuti della paziente potrebbe essere una soluzione preferibile all'impianto di un sacchetto di silicone, come avviene ora.

Solo negli ultimi cinque anni alcune rare malattie genetiche sono state guarite per mezzo della terapia genica e cellulare delle cellule staminali, mentre si aprono nuove prospettive per malattie acquisite come il Parkinson, che invece sono ben conosciute perché purtroppo colpiscono molti. Per di più, se riusciremo a riparare organi e tessuti malati, potremo arrivare anche a riparare organi e tessuti logorati dagli anni: potremo quindi ringiovanire o per lo meno non invecchiare. Ipotesi scientifica o fantasia mediatica? E poi sarebbe giusto vivere fino a duecento anni o più? La rivoluzione della medicina ci regala promesse incredibili, e il confine tra ragionevole speranza di guarire e iperbole, spesso creata per trarre profitto dai più deboli, i malati, è davvero labile e sfumato. Bisogna essere realisti: l'insolenza di una medicina che ormai è capace di farci sopravvivere a lungo, talvolta anche a noi stessi, inevitabilmente esacerba le mille questioni legate all'invecchiamento e questo crea enormi problemi di prevenzione (quando possibile) e di assistenza. Logico quindi che ingenti risorse siano dedicate allo studio dell'invecchiamento e che le malattie degenerative del sistema nervoso, purtroppo così frequenti e debilitanti, siano oggetto di molti lavori, anche di terapia cellulare, soprattutto quando le loro caratteristiche sembrano perfette per questo approccio, come nel caso del morbo di Parkinson.

Si tratta di una rivoluzione che non può non avere ricadute sul piano

politico ed economico, che inevitabilmente sconfinano in temi etici: se nel prossimo decennio la medicina rigenerativa dovrà passare da piccoli trial su pochi pazienti a una realtà clinica di routine, cioè essere disponibile in molti centri specializzati come avviene oggi per il trapianto di midollo, sarà necessario ripensare al contratto sociale che è alla base della sua comprensione e quindi di una matura e consapevole accettazione da parte del pubblico.

## COSA NON È LA MEDICINA RIGENERATIVA

Fin qui ho tratteggiato una prima presentazione generale del nuovo campo di possibilità, per cercare di comprendere *cos'è* la medicina rigenerativa; proviamo ora a presentarla usando un approccio apofatico – per usare un'espressione presa in prestito dalla teologia –, cioè per via di negazioni, cercando di precisare *cosa non è*, in modo da liberarci da alcuni falsi miti che la riguardano ma che nulla hanno a che fare con essa.

1. La medicina rigenerativa *non è una pratica medica che consente di curare tutte le malattie*, di conseguenza questo tipo di tecnica non diventerà la panacea di tutti i mali. Ci sono infatti molte patologie (la maggioranza) che, per la loro natura biologica, devono essere trattate con altri metodi, e per curare le quali sicuramente in futuro si continuerà ad assistere a un'ulteriore specializzazione di diverse tecniche mediche, altrettanto valide e importanti per mantenere e ripristinare il nostro stato di salute. Malattie comuni come il diabete, o la maggior parte delle malattie cardiovascolari sono dovute a cause multiple, in parte legate al corredo genetico dell'individuo, in parte all'influenza dell'ambiente e la loro complessità ha finora vanificato tutti i tentativi terapeutici di medicina rigenerativa, come ad esempio il trapianto di cellule staminali per l'infarto del miocardio. Ugualmente, i tumori e le malattie infettive, tra le prime cause di morte rispettivamente al Nord e al Sud del mondo, non sono dominio della medicina rigenerativa.

È bene precisare che fino ad oggi la medicina rigenerativa ha curato pochissime malattie, prima incurabili e letali spesso nei primi anni di vita. Si tratta quasi sempre di malattie genetiche rare, causate dalla mutazione di un solo gene, il cui mancato funzionamento porta a morte uno o più tipi di cellule del nostro corpo. Intesa come insieme di terapia genica e terapia cellulare (ci sono ancora pochi esempi di applicazioni concrete nell'ambito dell'ingegneria dei tessuti), la medicina rigenerativa è stata finora testata come possibile rimedio clinico su un campione di circa cinquanta malattie, su un totale ben più vasto di diverse migliaia che potrebbero essere trattate con questi strumenti, se si considerano anche alcune patologie rarissime di cui nessuno

sente parlare né sui libri di testo né sui media generalisti, fino a che purtroppo queste non colpiscono un familiare. La sproporzione tra le malattie che si è perlomeno tentato di trattare e quelle ancora da prendere in esame è come si vede enorme.

Di questa cinquantina di malattie, allo stato attuale solo cinque o sei sono state contrastate con successo, cioè – sento di poterlo dire con tranquillità –, sono state essenzialmente curate. Sulle rimanenti quaranta ancora da debellare si sta lavorando alacremente, e per alcune tra queste, soprattutto le più diffuse e conosciute, potrebbe essere in dirittura d'arrivo una cura in tempi relativamente brevi. Ho già citato più volte il caso del Parkinson, ma si giungerà in un passaggio successivo a malattie più complesse dal punto di vista biologico come la distrofia muscolare, e altre ancora che richiederanno più tempo (qualche decennio?) o perché la complessità della patologia è enorme – come per la sclerosi laterale amiotrofica – oppure perché si tratta di malattie così rare che nessuno ha il coraggio di prenderle in considerazione per uno studio serio, dato che per queste non ci sarebbe alcun tipo di interesse sociale e (quindi) di ritorno economico. Queste malattie quasi sempre non dispongono di appropriati modelli animali e non esistono associazioni di pazienti organizzate da combattivi e informati familiari, che promuovano la ricerca sulle cause e le possibili terapie, tanto che in genere le potremmo definire «malattie abbandonate».

A livello teorico tutte le malattie che si prestano a un trattamento di medicina rigenerativa potranno un giorno essere curate ma per i motivi elencati sopra (complessità patogenetica e rara frequenza) per alcune serviranno ancora decenni.

2. La medicina rigenerativa *non è identificabile o associabile con l'attività delle cliniche private* che offrono delle cure non comprovate, gettando un'ombra di discredito su tutto il campo di ricerca. Si tratta di una falsa percezione che molti cittadini sviluppano in seguito al bombardamento di notizie, più o meno false, diffuse dai media, riguardanti le truffe perpetrate da *companies* o cliniche private senza scrupoli ai danni di pazienti in condizioni psicologiche di estrema fragilità. È un problema molto serio, per cui gli operatori professionali stanno faticosamente tentando di trovare degli strumenti che consentano di costruire solidi argini legislativi e istituzionali.

Per contrastare il fenomeno, da alcuni anni la comunità internazionale sta elaborando un'iniziativa importante, una sfida raccolta dalla prestigiosa rivista «Lancet» con l'idea di creare un registro internazionale delle attività di medicina rigenerativa, che dichiari a chiare lettere quali sono i criteri da usare per individuare cliniche sicure e affidabili.

Questo registro vuole essere diverso da quelli che di volta in volta hanno tentato di costruire alcune società scientifiche (come la Società internazionale di ricerca sulle cellule staminali, Isscr) e altri soggetti istituzionali come

l’Agenzia europea per i medicinali (Ema), finora con scarso successo; non si tratta di compilare una lista semplicistica e manichea dividendo il mondo delle cliniche in buone e cattive, perché molti cattivi sono bravi a mascherarsi da buoni sulle aride note di un registro (impossibile da controllare esaustivamente da parte dell’ente), e perché società scientifiche ed enti istituzionali sono soggetti a ritorsioni legali tanto dei buoni che dei cattivi, mascherati o meno, che hanno a disposizione avvocati bravissimi, costosissimi e senza scrupoli. Si tratta piuttosto di creare una sorta di «TripAdvisor» delle *companies*, un registro che fornisca un elenco di centri che offrono terapie comprovate, incentrato sul criterio delle reali conseguenze della cura sui pazienti, che sarebbero così in grado di orientarsi in questo dedalo, di organizzarsi in modo adeguato e completo rispetto alla loro specifica situazione e di fornire quindi un feedback reale e non emotivo.

3. La medicina rigenerativa *non comporta la distruzione necessaria di embrioni umani* e pertanto, pur ammettendo che le intenzioni siano buone, non sono «malvagi» i mezzi per realizzarle perché di fatto non si impernano su un presunto omicidio. Le cose non stanno così per una serie di motivi: a) la grande maggioranza delle terapie di medicina rigenerativa utilizzano finora cellule staminali adulte (prelevate da tessuti del paziente o di un donatore e che nulla hanno a che fare con l’embrione); b) dal 2006, grazie alle iPSc, è possibile riprogrammare cellule dei tessuti adulti, già differenziate, e riportarle allo stadio originario di cellule staminali embrionali, anche qui senza intervenire sull’embrione; c) le cellule staminali embrionali vere e proprie derivano effettivamente da un embrione umano, ma queste possono essere cresciute indefinitamente in coltura; di conseguenza oggi si utilizzano linee cellulari stabili che, di nuovo, non comportano la distruzione di un embrione umano; d) anche nei casi infrequenti o rari in cui sia necessario isolare *ex novo* cellule staminali embrionali, queste sono derivate da embrioni soprannumerari, seguenti a pratiche di fecondazione *in vitro*, conservati a basse temperature in azoto liquido: questi embrioni non hanno alcuna speranza di divenire un bambino, perché, a differenza di pesci e anfibi, noi non possiamo svilupparci nell’acqua ma solo in un utero che ci accolga.

4. Da ultimo, la medicina rigenerativa *non ha nulla a che fare con l’eugenetica*, e non ci porterà nel caso più estremo a costruire a tavolino figli perfetti, tutti alti, biondi e intelligenti. In generale questi caratteri sono determinati da molti geni diversi, e da un insieme probabilistico e non controllabile di fattori ambientali, per cui ad esempio non è possibile pensare di aumentare attraverso un trapianto di cellule staminali l’intelligenza di un bambino. Questa si sviluppa per effetto di stimoli adeguati che peraltro sono sempre più raramente offerti ai bambini. Invece di ricorrere alla medicina, è importante dedicare cura e attenzione ai nostri figli se vogliamo che questi diventino più svegli e intelligenti. Più complessa la questione dell’altezza.

Occorre considerare che il confine tra eliminazione di un carattere negativo (bassa statura) e implementazione di uno positivo (altezza) è tutt'altro che definito e richiederebbe un accordo preliminare da parte di una commissione internazionale di esperti per stabilire quali caratteri siano patologici e quali normali variazioni in una popolazione eterogenea e conseguentemente come dovrebbero essere trattati. Ho scelto non a caso come esempio la statura, perché per questo carattere esiste un gene specifico che codifica per l'ormone della crescita, responsabile, in buona parte, di forme di nanismo quando assente e di gigantismo quando presente in eccesso. In linea teorica dunque la statura si potrebbe decidere con precisione, ammesso che sia davvero un parametro indispensabile. Questa è però l'eccezione, non la regola: alcuni caratteri importanti, come il colore degli occhi, dipendono da molti o moltissimi geni, tanto che attualmente nessuno tra gli scienziati sa con precisione quanti siano e soprattutto come interagiscano tra loro.

Il bambino alto, biondo, forte, intelligentissimo e con gli occhi azzurri oggi per fortuna non si può fare. Oggi, ma fra dieci o vent'anni? È dai tempi dello spartano monte Taigeto, della romana rupe Tarpea, fino alle varie e più tristemente recenti teorie sulla razza del periodo nazista, che questa idea circola subdola e pericolosa nella mente di molti. Per parte mia, molti anni fa, quando ero presidente dell'Associazione di biologia cellulare, alcuni genetisti proposero di organizzare un simposio sulla «razza»; io allora suggerii di farne anche uno sulla «sogliola»: nessuno rise. Ancora una volta tutto ciò ci riconduce a una domanda di fondo: come agire quando gli intenti esulano dalla cura delle malattie? Rispondere non è facile – né è esclusivo compito della scienza –; al contrario, tentare di affrontarla ne fa emergere di nuove e più complesse, anche rispetto al nostro modo di concepire il tempo.

«FOREVER YOUNG»?

Riparare organi guasti, far ricrescere arti o parti del corpo perse o amputate, guarire da malattie incurabili, trattare l'invecchiamento e allungare la durata della vita, dimostrano come il cambio di paradigma sposti il piano di azione della medicina dalla ricostruzione in termini biologico-spaziali del corpo all'intervento sul piano del tempo. La dimensione del tempo entra quindi a far parte come entità manipolabile del discorso della medicina rigenerativa, una delle variabili su cui si potrebbe decidere di agire, anche senza trovarsi necessariamente in presenza di una situazione patologica da risolvere.

Per sua natura, come abbiamo visto, la medicina rigenerativa si propone di ripristinare la normale struttura e funzione in tessuti danneggiati da malattie o

traumi. A questi eventi segue spesso la morte dei tessuti o dell'organo interessato, sempre che questo non abbia una spontanea capacità di rigenerare e a condizione che il danno subito non sia stato troppo severo.

Un ramo tagliato che genera un piccolo germoglio (proprio dalla botanica e dalla pratica degli innesti deriva il termine *clone*, dal greco *klōn* ovvero «virgulto», «germoglio»), l'arto amputato di una salamandra che dal moncone forma un blastema, una sorta di «germoglio animale», sono esempi di come la vita riprenda il comando ogni volta che le sia possibile. Se invece il danno supera una certa soglia all'interno di un equilibrio dinamico, la pianta o l'animale, per colpa della cessata funzione di un suo organo vitale, morirà.

Invecchiamento e morte sono dunque le due categorie ultime con cui ci troviamo ancora a dover fare i conti. Riusciremo finalmente a rimanere «forever young», come cantava Bob Dylan? L'invecchiamento, grande spauracchio della contemporaneità, può effettivamente essere considerato una malattia, come si sta tentando di farlo passare oggi? E se un giorno fosse possibile arrestarlo, potremmo dire che ciò sia anche auspicabile?

Da un lato, infatti, può essere comprensibile la volontà di mantenere giovani e funzionali i nostri organi, dai muscoli al cervello, ma ben altra prospettiva è quella di fermare l'invecchiamento allo stadio in cui *decidiamo di o riusciamo a* intervenire: è diverso a trent'anni o a settanta. È invece per il momento pura e assoluta fantascienza la possibilità di ringiovanire organi e tessuti senescenti e riportarli allo stato in cui si trovavano quando avevamo vent'anni. «Sed fugit interea, fugit irreparabile tempus», scriveva Virgilio nelle *Georgiche*, ed esso alla fine rappresenta ancora per noi ciò che è sempre stato, più che altro un limite, da intendere in modo neutro come confine naturale per la nostra azione.

Quando sopraggiunge alla fine di una vita sana e serena (come ci auguriamo tutti), la morte è un evento naturale e necessario per la specie perché consente di lasciare il posto *al nuovo*, ovvero ai nostri figli, nipoti e così via. Permettere al nuovo di manifestarsi e far agire tramite esso altre possibilità e capacità è una delle chiavi del funzionamento della natura e del successo delle specie o più in generale della vita, e le cellule ce lo insegnano tutti i giorni. Come aveva capito già nell'Ottocento Giulio Bizzozero, ormai quasi dimenticato medico italiano di cui parlerò a lungo, ogni giorno numerose cellule della nostra epidermide muoiono, trasformandosi in cheratina, per lasciare il posto a nuove cellule che si dividono e poi differenziano in un ciclo continuo che ci accompagna per tutta la vita. Perfino durante lo sviluppo fetale alcune cellule del nostro corpo decidono di morire per contribuire alla forma finale di quest'ultimo, in una sorta di sacrificio teleologico, se vogliamo vederlo in questi termini. Mani e piedi, infatti, si formano inizialmente come un abbozzo compatto (*limb bud* è il bel termine inglese che potremmo tradurre come «bocciolo di un arto») all'interno del

quale alcune cellule andranno incontro a un suicidio programmato, che in gergo tecnico si chiama «apoptosi», e che serve a creare lo spazio tra le dita e con esso le loro future possibilità di movimento funzionale. Se non lo facessero, le nostre mani e i nostri piedi sarebbero simili alle zampe delle papere.

Durante tutto lo sviluppo e la vita post-natale, le cellule del nostro corpo decidono se e quando dividersi, differenziare nei nostri tessuti maturi e quando morire, in modo coordinato e così complesso che solo oggi iniziamo lentamente a decifrare le regole che governano questo processo. L'embrione si sviluppa avendo in sé tutti i meccanismi e i controlli che lo porteranno a formare un individuo di una data specie; anche se nei mammiferi è la madre a nutrirlo, essa non interferisce con il suo sviluppo se non a fronte di malattie che ne compromettano la funzione nutritiva e/o protettiva.

Alcune cellule specifiche e in alcuni tessuti molto più che in altri, mantengono la capacità di dividersi per tutta la vita dell'organismo e di generare di continuo nuove cellule differenziate del tessuto cui appartengono: sono le famose cellule staminali, la pietra fondante di questa disciplina. La divisione delle cellule staminali è un bell'esempio di come l'asimmetria – a dispetto dei nostri canoni estetici piuttosto favorevoli all'equilibrio simmetrico – sia essenziale per far coesistere funzioni diverse nella stessa cellula staminale, che dividendosi ne genera un'altra uguale a se stessa, quindi ancora staminale, e una diversa, progenitrice, che darà origine alle cellule differenziate di un determinato tessuto.

Se, di conseguenza, arrivassimo alla serena comprensione del fatto che la morte è un fatto necessario, dovremmo chiederci: «Vogliamo davvero vivere per sempre?». Vogliamo davvero sovvertire un ciclo naturale che si ripete ininterrotto da quando sono comparsi sul pianeta animali dalla struttura complessa che si riproducono sessualmente e quindi invecchiano per lasciare spazio alle generazioni successive?

Ammettere che sia questo il nostro scopo non vorrebbe dire segnare un punto a favore di coloro che sostengono che con la medicina rigenerativa giochiamo a fare Dio, che modifichiamo le leggi della natura, per quanto possano sembrare crudeli? È giusto per l'uomo divenire arbitro della salute e della malattia, addirittura della vita e della morte? Chi avrà diritto di scegliere per esse, quale sarà l'accesso a queste pratiche e come potrebbero influire infine sul piano sociale? Non è inverosimile, infatti, immaginare lo strutturarsi di una distopica società futuribile rispetto a differenze di classe che diventano non più economiche o di censo ma eminentemente biologiche, come sostiene lo storico Yuval Noah Harari nel suo bel libro *Homo Deus*<sup>4</sup>. Riusciremo a creare una nuova specie di uomo, migliorato in tutte le sue caratteristiche, e magari addirittura esente da malattie? La medicina rigenerativa determinerà quindi il superamento e la fine della scienza medica



stessa?

## UN TESTIMONE PRIVILEGIATO

La mia storia negli ultimi decenni è stata quella di testimone diretto dell'avvicinamento progressivo a un limite: la cura perfetta. Per circa quarant'anni, in diverse università e centri di ricerca all'avanguardia al di qua e al di là dell'Atlantico, ho lavorato alla frontiera della terapia cellulare per cercare una soluzione per la distrofia muscolare di Duchenne, una forma particolarmente grave di distrofia. A partire dagli anni settanta i tentativi della comunità scientifica internazionale di trovare un rimedio a questa terribile malattia sono stati molti, purtroppo non ancora coronati da pieno successo. Si è certamente registrato qualche passo in avanti verso una maggiore comprensione della patologia e la definizione di una cura attraverso la medicina rigenerativa, e il fatto che qualcuno dei miei contributi scientifici sia stato d'aiuto in questa direzione mi riempie d'orgoglio, anche se una punta d'amarezza rimane per ciò che già si potrebbe fare dal punto di vista medico-scientifico e che per molti motivi (che diverranno evidenti proseguendo nella lettura), ancora non è possibile raggiungere. Nonostante le difficoltà *in primis* biologiche, per la complessità della malattia, e gli ostacoli economici e logistici che accompagnano lo sviluppo di una terapia, sono sicuro che sarà possibile giungere a una soluzione in tempi forse non brevissimi, ma a portata dell'aspettativa di vita di chi è oggi ancora giovane.

Anche pensando ai giovani e ai nuovi scienziati di domani, ho quindi accolto l'invito della mia amica Mirella Parachini<sup>5</sup>, compagna storica di Marco Pannella, la quale mi ha spronato ricordandomi le parole di Marco: se si è testimoni di un evento bisogna necessariamente scrivere e raccontare, come primario e personale dovere morale. È con questo spirito che ho scritto il libro, grazie agli ulteriori consigli e alle indicazioni di un'altra cara amica, Silvia Bencivelli<sup>6</sup>, che mi ha incoraggiato a narrare queste vicende sottolineando la necessità di un saggio divulgativo che spieghi in modo semplice, ma chiaro ed esaustivo il complesso campo della medicina rigenerativa, che ne dipani e presenti le innumerevoli ricadute sul piano della salute, della ricerca, dell'economia, dei diritti e delle leggi, in un momento così importante per la scienza medica come quello che stiamo vivendo. Per fare solo un esempio, le nuove scoperte sul versante del *genome editing* (qui ampiamente documentate), una tecnologia che promette clamorose possibilità di intervento soprattutto nel prossimo futuro; una tra tutte, eradicare per sempre una mutazione non solo nelle cellule del corpo del paziente ma anche nei suoi gameti e quindi in tutta la sua progenie.

Mi auguro di riuscire a liberare il lettore dalle nebbie dei falsi miti e delle molte menzogne, o delle credenze deviate, che circolano attorno a quella che è una delle più grandi esperienze della ricerca medica di sempre, finora mal raccontata e ancora troppo poco conosciuta. C'è un'importante responsabilità da far pesare e valere: solo a fronte di una conoscenza chiara e puntuale da parte di ciascuno di noi si può pensare infatti di generare una massa critica che permetta di influenzare stabilmente gli attori che partecipano a questo labirintico meccanismo globale, favorendo la ricerca nel trovare innanzitutto *per se stessa* una ricetta per la lunga vita, che consenta di aiutare le persone in difficoltà, e – perché no? – anche quelle sane, a vivere meglio.

Per orientarvi nel mare della medicina rigenerativa, vasto e multiforme, non serve un portolano, un manuale zeppo di informazioni e nozioni e documenti che non farebbero che confondervi; è sufficiente la voce di un marinaio «vecchio del mestiere» che vi racconti la via, che provi a comunicarla in modo chiaro, rendendo la rotta sicura. Sono convinto che sia fondamentale raccontare la medicina rigenerativa per quello che è, innanzitutto l'avventurosa e spesso incredibile storia dei ricercatori che l'hanno fatta nascere e crescere, dei loro fallimenti e successi, a partire dagli albori della medicina contemporanea (agli inizi del XIX secolo), per giungere all'avanguardia della ricerca attuale. Ho cercato di rendere merito ai numerosi scienziati che nel corso di decenni, affrontando imprevisti e a fronte di una vita spesa a cercare di risolvere problemi che molto spesso non avrebbero saputo decifrare in prima persona, sono comunque riusciti nel compito di far avanzare la nostra conoscenza spostando sempre più in là la linea dell'orizzonte. Chiedo clemenza ai tanti altri che meriterebbero di essere citati e non lo sono, anche per motivi di spazio.

Nel corso della navigazione affronteremo tanto gli aspetti avveniristici della medicina rigenerativa quanto, naturalmente, quelli storici e biomedici, fino a formarci passo passo un'immagine il più possibile completa e coerente. Metteremo quindi in discussione le applicazioni delle terapie finora elaborate immaginando da *insider* gli scenari futuri, allargando le considerazioni al di là dello stretto ambito medico e scientifico, per esplorare le numerose – e in parte ancora sconosciute – conseguenze sul piano etico, psicologico e antropologico delle nuove frontiere della scienza. Per avvicinare gradatamente il lettore a concetti complessi, presenterò esempi vicini alla nostra esperienza di tutti i giorni, consentendo di leggere le scoperte attuali come naturale evoluzione ed estensione di pratiche mediche in atto già da molto tempo. Sperando di rendere la lettura piacevole ho cercato di non riempire il testo di note, e di presentare e spiegare i termini medici e tecnici in modo ricorsivo e sempre più approfondito lungo tutto il testo, affinché divengano progressivamente familiari e chiari; le note saranno pertanto dedicate soprattutto alle biografie dei ricercatori citati.

Il viaggio inizierà con la presentazione del narratore: la definizione della mia storia e del mio cammino professionale, che ha costeggiato i successi e i fallimenti della terapia cellulare e genica in questi ultimi quarant'anni. Ciò allo scopo di inserirci immediatamente e in modo molto concreto nell'attualità del mondo che ci circonda, per capire le difficoltà e le problematiche di chi deve operare da professionista nell'ambito della ricerca, per uscire dall'usuale e ristretta prospettiva di destinatari passivi di notizie provenienti dai media, spesso poco chiare e presentate volutamente in modo allarmante. Mi auguro che l'inaspettato cambio di prospettiva verso il punto di vista dei ricercatori porti a una maggiore empatia e a un atteggiamento meno superficiale nei confronti della scienza. Risaliremo poi agli albori della medicina rigenerativa, in modo da ripercorrerne la storia, scoprirne via via i termini e mettere a fuoco i concetti, per mostrare come sia il risultato del convergere di conoscenze diverse e stratificate, dalla zoologia alla fisiopatologia, dalla biologia alla genomica. Alla terapia cellulare e a quella genica, cuore della nostra ricerca, dedicherò dei capitoli a sé. Ci spingeremo quindi a immaginare gli sviluppi futuri di questa disciplina e i rischi che, insieme alle promesse, li accompagnano.

Infine, usciremo dai laboratori e dai reparti specialistici per scoprire quali sono e saranno le ricadute della medicina rigenerativa nei vari ambiti della società e quale impatto avranno sulla vita del singolo cittadino. Molti sono gli aspetti da considerare: non ultimo i suoi costi. Ce la possiamo davvero permettere? Se la risposta è un «nì», sorge la necessità di chiarire a quali scelte andiamo incontro e quali interrogativi etici sorgeranno. Per questo cercherò di far comprendere innanzitutto come funziona il mercato delle staminali, l'attività delle cliniche private che vendono speranze a chi non è emotivamente in grado di scegliere la soluzione più ragionevole per sé o per i propri cari: quel che si ha davanti è un *continuum* tra centri altamente qualificati e «sicuri», nei limiti di una sperimentazione che è comunque nuova, e imbonitori in mala fede che da sempre prosperano nell'ambito medico. Infine l'Italia, il mio paese, dal quale ho scelto di allontanarmi anni fa per motivi che diverranno chiari nel prossimo capitolo. Qual è oggi la situazione dello Stivale nell'ambito della ricerca sulle cellule e sui geni? Quando leggeremo in un ospedale «Reparto di medicina rigenerativa»? Quali sono le possibilità per i cittadini italiani che vogliono intraprendere la carriera di scienziato, o per coloro che vogliono accedere alle nuove possibilità di cura?

---

<sup>1</sup> La tesi è pubblicata in edizione italiana da Adelphi, in un libro affascinante: L.-F. Céline, *Il dottor Semmelweis*, Milano, Adelphi, 1975.

<sup>2</sup> Come vedremo in dettaglio, il tessuto adiposo non presenta cellule che abbiano le caratteristiche delle vere cellule staminali, ma possiede vasi sanguigni da cui sono isolate delle cellule le cui capacità di generare nuovi tessuti non sono mai state dimostrate.

<sup>3</sup> Il prezzo di Strimvelis, il secondo prodotto di terapia genica approvato in Europa (nella primavera del 2016) per curare le immunodeficienze congenite, era stato inizialmente fissato intorno ai 700.000 euro.

<sup>4</sup> Y.N. Harari, *Homo Deus: A Brief History of Tomorrow*, London, Harvill Secker, 2016.

<sup>5</sup> Medico specialista in ostetricia e ginecologia, lavora all'Ospedale San Filippo Neri di Roma. Tra i fondatori nel 2002 dell'Associazione Luca Coscioni per la libertà di ricerca scientifica, Parachini, da sempre presente nelle battaglie storiche dei radicali, è impegnata a livello italiano e internazionale sul fronte della libertà e consapevolezza della salute riproduttiva della donna.

<sup>6</sup> Silvia Bencivelli è un medico che ha dedicato la sua carriera al giornalismo scientifico e a una corretta comunicazione della salute. Ha condotto numerose trasmissioni radiotelevisive, scrive per giornali e riviste, è autrice di saggi e di un romanzo e insegna giornalismo scientifico in master universitari.

1.  
Alla ricerca di una cura (im)possibile.  
Una vita al microscopio

Abbi pazienza, ch  il mondo   vasto e largo.

E. ABBOTT ABBOTT, *Flatlandia*, 1884

La mia   la storia di un tentativo: trovare una cura per la distrofia muscolare di Duchenne. Al momento non so ancora se potr  dirsi un successo personale. Mentre una decina di anni fa avrei scommesso che sarei stato in grado di sviluppare una terapia definitiva, oggi temo che sar  il resoconto di una lunga, travagliata, cocente, eppur bellissima sconfitta. Poco mi consola sapere che non sar  l'unico a perdere. Con gli anni l'ambizione e l'arroganza che animano chi da giovane intraprende la mia professione cedono il passo a una visione pi  serena, che mi permetterebbe di gioire senza invidia qualora un collega riuscisse a debellare questo terribile male. Le difficolt  sono enormi, ma non credo spaventino i ricercatori che attualmente si stanno occupando dello stesso problema nei laboratori sparsi per il mondo. Il desiderio di vedere guarire i bambini colpiti dalla distrofia muscolare di Duchenne e permettere loro di condurre una vita normale   forte, gli elementi per essere fiduciosi esistono, e sono tanti. Tuttavia sono amareggiato dalla piega assunta dalla ricerca: le dure regole economiche obbligano ad arrivare presto a un prodotto, un brevetto, una terapia. Un metodo e una mentalit  di tipo industriale hanno sostituito la ricerca guidata dalla curiosit  e dal desiderio di scoprire la realt  che ci circonda. Gli imprenditori stanno sostituendo i ricercatori, e non   un bene.

#### QUADRARE LA SFERA

A volte mi diverto a paragonarmi come ricercatore al Quadrato protagonista di *Flatlandia*, gioiello dello scrittore vittoriano Edwin Abbott Abbott<sup>1</sup>. Nell'immaginifica realt  del romanzo il Quadrato   un'entit  a due dimensioni che vive in un mondo piano, popolato da figure geometriche altrettanto bidimensionali. Un giorno egli riceve la visita di una Sfera che gli

presenta e descrive Spacelandia, da cui essa proviene, e lo illumina sull'esistenza della terza dimensione. Dopo qualche titubanza si convince della verità della rivelazione e viene quindi portato a vedere quel mondo tridimensionale, arrivando a superare la Sfera nell'ipotesi che se esiste una terza, possano esserci molte altre dimensioni non percepibili dai mondi inferiori. Il romanzo, geniale intuizione letteraria delle teorie einsteiniane, suggerisce che solo effettuando un salto di dimensione («la mia mente si è aperta a una più alta visione», dice il nostro protagonista) le cose possono essere viste nella loro reale natura.

Sotto certi aspetti il mio caso è simile a quello in cui si è trovato il Quadrato. Durante il mio percorso di ricerca ho capito che per provare a fare bene questo lavoro occorre acquisire il senso di una dimensione superiore per riuscire a indagare veramente la natura che ci circonda. In questi lunghi quarant'anni di sperimentazione, infatti, posso dire di avere imparato a *vedere le cellule nei tessuti che si formano e si riparano*. La mia attività di ricercatore è stata contraddistinta fin dagli inizi, negli anni settanta, da un doppio amore: per la biologia dello sviluppo, da un lato, e per la medicina rigenerativa, dall'altro. Verso quest'ultima in particolare ho provato una forte curiosità e un grande interesse, in un'epoca in cui la sua esistenza come branca della medicina non era ancora chiara, nemmeno agli addetti. Questa «doppia vita» di scienziato mi ha fornito nel corso del tempo un paio di lenti stereoscopiche, che mi permettono ora di riuscire a scandagliare lo stesso fenomeno da diverse angolazioni, o meglio, tornando al paragone con *Flatlandia*, da altre dimensioni.

Immaginate per un istante di essere l'obiettivo di un microscopio: potreste essere capaci di un forte ingrandimento, oppure di uno medio o piccolo. A seconda di quale obiettivo voi siate, potete osservare a fuoco soltanto alcuni aspetti della biologia. L'obiettivo con forte capacità di ingrandimento vedrà chiaramente la struttura delle macromolecole e i cristalli che queste formano, e dedurrà da questo, ad esempio, le possibili funzioni di una proteina. Saranno però sfocati oggetti di maggiori dimensioni, come gli organelli e le cellule che essi compongono. Per questi serve un obiettivo con medio potere di ingrandimento. Infine, uno con piccolo potere di ingrandimento vedrà sfocati gli organelli e più ancora le molecole, ma visionerà con nitidezza come le cellule si organizzano a formare un organo in sviluppo, come i vasi penetrano in esso e così via. Io appartengo all'ultima categoria.

Esistono tuttavia ricercatori straordinari che racchiudono in sé le capacità di tutti e tre gli obiettivi: nei primi anni novanta ebbi la fortuna di ascoltare, in una conferenza organizzata negli Stati Uniti dal Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology, Harold Weintraub<sup>2</sup>. Nei venticinque minuti scarsi della sua conferenza, secondo un filo logico chiarissimo, riuscì a passare dalla descrizione dei cristalli della struttura di «MyoD», un fattore di

trascrizione (cioè una proteina che regola la trascrizione dei geni) da lui scoperto, alla regolazione dello stesso nella proliferazione e nel differenziamento delle cellule destinate a divenire muscoli, fino ad arrivare a trattare dei campi morfogenetici dell'embrione di rana. I partecipanti alla conferenza furono letteralmente elettrizzati dalla sua visione chiara e netta dell'intero percorso dalla struttura molecolare alla funzione cellulare, e al ruolo di MyoD nello sviluppo embrionale. L'emozione provata e l'ispirazione ricevuta in quel momento non le ho più dimenticate.

Nel mio piccolo, posso dire di aver dato un contributo alla medicina rigenerativa riuscendo a guardare alla distrofia muscolare nel suo insieme, tentando di ripararla con gli strumenti e uno sguardo che provenivano dalla biologia dello sviluppo. Nel corso degli anni ho approfondito il ruolo che il sistema nervoso embrionale (che diventerà il futuro sistema nervoso nell'individuo adulto) ha nella formazione del muscolo. Alcuni dei miei risultati e delle mie scoperte compaiono oggi nei libri di testo di biologia dello sviluppo, e mi ritrovo a essere uno dei pochissimi ricercatori a livello mondiale che sta cercando di curare la distrofia muscolare attraverso le cellule staminali. È un obiettivo molto ambizioso, innanzitutto perché la malattia è complessa, e soprattutto perché impresa altrettanto ardua è trovare i fondi necessari per portare avanti delle ricerche che potrebbero giungere a un qualche risultato, se le cose andranno per il verso giusto, soltanto dopo molti anni di lavoro, fatica, e relativi costi sostenuti, senza la certezza di trovare una cura definitiva.

Per certi aspetti potremmo dire che nel corso degli ultimi trent'anni una cura per la distrofia muscolare è sembrata costantemente a portata di mano, senza mai essere raggiunta. Nel 1987 venne sequenziato il gene della distrofina (la cui mutazione causa la distrofia muscolare di Duchenne)<sup>3</sup>, il più grande del nostro genoma, e l'euforia della scoperta aveva portato a pensare che sarebbe stato possibile curare la malattia entro un paio d'anni; agli inizi degli anni novanta entrarono in scena i vettori adenovirali, costruiti in laboratorio a partire da comuni virus detti «adenovirus», che promettevano di essere i trasportatori del gene sano nelle cellule malate, e di nuovo la soluzione sembrava vicinissima, ma anche questa volta le cose non funzionarono; negli anni novanta si provò invano a trapiantare cellule progenitrici del muscolo; nei primi anni zero si osservò che gli oligonucleotidi, segmenti di Dna chimicamente modificati, possono mascherare la mutazione e portare alla produzione di una proteina più corta ma sempre funzionale, e tuttavia, la cura rimaneva ancora un miraggio. All'entusiasmo per quelle che sono state delle grandi scoperte, seguiva l'amarezza nel riconoscere ulteriori difficoltà e problemi che ostacolavano il cammino verso la definizione di una terapia pienamente efficace. Oggi la situazione non è diversa, ma la conoscenza del fenomeno è comunque

avanzata, e intravedo una speranza concreta per risolvere una malattia che incatena a una vita di sofferenza migliaia di pazienti in tutto il mondo.

Per parte mia, potrei trovarmi alla fine della carriera davanti all'evidenza di non avere avuto abbastanza intuito, o capacità organizzativa o fondi per portare una cura ai pazienti. Nel 2011 ho condotto un primo trial clinico al San Raffaele di Milano, un altro l'ho iniziato a Manchester poco prima che questo libro andasse in stampa, ma la strada verso una significativa e soprattutto duratura efficacia clinica della terapia potrebbe essere ancora lunga. Comunque vada, vorrei non avere rimpianti, nella consapevolezza di non essere riuscito nell'intento solo per la complessità della malattia. Mi spiacerebbe invece non essere stato capace di raccogliere i fondi necessari (si parla «solo» di qualche milione di euro) per continuare questo lavoro.

Mi sento spesso dire dai colleghi: «Un trial clinico l'hai sperimentato, e non hai curato alcun paziente. Perché vuoi continuare?». *Si parva licet*, cosa sarebbe stato di una terapia che oggi salva migliaia di vite all'anno, il trapianto di midollo, se dopo il primo intervento, effettuato da Edward Donnall Thomas negli anni cinquanta e in seguito al quale i primi pazienti trattati morirono, tutta la ricerca si fosse fermata? Certo, se negli anni settanta qualcuno mi avesse vaticinato che i successivi quarant'anni non mi sarebbero bastati per trovare una cura efficace per la distrofia muscolare, avrei forse rinunciato in partenza? Non lo so. Per fortuna, o sfortuna, la storia che state per leggere è il risultato di questa profezia mai data.

#### INIZI ORMAI LONTANI

Ho cominciato a studiare medicina all'inizio degli anni settanta, a Roma, maturando molto presto la decisione che avrei fatto ricerca in istologia, la disciplina che studia la struttura microscopica dei tessuti, una materia che può essere noiosa fino alle lacrime, o affascinante quanto l'esplorazione di un territorio sconosciuto. Dipende da chi te la racconta. Io l'ho appresa da un professore straordinario, Valerio Monesi, l'autore *del* manuale di istologia diventato riferimento imprescindibile in ambito didattico, e noto ancora oggi a tutti gli studenti di medicina semplicemente come «il Monesi». Il professore, cui non sono mai arrivato a dare del tu, era un affabulatore e noi studenti pendevamo dalle sue labbra. Già durante la sua lezione introduttiva decisi che avrei fatto il suo mestiere, anche se non avevo ben capito di cosa si trattasse. Sostenni l'esame nel luglio del 1972 e fu in quell'occasione che chiesi al professore che mi interrogava, Franco Mangia, di poter frequentare come interno a partire dall'autunno l'Istituto di istologia, a quel tempo ospitato in poche stanze sottratte all'Istituto di anatomia al terzo piano di via Borelli.



Il professore, che sarebbe poi divenuto un caro amico e che mi infuse la sua grande passione per la scienza, mi accettò subito e così, il 5 settembre del 1972 mi presentai alle porte della ricerca scientifica in laboratorio. Appena entrato mi colpì l'odore dei solventi organici, il cloroformio e l'alcol isoamilico: la mia personale *madeleine*, che resta inalterata e inalterabile nella memoria. Mi accorsi fin da quell'istante che il laboratorio sarebbe stato il mio mondo: provai per la prima volta la strana sensazione di appartenere a quel luogo, ai suoi ritmi, alle sue strumentazioni, dove riuscivo finalmente a essere me stesso. In breve, mi sentivo a casa.

Di questo immediato amore per l'attività sperimentale ebbi ulteriore conferma qualche anno più tardi, verso la fine del corso di medicina, quando non potei esimermi da una pur minima attività clinica in ospedale. In quel torno d'anni, prima che iniziasse il processo di avvicinamento che ha preso corpo solo successivamente e che è in parte documentato in queste pagine, medicina e biologia rappresentavano due domini completamente separati della conoscenza. La biologia studiava in modo specialistico le basi della vita, ad esempio come si formano e come crescono le cellule e i batteri, mentre la scienza medica dei primi anni settanta era distante anni luce da ciò che è diventata oggi, tanto che sotto certi aspetti poteva non essere considerata propriamente «scientifica». Ricordo ancora che nei libri di testo gli anticorpi erano descritti come delle sostanze misteriose, forse di natura proteica, la cui funzione non era nota. Ci trovavamo ancora agli albori della medicina molecolare, quando l'approccio *ex adjuvantibus* giocava ancora un ruolo significativo (in realtà, non è mai morto).

Il primo progetto cui partecipai in quell'autunno del 1972 sembrava meraviglioso, anche se, francamente, la mia totale inesperienza mi avrebbe fatto apparire tale qualsiasi esperimento. Si trattava di analizzare, nella maturazione della cellula uovo di mammifero, l'eventuale amplificazione dei geni ribosomali, un argomento molto caldo ma studiato prevalentemente negli anfibi, le cui uova sono molto grandi e diventano tali sintetizzando enormi quantità di proteine del tuorlo. Per fare ciò il «normale» apparato che le sintetizza non basta e quindi, prima di cominciare, la cellula uovo amplifica i geni che servono a produrre i ribosomi, le macchine che costruiscono le proteine. Si trattava di scoprire se questo meccanismo fosse stato conservato anche nei mammiferi. Purtroppo dell'esperimento che avevamo predisposto non vedemmo mai i risultati, perché i campioni andarono perduti durante le fasi necessarie per allestire i preparati istologici, il che mi insegnò immediatamente una prima, dura lezione: spesso bisogna insistere e faticare a lungo per cercare di arrivare a capire i fenomeni che regolano la nascita, la vita e la morte delle cellule. Con gli anni e l'esperienza ho imparato a dubitare di quei colleghi che pubblicano un lavoro strepitoso dietro l'altro perché, salvo fortunate circostanze, le cose per chi fa ricerca non vanno mai così lisce.

Un tecnico dell'istituto, Marcello Coletta, mi istruiva su come muovermi al bancone. A quel tempo il laboratorio studiava la maturazione delle cellule uovo del topo, e Coletta riuscì a mettere a punto un metodo enzimatico per isolare le uova immature (ovociti) durante la crescita. Purtroppo allora i metodi d'indagine biochimica e molecolare non erano adeguati per studiare quantità così minuscole di materiale biologico, di cui erano necessari ben più grandi quantitativi (era famoso allora il fegato di maiale, da cui si partiva per purificare le proteine), ed erano di conseguenza relativamente poche le domande, tra tutte quelle che avevamo, cui si poteva provare a dare risposta. È anche per superare quest'impasse che Franco Mangia, dopo circa un anno dall'inizio del mio internato, partì per San Francisco con l'obiettivo di condurre gli studi sugli ovociti in un ben più attrezzato laboratorio americano, lasciando senza un supervisore il sottoscritto e il mio compagno di studi Maurizio Pacifici, ora professore in Pennsylvania.

\*\*\*

Pertanto, nell'autunno del 1973, Pacifici e io passammo nel gruppo di Mario Molinaro, che sarebbe diventato il mio secondo maestro. Mentre Mangia mi aveva contagiato con il suo amore per la scienza, Molinaro si rivelò una fonte inesauribile di conoscenza e di consigli che continua a dispensarmi anche oggi, dopo più di quarant'anni.

Fu allora che, grazie agli insegnamenti di Bianca Zani, altra ricercatrice del gruppo, iniziai a coltivare i mioblasti, le cellule progenitrici delle fibre muscolari, isolati da embrioni di pollo a undici giorni dall'inizio dello sviluppo. Mi accorsi presto che coltivare cellule mi piaceva. La procedura era relativamente semplice anche se erano tempi faticosi per gli operatori di laboratorio, perché il materiale tecnico usa e getta ancora non esisteva, e buona parte della strumentazione – in vetro – doveva essere risciacquata dopo ogni singolo utilizzo, prima di essere presa in carico dal personale tecnico per un lavaggio completo. Ritornava quindi pulita ma non sterile, com'era invece necessario per coltivare cellule di vertebrati senza che fossero contaminate da batteri, lieviti o funghi. Dovevo quindi avvolgerla in carta argentata e sterilizzarla in una stufa a elevata temperatura prima di poterla usare di nuovo; la quantità di lavoro necessario per completare un solo esperimento era davvero notevole.

Fu in seguito agli esperimenti effettuati sugli embrioni di pollo che iniziai a entrare in contatto con la distrofia muscolare. Cosa c'entrano i polli con la distrofia? Si tratta di una malattia che colpisce molti vertebrati, forse tutti. È stata descritta nei pesci, negli uccelli e in diversi mammiferi, anche se nel

regno animale è poco diffusa perché non passa i rigorosi filtri della selezione naturale: un cucciolo che nasce con la distrofia muscolare si muove meno bene dei fratelli, avrà difficoltà a competere per il cibo e spesso sarà trascurato o abbandonato dalla madre. Di conseguenza, avrà un'altissima probabilità di morire presto, senza passare alla generazione successiva il gene la cui mutazione ha causato la malattia.

La distrofia muscolare di Duchenne è causata da una mutazione nel gene che codifica per la distrofina, proteina parte di un complesso che ha la funzione di proteggere la membrana cellulare dalle sollecitazioni prodotte dal lavoro muscolare, ed è il più grande che si conosca in natura, superando da solo le dimensioni del genoma (l'insieme di tutti i geni in una determinata specie) di un batterio come l'*Escherichia coli*. Le probabilità che subisca una mutazione – che si rompa o si alteri –, sono molto elevate. Negli esseri umani, ad esempio, un paziente su tre affetto dalla malattia è privo di una storia familiare pregressa, ossia di un parente che ne sia già stato colpito, e pertanto la mutazione deve essersi necessariamente verificata durante la maturazione della cellula uovo della madre.

Quando ho iniziato a studiare medicina e poi a operare in laboratorio, non si sapeva quale fosse il gene la cui mutazione causava la distrofia. Non conoscendo la natura del gene mutato, le ipotesi sulla causa della malattia erano vaghe e spesso in contrasto tra loro, quasi mai basate su solide evidenze sperimentali, peraltro difficili da ottenere trattandosi di un tessuto, quello muscolare, su cui è arduo effettuare una biopsia e di conseguenza molto complesso da studiare nell'uomo. Ci si chiedeva se la malattia fosse neurogenica, cioè se ad ammalarsi fossero i neuroni che controllano il movimento delle fibre muscolari (detti appunto «motoneuroni»), o più direttamente le fibre muscolari stesse.

Nel paziente le fibre muscolari distrofiche non si danneggiano e non muoiono tutte insieme, o il soggetto perirebbe in pochi minuti, non potendo più respirare; allo stesso tempo, negli individui sani le fibre muscolari *non* rimangono tutte indenni dopo uno sforzo muscolare protratto e importante. Ciò che contraddistingue la condizione dei pazienti distrofici è il fatto di avere una probabilità maggiore rispetto a un individuo sano che le fibre muscolari restino danneggiate o vadano perdute. Perché le fibre distrofiche sono più fragili di quelle normali? Proprio perché non producono la distrofina, che sarebbe stata identificata grazie al sequenziamento del gene che la codifica, avvenuto nel 1987 ad opera del gruppo di Louis M. Kunkel<sup>4</sup> ad Harvard.

Il fenomeno è quindi dovuto al danneggiamento e/o alla morte di alcune fibre muscolari, che vengono riparate o sostituite dalle cosiddette «cellule satelliti», purtroppo non indefinitamente. Le cellule satelliti sono state scoperte nei primi anni sessanta dal fisiologo americano Alexander Mauro, il

quale, studiando il muscolo della rana, ebbe l'opportunità di avvalersi dell'allora nuovissimo microscopio elettronico nel laboratorio del premio Nobel George Palade, alla Rockefeller University<sup>5</sup>. Mauro aveva notato delle piccole cellule che occupavano una posizione periferica, per l'appunto «satellite» rispetto alle grandi fibre muscolari; si trovavano adese alla membrana delle fibre, comunque all'interno della stessa lamina che le avvolge. Oggi siamo certi che ogni muscolo di vertebrato possiede cellule satelliti. Ma a cosa servono, e perché sono importanti nel caso della distrofia? Molti anni di studio e il lavoro di innumerevoli ricercatori hanno permesso di concludere che hanno due compiti principali: ingrandire e riparare le fibre muscolari.

\*\*\*

Nella seconda metà degli anni settanta misi pertanto a fuoco la possibilità di lavorare sulla distrofia attraverso le cellule. Mi ero laureato nel luglio del 1977 ed ero apprezzato dal mio supervisore, Mario Molinaro, per il mio impegno: come tutti coloro veramente catturati dalla scienza sgobbavo infatti circa dieci, dodici ore al giorno.

Il mio primo risultato di un certo rilievo venne pubblicato sull'allora «Bollettino di zoologia» nel 1978<sup>6</sup>. Si trattava di un metodo per isolare le cellule satelliti, cosa allora non facile, tanto che credo di essere stato il secondo o terzo ricercatore al mondo a riuscire nell'impresa. L'articolo venne ignorato dalla comunità scientifica internazionale, visto che era stato pubblicato su una rivista sconosciuta all'estero. Fu però a partire da questo esperimento che mi convinsi della possibilità di usare queste cellule per curare la distrofia muscolare. Ricordo bene il momento esatto in cui osservai al microscopio che le cellule satelliti proliferavano in coltura, per poi formare nuove fibre muscolari. Si stabilì allora nella mia mente la connessione tra cellule e (possibile) cura: l'intuizione che isolando e coltivando queste cellule da un donatore sano o riuscendo in futuro a riparare il gene malato nelle cellule del paziente stesso (senza nemmeno sapere quale fosse – siamo ancora a dieci anni dalla scoperta della distrofina), si sarebbe potuto trapiantare i muscoli malati e in qualche modo «curarli». Questa idea, peraltro seguita da altri scienziati, avrebbe guidato i successivi sviluppi della mia ricerca. Avevo quindi spedito un altro mio articolo alla rivista «Experimental Cell Research», ed ero fiducioso che sarebbe stato accolto senza indugi. In esso analizzavo il trasporto della timidina – uno dei mattoni con cui si costruisce il Dna – nei mioblasti e nelle fibre muscolari che questi formano. L'interesse nasceva dal fatto che i mioblasti, sorta di «cugini embrionali» delle cellule satelliti,

proliferano e hanno bisogno di molta timidina per sintetizzare il Dna, al contrario delle fibre muscolari che non proliferano, e quindi non la trasportano al loro interno.

Prima della pubblicazione, un articolo scientifico viene analizzato da alcuni colleghi (di cui si ignora l'identità), i quali per quanto possibile verificano che i dati siano solidi e supportino le conclusioni, che devono essere sufficientemente importanti da far progredire la ricerca nel campo di studi. Quanto più prestigiosa è la rivista, tanto più severo è il vaglio a cui viene sottoposto lo studio.

Nel mio caso i revisori dissero che le tecniche impiegate nell'esperimento erano inadeguate, e quindi i risultati inattendibili. Provai a ripeterlo secondo quanto suggerito, confermai i risultati e rispediti il lavoro. Ma anche questa volta i revisori lo giudicarono inadeguato. Almeno in parte avevano ragione: il trasporto della timidina si studia a fronte di tempi molto rapidi, pochi secondi, e per farlo servono degli strumenti opportuni che in laboratorio non avevamo, né potevamo comprare per mancanza di fondi. Il sistema messo in piedi dall'esperimento in sé funzionava, ma era evidentemente artigianale e non convinse i revisori. Quel manoscritto non venne mai pubblicato. Fu per me un'amara lezione, considerata l'ingente fatica e passione spese nel progetto.

Già allora i tempi pionieristici della ricerca e delle soluzioni creative erano finiti da un pezzo, e la tecnologia dettava le regole. Non essere al passo con la strumentazione ti collocava automaticamente in serie B, con conseguenti difficoltà a pubblicare e quindi a chiedere finanziamenti con cui comprare nuova tecnologia per produrre lavori di migliore qualità tecnica. Un circolo vizioso da cui, soprattutto in Italia, era davvero difficile uscire. Allora vivevo grazie a una borsa del Cnr non esattamente principesca, circa 280.000 lire al mese, dopo sette intensissimi anni di studio e di laboratorio, una laurea con lode conseguita nel minor tempo possibile e già varie pubblicazioni al mio attivo. Ero comunque riuscito a coltivare cellule satelliti di topo e poi di uomo. In quegli anni solo uno o due laboratori al mondo potevano vantare lo stesso risultato.

Ciò mi permise in seguito di ovviare alla mia debolezza in ambito tecnico, perché queste cellule le potevano studiare, una volta portate fuori dal muscolo, veramente in pochissimi. Le avevo inoltre comparate alle corrispondenti cellule prenatali, i mioblasti embrionali, notando che le due popolazioni erano differenti. Il che, dal punto di vista teleologico, è atteso. Per quanto simili, nello stesso microambiente vanno incontro a destini diversi: i mioblasti si fondono tutti tra loro per formare in modo sincrono le fibre muscolari; al contrario le cellule satelliti centellinano le divisioni cellulari per aggiungersi pian piano alle fibre che crescono. È evidente che i due tipi cellulari devono avere meccanismi di regolazione diversi, anche se oggi,

quasi quarant'anni dopo le mie prime ricerche, abbiamo ancora solo informazioni parziali a riguardo.

Fu questa osservazione che mi avrebbe portato in modo più maturo e consapevole verso la terapia cellulare.

## L'INCONTRO CON LE STAMINALI

Per cercare di approfondire i miei studi, oltre che per la curiosità di vedere il mondo, nel 1980 decisi di andare in America. Il trasferimento oltreoceano non si rivelò immediato: anche se avevo qualche pubblicazione in attivo nel mio curriculum scientifico, queste erano tutte su riviste minori e per le mie richieste avevo puntato decisamente in alto. Avevo infatti scritto subito a Günter Blobel<sup>7</sup>, che lavorava alla Rockefeller University, il quale mi rispose che non aveva posto nel suo laboratorio. Imparai presto che la formula è un modo gentile per dire: «Il tuo curriculum non è competitivo e mi sento più sicuro se prendo qualcuno che viene da Stanford o Harvard, anziché da Roma». Il fatto iniziò ad aprirmi gli occhi su un altro importante problema: se inizi ad Harvard, nel laboratorio di uno scienziato famoso e sulla cresta dell'onda, sei in discesa. Se invece parti come me da un laboratorio della Sapienza di Roma e il tuo supervisore, per quanto colto e qualificato non è un grosso nome in campo internazionale, sei davvero in salita. Questo non significa che non si possa fallire ad Harvard e avere successo a Roma – io posso dire di esserci riuscito, almeno in parte – ma è molto, molto più faticoso.

Tentai allora di fare domanda per una prestigiosa borsa di studio, la United States Public Health Service Fulbright-Fogarty Fellowship, e con mia grande sorpresa, la vinsi, per un ammontare di 1500 dollari netti al mese (circa dieci volte quello che prendevo in Italia).

Fu così che il 6 giugno del 1980 partii per l'America, alla volta di Filadelfia. Come tutte le città dell'East Coast, aveva un centro relativamente piccolo e una periferia immensa che si estendeva per aree allora piuttosto degradate, fino a una campagna suburbana abitata dalla medio-alta borghesia, foderata di incantevoli ville immerse nel verde. Una volta in città mi ricongiunsi con il mio compagno di studi Maurizio Pacifici, che non sarebbe più tornato in Italia, come molti altri stranieri arrivati nella «terra promessa» della scienza.

Il giorno successivo all'arrivo mi presentai al Wistar Institute dell'Università di Pennsylvania, dove conobbi di persona Leonard Warren, che sarebbe diventato il mio terzo maestro. Warren è un uomo straordinario: la sua storia personale è un buon esempio di come nella scienza gloria e

successo siano entità davvero effimere, mentre l'unica cosa che conta è il contributo effettivo che riusciamo a dare al progresso della conoscenza, per piccolo che sia. Canadese di origine russa, medico con un PhD in chimica, ha oggi più di novant'anni e l'ultima volta che l'ho visto, nel 2013, era impegnato a scrivere saggi sui primi anni della ricerca biomedica negli Stati Uniti. Mi chiama ancora «My boy», anche se ragazzo non lo sono più da un pezzo.

Nel 1959, quando lavorava nei National Institutes of Health a Bethesda nel Maryland, aveva sviluppato un metodo per dosare l'acido sialico (uno zucchero presente su alcune glicoproteine e glicolipidi, delle corte catene di zuccheri legate a proteine o a lipidi che compongono le membrane della cellula), uno degli articoli più citati nella storia della letteratura scientifica<sup>8</sup>. Qualche anno dopo fece la scoperta che lo avrebbe consacrato come uno dei ricercatori più importanti del suo tempo: insieme al suo collaboratore Clayton Buck osservò che sulle glicoproteine delle cellule tumorali si trovavano più zuccheri e più acido sialico rispetto alle corrispondenti nelle cellule normali<sup>9</sup>. L'acido sialico è uno zucchero dotato di una carica elettrica negativa, il che poteva spiegare alcune caratteristiche del diverso comportamento delle cellule tumorali, inclusa in particolare la formazione di metastasi.

La scoperta sembrava porre le fondamenta per una nuova strategia antitumorale. Warren riteneva che se si fosse compresa l'origine e il meccanismo alla base di questo fenomeno, si sarebbe finalmente potuto intervenire sulle cellule tumorali, inducendole a produrre glicoproteine meno glicosilate (cioè con meno zuccheri), fino a tornare normali. Purtroppo le cose non andarono come auspicato. Il fenomeno risultò molto complesso da manipolare con i mezzi di allora. Erano i primi anni settanta e nessuno immaginava l'esistenza degli oncogeni nel genoma delle cellule di mammifero; si sapeva che esistevano dei virus capaci di causare tumori, specialmente negli uccelli, e che questo dipendeva da alcuni geni che si credevano presenti solo nei virus. Proprio nei primi anni ottanta gli oncogeni, i geni alla base della trasformazione delle cellule sane in cellule tumorali, furono identificati nel nostro genoma, e l'enfasi della ricerca oncologica si spostò su questi mentre le glicoproteine furono dimenticate, essendo considerate una mera conseguenza dell'attività dei primi, in poche parole, un epifenomeno.

Warren non parlava mai troppo della delusione relativa a quel periodo, e mi mise a studiare il ruolo delle glicoproteine nel differenziamento di diversi tipi cellulari, ma avvertivo il peso di una sconfitta, la sensazione che avesse puntato sul cavallo sbagliato. Per alcuni versi la scelta di rimanere sulle glicoproteine era obbligata, dato che rappresentavano la sua storia personale e so per esperienza che ognuno tende a rimanere nell'area in cui si sente forte, soprattutto quando non si hanno più trent'anni. Quelli erano però gli anni

dell'esplosione della biologia molecolare e tutti volevano clonare e poi studiare un nuovo gene, sperando che fosse un gene importante e garantisse una carriera di successo. Con poco più di ventiduemila geni umani disponibili in natura, c'era allora ampia scelta.

Il fatto di essere finalmente negli Stati Uniti non significava per nulla che ce l'avrei fatta come ricercatore: la biologia molecolare era la nuova frontiera, dei carboidrati legati alle proteine ai più interessava davvero poco, e studiandoli non sarei andato molto lontano. Avrei dovuto cercare un altro laboratorio, che facesse cose più alla moda. Non lo feci per una serie di motivi: in primo luogo per non tradire Warren da cui, è vero, non stavo imparando a clonare geni ma qualcosa di ben più profondo, un modo più alto di chiedersi il perché dei fenomeni, che non è certo limitarsi a descriverne sempre di nuovi. Quando gli riportavo un risultato era solito rispondermi: «So what?» («E allora?»), per indurmi a guardare oltre. In secondo luogo, con un certo senso di superiorità e ben celata arroganza, pensavo che avrei potuto fare qualcosa di buono anche studiando i carboidrati.

Alla fine in effetti qualcosa capimmo e pubblicammo parecchi articoli su buone riviste. Questi progetti valsero il mio successivo posto di ricercatore a Roma, ma negli Stati Uniti non sarebbero bastati che a ottenere una posizione di *Assistant Professor* in un'università di serie B (altro che Harvard...). Erano gli anni di Reagan, i tagli al bilancio della ricerca erano imponenti e trovare una posizione accademica era sempre più difficoltoso. Ricordo le facce sconvolte dei miei colleghi all'ennesimo esperimento fallito, che per loro poteva facilmente significare la fine dei sogni scientifici, ma anche più prosaicamente la fine di un contratto di ricerca e quindi dei soldi per pagare l'affitto.

\*\*\*

Nel 1981, all'Università di Cambridge Martin Evans<sup>10</sup> isolava per la prima volta le cellule staminali embrionali, che avrebbero rivoluzionato la biologia. Come tutti prima di Evans, io allora svolgevo il grosso del lavoro sulle cellule di teratocarcinoma, un tumore che riesce a differenziare in diversi tipi cellulari ed era il miglior modello allora disponibile per studiare le prime fasi del differenziamento. Avendo imparato ad analizzare i carboidrati delle proteine cellulari, li avevo studiati anche nelle cellule delle leucemie, della cartilagine e in quelle dei muscoli scheletrici. Avevo quindi notato che, come avveniva nella trasformazione tumorale, anche durante il differenziamento di ciascuna di esse i carboidrati delle proteine si modificavano, ma era arduo capire come influenzassero il modo in cui le cellule differenziavano. Spesso



le modifiche erano sottili, e interferire con queste sembrava portare a poco o niente. Warren aveva sviluppato una teoria molto affascinante, che cercherò di spiegare in modo comprensibile. I carboidrati variano per dimensioni, tipo e carica elettrica anche all'interno della stessa proteina, forse perché cercano di offrirle una serie di varianti così che ce ne possa essere una che funziona meglio a bassa temperatura e una ad alta temperatura, una a bassa e una ad alta densità cellulare, una in un ambiente meno e un'altra in uno più acido. Insomma, piccole variazioni che adattano la funzione della proteina al microambiente, che può cambiare. Infatti le glicoproteine sono abbondanti sia sulla superficie che all'esterno delle cellule, dove c'è una minore possibilità di controllo sul microambiente, e sono invece del tutto assenti nel nucleo, la centrale gestionale, dove i comandi sono eseguiti con alta efficienza e precisione.

Cercai di applicare questa teoria alla distrofia muscolare. Si sapeva che il danno causato dalla malattia si concentrava sulla membrana del muscolo e io pensai che il gene responsabile, allora ancora sconosciuto, potesse essere quello che codifica una glicosiltransferasi, una famiglia di enzimi che attaccano gli zuccheri alle proteine. Se la mutazione che causa la distrofia colpisce il gene di una glicosiltransferasi, questa non potrà attaccare un certo zucchero a molte tipologie di proteine e tutte funzioneranno in modo un po' diverso, dando luogo a quelle differenze che tutti osservavano comparando muscolo normale e muscolo distrofico. Sul fatto che questa fosse la causa della distrofia muscolare di Duchenne mi sbagliavo di grosso, come imparammo qualche anno dopo, nel 1987, con il sequenziamento del gene responsabile. Tuttavia, intorno al 2010, quando ormai la maggior parte dei geni che causano le diverse forme di distrofia muscolare erano stati clonati, si scoprì che in realtà esiste una forma di distrofia muscolare dei cingoli (così chiamata perché colpisce i muscoli del bacino e delle spalle) prodotta proprio da una mutazione nel gene di una glicosiltransferasi.

#### NUOVE STRADE DI RICERCA

Nel 1981 si presentò sotto forma di concorso l'opportunità di tornare in Italia, ma la scelta, in virtù di quanto avevo pubblicato e stavo facendo, non fu facile, anche per motivi personali. Si trattava sì di prendere un posto fisso («Mio padre in fondo aveva anche ragione a dir che la pensione è davvero importante», dice Guccini nell'*Avvelenata*), di tornare nella mia città, rivedere i miei amici e ritrovarmi in una situazione protetta, grazie alla quale avrei fatto carriera – ricercatore, professore associato e poi professore ordinario – con una certa facilità, cosa che infatti si verificò.

Sapevo però benissimo che sarei tornato a giocare in serie B. Dall'altra parte lasciavo il sogno, quel mondo duro e affascinante dove il gioco poteva farsi sporco ma dove, ritenevo perlomeno allora, c'era davvero la possibilità di arrivare a scoprire qualcosa di rilevante, che permettesse di lasciare una traccia di sé. Tuttavia, le regole non scritte dell'università italiana erano molto chiare: se non partecipi a un concorso dove hai ottime probabilità di vincere è molto improbabile che quest'occasione si presenti una seconda volta, almeno in tempi brevi.

Così, dopo poco più di due anni in America, tornai a Roma come ricercatore universitario alla Sapienza. Era l'autunno del 1982.

Il ritorno in Italia fu duro, come e più di quanto avessi previsto. Fui inizialmente preso da nostalgia per Filadelfia, città in cui cercai di tornare per brevi periodi anche grazie a un piccolo finanziamento che avevo ricevuto per collaborare con Davor Solter<sup>11</sup>, un capofila dell'embriologia moderna e una persona di grande umanità.

Appena rientrato in Italia ebbi subito conferma di quanto sospettavo: partire con un proprio laboratorio era molto difficile, anche se le difficoltà di allora sono nulla in confronto a ciò che deve affrontare chi prova a iniziare adesso. Perlomeno avevo una sicurezza, lo stipendio, e il supporto di Mario Molinaro, con cui tornai a cooperare. Non è comune trovare un capo che mette a disposizione fondi e spazi, lasciandoti completa autonomia, fino al punto di non firmare i lavori cui non ha contribuito direttamente. In ogni caso, iniziai subito a darmi da fare per cercare una linea di ricerca mia e fondi miei. La prima cosa fu più facile da realizzare della seconda. Mi ero reso conto che ormai avevo perso il treno della biologia molecolare, e anche provando a partire in quel momento, senza saper fare nulla, sarebbe stato troppo tardi. In quegli anni tutti i ricercatori nel mio campo cercavano di clonare i geni espressi nel tessuto muscolare, soprattutto quelli la cui mutazione poteva essere causa delle diverse malattie genetiche dei muscoli.

Provai a prendere una strada diversa. Decisi di studiare come si formano i muscoli nell'embrione. Per fare ciò iniziai a collaborare con Elisabetta Vivarelli, una collega che si occupava di embriologia e che mi insegnò come isolare i somiti, sorta di piccole palline che si formano ai lati del futuro midollo spinale e da cui originano tutti i muscoli scheletrici del nostro corpo, le vertebre e anche altre strutture del tronco. Iniziai così a coltivarli con o senza il midollo spinale, e mi accorsi che i muscoli si formavano solo nel primo caso. Dal che dedussi che era proprio il midollo a mandare ai somiti dei segnali necessari perché le loro cellule si differenziassero in muscolo. Pubblicai questo articolo nel 1986<sup>12</sup>, il mio primo articolo realmente importante, e questa nozione si trova oggi nei libri di testo di biologia dello sviluppo. Fu solo molti anni dopo, quando mi trovavo a Parigi, che identificai quali erano questi segnali, ma di questo racconterò in dettaglio più avanti.

A questo punto lavoravo con dei topolini affetti da diverse forme di distrofia e cercavo di capire quale ne fosse la causa, continuavo a pubblicare – soprattutto descrizioni relative alle differenze tra muscolo normale e distrofico –, ma brancolavo nel buio, anche se non ero certo il solo in questa condizione all'interno della comunità scientifica.

Quanto alla disponibilità economica, lì si andava di male in peggio: inviavo continue richieste ai pochi enti allora esistenti (ministero e Cnr), e dopo qualche mese ricevevo la solita lettera cortese che mi diceva che il mio progetto era stato molto apprezzato, ma purtroppo non sarebbe stato finanziato per mancanza di quattrini. Per fortuna la facoltà di medicina distribuiva dei fondi – davvero pochi, ma meglio di niente – a tutti i ricercatori, e tra questi figuravo anch'io. Grazie a quelli e con il costante aiuto di Molinaro riuscivo a svolgere le mie attività. La situazione cambiò radicalmente in seguito all'intervento di Pablo Amati, professore di biologia e membro del consiglio scientifico della Fondazione Cenci Bolognetti, una delle poche fondazioni di supporto alla ricerca esistenti allora. Amati mi suggerì di presentare un progetto che ricevette una buona revisione e fu quindi approvato. Con quei fondi riuscì a pagare un salario e, con la collaborazione di qualche studente, a costituire un piccolo gruppo di ricerca. Ebbi anche un laboratorio tutto mio e pensai che finalmente sarei riuscito a cambiare marcia. Già, ma lavorando su cosa? Gli studi sugli embrioni continuavano con qualche risultato interessante ma molto di settore, mentre sulla distrofia stavo cominciando a pensare di chiudere. Anche perché nel 1987, preceduta da qualche falso allarme, arrivò la notizia bomba che sconvolse il mondo della ricerca e che già più volte ho qui anticipato: all'Università di Harvard il gene responsabile della distrofia muscolare era finalmente stato clonato da Lou Kunkel insieme al suo team di collaboratori. Si cominciava a leggere dappertutto che, una volta clonato il gene, la cura sarebbe arrivata entro pochi anni. Una gigantesca speranza per molti ragazzi che allora erano malati, o si erano aggravati, e che purtroppo oggi sono morti aspettando una terapia che, trent'anni dopo quell'annuncio, ancora non esiste.

\*\*\*

In uno dei convegni cui partecipavo allora incontrai Terry Partridge<sup>13</sup>. Mi colpì subito per il suo modo non convenzionale di ragionare e per il coraggio di tentare cose nuove, qualità non comune nel campo delle malattie neuromuscolari. Aveva pensato di trapiantare le cellule satelliti nel muscolo distrofico, cosa a cui avevo già pensato anch'io e probabilmente parecchi altri, ma nessuno aveva in mente come fare: il muscolo scheletrico, che

insieme al cardiaco e a quello liscio costituisce i muscoli del nostro corpo, rappresenta il tessuto più abbondante, è formato da dense fibre muscolari, impaccate tra di loro e circondate da una spessa lamina. Partridge decise di iniettare le cellule satelliti sane direttamente nel muscolo di topo, tramite un'iniezione che non è per nulla semplice da eseguire nel roditore. Dopo anni di tentativi perfezionò il metodo e nel 1989 riportò, sulla prestigiosa rivista «Nature»<sup>14</sup>, un articolo che avrebbe segnato la storia della ricerca sulla distrofia muscolare. Iniettando in alcuni muscoli di topolini distrofici cellule satelliti isolate da un topo sano, osservò che la gran parte del muscolo era in grado di produrre distrofina e che quindi le nuove fibre dovevano derivare, almeno in parte, dalle cellule sane iniettate. Sembrava fatta, ma una volta testata nell'uomo la tecnica si rivelò del tutto inefficace, per motivi che troverete spiegati in dettaglio più avanti.

Vivevo gli anni ottanta assistendo, per lo più da spettatore, all'apertura di nuove strade della ricerca che promettevano ogni volta una cura e poi si rivelavano essere in terribile salita. La vita è molto strana: negli anni sessanta, quand'ero bambino, ero certo che avrei fatto l'astronauta; arrivati gli anni novanta, ormai adulto, mi chiedevo cosa avrei fatto del resto di essa e non conoscevo la risposta. Avevo allora un piccolo gruppo di ricerca, dei fondi, qualche progetto interessante sullo sviluppo del muscolo e qualche lavoro irrilevante sulla distrofia muscolare, dove avevo la sensazione di perdere tutti i treni, uno dopo l'altro.

Fu nei primissimi anni novanta che incontrai due figure importanti nella parte centrale della mia carriera scientifica: Margaret Buckingham e Claudio Bordignon.

#### LA SCOPERTA DEI TOPI BLU

Buckingham, di pochissimi anni più grande di me, era stata allieva di John Gurdon<sup>15</sup>, aveva lasciato la Gran Bretagna per diventare borsista a Parigi (dov'è rimasta ancora oggi) nel laboratorio di François Gros, l'ultimo allievo e collaboratore di Jacques Monod, una delle maggiori figure della biologia di tutti i tempi. Non potrò mai ripagare il mio debito di gratitudine con lei, e credo di non essere il solo che le deve così tanto. Era già allora una delle ricercatrici più importanti nel campo dello sviluppo del muscolo. Aveva clonato, lei sì al momento giusto, i geni che codificano per l'actina, una delle proteine che formano i sarcomeri, strutture formate da filamenti (appunto di actina e di miosina) che scivolando tra loro accorciano e quindi fanno contrarre il muscolo, e aveva iniziato a studiare come questi e altri geni fossero espressi durante lo sviluppo embrionale.

L'avevo conosciuta qualche tempo prima, nei primi anni ottanta. In uno dei vari incontri annuali presentavo i miei dati sulle fasi iniziali della formazione del muscolo, proprio nel periodo in cui lei stava cominciando a studiare i geni espressi nei tessuti muscolari durante lo sviluppo dell'embrione. Nel 1988 mi chiese se fossi interessato a spendere un anno sabbatico nel suo laboratorio: accettai senza esitazioni e dopo qualche mese di preparativi mi ritrovai di nuovo in partenza, questa volta con destinazione Parigi, e più precisamente l'Istituto Pasteur. L'atmosfera del centro di ricerca e la scienza che vi si respirava erano uniche: davvero pochi gli scienziati internazionali che viaggiassero in Europa senza passare da Parigi, e quasi ogni giorno si teneva un seminario di qualche famoso ricercatore, il che dava l'idea di essere al centro della scienza mondiale e non in una raminga periferia com'era purtroppo Roma. Gli anni passati nel suo laboratorio, dal 1990 al 1993, sono stati scientificamente i più belli della mia vita. Lavoravamo tanto, anche nei fine settimana, ma con entusiasmo e in un'atmosfera irripetibile.

In quegli anni si cercava di vedere come i geni fossero espressi durante lo sviluppo dell'embrione, dove, quando e, se possibile, perché. La tecnica in uso era molto complicata e costosa e dava risultati modesti. Buckingham a quell'epoca si occupava dei cosiddetti «topi blu» prodotti in laboratorio, dei topi transgenici in cui le cellule muscolari o le loro progenitrici si colorano di blu quando esprimono un certo gene. Il blu è rilevabile con una reazione semplicissima e, con poche eccezioni, inequivocabile, a differenza di altri traccianti. Proprio pochi anni prima, come abbiamo visto, Harold Weintraub aveva identificato il gene fondamentale per lo sviluppo del muscolo e un paradigma per tutta la biologia dello sviluppo, MyoD<sup>16</sup>, un fattore di trascrizione che possiede la proprietà straordinaria di trasformare una cellula non muscolare in muscolo scheletrico quando viene trasferito ed espresso all'interno di essa. Alla fine degli anni ottanta si scoprì che esistevano altri tre geni della stessa famiglia, dai nomi piuttosto impronunciabili (Myf5, Myogenin e Mrf4), che avevano la stessa proprietà. All'epoca del mio arrivo a Parigi, Buckingham aveva pubblicato da poco (per l'esattezza nel 1989) proprio insieme a Weintraub un articolo in cui descriveva l'espressione dei due geni MyoD e Myogenin nell'embrione, nei somiti e in seguito dovunque le masse muscolari si stessero formando<sup>17</sup>.

\*\*\*

La prima volta che osservai al microscopio un embrione blu fu un'emozione molto forte, una di quelle volte in cui la tecnica porta i tuoi

occhi a vedere quello che prima era nascosto. Scorgere quelle piccole cellule colorate organizzate in file, come seguissero un disegno imperscrutabile, offriva una nuova dimensione alla biologia dello sviluppo e, cosa che poi sarebbe diventata cruciale per lo studio della terapia cellulare, donava, dopo circa due secoli di embriologia sperimentale, un nuovo strumento ai ricercatori: una traccia indelebile (o quasi) di una data cellula che veniva ereditata dalle cellule figlie e identificava in modo univoco (in blu) il tipo cellulare che volevamo studiare.

I topi blu e la mia esperienza nel coltivare i somiti offrirono un'opportunità per andare più a fondo, al livello di risoluzione della singola cellula, e di capire di più. Scoprimmo che oltre al futuro midollo spinale esisteva un altro tessuto che riusciva ad attivare lo sviluppo del muscolo, cioè l'ectoderma, la futura epidermide<sup>18</sup>. Scoprimmo anche che il futuro midollo spinale produce prevalentemente una molecola, detta Wnt1, che attiva Myf5 nella parte dorsale, quella che forma i muscoli della schiena, mentre l'ectoderma, per il tramite di una molecola diversa (Wnt7a), attiva MyoD nei tessuti che formeranno i muscoli degli arti, della lingua, del diaframma e della parete ventrale del corpo. Oltre a questo progetto, durante il mio soggiorno a Parigi pubblicammo altri articoli, che mi valsero un riconoscimento internazionale.

Tutto questo lo devo a Buckingham, ma sono felice di avere in parte ricambiato aiutando il suo laboratorio, che da allora in poi si concentrò sullo studio dettagliato di Myf5 e di Pax3, un altro gene regolatore di cui qui non è importante parlare, e della loro rispettiva azione.

Nel 1992 tornai quindi a Roma, non da solo. Avevo portato con me da Parigi, in modi che oggi sarebbero quantomeno illegali, un piccolo gruppo dei topi blu di Buckingham, trasportati come animali domestici in una gabbietta, e insidiati durante il viaggio da un gatto francese (per fortuna chiuso in una gabbia limitrofa) che aveva chiara intenzione di farne un uso molto diverso da quanto progettavo io. Entrati nello stabulario che ospitava i topi dell'Istituto di istologia, cosa oggi altrettanto impensabile, i topi si ambientarono benissimo e produssero una colonia di individui i cui muscoli si potevano colorare di blu, a differenza di tutti gli altri topi italiani, pallidamente bianchi. *So what?* Vi chiederete.

Per motivi che sarebbe troppo lungo e noioso raccontare, mi ero convinto che per formarsi le fibre muscolari hanno bisogno di tante cellule, e non vanno per il sottile: tutte le cellule che siano abbastanza simili a loro sono reclutabili e, una volta entrate nella fibra, passano al vaglio di MyoD che ne attiva il programma muscolare. Con i topi blu avevo finalmente un mezzo per dimostrarlo. Isolai le cellule non muscolari e controllai che se lasciate sole, non diventavano blu. Quindi di per sé non erano e non potevano formare fibre muscolari. In una seconda fase le coltivai insieme a mioblasti di topi normali,

che blu non potevano diventare in ogni caso. Dopo che le fibre muscolari si furono formate in coltura, colorai le cellule e notai che una piccola frazione di esse diventava effettivamente blu. Pertanto, avevo provato che cellule che da sole non potevano formare muscolo lo facevano se coltivate insieme a cellule muscolari con cui si fondevano (le fibre muscolari contengono molti nuclei nella stessa fibra); venivano reclutate a un destino diverso da segnali probabilmente rilasciati dalle cellule muscolari durante il differenziamento. Ovviamente solo alcune cellule erano in grado di rispondere, la maggioranza rimaneva comunque indifferente, e per fortuna: se ogni cellula muscolare ne potesse reclutare altre indipendentemente dalla loro natura, noi non saremmo che un enorme ammasso di carne.

Nell'ottica di riparare i tessuti muscolari, poter disporre di cellule di riserva rappresentava un vantaggio cruciale. Pubblicai queste osservazioni nel 1995 su una buona rivista<sup>19</sup>, per la verità contemporaneamente a un gruppo inglese e a uno francese, senza che nessuno se ne accorgesse.

Nello stesso anno, insieme al mio collega Fulvio Mavilio decisi di tentare un altro esperimento per dimostrare in modo inequivocabile la possibilità che cellule non muscolari potessero cambiare destino. La critica principale allo studio appena esposto ruotava attorno al fatto che se fatte espandere in coltura, cioè all'interno di quello che alla fine non è altro che un artificiale pezzo di plastica, le cellule perdono il controllo fine esercitato dal microambiente dei tessuti e realizzano cose che *in vivo*, cioè nei tessuti veri di topo o di uomo, non potrebbero fare.

Conoscevo Mavilio da molti anni, da quando lavorava a Roma all'Istituto superiore di sanità e studiava, in collaborazione con Edoardo Boncinelli, gli omeogeni umani, quei geni che indicano a una cellula dove si trova nel corpo, anziché cosa fare. Anche lui era stato a Filadelfia e proprio lì aveva imparato a operare con i vettori retrovirali, anche questi virus costruiti in laboratorio a partire dai retrovirus, della cui famiglia il più famoso è l'Hiv, responsabile dell'Aids (ovviamente i geni patogeni venivano rimossi e sostituiti dal gene terapeutico). Qualche anno prima eravamo riusciti a infettare, grazie ai fondi ottenuti dall'allora neonata Telethon, alcune cellule muscolari umane con un vettore retrovirale che produceva lo stesso enzima che rendeva i topolini blu. Il risultato era significativo perché indicava che, a differenza di molte altre cellule umane, quelle muscolari si potevano infettare molto bene e ciò apriva la strada alla possibilità di combinare la terapia cellulare con quella genica. Questa strategia avrebbe in seguito dato altri importanti risultati.

Assieme a Mavilio e al suo gruppo al San Raffaele di Milano eseguimmo un esperimento che si rivelò risolutivo: il midollo osseo di topi blu fu trapiantato in topi normali. Dato che in sé non contiene alcun muscolo, nei midolli trapiantati non si poteva osservare la presenza di alcuna cellula colorata. I muscoli dei topi trapiantati, inoltre, risultavano essere

correttamente bianchi. Decidemmo solo a quel punto di indurre un danno in un muscolo dei topi trapiantati e aspettare che rigenerasse. A tre settimane dalla lesione, il muscolo rigenerante conteneva un certo numero di fibre blu, il che indicava senza ombra di dubbio che il midollo osseo contiene delle cellule che di solito non formano muscolo, ma possono farlo in caso di rigenerazione dei tessuti. Inoltre, queste cellule non potevano aver raggiunto il muscolo che attraverso la circolazione sanguigna, un concetto che allora risultava essere completamente nuovo.

Lo studio fu pubblicato nel 1998 sulla prestigiosa rivista «Science»<sup>20</sup>, ed ebbe un impatto di molto superiore a quanto mi sarei mai aspettato. A tutt'oggi resta, e con ogni probabilità resterà, il mio articolo più citato, oltre 2300 volte nel momento in cui scrivo.

Nel giro di un anno dalla pubblicazione di quell'esperimento, Lou Kunkel riprodusse ad Harvard il nostro risultato in topi distrofici<sup>21</sup>, suggerendo che il trapianto di midollo potesse divenire una terapia per la distrofia muscolare. Se le cellule derivate dal midollo fossero originate da un topo normale, e in futuro da un donatore sano, una volta divenute muscolo avrebbero dovuto produrre distrofina. E così in effetti fecero. Ma i numeri non c'erano. Il fenomeno era riproducibile, ma era comunque troppo raro per poter ricostituire un numero di fibre «curate» tali da avere una reale efficacia terapeutica. Questo fu chiaro a tutti fin dall'inizio, e per una volta non ci furono entusiastiche fughe in avanti e sperimentazioni affrettate sui pazienti con trial clinici troppo avventurosi.

Nel frattempo il fenomeno della cosiddetta «plasticità cellulare», cioè la capacità di una cellula di adattarsi alle condizioni ambientali e differenziare in un tipo cellulare che normalmente non potrebbe diventare, si allargò a macchia d'olio. Nel giro di pochi anni molti laboratori pubblicarono, sulle più prestigiose riviste, articoli più o meno dettagliati sulla capacità delle cellule del midollo osseo di dare origine anche a cellule del cuore, del sistema nervoso, del fegato e di molti altri tessuti. Inoltre, a quanto pare, non erano solo le cellule del midollo a essere «plastiche», ma anche le cellule staminali di altri tessuti sembravano possedere questa capacità. La vicenda di Davide Vannoni, di cui parlerò ampiamente nei capitoli finali di questo volume, è solo un'ultima conseguenza (truffaldina) di questo fenomeno.

Sono passati più di vent'anni da quegli esperimenti, e la plasticità cellulare non ha portato per ora alla cura della distrofia. Tuttavia la comunità scientifica era in subbuglio per le possibilità che si pensavano finalmente a portata. Avevamo preso tutti un abbaglio?



Giungiamo a questo punto al fatidico 1999, quando incontrai per la prima volta a Roma don Luigi Verzé. Rimasi fortemente colpito dalla personalità di quell'uomo, secondo il quale un ospedale che non opera perché la cura di domani sia migliore di quella di oggi è solo un lazzaretto. Questa frase, da sola, mi convinse ad andare a lavorare per lui: mi sembrò un santo laico, laico perché del prete non aveva molto, e sapevo come tutti che poteva usare metodi e strategie decisamente non ortodosse. Molti lo detestavano per questo, ma resta il fatto incontrovertibile che ha creato, praticamente dal nulla, un centro di ricerca biomedica che è oggi un leader mondiale nella terapia genica.

In quel periodo, in virtù dei risultati che avevo raggiunto, Claudio Bordignon, una delle figure di punta della terapia genica, poi direttore scientifico del San Raffaele, mi aveva offerto di entrare nella sua squadra a Milano e io avevo accettato immediatamente.

Attorno al passaggio di millennio comincia quella che considero la «stagione buona» dei miei studi verso la terapia, nel senso che finalmente avevo la competenza, i fondi e le conoscenze necessarie per poter agire fattivamente in un contesto all'avanguardia. Nel settembre del 2000 mi ero quindi trasferito a Milano. In quell'anno l'Istituto Telethon di genetica e medicina (Tigem) si era spostato a Napoli e nello spazio resosi disponibile Bordignon aveva costituito l'Istituto per le cellule staminali, che mi aveva chiamato a dirigere insieme ad Angelo Vescovi, che quattro anni dopo quel momento avrei trovato schierato sul fronte opposto nella campagna referendaria per l'abolizione della famigerata legge 40<sup>22</sup>.

L'atmosfera del San Raffaele era molto diversa da quella di Roma, vi si respirava la stessa aria del Pasteur o dell'Università di Pennsylvania. Non era certo il paradiso in terra della ricerca, i problemi c'erano ed erano tanti, ma in generale l'istituzione era competitiva sul piano internazionale, soprattutto nel campo della terapia genica. Vi si studiavano diverse malattie genetiche, insieme ad alcuni tumori del sangue in cui la terapia genica sembrava offrire nuove e potenti armi. Dopo l'immunodeficienza congenita da deficit di adenosina-deaminasi (Ada-Scid), il cui protocollo nel frattempo era stato modificato proprio al San Raffaele e ora sembrava funzionare a lungo e in modo robusto, altre malattie genetiche come la sindrome di Wiskott-Aldrich e la leucodistrofia metacromatica (Ldm) erano state trattate in modelli pre-clinici con risultati promettenti. Di queste malattie parlerò in dettaglio nel capitolo 4 sulla terapia genica.

Arrivato all'istituto, cercai di portare le osservazioni fatte sulla plasticità cellulare verso una terapia. Identificammo le cellule «plastiche» nella parete dei vasi sanguigni e scoprimmo che erano in grado di formare, oltre al muscolo liscio che costituisce la parete degli stessi, anche le fibre del muscolo scheletrico. Inoltre le cellule, se iniettate nel sangue, sono in grado di legarsi e

attraversare la parete dei vasi, soprattutto in un tessuto malato come il muscolo distrofico. Le due cose insieme suggerivano che fosse possibile iniettare queste cellule in circolo e farle arrivare in tutti i muscoli a valle dell'arteria d'iniezione. Provammo quindi a inoculare le cellule, sia sane che malate previa correzione con un vettore lentivirale (una forma di retrovirus in grado di attivarsi anche in cellule che non si dividono) nelle arterie di topolini affetti da distrofia muscolare. I risultati furono pubblicati su «Science» nel 2003<sup>23</sup>. Prima di passare ai pazienti, provammo questa terapia anche in cani affetti da distrofia muscolare: in questo caso gli animali migliorarono la loro mobilità quando trapiantati con cellule sane provenienti da un donatore (dopo un'immunosoppressione, come si usa per i trapianti d'organo) mentre le cellule distrofiche, corrette geneticamente, non funzionarono. Pubblicammo questi risultati su «Nature» nel 2006<sup>24</sup>, e finalmente il mondo dei neurologi si accorse di noi. Tuttavia la nostra soluzione fu sempre considerata, e a ragione, molto complicata, quindi non poteva essere la prima scelta rispetto a nuovi farmaci o alla terapia genica *in vivo*.

Dopo una serie di altri studi accessori, decidemmo di partire con un trial clinico di fase I<sup>25</sup>, la cui organizzazione occupò ben cinque anni. Dati i risultati ottenuti nei cani trattati, iniziammo con il trapianto di cellule da un donatore sano, un fratello del paziente. Analizzammo quarantotto famiglie con un paziente Duchenne e almeno un fratello sano, e ne trovammo sei in cui quest'ultimo era immunologicamente compatibile. Organizzammo prima un trial osservazionale per seguire il progressivo declino nella deambulazione di questi pazienti e di altri ventidue, le cui famiglie avevano accettato di partecipare pur sapendo che i loro bambini non erano eleggibili per la sperimentazione (senza compatibilità immunologica serve una dose di immunosoppressione molto maggiore, il cui uso non era giustificato dalla fase esplorativa). Il trial preliminare ci avrebbe detto se, dopo il trapianto, la deambulazione sarebbe migliorata, rimasta stabile oppure peggiorata in caso di qualche non prevedibile effetto tossico. Iniziammo il 15 marzo del 2011 con il primo paziente e completammo il trial in circa due anni. I risultati furono poi pubblicati nel 2015 sulla rivista «Embo Molecular Medicine»<sup>26</sup>. In breve, la sperimentazione dimostrò la sicurezza della terapia ma l'efficacia risultò molto modesta, decisamente inferiore a quanto osservato nei modelli animali. Perché? Vari i motivi, tra cui l'età dei pazienti, per motivi di sicurezza troppo avanzata (due pazienti erano sulla sedia a rotelle) rispetto agli animali trattati. Perché questa cautela? Era la prima volta che centinaia di milioni di cellule venivano iniettate nelle arterie di un essere umano. In secondo luogo, per una serie di impedimenti tecnici e logistici, non riuscimmo a raggiungere la dose impiegata negli animali. Terza differenza fu l'uso degli steroidi, che mantenemmo durante il trial e che invece non erano stati usati nei modelli animali. Gli steroidi, riducendo l'infiammazione, riducevano

anche l'adesione delle cellule staminali alla parete dei vasi e quindi il numero di cellule che colonizzavano i tessuti, cosa che purtroppo scoprimmo troppo tardi. Infine, l'uomo è l'unico animale che cammina su due arti, e per far questo ha bisogno dei muscoli del dorso e del bacino, che non avevamo raggiunto con il nostro protocollo d'iniezione. Nonostante la delusione fosse forte, decidemmo di andare avanti e migliorare quanto possibile la terapia fino a renderla efficace.

\*\*\*

Nel frattempo nel campo della distrofia muscolare si affacciavano prepotentemente sulla scena gli oligonucleotidi e alcune altre molecole, piccole ma non troppo, disegnate per correggere l'Rna messaggero durante la sua maturazione, in modo da mascherare la parte colpita da mutazione. Mascherando, cioè saltando l'esone mutato, da cui il termine *exon skipping*, si può formare una molecola più corta rispetto a quella naturale (perché priva della parte con la mutazione) ma ancora capace di localizzarsi sulla membrana della fibra e proteggerla durante lo stress della contrazione. Detto in altre parole, l'*exon skipping* permetterebbe di trasformare la distrofia di Duchenne, molto grave, in una più lieve distrofia di Becker, cambiando radicalmente la qualità della vita dei pazienti colpiti.

Sfortunatamente gli oligonucleotidi sono molecole grandi, e per quanto siano modificati chimicamente in modo da renderli più efficaci nell'attraversare le varie membrane che dal sito d'iniezione (che sia il sangue o l'immediato strato sottocutaneo) li separano dall'interno della fibra muscolare dove devono svolgere la loro funzione, ancora non ci riescono bene. Finora i risultati degli studi clinici sono stati caratterizzati da risultati modesti, che mostrano un lieve effetto. Di fatto, al momento funzionano troppo poco per giustificare costi e rischi, anche se, come per ogni terapia, chiudere del tutto finanziamenti e sperimentazioni significa terminare una via che alla fine potrebbe portare a un'efficacia clinica. Sono decisioni davvero difficili da prendere, anche per gli addetti. Gli oligonucleotidi, nello specifico, presentano due caratteristiche che li rendono attraenti per le piccole industrie: a) sono mutazione-specifici, ovvero la stessa molecola può risultare efficace su tutti i pazienti affetti da una data mutazione, che possono quindi assommare anche a una buona percentuale del totale, rendendo economicamente sostenibile la loro produzione; b) come la maggior parte dei farmaci tradizionali, gli oligonucleotidi devono essere somministrati periodicamente (circa una volta al mese) per un lungo periodo, in teoria anche per tutta la durata della vita del paziente, fatto importante per le inevitabili

considerazioni commerciali.

Nonostante l'insistenza sugli oligonucleotidi di quasi tutti gli attori della medicina rigenerativa, ho provato a seguire una strada diversa, un cammino dettato da quello che sapevo fare, ovvero coltivare le cellule, e dalla prospettiva di dare al paziente un intervento definitivo. Perché insistere su questo fronte, se il trapianto di cellule staminali sperimentato nel mio trial non aveva funzionato? Perché qualcosa in più lo avevo capito, qualcosa che faceva sperare in una strategia diversa. Nel frattempo le cose al San Raffaele erano cambiate e sentivo il desiderio di una nuova ripartenza.

#### L'AFFAIRE FRANCIS

Fu allora che Claudio Stern, famoso embriologo<sup>27</sup> inglese, suggerì di spostarmi in Inghilterra, dove – era sicuro – avrei trovato un ambiente stimolante. Fu così che nel 2012 approdai al prestigioso University College London (Ucl), dove tuttavia le cose non andarono come sperato. Ero finito in un gruppo di biologi dello sviluppo di grande caratura internazionale, ma all'interno dell'istituto non c'era alcuna connessione con la parte clinica, per cui era impossibile cercare di portare gli sviluppi delle mie ricerche in laboratorio ai trial sui pazienti, fatto che mi deluse e amareggiò non poco. I clinici erano in un'altra sede, sempre afferente alla stessa università ma non alla porta accanto, come al San Raffaele. Nonostante le assicurazioni che avevo cercato e ottenuto prima di trasferirmi, le difficoltà logistiche mi rendevano di fatto estraneo alla loro attività.

Fu poco prima che io riuscissi a costruire una migliore interazione con essi, a meno di un anno dal mio trasferimento, che mi accadde qualcosa che, a distanza di anni, fatico ancora a raccontare.

\*\*\*

«Non so perché io abbia ricevuto la lettera, ma devi sapere che stanno girando queste accuse su di te». Era più o meno questo il messaggio che, in due email diverse, mi raggiunse la mattina del 10 novembre 2012. Entrambe provenivano da amici ricercatori: Kevin Campbell, noto per aver isolato e studiato tutte le proteine che si associano alla distrofina sulla membrana della fibra muscolare, e Fred «Rusty» Gage, uno dei padri della medicina rigenerativa e dello studio del sistema nervoso, da sempre al Salk Institute for Biological Studies di La Jolla, in California. La lettera a cui si riferivano, e

che allegavano alle loro email, era lunghissima e feroce nel tono, e mi accusava di essere niente meno che un falsificatore di dati e un pericolo per la salute pubblica.

Venivo tacciato di aver deliberatamente e sistematicamente modificato per anni le immagini che dimostravano la validità delle conclusioni nei miei articoli scientifici, sfruttando le possibilità di fotoritocco offerte da Photoshop. All'inizio quella lettera mi sembrò il delirio di uno psicopatico. Invece si sarebbe rivelata ben presto molto più grave: tra i destinatari dell'email originale si trovavano gli indirizzi, oltre che dei miei due amici, del Research Integrity Office di Ucl, dove lavoravo, del General Medical Council (l'ordine dei medici del Regno Unito), cui peraltro non ero iscritto, oltre che dei maggiori enti finanziatori inglesi, delle *charities* che si occupavano di distrofia muscolare nel Regno Unito, insieme a un lungo elenco di tutte le più prestigiose riviste («Development», «Nature», «Nature Cell Biology», «Nature Medicine», «Science», «Science Translational Medicine» ecc.), e altre ancora in cui avevo pubblicato più di cento articoli nei precedenti dieci anni, tra il 2000 e il 2010, periodo in cui le vecchie fotografie scattate a pellicola erano state sostituite dalle immagini digitali ottenute con le prime fotocamere elettroniche.

La lettera era firmata da tale Clare Francis, chiaramente un nome falso visto che la vera Francis è una scrittrice<sup>28</sup>. Scoprii di non essere affatto un caso isolato, ma di trovarmi in ottima compagnia: insieme a me, infatti, nel mirino della stessa Francis o di altri accusatori la cui identità era celata sotto improbabili pseudonimi<sup>29</sup>, erano finiti decine e decine di ricercatori. Chi ha l'esigenza di nascondersi dietro l'eteronimo «Clare Francis», e perché dovrebbe svolgere quest'attività? «Per moralizzare la scienza», è la risposta ufficiale.

Il caso volle che quello stesso giorno fossi stato invitato a intervenire, e per l'ultima volta – come avrei capito in seguito –, all'incontro della più importante associazione britannica di genitori di pazienti distrofici, Action Duchenne. Secondo il classico stile inglese, nessuno accennò alle accuse – sebbene ormai di dominio pubblico – e, tra sorrisi e frasi di circostanza, la mia presentazione venne spostata senza preavviso, facendo parlare gli altri oratori molto più a lungo del dovuto (cosa che in Inghilterra non accade mai), in modo che alla fine rimasero solo tre o quattro minuti per il mio intervento, che peraltro fui invitato a concludere quanto prima, per lasciare spazio al rinfresco. Evidentemente il monito con cui si chiudeva la lettera di Clare Francis – «Giulio Cossu è una minaccia per la salute pubblica, come prova la sua sperimentazione clinica di cui parlerà oggi al convegno di Action Duchenne» – aveva centrato il bersaglio.

Pochi giorni dopo fui convocato dal Research Integrity Office di Ucl e mi vennero comunicate le accuse che già conoscevo cui, secondo il loro

regolamento, non avrebbero dovuto dare seguito perché anonime. Con mia (piccola) sorpresa, Ucl istituì invece una commissione di esperti interni ed esterni che avrebbe esaminato i miei articoli e mi avrebbe interrogato in data da stabilirsi (il vero e proprio «interrogatorio» sarebbe avvenuto dopo ben quattro mesi di snervante attesa, nel marzo del 2013). Poco dopo la convocazione da parte di Ucl iniziarono anche le inchieste delle varie riviste scientifiche, in una sorta di effetto domino inarrestabile.

Per dovere di cronaca devo riconoscere che molte riviste condussero un'inchiesta ragionevole, esaminando in modo critico e razionale i miei argomenti e i documenti che li sostenevano. Altre, invece, avviarono una vera e propria campagna inquisitoria: a prova della mia innocenza venivano richiesti gli originali delle lastre autoradiografiche e delle fotografie che Clare Francis aveva indicato come contraffatte. All'epoca avevo pubblicato circa 150 lavori, ciascuno impostato su almeno cento immagini (un articolo pubblicato contiene in media da 5 a 8 figure, e altrettante si trovano nei supplementi) ognuna formata a sua volta da 10, 20 o più immagini originali, riprodotte in genere in formato francobollo e spesso in serie «quasi» identiche tra loro. Se un giovane ricercatore impegnato via via nella preparazione dell'articolo si fosse confuso, inserendo nell'immagine composita per due volte la stessa figura originale, il fatto, riconducibile a disattenzione o a una svista accidentale, sarebbe invece stato bollato da Clare Francis come «frode». Mi ritrovai così nella condizione paradossale di dover ritrovare e presentare l'originale di duecento immagini tra le circa ventimila che avevo pubblicato fino ad allora, afferenti a un lasso di tempo variabile dai dieci ai quindici anni, e per rendere il quadro più stimolante, dopo ben due traslochi internazionali.

Immagino vi stiate chiedendo se fossi colpevole. Ebbene, la risposta non è netta: ero innocente per non aver mai deliberatamente alterato nessuno dei miei risultati, che sono stati citati più di ventiduemila volte e mai smentiti; l'unico criterio inequivocabile che permette di valutare un dato come vero è infatti la sua riproducibilità.

Se una colpa mi si poteva ascrivere, però, era di non aver controllato accuratamente, una per una, le ventimila immagini-francobollo che avevo pubblicato man mano nei miei articoli. In quel decennio, al San Raffaele avevo alle spalle un gruppo composto da circa trenta persone e pubblicavo in media dieci articoli l'anno. In più, cercavo di mettere in piedi il primo trial clinico al mondo di trapianto di cellule staminali per la distrofia muscolare. Qualcuno tra i miei collaboratori aveva commesso un errore, una qualche disattenzione che però non aveva compromesso l'integrità dei risultati. Com'era potuto succedere? Quasi sicuramente per la fretta del ricercatore in questione di pubblicare subito per evitare che qualcun altro rendesse noti prima gli stessi dati, vanificando tutti i nostri sforzi (e al 99% bruciando

anche la carriera dello stesso).

Se riconosciuti come innocenti e accidentali, questi errori possono essere corretti dalla rivista scientifica con una nota e questo è esattamente quello che facemmo per i due articoli dove furono trovati (il fatto è di per sé assolutamente normale: *errata corrige* si trovano infatti alla fine di quasi ogni fascicolo in tutte le riviste scientifiche). Passati alcuni mesi la commissione convocata da Ucl, dopo un lungo e certamente non piacevole interrogatorio, mi giudicò innocente «assolvendomi» da tutte le accuse che mi erano state rivolte. Nel frattempo due riviste avevano intrapreso una loro azione investigativa con metodi che è eufemistico definire non ortodossi, minacciando di ritirare il mio lavoro. Una ritrazione è un atto in genere umiliante e costituisce una palese ammissione di colpevolezza; macchia la carriera di un ricercatore e può arrivare a fargli perdere gli incarichi, oltre al rispetto e alla stima dei colleghi.

Probabilmente non saprò mai perché fossi finito nel mirino della fantomatica Clare Francis. Posso però fare due ipotesi: sparavano nel mucchio e mi hanno colpito, o qualcuno ce l'aveva con me per un motivo preciso. Intorno al 2010 mi ero esposto personalmente intervenendo a uno o più talk show in cui si discuteva dell'attività riprovevole delle cliniche private che offrono a pagamento terapie con cellule staminali non comprovate, praticamente per qualsiasi malattia. Come esperto di cellule staminali, esprimevo con forza gli stessi concetti che troverete in questo libro e in tutti i siti delle società scientifiche sull'argomento. Dopo ogni passaggio televisivo ricevevo numerose lettere da pazienti che erano stati contattati da queste cliniche per una presunta terapia, sulla quale mi chiedevano consigli. Preso atto del mio parere, spesso rifiutavano l'offerta, causando alle cliniche un danno economico. Questo potrebbe spiegare perché l'attacco avvenne esattamente il giorno in cui avrei presentato i risultati del mio trial clinico, condotto senza un solo euro proveniente da *companies* o industrie farmaceutiche private e completamente gratuito per i pazienti, una dimostrazione troppo (per alcuni) sfacciatamente incontrovertibile che certe sperimentazioni sono condotte per motivi scientifici, e altre a fini meramente commerciali. In seguito avrei scoperto anche un sito web che riportava una mia intervista, falsa e costruita a tavolino, nella quale accusavo direttamente alcune di queste cliniche di essere delle vere e proprie attività mafiose, cosa che non avevo e non avrei mai fatto in questi termini. Ho ancora copia della denuncia presentata all'epoca al commissariato di Prati, circa la mia estraneità a quell'intervista. Sono arrivato alle mie conclusioni, che sono solo ipotesi, non avendo mai avuto accesso alle fonti originali. Supponendo che i ricercatori vengano finalmente smascherati come truffatori e imbrogliatori, perché bisognerebbe prestare loro ascolto su questioni quali il fumo, i vaccini, gli Ogm, l'evoluzione, la sperimentazione animale, le cure con cellule

staminali e tanti altri temi che interessano direttamente la nostra vita? Da anni esiste una complessa e articolata campagna che mira a delegittimare la scienza in cui convergono paure ataviche, superstizioni, interessi commerciali e molte altre forze.

Non è forse indubbio che in un mondo in cui tutti sono indefessamente dedicati al benessere degli altri e non al loro particolare, siano proprio i ricercatori – dopo anni di studi e fatiche, lavorando dieci o dodici ore al giorno e pagati in modo non adeguato – a manifestarsi come coloro che inseguono potere e ricchezza? Di certo pasticciare un’immagine o copiarla due volte non sono azioni encomiabili. Vanno certamente stigmatizzate e oggi le riviste sono molto più attente a questi dettagli. Tuttavia, il *fumus persecutionis* dei vari censori che hanno organizzato una vera e propria caccia alle streghe, pronti a mandare al rogo questi poveretti e i loro capi (se non li disconoscono per salvarsi la reputazione), lascia perplessi. Soprattutto se compariamo quanto detto al silenzio assordante dei media di fronte alle attività a dir poco prive di scrupolo delle Big Pharma, che riescono con ogni mezzo a immettere a prezzi folli farmaci inutili quando non dannosi, e quando colti in flagrante, se la cavano con una multa di qualche milione di dollari<sup>30</sup>. È come se si arrestassero i ragazzini che vendono spinelli agli angoli delle strade per bloccare il traffico internazionale di droga. *Sic transit gloria mundi*.

#### FINALMENTE MANCHESTER

Fu proprio durante l’affaire Clare Francis che venni contattato dall’allora preside dell’Academic Health Science Centre dell’Università di Manchester, Ian Jacobs. Aveva intenzione di istituire nella città inglese un centro specialistico di medicina rigenerativa supportato dal Medical Research Council, l’ente governativo responsabile del coordinamento e finanziamento della ricerca medica nel Regno Unito. Si progettava un centro di prim’ordine per tentare di ottenere dei fondi importanti sia per le infrastrutture sia per tutti quegli aspetti logistici che sono necessari ai ricercatori per lavorare con libertà ed efficacia. Feci presente a Jacobs che forse per me non era il momento migliore, con l’indagine in corso e il rischio di essere estromesso da Ucl. Mi rispose che era a conoscenza della notizia, che si era informato sul mio conto e tutti gli avevano garantito la mia serietà professionale; aggiunse che a lui le accuse anonime non interessavano perché immorali. Fu principalmente per questo motivo che accettai, dopo meno di due anni, di trasferirmi ancora una volta. Per avere un centro di eccellenza Jacobs doveva reclutare un ricercatore di livello internazionale e molti gli avevano suggerito il mio nome. A cosa serve un centro come questo? La medicina rigenerativa è



un'avventura bellissima ma si basa su un'attività che non può reggersi sulle sole idee degli studiosi e deve avere alle spalle delle organizzazioni molto articolate, multiformi e composite. Ottenere questo tipo di riconoscimento istituzionale e i relativi finanziamenti non è affatto facile, e per avvicinarsi al risultato bisogna superare una serie di passaggi obbligati molto precisi.

Prima di tutto, è necessario provare che i reagenti (cellule, vettori virali, organoidi ecc.) che si usano come base per un'eventuale terapia producano in coltura l'effetto che ci si aspetta, altrimenti la strada si interrompe già in partenza. Occorrono quindi dei modelli animali, di solito prima piccoli e poi grandi (ad esempio topi e cani e, quando possibile, primati), per dimostrare che c'è un beneficio reale sulla malattia; sia chiaro, non dev'essere necessariamente la cura, ma una risultanza tangibile e chiara. Quando si passa agli animali più grandi, anche le questioni da risolvere e gli ostacoli che si frappongono diventano proporzionalmente più grandi e, infine, quando si ha a che fare con pazienti umani la complessità diventa enorme, sovrapponendosi alle problematiche meramente biologiche anche quelle di tipo sociale, culturale, economico, legislativo ed etico, anche se queste ultime sussistono comunque per la sperimentazione animale.

Un secondo passaggio fondamentale per ottenere il supporto istituzionale è dipendente dal fatto che molte nazioni, tra cui l'Italia, richiedono delle prove di farmaco-tossicità per le terapie cellulari, come del resto avviene per un farmaco tradizionale. In sostanza si tratta di definire, per ogni terapia che si vuole sperimentare, una soglia precisa individuata in quella che si chiama con termine tecnico «dose massima letale»: studiando un ipotetico farmaco si cerca di capire quale sia la quantità, che dev'essere di molto superiore a quella che si ha intenzione di somministrare effettivamente al paziente, in grado di provocare degli eventi avversi o addirittura la morte in un modello animale. Com'è facile capire, se la dose massima letale si situa a cento, mille volte la quantità che si vuole testare sui pazienti umani, ci si può considerare relativamente tranquilli rispetto al fatto che il farmaco non produrrà effetti negativi. Se invece la dose che si rivela essere tossica è solo una volta e mezzo quella che si intende sperimentare, la terapia viene ritenuta non sicura e quindi non viene approvata dagli organi di controllo.

A questi aspetti più tecnici e biologici seguono poi quelli burocratici, e mi riferisco in particolare alle centinaia e centinaia di pagine che bisogna stendere per presentare un progetto in linea con tutti gli obblighi di legge. Nonostante abbia lavorato per un anno e mezzo all'ente regolatore europeo, l'EMA, con sede a Londra, in qualità di esperto sul fronte medico-biologico e non su quello legislativo, e nonostante la mia esperienza pluridecennale in quest'ambito, non saprei predisporre la documentazione necessaria date le normative nazionali e internazionali estremamente complesse, che bisogna conoscere nei minimi dettagli per ottenere il *placet* degli enti regolatori.

Conseguenza di questo fatto è che per avere un centro di ricerca perfettamente operativo è necessario assumere uno o più esperti che si occupino in via esclusiva delle tematiche burocratico-legislative.

Quando anche tutto questo è stato risolto, rimane la necessità di trovare dei laboratori che siano autorizzati dagli enti regolativi a produrre i reagenti, un prodotto medicinale considerato alla stregua di un farmaco, a livello di grado clinico (*Good Manufacturing Practices*). Il motivo per cui è obbligatorio ricorrere a questi laboratori è relativo alla certificazione di garanzia della qualità e della sicurezza del materiale biologico che verrà usato negli esperimenti. In assenza di questa fornitura esterna garantita, il prodotto medicinale potrebbe essere realizzato in modo non controllato o *cheap*, come spesso accade in centri o *companies* poco affidabili con significativi rischi (infezioni, tumori) per la salute dei pazienti.

Si capisce perché sia importante per uno studioso avere alle spalle un centro in grado di creare e far funzionare una struttura complessa di grado clinico, che riesca a finanziare non solo i ricercatori e i collaboratori, ma anche ad esempio un *clinical trial manager* che conosca la regolamentazione, un centro di tossicologia se possibile integrato all'istituto di ricerca ecc. Solo quando l'enorme meccanismo è attivo e funzionante, i ricercatori possono procedere liberi da fardelli e impedimenti, e a quel punto andare a scrivere e valutare un protocollo sul paziente diventa un fatto abbastanza lineare. Quanto vi ho descritto viene a costare vari milioni di euro, milione più milione meno, a seconda del trial. Ma questo basta solo per le prime fasi delle sperimentazioni; quando si passa alle fasi successive di milioni ne servono decine e questo rende impossibile alle università accedere a questi fondi (che sono invece ottenuti facilmente da *companies* private, spesso fondate da universitari, in cambio del ritorno economico desiderato, di solito a breve termine).

Questo è quello che stava cercando di costruire Ian Jacobs a Manchester, quando nel settembre del 2013 mi trasferii nella città che gode del non invidiabile primato di essere quella soggetta alle maggiori precipitazioni piovose di tutto il Regno Unito.

Mentre scrivo, sono a Manchester, e qui penso di terminare la mia attività lavorativa. Anche qui però le cose non sono andate come previsto. Il Medical Research Council ha deciso infatti di non finanziare il centro, e poco dopo Ian Jacobs ha accettato una posizione di rettore in una università australiana. Il nuovo preside ha lo stesso nome, Ian, ma obiettivi molto diversi dal primo e tra questi la medicina rigenerativa non è inclusa.

Mi sono ritrovato così di nuovo solo, a cercare di proseguire quel percorso che si era interrotto quando ho lasciato il San Raffaele. Con molta fatica, essendo nuovo al sistema inglese, sono riuscito a ottenere fondi, trovare colleghi interessati e clinici disponibili.

Al momento in cui scrivo, stiamo cercando di ottimizzare il protocollo del trapianto già sperimentato nel 2011 e di completare la farmacodinamica, cioè lo studio della distribuzione dal farmaco – cellule in questo caso – nei tessuti, la loro persistenza e gli effetti che producono. Al tempo stesso, dopo due anni di ritardi dovuti alle circostanze più varie, a ottobre 2018 abbiamo iniziato un piccolo trial clinico destinato a determinare la sicurezza del trapianto di mesoangioblasti dello stesso paziente, geneticamente corretti *in vitro* con un vettore lentivirale che ripristina la produzione di distrofina. I risultati si avranno entro un biennio e, se positivi, insieme ai risultati del laboratorio, dovrebbero finalmente portarmi in una decina d’anni a un nuovo trial clinico su pazienti molto giovani, con un protocollo ottimizzato e una concreta speranza di efficacia terapeutica.

---

<sup>1</sup> E. Abbott Abbott, *Flatlandia. Racconto fantastico a più dimensioni*, Milano, Adelphi, 1993.

<sup>2</sup> Harold M. «Hal» Weintraub è stato uno straordinario ricercatore americano, nato nel 1945 e morto prematuramente nel 1995 per un tumore al cervello. Nella sua pur breve carriera ha fatto alcune scoperte eccezionali (dall’espressione genica durante lo sviluppo, alla struttura del nucleosoma, alla scoperta di MyoD, solo per citarne alcune) e ha lasciato una schiera di brillanti allievi che, ora divenuti ricercatori di successo, lo ricordano come un maestro ineguagliabile.

<sup>3</sup> M. Koenig *et al.*, *Complete Cloning of the Duchenne Muscular Dystrophy (Dmd) cDna and Preliminary Genomic Organization of the Dmd Gene in Normal and Affected Individuals*, in «Cell», v. L, n. 3, 1987, pp. 509-517.

<sup>4</sup> Louis M. Kunkel (1949) è un genetista americano, figura di spicco della genetica molecolare. Molti dei suoi allievi sono oggi ricercatori di punta nel settore.

<sup>5</sup> Al colmo dell’eccitazione per la scoperta, Mauro ne parlò a George Palade, suo insegnante e tra i leader della microscopia elettronica. Questi, anziché complimentarsi, lo gelò: «Alex, you are an enthusiastic young scientist; you have to be 100% sure of what you have seen before communicating it to the scientific community as it may be an artefact» («Alex tu sei un giovane ed entusiasta ricercatore; devi essere sicuro al 100% della tua osservazione prima di comunicarla alla comunità scientifica perché potrebbe trattarsi di un artefatto»). Un sano e reversibile scetticismo, che per quanto demoralizzante deve necessariamente accompagnare ogni scoperta inattesa. Sulla base di questa inaspettata reprimenda, dopo moltissime ore al microscopio elettronico e dopo avere scattato numerose fotografie, Mauro riusciva a confermare la sua osservazione originale, che fu pubblicata nello storico articolo del 1961 *Satellite Cells of Skeletal Muscle Fibers* sull’allora «Journal of Biochemical and Biophysical Cytology». Ho ancora una copia di questa pubblicazione che mi fu donata dallo stesso Mauro, quando lo incontrai a Roma nei primi anni ottanta.

<sup>6</sup> Giulio Cossu *et al.*, *Differentiation in Culture of Myogenic Cells from Adult Mouse Muscle*, in «Bollettino di zoologia», v. XLV, n. 4, 1978, pp. 369-374.

<sup>7</sup> Günter Blobel, nato in Prussia nel 1937, ha studiato in Germania e si è trasferito negli Stati Uniti prima a Madison e poi a New York. I suoi studi sulla genesi e sulla maturazione delle membrane cellulari gli sono valsi il premio Nobel nel 1999.

<sup>8</sup> L. Warren, *The Thiobarbituric Acid Assay of Sialic Acids*, in «The Journal of Biological Chemistry», v. CCXXXIV, n. 8, 1959, pp. 1971-1975.

<sup>9</sup> C.A. Buck *et al.*, *Glycopeptides from the Surface of Control and Virus-transformed Cells*, in «Science», v. CLXXII, n. 3979, 1971, pp. 169-171.

<sup>10</sup> Sir Martin John Evans (1941) è un biologo inglese, uno dei più importanti embriologi viventi. Il suo maggiore contributo, che gli valse il Nobel nel 2007, consiste nell'essere riuscito a crescere cellule dalla parte interna dell'embrione precoce e trovare condizioni per farle proliferare indefinitamente in coltura, mantenendo la capacità di differenziare in tutti i tipi cellulari del nostro corpo: le cellule staminali embrionali.

<sup>11</sup> Davor Solter (1941) è un ricercatore croato che ha lavorato a Zagabria, a Filadelfia, poi a Singapore e ora si trova di nuovo negli Stati Uniti. Ha dato importanti contributi all'embriologia del mammifero, riuscendo a separare per la prima volta le varie parti (tecnicamente si chiamano «foglietti») dell'embrione e a trasferire il nucleo di una cellula adulta nella cellula uovo, procedimento alla base della clonazione.

<sup>12</sup> E. Vivarelli, G. Cossu, *Neural Control of Early Myogenic Differentiation in Cultures of Mouse Somites*, in «Developmental Biology», v. XVII, n. 1, 1986, pp. 319-325.

<sup>13</sup> Terence «Terry» Partridge (1940) è un biologo e patologo del muscolo scheletrico. Formatosi nel Regno Unito, ha lavorato prima a Glasgow e poi a Londra prima di trasferirsi negli Stati Uniti. Ha studiato per decenni le distrofie muscolari ed è stato il pioniere del trapianto di cellule muscolari.

<sup>14</sup> T.A. Partridge *et al.*, *Conversion of Mdx Myofibres from Dystrophin-negative to -positive by Injection of Normal Myoblasts*, in «Nature», v. CCCXXXVII, n. 6203, 1989, pp. 176-179.

<sup>15</sup> Sir John Gurdon (1933) è uno dei maggiori embriologi viventi, cui dobbiamo lo sviluppo della tecnica del trasferimento nucleare negli anni sessanta, che realizzò nell'embrione di rana e che pose le basi per la clonazione. Per questi studi ha ricevuto il premio Nobel nel 2012.

<sup>16</sup> S.J. Tapscott *et al.*, *MyoD1: A Nuclear Phosphoprotein Requiring a Myc Homology Region to Convert Fibroblasts to Myoblasts*, in «Science», v. CCXLII, n. 4877, 1988, pp. 405-411.

<sup>17</sup> D. Sassoon *et al.*, *Expression of Two Myogenic Regulatory Factors Myogenin and MyoD1 during Mouse Embryogenesis*, in «Nature», v. CCCXLI, n. 6240, 1989, pp. 303-307.

<sup>18</sup> L'embrione è costituito da tre foglietti, uno dentro l'altro. Il più esterno, l'«ectoderma», formerà l'epidermide e il sistema nervoso; quello intermedio, detto «mesoderma» l'impalcatura del corpo, ovvero le ossa, i muscoli, le articolazioni ma anche il rene e il sistema cardiovascolare; il foglietto interno, detto «entoderma», forma il sistema digerente e quello respiratorio.

<sup>19</sup> G. Salvatori *et al.*, *Myogenic Conversion of Mammalian Fibroblasts Induced by Differentiating Muscle Cells*, in «Journal of Cell Science», n. 108, 1995, pp. 2733-2739.

<sup>20</sup> G. Ferrari *et al.*, *Muscle Regeneration by Bone Marrow-derived Myogenic Progenitors*, in «Science», v. CCLXXIX, n. 5356, 1998, pp. 1528-1530.

<sup>21</sup> E. Gussoni *et al.*, *Dystrophin Expression in the Mdx Mouse Restored by Stem Cell Transplantation*, in «Nature», v. CDI, n. 6751, 1999, pp. 390-394.

<sup>22</sup> La legge n. 40 del 19 febbraio 2004, «Norme in materia di procreazione medicalmente assistita», una delle peggiori della nostra Repubblica, contiene una nutrita serie di assurdi scientifici e giuridici che, grazie alle battaglie radicali dell'Associazione Coscioni, sono stati progressivamente smantellati dalla Corte costituzionale. Proibiva, tra l'altro, l'accesso alla fecondazione assistita alle coppie fertili che avevano bisogno della diagnosi pre-impianto, impedendo così a genitori portatori di malattie genetiche di sapere se il loro figlio sarebbe stato colpito dalla patologia o no. Impediva al medico, inoltre, di decidere quanti embrioni prodotti *in vitro* fosse opportuno impiantare nell'utero della madre costringendolo a impiantarli tutti, con rischi gravi per la salute della donna. La legge 40 proibisce ancora la produzione di cellule staminali embrionali da embrioni soprannumerari, mentre, paradossalmente, permette di importare queste cellule dall'estero.

<sup>23</sup> M. Sampaolesi, *Cell Therapy of Alpha-sarcoglycan Null Dystrophic Mice through Intra-arterial Delivery of Mesoangioblasts*, in «Science», v. CCCI, n. 5632, 2003, pp. 487-492.

<sup>24</sup> M. Sampaolesi, *Mesoangioblast Stem Cells Ameliorate Muscle Function in Dystrophic Dogs*, in «Nature», v. CDXLIV, n. 7119, 2006, pp. 574-579.

<sup>25</sup> Un trial clinico è una sperimentazione su un numero variabile di pazienti, che ha lo scopo di

osservare il decorso di una malattia (osservazionale) o l'effetto di una nuova terapia (interventistico). Quando possibile dovrebbe avere una popolazione di pazienti scelti con le stesse caratteristiche dei partecipanti che servono da controllo, ricevendo il miglior trattamento già disponibile, contro cui il nuovo sarà comparato per efficienza e possibile tossicità. I trial di fase I, di solito con pochi pazienti, valutano solo la sicurezza. Quelli di fase II, la sicurezza e l'efficacia di un nuovo trattamento. I trial di fase III reclutano quando possibile molti pazienti, e devono dare dimostrazione definitiva di efficacia perché il trattamento sia immesso in commercio e/o adottato dagli ospedali.

<sup>26</sup> G. Cossu *et al.*, *Intra-arterial Transplantation of Hla-matched Donor Mesoangioblasts in Duchenne Muscular Dystrophy*, in «Embo Molecular Medicine», v. VII, n. 12, 2015, pp. 1513-1528.

<sup>27</sup> Claudio Stern, nato in Uruguay nel 1954 e quindi giovane ventenne ai tempi della dittatura militare, si trasferì nel Regno Unito dove studiò all'Università del Sussex e poi si trasferì a Ucl, dove ancora insegna. Ha svolto studi fondamentali su una fase dello sviluppo embrionale detta «gastrulazione», che porta alla formazione dei foglietti embrionali, isolando numerosi geni e definendone la funzione.

<sup>28</sup> Se cercate su Google scoprirete che Clare Francis è una famosa romanziera inglese, nota anche per la sua attività di velista su rotte oceaniche, sicuramente all'oscuro che il suo nome venisse usato impropriamente per attività di *whistleblowing*. Successivamente credo abbia potuto fare ben poco contro gli anonimi che ne usurpavano l'identità, arrecandole un considerevole danno d'immagine. Nel solco della tradizione sorta alla fine degli anni novanta con il diffondersi della cultura del web, in quel 2010 «Clare Francis» venne scelto come eteronimo collettivo usato per centinaia di email inviate agli editor di riviste scientifiche su casi sospetti di plagio e di immagini fabbricate o copiate digitalmente.

<sup>29</sup> Uno per tutti: Fernando Pessoa, che peraltro all'epoca dei fatti era già morto da un'ottantina d'anni, e sospetto per questo gli fosse gravoso tenere il passo delle pubblicazioni scientifiche.

<sup>30</sup> P. Gøtzsche, *Deadly Medicines and Organised Crime: How Big Pharma Has Corrupted Healthcare*, London, Radcliffe, 2013.

2.

## Discendenti di Prometeo.

### Dalla rigenerazione alle cellule staminali

Attribuiamo poi, se lo crediamo preferibile, i fenomeni [...] che si svolgono nel nostro corpo, a un'intelligenza sparsa nel Cosmos, al pensiero impersonale dell'universo, al genio della natura [...] o anche al semplice Caso.

M. MAETERLINCK, *La vita delle termiti*, 1926

Comunemente si ritiene che lo scienziato sviluppi e formuli dopo lungo e attento studio un'ipotesi teorica precisa su un fenomeno chimico, fisico o biologico, e si sposti poi in laboratorio per verificarla empiricamente attraverso degli esperimenti approntati *ad hoc*. Questo è certamente vero, ma si tratta solo di una parte della verità, di una faccia della medaglia. Molte scoperte scientifiche, anche estremamente importanti per le loro ricadute tecnologiche e sociali o per le successive sorti della conoscenza, avvengono per puro caso, a seguito di un errore, di una distrazione del ricercatore o di qualcuno dei suoi collaboratori. L'esempio più classico è quello della penicillina, prototipo di tutti gli antibiotici, la cui scoperta viene attribuita al microbiologo britannico Alexander Fleming<sup>1</sup>.

Nel 1928 Fleming notò che una piastra di coltura seminata di stafilococchi era accidentalmente inquinata da una muffa comune (*Penicillium notatum*), e che attorno ai punti intaccati dalla muffa si trovava un alone chiaro, segno evidente che in quelle aree i batteri erano stati dissolti. La muffa aveva cioè una potentissima azione antibatterica, e da essa venne ricavata la penicillina: il viaggio per arrivare ad antibiotici efficaci sarebbe stato ancora lungo, ma iniziò in questo modo, da una contaminazione casuale.

A volte, invece, è l'osservazione di un fenomeno già notato e descritto in precedenza da altri a generare un guizzo della fantasia, ispirando alcune menti geniali che, attraverso associazioni inedite di idee o per pura intuizione, riescono ad andare oltre, a unire puntini rimasti fino ad allora in silenziosa solitudine e a figurare relazioni e interazioni, portando a un nuovo livello di comprensione i processi che si vanno indagando. Nel suo famoso libro *Fantasia* Bruno Munari scrive: «Il prodotto della fantasia, come quello della creatività e della invenzione, nasce da relazioni che il pensiero fa con ciò che

conosce», portando l'esempio dell'associazione tra una lastra di vetro e un foglio di gomma, che fa nascere l'idea di un vetro elastico o una gomma trasparente. Interviene a questo punto la facoltà dell'immaginazione, che consente di vedere, visualizzare questo oggetto. Sempre secondo Munari, «la fantasia sarà più o meno fervida se l'individuo avrà più o meno possibilità di fare relazioni»<sup>2</sup>. Occorre formarsi quindi una grande cultura, in modo da poter fare relazioni tra quante più cose possibili, per risolvere i problemi in modo creativo. Ciò che di solito si applica all'arte o al design vale senza distinzioni anche per la scienza, il cui cammino sembra effettivamente lastricato di intuizioni e relazioni fortuite, o se preferite, di squarci di serendipità.

Einstein sosteneva che l'immaginazione «è l'anteprima delle attrazioni che il futuro ci riserva. L'immaginazione è più importante della conoscenza», perché non ha limiti: è necessaria per non arrendersi, per non arrestarsi di fronte alla pura constatazione di ciò che ci è dato, per gettare il cuore oltre l'ostacolo, che poi è l'unico modo per progettare e conseguire qualcosa di diverso, di inaspettato, di nuovo.

La storia della biologia molecolare, e più specificamente della medicina rigenerativa, non è certamente da meno ed è ricca di menti geniali che hanno compiuto incredibili balzi conoscitivi, come vedremo più avanti in questo capitolo, con il caso emblematico del nostro connazionale Giulio Bizzozero. Scienziati in grado di aprire interi nuovi mondi alla ricerca a partire da osservazioni sperimentali già effettuate da legioni di ricercatori. È qui, per l'appunto, che sta la loro bravura: indipendentemente dalla natura dell'osservazione, sia essa una serie di numeri, una serie di immagini al microscopio, o il risultato di analisi biochimiche, il *vedere* il fenomeno accende la lampadina, suggerisce che ciò che si sta guardando è qualcosa di diverso da quello che sarebbe logico aspettarsi. L'immaginazione del ricercatore diventa allora un motore essenziale per lo sviluppo della ricerca.

## IL MATERIALE E L'IMMAGINARIO

L'immaginazione gioca un ruolo fondamentale nell'attività di Nicole Le Douarin, a mio avviso una delle migliori ricercatrici del secolo scorso, che con i suoi trapianti ha riscritto le basi dell'embriologia come la conosciamo oggi: basti pensare al suo studio sulle creste neurali, piccole strutture con cui il cervello, divenuto troppo grande nei vertebrati, si è inventato un modo di creare una protezione ossea (il cranio) e altre strutture del corpo.

Nel 1998 ebbi la fortuna di lavorare, purtroppo per poco tempo, nel suo laboratorio. Immaginate una bella casa di campagna alla periferia sud di Parigi, che rispetto ad altre simili presenta all'esterno un inusuale numero di

gabbioni per polli e quaglie. All'interno, un appartamento del tutto normale, con salotto, cucina, sala da pranzo molto grande e un piano superiore che però non ho mai visitato, e mai ho osato chiedere cosa ospitasse. Il segreto si svelava poi scendendo le scale fino al seminterrato. Una sala enorme, senza telefono (nessuno doveva disturbare), che assomigliava a un laboratorio clandestino di sartoria, dove una ventina di tecniche, tutte donne, chine sui loro piccoli banchi di lavoro, si occupavano sì di operazioni di taglia e cucì, ma a livello cellulare. In realtà trapiantavano strutture embrionali della quaglia in embrioni di pollo in tutte le possibili combinazioni spazio-temporali.

Dopo il dottorato, conseguito nei primi anni sessanta studiando con colui che sarebbe diventato il suo mentore, l'embriologo Étienne Wolf, l'attività in laboratorio di Le Douarin viene osteggiata dal decano dell'Università di Nantes, dove insegnava, che le preferisce il marito e collega mentre a lei vengono assegnati unicamente incarichi didattici. Il consorte di Nicole, Georges Le Douarin, fa ricerca sullo sviluppo embrionale dei polli e delle quaglie e a quel tempo, nella seconda metà degli anni sessanta, operava con strumentazioni a dir poco rudimentali rispetto a quelle a disposizione oggi. Non solo, mancavano allora delle vere e proprie tecniche molecolari che permettessero di indagare a fondo i fenomeni che regolano lo sviluppo embrionale, come l'ibridazione *in situ*, o le tecniche per eliminare o sovra-esprimere un dato gene.

Senza scoraggiarsi per l'arresto subito, Nicole Le Douarin chiede comunque al marito di poterlo assistere in laboratorio nella ricerca sugli embrioni aviari. La sua attività principale consiste nell'eseguire delle sezioni istologiche sugli embrioni di pollo e di quaglia a fasi diverse dello sviluppo embrionale, in un'operazione in qualche modo simile alla ricostruzione della scena di un film attraverso il montaggio di fotogrammi successivi.

All'interno del nucleo delle cellule esiste un corpicciolo detto «nucleolo», la sede di sintesi dei ribosomi. I polli hanno nucleoli molto piccoli che si distinguono con difficoltà dal resto del nucleo; al contrario, le quaglie hanno un solo nucleolo, molto grande e ben evidente. È a questo punto che Le Douarin si accorge di qualcosa che era sotto gli occhi di tutti, e nessuno aveva notato. Per studiare meglio la morfologia degli embrioni, infatti, si usavano (e si usano tuttora) diverse metodologie, tra cui la «reazione di Feulgen» per colorare i nuclei e i suoi componenti. Intuisce quindi che trapiantando una struttura (o parte di essa) dell'embrione di quaglia, ad esempio i somiti, al posto della corrispondente struttura del pollo – creando ciò che viene definito in gergo una «chimera» – sarà possibile, dopo qualche giorno, identificare tutte le strutture, come ossa, muscoli e articolazioni, che sono derivate dall'area trapiantata. Apre perciò un uovo di quaglia, isola la struttura da trapiantare e la mantiene in una soluzione fisiologica glucosata. Poi apre un



uovo di pollo, con estrema cura rimuove la stessa struttura e la sostituisce con quella di quaglia. Richiude l'uovo con del normale nastro adesivo e lo ripone nell'incubatore per il numero di giorni programmato. L'operazione è in realtà estremamente impegnativa e porta alla perdita, se mal eseguita (è sufficiente il minimo errore) di numerose uova. Arrivati al giorno programmato, isola la chimera e la sottopone a un'analisi istologica proprio tramite la reazione di Feulgen, che permette subito di identificare le cellule e i tessuti derivati dalla quaglia. Attraverso queste procedure si può insomma selezionare una struttura embrionale – una porzione dell'embrione – e scoprire a quale parte del corpo dà origine. Non serve far altro che aspettare il tempo necessario affinché l'embrione si sviluppi nell'incubatore, per poi andare a verificare che, ad esempio, i muscoli di pollo portano la colorazione del nucleolo della quaglia, concludendo che la struttura di partenza, nel caso in esame il somite, dà per l'appunto origine ai muscoli. Diventa così facile scoprire che ci sono alcune cellule sulla parete dorsale del futuro midollo spinale che una volta trapiantate vanno a formare i melanociti, oppure i gangli del sistema simpatico, o ancora gli odontoblasti ecc.

Con queste operazioni Le Douarin riscrisse l'embriologia come la conosciamo oggi. Inoltre, trapiantando una struttura embrionale in un luogo diverso da quello naturale (trapianto eterotopico) o a uno stadio diverso dello sviluppo (trapianto eterocronico) consolidò il concetto di *potency and fate* (potenza e destino), sorto già con i primi trapianti su invertebrati o anfibi. «Potenza» è ciò che una cellula può fare in condizioni artificiali create dall'esperimento o in condizioni patologiche determinate da una malattia o trauma, «destino» è invece ciò che una cellula fa nel suo ambiente naturale<sup>3</sup>.

La storia di Nicole Le Douarin sembra, a raccontarla, una favola felice, in cui solo la passione, il genio e un'inesauribile curiosità guidano il ricercatore nell'esplorazione di un mondo prima ignoto. Purtroppo questa bella storia era ed è un'eccezione. La regola è un'altra: molte pietre miliari della ricerca biomedica sono conseguenza di avanzamenti tecnologici (si pensi al microscopio elettronico) dettati unicamente da fini economici o, ancora peggio, da esigenze belliche.

\*\*\*

Le guerre, le carestie, le epidemie sono fortunatamente per noi orrori del passato, ma ancora terribile presente per tutti coloro che sono nati in aree tormentate del pianeta. Le epidemie, in particolare, hanno sempre fatto enorme paura per la loro capacità di portare alla morte di centinaia di migliaia – se non milioni – di persone in poco tempo. L'influenza spagnola, ad

esempio, esplosa come conseguenza delle devastazioni della Prima guerra mondiale e causata dal virus dell'influenza H1N1, ha determinato nel giro di pochi anni, tra il 1918 e il 1920, la morte di decine di milioni di persone in tutto il mondo, infettando una porzione enorme della popolazione, circa 500 milioni di individui. Anche la peste, grande spauracchio del Medioevo e della prima età moderna non è stata da meno, basti ricordare su tutte la terribile pandemia del 1348 che ha portato alla morte di almeno un terzo della popolazione del continente europeo nel giro di quattro anni, tra il 1348 e il 1352, rischiando di causare in brevissimo tempo l'estinzione della nostra civiltà – alcune grandi culture, come quella senese del periodo comunale, dopo la peste nera non si sono di fatto più riprese. Nonostante il terrore generato dai loro sconcertanti effetti, accresciuto dal fatto che nel mondo antico non si riuscisse a capire da cosa fossero causate e come potessero diffondersi, sono proprio le epidemie che oggi «dobbiamo ringraziare» perché hanno stimolato i ricercatori a studiarne la natura e le loro cause, e dopo secoli d'ipotesi mai verificate o verificabili, come ad esempio le influenze degli astri o le immancabili punizioni divine, hanno portato prima, con il genio di scienziati come Pasteur, alla scoperta dei germi e dei virus, poi ai vaccini come potente strumento di prevenzione e infine agli antibiotici come arma terapeutica.

Le guerre, nonostante il loro corredo di morte e distruzione, soprattutto nell'età contemporanea sono state meccanismi di enorme accelerazione dello sviluppo di nuove tecnologie, in tutti i campi della scienza. Alcune di queste tecnologie, moltissime per la verità, sono state poi adottate dalla società civile, partecipando al più generale miglioramento delle condizioni e della qualità della vita della popolazione mondiale cui abbiamo assistito nel corso del XX secolo, fatto unico nella storia dell'uomo; si pensi solo ai sistemi per le comunicazioni, passati in poco tempo dai piccioni viaggiatori ai satelliti, o allo sviluppo dei computer, in seguito alla teorizzazione di Turing e alle sue applicazioni durante la Seconda guerra mondiale. In campo medico, la Grande guerra ha stimolato la pratica della trasfusione di sangue, la prima terapia cellulare dell'era moderna, mentre il secondo conflitto mondiale ha incentivato gli studi sul trapianto di midollo, una terapia con cellule staminali, per porre rimedio ai danni causati dalle radiazioni nucleari.

Non è quindi solo dai mali e dagli antagonisti presenti spontaneamente in natura che siamo partiti per trovare le cure alle varie malattie o, più in generale, ai problemi sorti con lo stare insieme dai primordi della rivoluzione agricola, l'inizio della civiltà così come noi la intendiamo. Molti dei mali con i quali abbiamo in qualche modo dovuto confrontarci li abbiamo creati con le nostre mani. Non dobbiamo però assistere a una Terza guerra mondiale per creare un uomo resistente alle radiazioni, ai batteri, alla fame, alla siccità e a tutti gli altri incubi che essa ci promette.

Resta il fatto che si deve probabilmente a uno di questi momenti oscuri della storia la nascita della medicina rigenerativa. Nell'Inghilterra di inizio Ottocento, agli albori della rivoluzione industriale esplosa nelle città più importanti, si realizza un intenso sfruttamento della classe operaia e sottoproletaria proveniente dalle campagne, con orari di lavoro massacranti, ambienti che è eufemistico definire insalubri, salari da fame, spesso insufficienti anche solo per sopravvivere, abitazioni luride e fatiscenti. Una condizione da cui all'epoca non furono risparmiati nemmeno i bambini, per i quali non esisteva coscienza della peculiare condizione psicologica infantile, e che venivano generalmente trattati come «adulti o schiavi in miniatura». Proprio per il fatto di essere minuti, erano proprio i bambini a essere spesso destinati alle macchine più pericolose, in cui le loro piccole dita potevano muoversi più agevolmente rispetto a quelle degli adulti. Non era dunque raro che restassero mutilati dagli ingranaggi. I medici che all'epoca assistevano questi bambini riportavano che, nei rari casi in cui la ferita non s'infettava, riuscivano sorprendentemente a rigenerarsi dita normali con tanto di unghie. Si osservò tuttavia che più grandi erano i bambini, peggiore era l'efficienza della rigenerazione.

La storia appena riportata ha carattere meramente anedddotico, perché questi rapporti furono per lo più perduti; è probabile però che sia attendibile, perché queste osservazioni furono poi confermate in studi più recenti pubblicati su diverse riviste chirurgiche<sup>4</sup>. Ma dove inizia esattamente la storia della rigenerazione? Quando ci si è accorti di questa proprietà in natura? Ebbene, essa ha radici antiche, e per raccontarla dobbiamo rivolgerci alla zoologia e alle osservazioni del mondo animale.

#### CHIEDI ALLE CELLULE

L'idea di carpire dal mondo animale e dalla natura i segreti della rigenerazione è uno dei pilastri logici su cui si basa la medicina rigenerativa. In generale, tutti gli animali, e ancor più le piante, sono in grado di rigenerare parti del loro organismo distrutte a causa di un trauma. Tale capacità, che ha affascinato gli studiosi per secoli, varia sensibilmente da specie a specie, con l'età e a seconda dell'organo leso o perduto. Gli animali più evoluti, quali i mammiferi, hanno una struttura del corpo molto complessa e sono, in genere, quelli meno capaci di rigenerare dopo l'infanzia. Se un adulto coinvolto in un incidente stradale subisce la perdita di un arto, non riuscirà a rigenerarne uno nuovo. Una protesi, magari molto simile a un arto naturale ma costruita in laboratorio e, a breve, guidata in modo fine da segnali nervosi che partono dal cervello, sarà la migliore soluzione possibile al suo problema. Al contrario,

una salamandra adulta che a seguito di un trauma perde un arto è in grado di rigenerarne uno nuovo, perfettamente uguale a quello originario e costruito interamente dalle sue stesse cellule. Queste formano inizialmente un tessuto simile a quello che caratterizza gli embrioni, detto «blastema», ricco di acqua e cellule immature che proliferano e progressivamente, nel giro di poche settimane, si differenziano per formare di nuovo l'osso, i muscoli, i tendini, i nervi e i vasi che permetteranno al nuovo arto di funzionare esattamente come quello precedente. Anche la pelle crescerà dal moncone amputato a ricoprirlo rapidamente.

Con una buona dose di approssimazione, possiamo dire che la capacità di rigenerare gli organi si riduce inversamente all'evolversi – inteso come aumentare della complessità bio-fisiologica – delle specie: le planarie rigenerano più degli anfibi, gli anfibi più dei mammiferi. In realtà esistono anfibi simili tra loro che differiscono tuttavia per una potente capacità rigenerativa, presente nell'una ma non nell'altra specie, come accade rispettivamente per salamandre e rane. Durante lo sviluppo fetale e nei primi periodi di vita, anche i mammiferi mantengono una certa capacità di rigenerare gli arti o altri organi, che però si va progressivamente perdendo con la crescita: è il caso riportato nell'esempio dei bambini nelle fabbriche inglesi. Anche i topi neonati rigenerano perfettamente le dita, se vengono amputate.

Grazie a decine di studiosi che negli ultimi tre secoli si sono dedicati alla ricerca sulla rigenerazione, oggi ne conosciamo leggi e meccanismi e coltiviamo la speranza di poterle applicare alla medicina per migliorare la nostra capacità di aiutare la riparazione dei nostri organi, colpiti da un trauma o da una malattia.

### *Le prime osservazioni settecentesche*

L'*Hydra* è un piccolo polipo di acqua dolce, lungo circa un centimetro. Vive adeso a una superficie e funziona come un sifone, drenando piccoli invertebrati acquatici grazie anche al movimento dei numerosi tentacoli che gli sono valsi il nome del legendario mostro dalle molte teste della mitologia greca, protagonista di una delle dodici fatiche di Ercole. L'eroe cercava di ucciderlo tagliandogli una testa alla volta, ma con orrore dopo ogni colpo ne vedeva ricrescere due nuove dal moncherino. Come vedremo presto, mai invenzione letteraria fu più aderente alla realtà, né salto dell'immaginazione più descrittivo.

Se infatti era già noto che i crostacei potessero rigenerare – tale consapevolezza risale ad almeno qualche secolo fa, quando i pescatori si trovavano nelle reti granchi o aragoste con una chela o un arto più piccolo del contro-laterale, il che portava a pensare che fosse stato perduto e stesse

ricrescendo –, fu René-Antoine de Réaumur<sup>5</sup>, grande scienziato e fisico francese, autore tra l'altro di quello che si può considerare il primo studio moderno sulle formiche, a descrivere in dettaglio il fenomeno, amputando un arto di un astice e osservandone la progressiva ricrescita, fino al ritorno a una dimensione normale. Questo studio, presentato all'Accademia di Francia nel novembre del 1712, costituisce una pietra miliare della zoologia e ha influenzato tutti i successivi ricercatori che si sono occupati del fenomeno. Tuttavia, poiché i crostacei modificano continuamente il loro corpo, liberandosi periodicamente dello scheletro che nel loro caso è esterno (esoscheletro) per poter continuare a crescere, si riteneva che la capacità di rigenerare un arto perduto fosse una caratteristica esclusiva di questa specie.

Dobbiamo ad Abraham Trembley<sup>6</sup>, naturalista svizzero di trent'anni più giovane di de Réaumur, l'acquisizione della consapevolezza che la rigenerazione interessa anche altre specie e, cosa prima ritenuta impensabile, che due individui si possano formare a partire da uno solo tagliato in due.

Partendo dall'osservazione di alcune piccole escrescenze laterali sul corpo dell'*Hydra*, animale che agli inizi del Settecento e all'insaputa di Trembley era stato da poco annunciato come nuova scoperta della zoologia, il naturalista svizzero notò che queste aumentavano man mano fino a formare un nuovo individuo, che si sarebbe separato dal corpo della madre una volta completamente sviluppato. Oggi sappiamo che questo fenomeno è una classica forma di riproduzione asessuata.

Il colore verdognolo dell'*Hydra* e il fatto che i tentacoli variassero in numero in modo simile ai rami di un albero (a differenza di quanto avviene con gli arti di un ragno, che sono invariabilmente otto), suggerirono a Trembley che potesse trattarsi di un vegetale. D'altro canto, la mobilità gli suggeriva invece che si trattasse di un animale.

Per dirimere la questione una volta per tutte, Trembley pensò bene di tagliare l'*Hydra* a metà prevedendo che, se si fosse trattato di un vegetale, almeno una delle due parti avrebbe riprodotto l'essere completo, mentre, se si fosse rivelato un organismo animale, entrambe sarebbero morte. Il naturalista osservò le due parti inizialmente contrarsi, poi ridistendersi e in qualche giorno iniziare a produrre la parte mancante: con suo grande stupore, la testa di una delle due metà generò una coda e, cosa ancora più sorprendente, dalla coda dell'altra metà ebbe origine una nuova testa, dotata anch'essa dei famosi tentacoli. In breve, da un animale adulto fatto a fette se ne erano generati due nuovi, perfettamente identici.

Il fenomeno era davvero strabiliante. Trembley iniziò immediatamente una serie di esperimenti che lo portarono a scoprire un largo insieme di caratteristiche che rendono l'*Hydra* un caso speciale in natura: l'animale si riproduce per gemmazione, frammenti del corpo anche più piccoli della metà possono generare interi individui (fino a un quarto dell'intero animale, ma

non più piccoli), porzioni di tessuto possono essere trapiantate da un individuo a un altro della stessa specie attecchendo perfettamente nel corpo dell'ospite, ed è inoltre possibile colorare, usando comuni coloranti atossici, tessuti vivi prima del trapianto così da seguirne il destino nell'ospite.

L'insieme delle sue scoperte, avvenute in quattro anni di lavoro, fu descritto nei *Mémoires pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce*, pubblicate nel 1744, libro famosissimo che rimase alla base della biologia sperimentale per i secoli a venire. Generazioni di ricercatori devono tantissimo a questo gigante oggi quasi sconosciuto non solo al grande pubblico, ma anche agli addetti che non si occupano direttamente di rigenerazione animale.

L'*Hydra* non ha tuttavia l'esclusiva di questo formidabile fenomeno: anche le planarie, animali molto piccoli e simili a vermi, da più di due secoli sono studiate per la loro straordinaria capacità di rigenerare. La testa si riconosce per la presenza di due ocelli, che assomigliano a degli occhi. Come per l'*Hydra*, se si taglia in due una planaria la parte anteriore rigenera una coda e quella posteriore una testa, così che da un animale adulto se ne producono due identici tra loro e a quello da cui sono derivati.

Furono gli studi di Trembley l'ispirazione originaria a muovere un ricercatore tra i più brillanti a studiare la rigenerazione e certo il più famoso, il già citato e nostro Lazzaro Spallanzani<sup>7</sup>, noto al grande pubblico anche per l'ospedale di Roma che porta il suo nome. Geniale, eclettico e presuntuoso, Spallanzani diede fondamentali contributi alla biologia, ad esempio confutando sperimentalmente la teoria della generazione spontanea della vita dalla materia organica, dimostrando che la riproduzione sessuata richiede la fusione di un uovo e uno spermatozoo (anche se questo non risolse l'annosa diatriba tra ovisti, tra cui Spallanzani stesso, e animalculisti<sup>8</sup>) e iniziando, negli anni sessanta del Settecento, i primi studi sulla circolazione del sangue. Questi studi furono resi possibili dalla constatazione che gli arti rigeneranti delle salamandre sono poco pigmentati e quindi permettevano di osservare la circolazione dei globuli rossi nei vasi superficiali appena sotto la pelle.

Spallanzani estese gli studi sulla rigenerazione in modo sistematico e sperimentalmente moderno a molte altre specie, come i vermi e le lumache, oltre a vari anfibi. Nel 1768 pubblicò il *Prodromo di un'opera da imprimersi sopra le riproduzioni animali*, prima sezione di un lavoro la cui seconda parte non venne mai pubblicata. Per Spallanzani e i suoi colleghi questi studi s'intersecavano strettamente con quelli sulla riproduzione, all'epoca molto in voga, che si iniziava a distinguere in sessuata e asessuata, derivata quest'ultima da gemmazione (come per l'*Hydra*) o partenogenesi, ovvero la divisione dell'uovo non per intervento di uno spermatozoo ma causata da uno stimolo aspecifico come una puntura, o un lieve segnale elettrico.

### *Altri casi di rigenerazione animale*

Tra i miti fondanti della nostra civiltà, quello di Prometeo è senza dubbio uno dei più significativi e noti. È curioso che l'etimologia stessa del nome, il verbo greco *promanthano*, rimandi proprio a un «saper prevedere», incarnazione dello spirito d'iniziativa dell'uomo e della sua tendenza a sfidare le forze divine. Il titano che aveva osato rubare il segreto del fuoco agli dei e lo aveva donato agli uomini, consentendo loro di iniziare il processo di civilizzazione, subì per la sua *hybris* una terribile punizione. Incatenato a una montagna, ogni giorno un'aquila gli mangiava il fegato che ricresceva durante la notte, così che il supplizio potesse ripetersi all'infinito. Gli antichi greci pensavano che il fegato fosse la sede delle emozioni, ma non so se fossero già a conoscenza della sua capacità di rigenerare, e questa nozione fosse entrata nell'elaborazione del supplizio. Il fegato è in grado di farlo a seconda dell'entità del danno: essendo ricco di vasi sanguigni, un intervento chirurgico non eseguito a regola d'arte, com'era probabilmente quello dell'aquila, causerebbe un'emorragia letale. Se questo non rappresentava un problema per l'immortale Prometeo, lo sarebbe stato e lo sarebbe tuttora per qualunque altro uomo. Oggi sappiamo che se il fegato di un animale o di un paziente è sezionato e una metà asportata, la metà residua è in grado di crescere e, in assenza di complicazioni, ricostituire un fegato esattamente uguale a quello originario, né più grande né più piccolo. Tant'è che già ora è possibile trapiantare soltanto mezzo fegato con probabilità di successo pari al trapianto di un fegato intero, pratica giustificata anche dalla cronica carenza di donatori, per cui con lo stesso organo si possono trapiantare due pazienti invece di uno.

Il fegato è costituito da diversi tipi di cellule, delle quali la più abbondante è l'epatocita, una classica cellula epiteliale che, insieme alle sue simili, forma i lobuli epatici che svolgono la funzione principale dell'organo, produrre e rilasciare («secernere» è il termine tecnico) proteine importanti per tantissime funzioni del nostro corpo. In un animale o in un uomo adulto e sano gli epatociti rimangono stabili, cioè il loro numero non cambia nel tempo. Però, in seguito a un danno, queste cellule riprendono a dividersi e lo fanno un numero di volte esattamente sufficiente a ricostituire l'organo originario. In questo fenomeno è implicito il concetto di rigenerazione. Se l'aquila avesse invece divorato il cuore di Prometeo (e di nuovo tralasciamo i possibili inconvenienti cardiovascolari di un intervento mal eseguito), la notte questo non si sarebbe ricostruito, perché a differenza del fegato il cuore non è capace di rigenerare, perlomeno nei mammiferi. In realtà, si sa da parecchio tempo che i pesciolini zebra, tanto comuni nei nostri acquari, sono in grado di rigenerare una buona parte del cuore anche in età adulta. Questo perché sono così piccoli che riescono a sopravvivere grazie all'ossigeno che si diffonde ai

tessuti dall'acqua in cui sono immersi, anche quando il cuore non pompa sangue nei vasi. Il pesce rimane quasi immobile, boccheggiante ma vivo, mentre in poco tempo le cellule residue del cuore ricostruiscono la punta del ventricolo sostituendo il coagulo di sangue che ha fermato l'emorragia, per cui pian piano la circolazione del sangue ricomincia. Nelle stesse condizioni un topo adulto muore in pochissimi minuti.

Nel 2011 la prestigiosa rivista «Science» pubblicò un articolo a firma di Eric Olson<sup>9</sup>, nel quale dimostrava che topolini neonati, se soggetti all'amputazione della punta del cuore, si comportano come i pesciolini e in poco tempo rigenerano un cuore normale e perfettamente funzionante. Se invece l'amputazione, anche di un frammento molto più piccolo, avviene in un topo con sette o più giorni di vita (equivalenti a circa cinque anni in un bambino), l'organo non è più capace di rigenerare e la ferita, se l'animale non muore subito, è chiusa da una cicatrice che ne comprometterà in ogni caso la funzione<sup>10</sup>.

A partire dal caso dell'*Hydra*, passando poi per il fegato e il cuore in vari animali ci siamo potuti rendere conto che sotto il nome di rigenerazione raggruppiamo fenomeni molto diversi, che vanno dalla «semplice» proliferazione controllata delle cellule del fegato che ricostruiscono la parte asportata – sebbene nella sua struttura tridimensionale, che comprende lobuli, canali biliari e vasi sanguigni –, alla più complessa ricostruzione di un arto composto da un osso, cartilagine articolare, muscoli, vasi, nervi, tessuto connettivo e pelle nella corretta organizzazione spaziale, fino alla straordinaria capacità di ricostruire un corpo intero partendo da un suo frammento.

È evidente come fin da subito gli attori di quest'avventura, gli scienziati che si sono imbattuti in questa incredibile proprietà di alcune specie animali, abbiano pensato che sarebbe stato straordinario poter comprendere i meccanismi della rigenerazione, per poterli applicare alla riparazione degli organi umani distrutti da traumi o malattie.

#### DALL'OSSERVAZIONE ZOOLOGICA ALLA MEDICINA

È certamente singolare che nessuno (o pochissimi) tra questi primi studiosi fosse anche medico. All'epoca, medici e chirurghi avevano scarsi e rudimentali rimedi a loro disposizione e per i secondi l'intervento quasi obbligato era, quando possibile, l'amputazione dell'arto malato. Per la verità studi moderni di anatomia, iniziati quasi clandestinamente da Leonardo da Vinci con le sue meravigliose collezioni di disegni autoptici, furono ripresi e ampliati dal medico fiammingo Vesalio<sup>11</sup>, procedendo fino al limite



dell'osservazione macroscopica, che sarebbe stato superato solo con l'introduzione del microscopio in ambito medico. È inoltre da tenere in considerazione il fatto che mentre i naturalisti osservavano piccoli animali vivi con l'aiuto di una lente d'ingrandimento, gli anatomisti potevano studiare solo organi e tessuti morti e preservati con opportuni fissativi. Nonostante la visione forzatamente parziale e difficoltosa, alcuni ricercatori riuscivano comunque a proporre ipotesi sulla funzione degli organi e sulle cause delle malattie, avvalendosi anche della poca sperimentazione animale che fosse possibile condurre al tempo.

Tra questi studiosi, forse uno dei primi ponti tra biologia e medicina nello studio della rigenerazione, si erge la figura di Giulio Bizzozero (1846-1901), grande e purtroppo misconosciuto ricercatore italiano. L'elenco delle sue scoperte è impressionante, anche perché fu uno dei primi a perfezionare, per l'appunto, l'utilizzo del microscopio in medicina – in patologia in particolare, riuscendo così a esplorare, con migliori dettagli, il mondo misterioso dei nostri tessuti, delle cellule che li compongono, dei batteri che a volte li invadono e dei danni che essi e altri agenti causano.

Bizzozero descrisse per primo l'esistenza delle piastrine, piccoli frammenti di cellule più grandi (i megacariociti) che circolano nel nostro sangue e sono necessarie per iniziarne la coagulazione a seguito di una ferita. Scoprì inoltre l'origine dei globuli rossi nel midollo osseo, identificò l'*Helicobacter pylori*, il batterio che causa l'ulcera dello stomaco e dell'intestino, e descrisse per primo i desmosomi, particolari giunzioni che saldano tra loro le cellule superficiali dell'epidermide. Una sola di queste scoperte varrebbe oggi un premio Nobel. E riuscì a fare tutto questo in pochi anni: a poco più di vent'anni era già professore di patologia all'Università di Pavia, sicuramente destinato a ben più numerose scoperte, non fosse morto giovane intorno ai cinquant'anni.

Il motivo per cui Bizzozero ci interessa per la medicina rigenerativa è correlato a un'altra sua osservazione geniale, con la quale pose le basi concettuali per spiegare il rinnovo dei tessuti adulti e di conseguenza la necessaria esistenza delle cellule staminali. Come detto prima, egli osservava per abitudine i tessuti al microscopio e un giorno si accorse di qualcosa che era sotto gli occhi di tutti i suoi colleghi e nessuno aveva ancora notato. Con i mezzi di allora, siamo – lo ricordo – nella seconda metà l'Ottocento, dei tessuti si distinguevano le cellule, i loro nuclei e poco altro. Perché un tessuto possa crescere, durante lo sviluppo o in caso di rigenerazione, è necessario che le sue cellule si dividano. Una cellula che si divide (ovvero è, con termine tecnico, in «mitosi»), è facile da distinguere dalle altre perché al posto del nucleo presenta i cromosomi, dei microscopici corpiccioli in cui si condensa il Dna per potersi poi facilmente dividere e distribuire nelle due cellule figlie. Bizzozero notò che in individui adulti e sani alcuni tessuti non contenevano

cellule in divisione, mentre altri come l'epidermide, la parte superficiale della nostra cute, ne contenevano tante, e tutte alla base del tessuto. *So what?* Avremmo detto noi, poco illuminati. Bizzozzero si chiese come mai, se esistono cellule in continua divisione per tutta la vita, lo spessore della pelle rimane sempre uguale: in teoria, se le cellule si dividono, il tessuto dovrebbe crescere indefinitamente. Il fenomeno era effettivamente strano. Ne dedusse che per ogni nuova cellula che si viene a creare alla base dell'epidermide, in una sorta di equilibrio dinamico una deve necessariamente morire, come oggi sappiamo accadere esattamente nella parte più superficiale dell'epidermide.

Sulla base di questa osservazione, chiamò quindi «labili» i tessuti che contengono cellule in continua divisione, come appunto gli epiteli, che rivestono la superficie del nostro corpo e dei nostri visceri, o altri come il midollo osseo, che produce continuamente nuovo sangue; definì invece «perenni» i tessuti che non si dividono mai, come il cuore, il muscolo scheletrico o il cervello (per l'esattezza non tutte le cellule del cervello, solo i neuroni), e infine «stabili» quei tessuti, come il fegato, le cui cellule normalmente non si dividono, ma possono farlo in conseguenza di un danno. Quanto detto fino a qui è in realtà una semplificazione (ad esempio, esistono cellule staminali neurali in specifiche regioni del cervello dei roditori e, almeno all'interno del feto, anche dell'uomo), ma per arrivare alla scoperta e definizione del concetto di cellula staminale, la classificazione proposta è sufficiente.

Se questa distinzione è vera, ne consegue che devono esistere delle cellule, per esempio quelle alla base dell'epidermide, che quando si dividono danno origine a *due* cellule figlie diverse tra loro: una cellula figlia che rimane sul fondo dell'epidermide per continuare a dividersi ancora indefinitamente, e un'altra cellula figlia che andrà incontro al differenziamento, portando alla formazione della cheratina, lo strato corneo che riveste, impermeabilizza e protegge il nostro corpo, e continuamente si desquama dalla superficie per essere sostituito da cellule nuove. Se tutte le cellule figlie differenziassero, la pelle finirebbe presto e ci sono esempi clinici di ciò, in patologie che vedremo più avanti. Se invece le due cellule figlie rimanessero a dividersi senza specializzarsi, avremmo una massa di cellule che cresce a dismisura, ma non è più capace di formare lo strato di cheratina.

#### «STAMMZELLE», LE CELLULE STAMINALI

La parola *Stammzelle*, termine tedesco per «cellula staminale», compare per la prima volta in letteratura nel 1868 nei lavori del grande biologo Ernst Haeckel<sup>12</sup>, e cristallizza il concetto di gemmazione, intesa come bocciolo che

gemma in primavera e dà origine a un nuovo ramo. Ispirato dalla recente teoria dell'evoluzione di Darwin (la prima edizione di *On the Origin of Species* è del 1859), Haeckel usa il termine secondo una semantica duale per indicare tanto la cellula primordiale che ha generato tutti gli organismi multicellulari (evoluzione filogenetica), quanto la cellula primigenia che ha generato tutte le cellule differenziate nel corpo di un singolo organismo (evoluzione ontogenetica).

Uno dei maggiori contributi di Haeckel alla biologia ottocentesca fu, infatti, la comprensione del processo di ricapitolazione, teoria per cui «l'ontogenesi ricapitola la filogenesi». Secondo Haeckel nel corso dello sviluppo embrionale ogni organismo in una data specie ripercorre le tappe dell'evoluzione a partire dalla cellula singola (l'uovo fecondato) fino alla forma definitiva del corpo. L'esempio classico di questo paradigma è costituito dalle branchie, gli organi respiratori dei pesci, che compaiono in una fase dello sviluppo di tutti i mammiferi, uomo compreso, e sono poi riutilizzate per formare altre strutture del collo. Haeckel arrivò quindi a chiamare *Stammzelle* anche la cellula uovo, concetto che consideriamo oggi non corretto perché se è vero che un uovo genera tutte le cellule del nostro corpo, non è però vero che si auto-mantiene, cioè che dia origine a un altro uovo, caratteristica fondamentale delle staminali.

Per chiarire meglio questo punto importante possiamo riferirci a una metafora molto diffusa nei media, nei quali sentiamo spesso parlare delle staminali come «cellule bambine», in un'immagine che viene utilizzata per fornire una spiegazione semplice, ma che è in realtà errata e non fa che creare ulteriore confusione: una bambina di solito cresce, diventa una donna, magari partorisce uno o più figli, poi invecchia e muore. Questo è il ciclo vitale alla base della conservazione della specie. Ma come abbiamo imparato, se una bambina si comportasse davvero come una cellula staminale, dovrebbe innanzitutto dividersi in due bambine uguali, che andrebbero poi incontro a un destino diverso: una bambina crescerà, maturerà, invecchierà e morirà mentre l'altra ripeterà il processo molte o moltissime volte, creando altre due bambine inizialmente identiche e così via ricorsivamente.

Poiché questo processo di divisione asimmetrica si ripete in teoria all'infinito, tessuti che hanno cellule staminali come il midollo osseo e gli epiteli non invecchiano; con la progenie di una singola cellula staminale della vostra pelle potreste ricoprire tutto il pavimento di un grande appartamento, dato che queste vanno facilmente incontro a cinquanta o più divisioni cellulari (moltiplicate  $1 \times 2 \times 2$  e così via altre cinquanta volte per ottenere lo strabiliante risultato della loro attività) ma il prezzo da pagare per questa piccola fetta d'immortalità si chiama cancro. Infatti, con un numero elevatissimo di divisioni cellulari possibili, la probabilità che danni accumulati durante queste divisioni modifichino il Dna generando una

mutazione che trasforma una cellula normale in una cellula cancerosa sono infinitamente più elevate negli epiteli – noi rinnoviamo tutta la pelle due volte ogni mese – che non nei nostri muscoli, che in tutta la vita si rinnovano due o tre volte al massimo, come aveva peraltro osservato Bizzozzero. Ogni regola ha le sue eccezioni: benché tutte le cellule alla base dell'intestino si dividano spesso e con frequenza pressappoco simile, i tumori sono molto più frequenti nel colon, detto anche «grande intestino», che non nell'intestino tenue, o «piccolo intestino», che segue lo stomaco e termina nel colon. Il perché di questo fenomeno ancora non lo sappiamo. Sappiamo però che i tessuti che non presentano cellule staminali o perlomeno non ne hanno di così efficienti, come ad esempio i muscoli o il cervello (parliamo sempre e soltanto dei neuroni), raramente sviluppano tumori ma, se usurati dal tempo o danneggiati da un trauma o da una malattia, fanno fatica a rigenerare con conseguenze quali l'insufficienza cardiaca o le malattie degenerative del sistema nervoso dell'anziano (Alzheimer, Parkinson, demenza senile ecc.).

Una cellula staminale dà quindi origine, attraverso una divisione asimmetrica, a un'altra cellula staminale e a una progenitrice. Distinguere le cellule staminali dalle progenitrici non è facile. Le prime non sono più grandi o più piccole o di forma diversa dalle seconde. Oggi e con fatica iniziamo a identificare delle proteine specifiche delle cellule staminali, ma una prova funzionale in un animale o in un paziente, determinata dalla capacità di rinnovare il tessuto indefinitamente, resta ancora il modo migliore per sapere se tra le cellule che ci apprestiamo a trapiantare ci sono anche delle staminali. Un trapianto di midollo osseo, se effettuato correttamente e quindi con cellule staminali, durerà a lungo, con ogni probabilità per tutta la vita del paziente. Se invece utilizziamo cellule che sembrano e non sono staminali, ma solo progenitrici già avviate verso il differenziamento, queste formeranno le cellule del sangue mature e poi moriranno, il trapianto non durerà a lungo e bisognerà ripetere la procedura, con rischi non indifferenti (distruzione delle cellule del midollo, assenza di un nuovo donatore ecc.) per la persona coinvolta.

Ciò che definisce in modo stringente e definitivo la cellula staminale è quindi la capacità di ricostituire *in vivo*, dopo un trapianto, i tipi cellulari di un dato tessuto e di mantenere questa funzione per tutta la vita dell'individuo trapiantato. Fino ad oggi, soltanto le cellule staminali emopoietiche – che danno origine agli elementi corpuscolari del sangue (globuli rossi, globuli bianchi e piastrine) –, e quelle epiteliali soddisfano questi criteri. Nel nostro corpo non esistono dunque delle generiche «cellule staminali», ma esse differiscono tra loro per varie proprietà e caratteristiche. Quante sono allora le tipologie di cellule staminali scoperte finora, e in cosa sono diverse le une dalle altre? Un breve elenco schematico delle principali aiuterà a identificarle con chiarezza.

1. *Cellule staminali embrionali*. Derivano dalla massa cellulare interna dell'embrione prima che si impianti nella mucosa dell'utero materno. Possono essere propagate indefinitamente *in vitro* e differenziare in tutti i tipi cellulari del corpo (ma non degli annessi embrionali, come ad esempio la placenta). Se iniettate in un embrione, colonizzano i tessuti formando una chimera, come quelle di Nicole Le Douarin; un altro esempio classico è il trapianto di cellule di un topo dal manto nero in un embrione di topo albino. Fatto molto importante, tra i tessuti colonizzati vi è anche la linea germinale, cioè le uova e gli spermatozoi, così che una singola cellula staminale embrionale trapiantata può dare origine a un nuovo individuo con le caratteristiche genetiche della cellula di partenza. Da questa iniziale osservazione originò il concetto di clonazione che tanta confusione e incomprensioni ha generato (e che analizzerò nel capitolo 5).

2. *Cellule staminali riprogrammate*. Derivano da cellule adulte (già differenziate) che possono essere riportate allo stadio embrionale – non distinguibile quindi dalle vere cellule staminali embrionali – grazie all'espressione di quattro (o anche solo tre) geni specifici. Queste cellule, definite «iPSC», *Induced Pluripotent Stem cells*, hanno le stesse caratteristiche delle cellule staminali embrionali, almeno fino a dove siamo riusciti a studiarle, ma potendo essere derivate dai tessuti del paziente non presentano il problema del rigetto da parte del sistema immune.

3. *Cellule staminali adulte*. Si includono in questa definizione, seppure in modo inesatto, le cellule staminali derivate dal feto, dall'amnios e dagli annessi embrionali, ma esse derivano più correttamente dai tessuti adulti. Possono essere propagate in coltura, sebbene non indefinitamente, e differenziano esclusivamente nei tipi cellulari del tessuto da cui sono state derivate. Le cellule staminali mesenchimali prelevate dal tessuto osseo, ad esempio, possono differenziare in cellule dell'osso, della cartilagine, del tessuto adiposo e del muscolo liscio che forma la parete dei vasi, cioè nei tessuti che compongono l'osso. I mesoangioblasti, isolati dal muscolo scheletrico, differenziano solo in cellule del muscolo scheletrico e del muscolo liscio. Le cellule staminali neurali differenziano nei vari tipi di cellule che compongono il sistema nervoso, anche se non tutti.

È bene precisare che, con l'eccezione già indicata delle cellule staminali emopoietiche ed epiteliali, nessuna di queste cellule soddisfa appieno la condizione terapeutica principale della staminale, quella di continuare a generare per tutta la vita di un soggetto i tipi cellulari di un tessuto dato.

Cosa significa allora utilizzare le cellule, staminali o no, per una terapia? Si tratta di definire un nuovo trattamento in cui il farmaco, tradizionalmente costituito da una specifica molecola, è rappresentato appunto da cellule. Farmaci tradizionali e cellulari differiscono per molte caratteristiche. Tanto per iniziare, di un farmaco tradizionale si conosce con precisione il dettaglio molecolare, sia del principio attivo che degli eccipienti, cioè della sostanza inattiva in cui il principio farmacologico viene disciolto per essere fisicamente somministrato, in forma di pillola, capsula o fiala. Nessuno può invece conoscere l'esatta composizione chimica di una cellula, ed è verosimile che nel nostro corpo o dopo espansione in coltura non esistano due cellule perfettamente identiche in ogni singolo dettaglio molecolare (esatto numero di proteine, esatto numero di lipidi, esatte modificazioni chimiche di tutti i componenti ecc.). Inoltre le cellule sono fragili, difficili da manipolare e facili da contaminare con agenti infettivi di varia natura: per questo non le comprate in farmacia e non le potete assumere facilmente a casa vostra. Servono centri altamente specializzati, soprattutto quando non si tratta di globuli rossi ma di cellule più complesse, di cui parlerò a breve. Il problema principale della terapia cellulare è infatti la via di somministrazione.

Le cellule non si possono assumere per via orale perché non potrebbero sopravvivere ai succhi gastrici, né, si badi, per via transcutanea. Le famose creme alle cellule staminali (addirittura di origine vegetale) sono per definizione una truffa perché le staminali, sempre ammesso che ce ne siano all'interno dell'unguento, non sopravvivono in queste sostanze oleose, e per fortuna: se le cellule staminali vegetali, diversissime dalle umane, arrivassero a contatto con il sistema immune del paziente scatenerebbero una violenta risposta immunitaria con danni anche gravi per i tessuti. Ne consegue che le cellule staminali, una volta selezionate con pazienza e precisione, possono essere unicamente iniettate o direttamente nell'organo che si vuole raggiungere, o nel circolo sanguigno nella speranza che il flusso le porti, almeno in parte, a destinazione. Entrambe le vie presentano delle criticità: la prima è di solito limitata dalla scarsa diffusione delle cellule, che tendono a rimanere nella ristretta area d'iniezione; la seconda dall'intrappolamento delle cellule nei cosiddetti «filtri capillari» (polmone, fegato, milza e reni) e dalla dispersione delle cellule residue anche in tessuti e organi cui non erano destinate. Se tutto ciò non rappresenta un guaio per le trasfusioni di sangue, in cui le cellule sono iniettate esattamente dove devono rimanere, lo è per tutte le altre terapie cellulari, ben più complesse dal punto di vista biologico e medico, come ad esempio il trapianto di midollo osseo.

Quest'ultimo, insieme al trapianto dell'epidermide per i grandi ustionati, è una tra le terapie cellulari che ormai da decenni sono diventate pratica clinica di routine. Queste terapie utilizzano cellule staminali che si trovano nei tessuti del paziente (trapianto autologo) o di un donatore (trapianto eterologo) che

dovrebbe quando possibile essere immunologicamente affine al ricevente. Nei tessuti del nostro corpo, ad esempio nel sangue, esistono numerosi antigeni detti «d'istocompatibilità», proteine della superficie delle cellule che quando sono uguali tra donatore e ricevente riducono, anche se non completamente, la probabilità d'incorrere in uno dei due principali rischi che potrebbero insorgere dopo un trapianto: il rischio che il trapianto sia riconosciuto come estraneo e quindi rigettato dalle cellule del sistema immune del paziente, oppure il rischio che siano le cellule trapiantate – solo se contengono o generano cellule del sistema immune – ad attaccare l'ospite e distruggerne i tessuti in una reazione che è chiamata nel linguaggio tecnico *graft versus host* (letteralmente «trapianto contro ospite»). Anche se ormai le percentuali di successo sono altissime, le terapie cellulari sono sempre estremamente delicate e proprio per questo vengono eseguite solo in centri altamente specializzati.

### *Le trasfusioni di sangue*

Nell'antichità e per tutta l'età moderna il sangue veniva somministrato per via orale allo scopo di rinvigorire il malato, a prescindere dalla patologia che ne causava l'eventuale debolezza. Senza che nessuno fosse in grado di spiegarne il motivo, l'effetto era benefico solo in alcuni pazienti – pochissimi in realtà –, che oggi sappiamo essere affetti da anemia sideropenica, cioè da mancanza di ferro. Negli anemici il sangue digerito liberava ferro che serviva al corpo per produrre globuli rossi. Per tutti gli altri invece il sangue costituiva solo un alimento, come un qualsiasi cibo di origine animale. Per le prime vere e proprie trasfusioni, eseguite a partire dal XVII secolo mediante un ago inserito in una vena superficiale, in Europa veniva impiegato sangue di animali. Le conseguenze di queste pratiche, come si può oggi intuitivamente immaginare, erano molto gravi per i pazienti e indussero ad abbandonare completamente la tecnica, che venne ripresa verso la metà dell'Ottocento utilizzando questa volta sangue umano e con evidente beneficio clinico per i trasfusi. Non senza rischi però. Di nuovo senza che si riuscisse a capirne il motivo, mentre a molti la trasfusione giovava, alcuni manifestavano una reazione caratterizzata da gravi sintomi, come febbre, dolori, calo della pressione arteriosa.

Il perché di questa variabilità fu compreso nel 1900 dal medico austriaco Karl Ernest Landsteiner<sup>13</sup>, che identificò i gruppi sanguigni. Mescolando nella stessa provetta il sangue di due individui diversi egli notò che in qualche caso restava fluido, mentre in altri si agglutinava, ossia si formavano piccoli precipitati sul fondo. Era esattamente ciò che capitava nel corpo delle persone trasfuse con un gruppo incompatibile: quando ciò si verificava all'interno dei

piccoli vasi sanguigni del paziente, si manifestavano i sintomi descritti che potevano anche condurre alla morte. Sulla base di questa reazione, Landsteiner riuscì a distinguere attraverso varie ricerche tre diverse tipologie di sangue, identificate con le lettere A, B e C (quest'ultimo viene ora etichettato come «0»). Il quarto e ultimo gruppo, AB, venne scoperto nel 1902 da due suoi collaboratori, Alfred von Decastello e Adriano Sturli. Il saggio che ne scaturì come pratica medica consentì di stabilire se la trasfusione sarebbe stata sicura o no. Da allora il principio di base è rimasto lo stesso, anche se la tecnica con cui si esegue il test nei moderni laboratori è stata affinata negli anni. Oggi sappiamo che i globuli rossi esprimono sulla loro superficie una glicoproteina (una proteina con degli zuccheri che sono esposti sulla parete esterna del globulo rosso) definita A, oppure una simile ma non uguale (B), o tutte e due (AB) oppure ancora nessuna (0). Se un paziente riceve sangue da un donatore diverso (ad esempio 0 riceve da A), il suo sistema immunitario riconoscerà il sangue come estraneo e reagirà come aveva inizialmente osservato Landsteiner. La possibilità di conoscere in anticipo i gruppi sanguigni del ricevente e del donatore permise di evitare questo grave problema e la trasfusione di sangue si affermò come terapia cellulare soprattutto, come ho già anticipato, durante la Prima guerra mondiale. Fu l'evento bellico a diffonderne la pratica, portandola a livello di routine. Soldati feriti e con copiose emorragie, anche nei casi in cui venivano arrestate, spesso morivano perché un'eccessiva perdita di sangue porta a una riduzione della perfusione degli organi (ai tessuti non arriva abbastanza sangue e quindi ossigeno) e a un conseguente shock che di solito ha esito fatale. L'operazione sembrava semplice: prelevare il sangue da un donatore sano, come facciamo anche oggi, impedire che coaguli, cioè che solidifichi come accade nel caso di una ferita, e iniettarlo subito in vena al paziente emorragico. Non ho usato il verbo «sembrava» a caso: provate a immaginare di svolgere queste operazioni in trincea, magari su un altopiano montuoso o in alta montagna. Le difficoltà erano estreme anche dal punto di vista logistico, soprattutto al fronte: bisognava prelevare sterilmente, conservare a basse temperature, trasportare e finalmente trasfondere il sangue in ospedali da campo più o meno attrezzati, magari esposti al fuoco nemico. Con la scoperta dei gruppi sanguigni, anche a fronte delle ormai stabili guarigioni, ci si accorse che non tutte le questioni erano risolte: il sangue trasmette infatti anche agenti infettivi.

### *Il trapianto di midollo osseo*

Il midollo osseo è un tessuto complesso che (come si intuisce dal nome) si trova all'interno delle nostre ossa: in un soggetto adulto sano solo in alcune,



come il bacino e lo sterno, più che sufficienti a produrre tutto il sangue che ci serve, suo compito fondamentale. Il midollo è costituito da una trama di fibre in cui corrono vasi sanguigni intorno ai quali le cellule staminali proliferano e danno origine alle cellule mature del sangue: globuli rossi, globuli bianchi e piastrine. Anche questo lo aveva intuito Giulio Bizzozero esaminando i tessuti al microscopio. Data la sua struttura, è sufficiente inserire un robusto ago nelle ossa che lo contengono e aspirarne una sospensione cellulare ricca di staminali. Se queste cellule sono poi iniettate endovena in un paziente, abbiamo realizzato un trapianto di midollo osseo.

Come per le trasfusioni, anche questa pratica fu perfezionata durante una guerra, il periodo finale e quello immediatamente successivo alla conclusione del secondo conflitto mondiale, per un motivo ben preciso. Le esplosioni atomiche, prima belliche poi sperimentali, generavano radiazioni i cui effetti sulla salute umana si mostrarono presto gravi, colpendo prevalentemente il midollo osseo e causando distruzione delle cellule (aplasia) o loro proliferazione incontrollata (leucemia).

Negli anni cinquanta e sessanta dello scorso secolo, prima al Mary Imogene Bassett Hospital di New York e poi allo United States Public Health Service di Seattle, Edward Donnall Thomas<sup>14</sup> iniziò a prelevare midollo osseo da donatori sani e a iniettare le cellule endovena in soggetti colpiti da varie malattie del sangue. Notò che le cellule che scampavano ai filtri capillari si accumulavano in prevalenza nel midollo osseo, un processo ancora inspiegato ma definito *homing* (letteralmente «trovare casa»), perché lì trovano cellule residenti e molecole che riconoscono evidentemente come «familiari». Donnall Thomas era un medico texano che dopo una lunga gavetta come medico generico aveva iniziato a studiare l'effetto delle radiazioni sui topi e aveva osservato che questi potevano essere salvati da dosi altrimenti letali grazie all'infusione endovena di cellule del midollo isolate da topi sani. I pazienti che invece ricevevano la stessa procedura invariabilmente morivano per infezioni o reazioni immunitarie di varia natura. Come mai nei due casi il risultato era così diverso? Donnall Thomas e altri pionieri del campo iniziarono a trapiantare il midollo su cani e altre specie di animali di stazza più simile all'uomo e soprattutto non immunologicamente identici tra loro come i topi di laboratorio. Poterono così comprendere alcuni importanti fenomeni, come ad esempio la *graft versus host*, i cui sintomi sono diffusi e severi, con danni al fegato, all'intestino e ad altri organi che, nelle forme più gravi, possono essere letali.

Con tenacia e grande dedizione si continuarono le sperimentazioni su diversi modelli animali e sui pazienti, modificando i protocolli clinici e arrivando negli anni a definirne uno efficace e relativamente sicuro. Come vedremo nel prossimo capitolo, un punto cruciale per il successo di questa tecnica, e in seguito di altre terapie cellulari, fu la messa a punto negli anni

ottanta della fase della mieloablazione. Con questo termine si indica la distruzione del tessuto malato con farmaci citotossici che uccidono le cellule in divisione, creando così «spazio» per le cellule trapiantate, che vi si possono installare al posto delle cellule malate, ora eliminate. A quell'epoca questi farmaci (o le radiazioni somministrate a dosi elevate, usate per lo stesso scopo) erano terapie con un alto coefficiente di rischio per il paziente perché eradicavano il tumore ma inducevano mutazioni che, dopo anni, ne causavano altri. Questo giustifica in parte il lungo tempo che fu necessario per arrivare a trattamenti efficaci e sicuri.

Oggi circa un milione di pazienti in tutto il mondo è guarito da malattie altrimenti mortali (quali ad esempio leucemie e linfomi) grazie al trapianto di midollo, divenuto ormai da decenni sicura pratica clinica di routine, e proprio per aver contribuito sia allo sviluppo del trapianto cellulare sia a quello degli organi, due importantissimi risultati, Donnall Thomas ricevette nel 1990 il premio Nobel per la medicina e fisiologia insieme al suo collega Joseph Murray.

### *Dal sangue ad altri tessuti*

Come Donnall Thomas fu il capofila dei trapianti di midollo, Howard Green<sup>15</sup> lo fu dei trapianti autologhi di epidermide nei grandi ustionati. A differenza di Donnall Thomas, tuttavia, Green non ottenne in vita il riconoscimento che avrebbe meritato per il suo lavoro di avanguardia sullo studio delle cellule staminali dell'epidermide e sulla loro successiva utilizzazione clinica, che portò in pochissimi anni allo sviluppo di una terapia salvavita e sicura, anche se meno diffusa del trapianto di midollo. È stato il maestro di tutti gli attuali leader nel campo delle cellule staminali epiteliali e molti anni prima, negli anni settanta, era riuscito per primo a coltivare cellule epiteliali.

Furono proprio gli anni sessanta e settanta del Novecento a segnare lo sviluppo definitivo delle colture cellulari, di cui Green era stato un precursore sia nel perfezionamento tecnologico che nell'applicazione clinica. Si tratta di tecniche estremamente sofisticate e complesse che permettono di isolare cellule da diversi tessuti animali o, quando possibile, umani, digerendoli con enzimi (ad esempio la tripsina), gli stessi che il nostro sistema digerente produce per farci assimilare il cibo. Se opportunamente dosati, questi enzimi liberano le cellule dai tessuti in cui sono immerse; queste vengono poi fatte proliferare a una temperatura di 37 °C in contenitori di plastica sterile detti «fiasche» cui le cellule aderiscono – escluse quelle del sangue – come farebbero naturalmente nei tessuti, e sono mantenute in vita e nutrite grazie a un cosiddetto «terreno di coltura» che è composto da acqua, sali minerali,

nutrienti (aminoacidi, zuccheri, vitamine) e di solito da siero bovino o equino come fonte di proteine e lipidi.

Non solo, quindi, per la prima volta nella storia si era riusciti a mettere a punto delle tecniche per tenere in vita le cellule *al di fuori del corpo*, e farle addirittura aumentare in numero; si scoprì ben presto che in molti casi le cellule continuavano a mantenere la capacità di differenziare nel tessuto da cui erano state aspirate. La scoperta, si capisce abbastanza facilmente, era sensazionale. Se posti in coltura gli epatociti riformeranno un lembo di fegato, le cellule isolate dai muscoli formeranno piccole fibre muscolari, e così via. Questo avviene perché le cellule di un dato tessuto (siano esse staminali o progenitrici a diverso stadio di maturazione) sono già determinate a formare il tessuto da cui derivano, e lo fanno purché siano date loro le giuste condizioni, individuate nei laboratori per tentativi successivi e ancora passibili di ulteriori perfezionamenti.

Howard Green aveva capito subito quali erano le immense potenzialità derivanti dall'utilizzo di queste cellule che, nel caso specifico degli epiteliali, ricoprono come ho già anticipato tutta la superficie esterna del nostro corpo e quelle interne dei nostri visceri. A differenza di altre cellule dell'organismo, quelle epiteliali, proprio per la loro funzione di barriera protettiva, sono strettamente connesse l'una all'altra e danno l'idea molto fedele di un pavimento composto di mattonelle, ognuna strettamente saldata alle sue vicine. Rompere questi legami senza al tempo stesso uccidere le cellule era difficile allora e lo è ancora oggi: sono necessari infatti procedimenti lenti e laboriosi, per far agire gli enzimi a bassa temperatura e per tempi dilatati, di solito un'intera notte. L'ostacolo più arduo da superare era però costituito dal fatto che, una volta dissociate e coltivate su plastica, le cellule epiteliali o non crescevano del tutto o soltanto per pochi giorni. Nessuno capiva il perché. In realtà l'epidermide poggia su uno strato di tessuto connettivo, il derma, che la supporta e la nutre, dato che negli epiteliali non ci sono vasi sanguigni. Per il colpo di genio del bravo ricercatore, Green provò allora a emulare il processo coltivando le cellule dell'epidermide su un altro strato di cellule che fanno parte del derma e che, con termine tecnico, chiamiamo «fibroblasti». Funzionò. Nel 1975 Green e il suo collaboratore James G. Rheinwald pubblicarono un articolo storico<sup>16</sup> che pose le basi per una serie di sviluppi clinici che sembravano fantascienza allora, e sono realtà oggi. Quali?

Come per le cellule del midollo osseo, la sperimentazione clinica cominciò prima che il concetto di staminale epiteliale fosse del tutto chiarito, grazie al lavoro di un altro allievo di Howard Green, Yann Barrandon<sup>17</sup>, il quale verso la metà degli anni ottanta riuscì a clonare le cellule dell'epidermide, diluendo la sospensione cellulare fino ad avere pochissime cellule in una fiasca di coltura: le cellule che sopravvivono danno origine a un clone di cellule figlie<sup>18</sup>.

Il concetto di clone è intuitivo: nel caso delle cellule, si riferisce alle figlie, tutte uguali, di una singola cellula capostipite che proprio per questa capacità è definita «clonogenica», cioè capace di dare origine a un clone. Barrandon e Green osservarono che i cloni generati dalle cellule dell'epidermide sono essenzialmente di due tipi: cloni molto grandi e contenenti cellule che a loro volta sono capaci di generare grandi cloni. Questi furono definiti «oloclone» e come ho scritto, una singola cellula capace di dare origine a un oloclone può generare abbastanza cellule da coprire parecchie volte tutta la superficie del vostro corpo. È lapalissiano che gli olocloni derivino dalle cellule staminali, in grado di auto-mantenersi indefinitamente in coltura e di produrre epidermide matura per tutta la vita. Ma in coltura si osservano anche cloni piccoli, detti «paracloni», che non generano nuovi cloni e rappresentano progenitori sulla via del differenziamento e quindi incapaci di auto-mantenersi a lungo. Quando su un paziente si trapianta dell'epidermide che contiene cellule staminali (che generano olocloni in coltura) il trapianto dà origine a una nuova pelle che dura per tutta la vita del soggetto. Quando invece le cellule staminali si sono perdute o ridotte troppo, per esempio a causa di condizioni di coltura non buone, la conseguenza clinica, è che tutte le cellule che non sono più staminali differenzieranno in epidermide matura che, a sua volta, si trasformerà nello strato di cheratina superficiale e poi si desquamerà, staccandosi dal corpo. L'unica soluzione è quella di ricorrere a un nuovo trapianto, con tutti i rischi e i costi associati. Ecco perché, ed è il caso di sottolineare bene questo punto, la terapia cellulare è una pratica molto delicata che deve essere eseguita in centri altamente specializzati e seri.

#### LE USTIONI GRAVI E I TRAPIANTI DI EPIDERMIDE

Dalla fine degli anni settanta i trapianti di epidermide sono pratica clinica di routine, e rappresentano tuttora la terapia d'elezione per le ustioni che interessano solo una parte del corpo. Gli auto-trapianti, eseguiti con la pelle prelevata da una zona limitata del corpo del paziente che sia stata risparmiata dall'ustione, sono la prima scelta per la cura. L'epidermide ha cellule staminali localizzate alla sua base. Tuttavia nel follicolo pilifero, da cui nasce il pelo cutaneo e che si trova nel derma, esistono altre cellule staminali, capaci di formare epidermide, ma anche peli e ghiandole sebacee. La parte superficiale trapiantata sopravvive quindi grazie alle staminali presenti alla base dell'epidermide, che innesca il meccanismo di continua produzione e sostituzione di cheratina che ho descritto, mentre la zona da cui è stata prelevata ne crea di nuova grazie alle staminali intorno ai follicoli.

Quando l'ustione interessa la maggior parte della superficie corporea, o è

così profonda da distruggere anche il derma, la situazione è decisamente più delicata. Generalmente non si trova nel corpo del paziente abbastanza pelle residua per l'auto-trapianto e agli inizi della terapia l'esito era di solito infausto, né serviva a molto il trapianto da un donatore perché l'epidermide stimola una forte risposta immune e il rischio di rigetto è estremamente alto, richiedendo dosi molto elevate di farmaci immunosoppressori, altamente debilitanti. Inoltre, l'epidermide serve anche a mantenere l'acqua all'interno del nostro corpo: in sua assenza, l'acqua evapora e il volume dei nostri liquidi scende sotto al livello vitale necessario per le nostre funzioni fisiologiche. Il problema, lo si vede, è spinoso.

Pochi anni dopo la scoperta di Green e Rheinwald del 1975, nel 1980, si presentò loro un'urgenza clinica. A Boston, due ragazzi erano stati esposti, in seguito a un incidente, a gravi ustioni sulla maggior parte del corpo. In queste condizioni il decorso era come visto negativo, inoltre risultava impossibile effettuare un trapianto autologo dato che l'ustione era molto estesa, rendendo inutilizzabile le piccole superfici di pelle superstita. Come fare? Green pensò di ricorrere alle pratiche di espansione cellulare da lui stesso perfezionate nel 1975. L'intervento per tentare di salvarli fu eseguito nel 1980 al Brigham and Women's Hospital della città del New England, uno dei centri più avanzati degli Stati Uniti. Come racconta in un suo memoriale, la decisione di provare questo trapianto per la prima volta fu presa dal dottor Nicholas Nichols, direttore del Centro ustioni dell'ospedale, e da Green stesso, senza prima sentire il parere di alcun comitato etico, per il semplice motivo che allora non esistevano<sup>19</sup>. Dalle poche aree superstiti furono effettuate alcune biopsie, da cui Green e i suoi collaboratori riuscirono a isolare alcune cellule che furono prima fatte espandere su fibroblasti (attraverso questa procedura possono essere accresciute fino a 10.000 volte il numero iniziale nell'arco temporale di un mese), poi applicate, una volta formato un sottile foglietto epiteliale, sulla superficie del paziente cui i chirurghi avevano raschiato via l'epidermide ustionata. I due soggetti guarirono e ripresero una vita sostanzialmente normale con una pelle costruita in laboratorio che, si badi, dura ormai da quasi quarant'anni.

Oggi un percorso inferiore ai cinque anni dal laboratorio alla sperimentazione clinica sui pazienti, come nel caso dei trapianti sugli ustionati, non sarebbe immaginabile dato il numero e la complessità dei controlli e delle procedure che bisogna seguire, resi obbligatori per legge da vari enti regolatori negli Stati Uniti e in Europa. Nel momento in cui nel Vecchio continente fu stabilito che le cellule sono equivalenti ai farmaci (direttiva 2001/20/UE, recepita nel nostro paese con il decreto legislativo 24 giugno 2003, n. 211) fu necessario introdurre una serie di norme e controlli di qualità (che descriverò in dettaglio nel prossimo capitolo) che a fronte di una maggiore sicurezza per i pazienti, hanno allungato a dismisura i tempi e

aumentato enormemente i costi di sviluppo delle cure.

Il primo trapianto autologo di cellule epidermiche espanse venne poi pubblicato in un articolo storico nel 1984<sup>20</sup>, e il metodo di coltura per l'epidermide si diffuse velocemente in altri laboratori negli Stati Uniti e in Europa, così che il protocollo clinico fu standardizzato; da allora migliaia di pazienti in tutto il mondo sono stati salvati grazie al trapianto di colture di cellule della pelle. Sebbene la frequenza di grandi ustioni sia di molto inferiore a quella di malattie del sangue che richiedono un trapianto di midollo, l'auto-trapianto di epidermide è stata la prima e per molti anni l'unica terapia cellulare efficace al di fuori del sistema emopoietico.

Insieme ai primi trapiantati di midollo osseo, oggi questi pazienti sono importanti non solo perché sono stati curati con efficacia, ma perché offrono il più lungo *follow up* di una terapia cellulare, il monitoraggio delle sue possibili conseguenze che se buone si chiamano in termine tecnico «efficacia terapeutica», e se cattive «eventi avversi».

I trapianti di midollo osseo e di epidermide fanno legittimamente parte della storia della medicina, oltre a costituire la base per tutte le nuove avveniristiche forme di terapia cellulare, alcune coronate da successo, le altre ancora *in progress*, di cui parlerò in dettaglio nel prossimo capitolo.

---

<sup>1</sup> Sir Alexander Fleming (1881-1955) fu un medico e microbiologo britannico, noto per avere scoperto l'enzima lisozima nel 1922 e la penicillina nel 1928, risultato che gli valse il premio Nobel per la medicina nel 1945.

<sup>2</sup> B. Munari, *Fantasia*, Roma-Bari, Laterza, 1977.

<sup>3</sup> Un esempio può aiutare a chiarire il concetto: la parte dorsale dei somiti forma i muscoli, quella ventrale le ossa (*destino*). Se ruotiamo un somite appena formato, in modo da invertire la posizione delle due aree, noteremo che lo sviluppo dell'embrione sarà normale, il che ci dice che la parte dorsale, benché sia destinata a formare i muscoli, presenta anche la capacità di fare osso, e viceversa per l'altra (*potenza*). Se però trapiantiamo un somite nel futuro midollo spinale, questo non formerà delle strutture neurali, perché non ne ha la potenza. Così in varie patologie umane, il tessuto dell'esofago può formare cheratina come l'epidermide e, nella parte caudale, può formare l'intestino. Ma non i neuroni, i cardiociti o tipi cellulari al di fuori di quelli propri di questo tessuto.

<sup>4</sup> A.D. Murphy *et al.*, *The Use of Vascularised Bone Capping to Prevent and Treat Amputation Stump Spiking in the Paediatric Population*, in «*Microsurgery*», v. XXXVII, n. 6, 2017, pp. 589-595.

<sup>5</sup> René-Antoine de Réaumur (1683-1757), nato nella città portuale di La Rochelle, in Francia, si distinse fin da ragazzo per un'intelligenza straordinaria ed eclettica, che gli permise di studiare le materie più disparate divenendo un esperto «universale», tanto che a trent'anni ricevette l'incarico di scrivere un'enciclopedia delle arti, industrie e professioni dall'Accademia di Parigi.

<sup>6</sup> Abraham Trembley (1710-1784), nato a Ginevra da famiglia agiata e colta, crebbe in un ambiente d'intellettuali che iniziavano a rivolgere la loro attenzione alle scienze naturali. Terminati gli studi, divenne precettore di due giovani ragazzi di una nobile famiglia olandese, i figli del conte Willem Bentinck van Rhoon. Insegnando loro storia naturale nella tenuta estiva del

padre, nelle vicinanze dell'Aia, Trembley s'imbatté casualmente e iniziò poi a sperimentare con l'*Hydra*, il piccolo polpo di acqua dolce dalle straordinarie e allora ignote capacità.

<sup>7</sup> Lazzaro Spallanzani (1729-1799), di agiate origini emiliane, eccelse fin da studente per intelligenza e curiosità. Frequentato il collegio dei gesuiti di Reggio Emilia prese i voti, tra l'altro adoperandosi per proteggere vari studiosi dall'Inquisizione, infine si laureò in filosofia naturale all'Università di Bologna. Dopo vari incarichi di insegnamento ottenne la cattedra di storia naturale all'Università di Pavia dove rimase per trent'anni, fino alla fine della sua carriera.

<sup>8</sup> Le cosiddette «teorie preformiste», popolari fino a tutto il XVIII secolo, postulavano che la generazione di un nuovo individuo avvenisse per ingrandimento, o svolgimento (*evolutio*) di una struttura microscopica di partenza avente esattamente la stessa forma dell'organismo maturo, ma inizialmente involupata in se stessa per esigenze di spazio. Si riteneva pertanto che l'individuo fosse già perfettamente preformato nell'uovo (ovisti) o nella testa dello spermatozoo (animalculisti). A quel tempo non si conosceva il dettaglio microscopico della materia, e questo portava all'originarsi di teorie che risultano oggi insolitamente strampalate e ingenuie. A questa concezione prettamente creazionistica della formazione dei viventi si oppose man mano, già nel corso del Settecento, quella dell'epigenesi, che sosteneva invece la formazione *ex novo* dell'organismo da materiale precedentemente indifferenziato.

<sup>9</sup> Eric N. Olson (1955), dopo aver studiato alla Wake Forest University nel North Carolina e poi alla Washington University, si trasferì allo University of Texas Southwestern Medical Center di Dallas, dove ora è professore. Ha dato contributi fondamentali allo studio dello sviluppo del cuore e dei muscoli scheletrici, ed è uno dei ricercatori attualmente più citati negli articoli scientifici.

<sup>10</sup> E.R. Porrello *et al.*, *Transient Regenerative Potential of the Neonatal Mouse Heart*, in «Science», v. XXV, n. 331 [ma 6020], 2011, pp. 1078-1080.

<sup>11</sup> Andreas van Wesel (1514-1564) è considerato il fondatore dell'anatomia moderna. Nato a Bruxelles da famiglia benestante, studiò a Lovanio e a Parigi, ma la sua carriera di medico e anatomista trovò il suo più alto sviluppo a Padova, dove metodicamente dissezionò il corpo umano descrivendone in dettaglio gli organi. La sua opera fondamentale, *De humani corporis fabrica*, pubblicata a Basilea nel 1543, rimane una pietra miliare della medicina moderna, anche per le magnifiche illustrazioni anatomiche estremamente particolareggiate.

<sup>12</sup> Ernst Heinrich Haeckel (1834-1919) è stato un biologo, filosofo e artista tedesco. Laureato in medicina, seguì la sua grande ammirazione per Darwin dedicandosi presto alla zoologia, scoprendo e catalogando moltissime specie animali; fu anche un grande embriologo sperimentale.

<sup>13</sup> Karl Ernest Landsteiner (1868-1943), è stato un patologo austriaco naturalizzato statunitense. Si laureò in medicina a Vienna nel 1891 e intraprese anche studi di chimica. Oltre alla scoperta dei gruppi sanguigni, identificò nel 1940 il fattore sanguigno Rh riscontrato anche nel sangue umano (da «macaco rhesus», il nome comune della scimmia in cui questo fattore fu notato per la prima volta) e scoprì il virus della poliomielite. Per i suoi studi ricevette nel 1930 il premio Nobel per la medicina e la fisiologia.

<sup>14</sup> Edward Donnall Thomas, nato a Mart (Texas) nel 1920 e morto a Seattle nel 2012, ha sviluppato il trapianto di midollo osseo come trattamento per la leucemia anche con la collaborazione della moglie e partner di ricerca, Dorothy Thomas, conosciuta quand'erano studenti all'Università del Texas ad Austin. Nel 2003 è stato tra i ventidue premi Nobel firmatari del terzo *Humanist Manifesto*, ultimo in successione dopo il primo del 1933 e il secondo del 1973.

<sup>15</sup> Howard Green (1925-2015), medico e biologo americano nato a Toronto in Canada, è stato professore di biologia cellulare ad Harvard per tutti gli anni ottanta, ed è ricordato per i suoi studi fondamentali sulle cellule staminali degli epiteli (che è stato il primo al mondo a coltivare artificialmente), e per aver portato questi studi alla sperimentazione clinica sui grandi ustionati.

<sup>16</sup> J.G. Rheinwald, H. Green, *Formation of a Keratinizing Epithelium in Culture by a Cloned Cell Line Derived from a Teratoma*, in «Cell», vol. VI, n. 3, 1975, pp. 317-330.

<sup>17</sup> Yann Barrandon (1951) è un medico francese, laureatosi a Parigi nel 1982 e specializzatosi poi negli Stati Uniti nella dinamica delle cellule staminali emopoietiche prima a Stanford e poi all'Harvard Medical School, dove è stato allievo di Howard Green. È ora professore di alcuni programmi di dottorato all'École Polytechnique Fédérale de Lausanne (Epfl) in Svizzera, dove continua a studiare il comportamento delle cellule staminali di vari epiteli.

<sup>18</sup> Y. Barrandon, H. Green, *Three Clonal Types of Keratinocyte with Different Capacities for Multiplication*, in «Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America», v. LXXXIV, n. 8, 1987, pp. 2302-2306.

<sup>19</sup> H. Green, *The Birth of Therapy with Cultured Cells*, in «BioEssays», v. XXX, n. 9, 2008, pp. 897-903.

<sup>20</sup> G.G. Gallico et al., *Permanent Coverage of Large Burn Wounds with Autologous Cultured Human Epithelium*, in «The New England Journal of Medicine», v. CCCXI, n. 7, 1984, pp. 448-451.



3.

### Una, nessuna, centomila. Successi e speranze della terapia cellulare

La migliore strategia bellica consiste, dunque, nel sovvertire i piani del nemico; [...] conviene rompere le altrui alleanze; poi, attaccare le truppe avversarie e, infine, assaltare le città fortificate, estrema misura cui ricorrere nel caso non resti altra scelta.

SUN TZU, *L'arte della guerra*, V-IV secolo a.C.

L'idea che, una volta capaci di crescere e far differenziare cellule in coltura, le si possa utilizzare per riparare un organo è intuitiva e fu ovvia per un'intera generazione di ricercatori attivi dagli anni cinquanta in poi. Con l'eccezione di Howard Green e di pochissimi altri, però, molti non ebbero materialmente il tempo di arrivare alla sperimentazione clinica, realizzata in seguito dai loro allievi, che oggi hanno più o meno sessant'anni: la mia generazione. Occorrerebbe un volume a sé solo per ricostruire tutti i tentativi di terapia cellulare condotti dagli anni novanta in poi: spesso purtroppo non hanno funzionato, ma ci hanno insegnato molto. Per mettere in evidenza cosa abbiamo appreso grazie a continue prove ed errori, ritengo utile affrontare quattro casi, alcuni caratterizzati da risultati variabili (morbo di Parkinson), altri da fallimenti (distrofia muscolare e infarto del miocardio), altri ancora coronati da successo (le ustioni della cornea).

#### STAMINALI EMBRIONALI E RIPROGRAMMATE

Quando nei primissimi anni ottanta lavoravo all'Università di Pennsylvania, studiavo, come detto, le cellule di teratocarcinoma. Si tratta di cellule isolate da tumori che hanno la peculiarità di continuare a crescere sia in coltura che quando vengono trapiantate in un ospite, e generare tessuti differenziati seppure in modo caotico e non organizzato: molti tessuti sono infatti mescolati tra loro come mai si osserva in un soggetto sano. Queste cellule costituivano il modo più semplice per cercare di capire cosa accade

nelle prime fasi dello sviluppo dell'embrione di mammifero. Tutto cambiò quando proprio in quegli anni due famosi ricercatori, Martin Evans all'Università di Cambridge e la sua ex allieva Gail R. Martin all'Università di San Francisco, riuscirono a isolare e coltivare nei loro laboratori cellule dalla massa cellulare interna della blastocisti, uno stadio fondamentale nello sviluppo di un embrione di mammifero, nello specifico di topo.

L'embrione si forma per fusione di una cellula uovo e di uno spermatozoo, lo zigote, iniziando fin da subito a dividersi in due, quattro, otto cellule e così via, diminuendo progressivamente la dimensione delle cellule prodotte nel corso dello sviluppo precedente all'impianto nell'utero materno. Dopo poche altre divisioni, quando è composto di circa venti, trenta cellule al massimo, l'embrione va incontro alla prima diversificazione di rilievo: le cellule esterne si trasformano in un epitelio, non molto diverso da quelli di cui abbiamo parlato nel capitolo precedente, e vanno a formare gli annessi embrionali come la placenta, mentre quelle interne rimangono indifferenziate, piccole cellule di forma quasi sferica e poco adese l'una all'altra, a costituire la massa cellulare interna, che formerà il corpo dell'embrione vero e proprio.

L'insieme costituito da cellule interne ed esterne in questa fase di sviluppo si chiama per l'appunto «blastocisti». Le cellule interne della blastocisti, dette con termine un po' arcaico «embrioblasto» (*inner cell mass* in inglese), sono importantissime perché isolate a uno stadio precoce dello sviluppo e pertanto presentano la caratteristica della *pluripotenza*, possono quindi differenziare in qualsiasi cellula del corpo (ma non degli annessi embrionali) e, soprattutto, possono continuare indefinitamente a generare cellule figlie.

Nei loro primi tentativi di trattamento della blastocisti in coltura, Evans e Martin provarono a coltivare le cellule di topo non sulla plastica dei normali contenitori per colture cellulari, ma su uno strato di altre cellule che in qualche modo ne facilitassero la sopravvivenza e la proliferazione. Il procedimento funzionò e segnò la nascita delle cellule staminali embrionali, o ESC, dall'inglese *Embryonic Stem cells*, termine coniato dalla stessa Martin in un suo fondamentale articolo del 1981<sup>1</sup>.

Quindici anni di esperimenti portarono alla riuscita dell'operazione anche nella scimmia, dalla fisiologia ben più complessa del topo, e dopo ulteriori tre anni e a seguito di molteplici tentativi risultati sempre fallimentari, nel 1998 James A. Thomson, all'Università di Madison nel Wisconsin, riuscì per la prima volta a isolare cellule staminali embrionali umane, aprendo così alla possibilità di portare queste cellule in terapia. La svolta avvenne quando si sperimentò una diversa combinazione dei fattori di crescita, le proteine che stimolano la proliferazione e il differenziamento di uno o più tipi cellulari, che si dimostrò vincente perché, si capì solo dopo, le cellule staminali umane che si riuscivano a isolare per essere coltivate corrispondevano a uno stadio leggermente più maturo rispetto a quelle che si prelevavano dal topo, per cui

presentavano dei bisogni nutrizionali diversi.

Per la prima volta era quindi possibile coltivare cellule staminali embrionali umane, e con esse si presentarono subito nuovi dilemmi scientifici – in parte ancora da risolvere –, e soprattutto etici, al centro di un dibattito politico e religioso molto spinoso. Ma procediamo con ordine.

Le questioni da risolvere sul piano prettamente biologico derivarono in primo luogo dal fatto che le cellule staminali embrionali sono isolate da un embrione che è per forza di cose immunologicamente diverso dal paziente, dato che non era possibile (fino alla scoperta delle riprogrammate nel 2006) riportare le cellule dell'individuo maturo al loro stato embrionale. Il rischio di un potenziale rigetto in caso di inoculazione, come nel caso di un trapianto d'organo, è quindi alto. In secondo luogo, esiste un duplice scoglio circa il differenziamento di queste cellule: da un lato è necessario guidarlo somministrando opportuni fattori di crescita, diversi di volta in volta e perfezionati nel corso di numerosi esperimenti, che con grande efficienza portano verso il tipo cellulare desiderato, sia questo un certo neurone, o una cellula del cuore o del fegato – se ci servono neuroni dopaminergici per una terapia del Parkinson, ad esempio, non vogliamo produrre anche altre cellule inutili ai nostri scopi, o addirittura potenzialmente dannose. Dall'altro lato, dobbiamo essere certi che una volta terminata la fase di espansione non rimangano nelle piastre di coltura delle cellule ancora indifferenziate, che se inoculate nel paziente, seguendo la loro natura continuerebbero a proliferare fino a generare un tumore simile al teratocarcinoma. Fortunatamente le cellule non differenziate esprimono sulla loro superficie delle proteine che permettono di identificarle e rimuoverle. Occorre però che la rimozione sia totale, perché anche poche cellule, se sfuggite alla selezione, potrebbero bastare a formare un tumore.

Quasi quattro decenni di lavoro e studio sulle cellule di topo, e due decenni su quelle umane – che hanno permesso di risolvere la maggior parte dei problemi appena descritti –, ci hanno portato oggi all'inizio delle sperimentazioni cliniche con le cellule staminali embrionali. Le sperimentazioni riguardano tessuti che si possono definire «immunoprivilegiati», come la retina, scelti non a caso per le prime terapie poiché permettono di evitare il rischio del rigetto, dato che sono relativamente al riparo dalla sorveglianza effettuata dai linfociti, che di norma non penetrano nel sistema nervoso (di cui la retina fa parte).

Nell'aprile 2018 la rivista «Nature Biotechnology» ha pubblicato uno studio clinico condotto da Peter Coffey<sup>2</sup>, professore a Ucl, che ha trattato con cellule staminali embrionali la degenerazione maculare della retina. In questa malattia il paziente perde la visione nella parte centrale del campo visivo a seguito del deterioramento delle cellule pigmentate che nutrono e proteggono i neuroni retinici (coni e bastoncelli), responsabili della conversione dei

segnali luminosi in impulsi nervosi che poi il nervo ottico trasmette al cervello. Coffey ha cresciuto cellule pigmentate derivate dalle embrionali su una sottile membrana, le ha poi inserite chirurgicamente nell'occhio con un intervento che dura meno di un'ora, in anestesia locale. Finora i due pazienti trattati con questa terapia hanno ripreso a leggere, a guidare e a vivere una vita normale<sup>3</sup>. Inoltre, date le caratteristiche di sito immunologicamente privilegiato, le cellule necessarie per il trattamento della retina sono state derivate da un solo embrione, e potranno quindi servire a migliaia di pazienti. Il costo della terapia a regime sarà pertanto contenuto, con un risparmio ingente per il sistema sanitario rispetto all'assistenza necessaria ai pazienti non vedenti. È un primo ma importantissimo passo verso l'applicazione clinica delle ESc. Finalmente le cose si muovono nella direzione sperata.

Lo stesso non si può dire del secondo grande ordine di interrogativi posti dalle staminali embrionali, quelli etici, per dirimere i quali si sono versati negli anni proverbiali fiumi d'inchiostro, oltre al dipanarsi di infiniti dibattiti sui media, in politica, a tutti i livelli della società: ne parleremo in dettaglio nel capitolo 6. Possiamo oggi prelevare liberamente cellule staminali dagli embrioni umani o animali oppure no?

L'evento che ha reso meno drammatici i problemi sollevati dalle staminali embrionali fu la scoperta delle cellule embrionali riprogrammate o iPSc, dall'acronimo inglese per *Induced Pluripotent Stem cells*, letteralmente «cellule staminali pluripotenti indotte».

Nel 2006 un ricercatore giapponese operativo al Nara Institute of Science and Technology, Shin'ya Yamanaka, fino ad allora piuttosto sconosciuto anche all'interno della comunità scientifica, riuscì in un'impresa che tutti o quasi giudicavano impossibile: riprogrammare una cellula adulta di topo già differenziata e riportarla indietro nel tempo fino allo stadio di cellula staminale embrionale, quindi fino a ridiventare *pluripotente*. La cosa, dal punto di vista sia teorico che pratico, ha dell'incredibile. Se all'epoca uno studente si fosse presentato nel mio laboratorio con un progetto simile, gli avrei detto che il rischio di fallimento era così alto (si trattava di trovare il classico ago nel pagliaio) che molto probabilmente avrebbe buttato anni e un'immensa fatica per dover poi ricominciare da capo, o doversi cercare un altro lavoro. Avrei avuto torto.

In realtà, ancora negli anni ottanta un ricercatore spagnolo, Mariano Barbacid<sup>4</sup>, allora al National Cancer Institute di Bethesda, aveva dimostrato che trasferendo un unico gene isolato da un tumore (oncogene) in una cellula normale era possibile trasformarla in tumorale. Barbacid e i suoi colleghi avevano iniziato l'esperimento trasferendo un grande numero di geni e poi li avevano ridotti progressivamente, controllando a posteriori quali gruppi fossero in grado di trasformare le cellule normali in tumorali e quali no, scartando man mano quelli che ricadevano in quest'ultima categoria. Per

passaggi successivi si arrivò quindi a isolare uno specifico gene, che da solo poteva cambiare la sorte di una cellula perfettamente sana. Naturalmente per analogia molti ricercatori avevano subito pensato di utilizzare la tecnica per operare altre trasformazioni nelle cellule, dal momento che si mostravano reattive a queste manipolazioni. Se la tecnica di Barbacid funzionava, perché molti autorevoli esperti erano scettici sulla realizzabilità di questo approccio sperimentale anche nel caso dell'embrione? Perché tra cellula normale e cellula tumorale c'è un solo passo da fare, attivare un oncogene (in realtà il processo è più complicato, ma passatemi questa imprecisione); per riportare una cellula del nostro corpo adulto fino allo stadio di staminale embrionale, di passi ne servono tanti, nessuno sa quanti, e pensare che il trasferimento di uno o pochi geni permettesse di riarrotolarne tutto il film della vita sembrava davvero improbabile se non impossibile, appunto materia per la fantasia di qualche poeta.

Invece, seguendo lo stesso approccio di Barbacid e dopo aver vagliato decine di geni normalmente espressi nelle cellule embrionali, Yamanaka riuscì a trasferire solo quattro di questi geni in cellule adulte e a ottenere cellule molto simili, se non uguali alle staminali embrionali. Queste cellule sono molto laboriose da ottenere sperimentalmente, tanto che spiegare come divengano tali è per il momento ancora impossibile: nessuno sa cosa accade realmente in esse, fino a che a un certo punto nella fiasca di coltura appaiono delle cellule identiche alle ESc.

Ricordo ancora l'eccitazione spasmodica che si diffuse nell'aula del simposio scientifico di Keystone, in Colorado, quando nel 2005 Yamanaka riportò per la prima volta i suoi dati, che furono pubblicati l'anno successivo sulla rivista «Cell», la più prestigiosa rivista di biologia cellulare<sup>5</sup>. I vantaggi delle cellule riprogrammate sono molteplici, enumero qui solo i principali: 1) derivando da cellule adulte e non da embrioni, non pongono per il momento problemi etici; 2) cosa ancora più importante è che, essendo autologhe, non pongono nemmeno problemi immunologici; 3) infine, pensando ai pazienti con malattie genetiche anche molto rare, per i quali si possono derivare neuroni o cellule emopoietiche o del cuore che presentano la specifica mutazione che ha causato la malattia, si apre la possibilità di studiare approfonditamente queste cellule *in vitro*. Abbiamo già visto più volte che non è possibile o perlomeno molto complicato fare una biopsia in tessuti non accessibili come il cervello o il cuore, soprattutto per l'alto rischio per il paziente non giustificato da alcuna prospettiva terapeutica, almeno immediata; le iPSc superano agilmente l'ostacolo prima insormontabile, consentendo di studiare in modo molto più efficace e fattivo malattie complesse e per certi aspetti in precedenza inavvicinabili.

Semplificando parecchio, possiamo utilmente riassumere nella tabella 1 le caratteristiche dei vari tipi di cellule staminali incontrate finora.

A che punto si trova la sperimentazione clinica sui pazienti con le cellule staminali embrionali e riprogrammate? Per quanto riguarda queste ultime, nel 2016 sono iniziati in Giappone alcuni trial clinici per la degenerazione maculare della retina. Il trapianto è stato purtroppo accompagnato da un edema che non ha risposto agli steroidi, e per questo il trial è stato sospeso ma è probabile che, una volta perfezionato, inizi di nuovo nei mesi finali del 2018. Sono inoltre in programma trial clinici che prevedono l'uso delle ESc o delle iPSc per il morbo di Parkinson negli Stati Uniti, in Svezia e nel Regno Unito, ora che i necessari neuroni dopaminergici si possono produrre in coltura con relativa facilità. Come mai sono stati necessari tredici anni per iniziare le sperimentazioni con le iPSc? Come ho ripetutamente sottolineato nel libro, se si vuole arrivare a un trial con un'alta probabilità – non la certezza – che non si verificheranno eventi avversi, sono necessari anni e anni di studi e controlli preliminari.

Cosa conviene scegliere tra cellule staminali embrionali e riprogrammate? Per i tessuti immuno-privilegiati, che hanno meno rischi di rigetto come la retina o il cervello, le embrionali presentano un grande vantaggio: poiché il sistema immunitario del paziente non arriva a vederle, sarà possibile preparare una o più banche di cellule staminali embrionali, pronte per l'uso per tutti i pazienti. Questo permetterebbe controlli più approfonditi e a costi molto inferiori, dato che lo stesso prodotto medicinale potrebbe essere usato per molti soggetti. Per tutti gli altri tessuti, il rischio di rigetto rimane alto e probabilmente le cellule staminali riprogrammate costituiscono la scelta migliore.

*Tabella 1. Principali caratteristiche delle cellule staminali per tipologia*

	Adulte	Embrionali	Riprogrammate
Origine	Tessuti adulti	Embrione pre-impianto	Tessuti adulti
Potenzialità differenziativa	Cellule del tessuto di origine	Pluripotenza	Pluripotenza
Potenzialità proliferativa	Variabile a seconda del tessuto	Illimitata	Illimitata
Rischio oncogenetico	Minimo	Elevato	Elevato
Rischio immunologico	Presente (eccetto trapianto autologo)	Presente (eccetto siti immunologicamente privilegiati)	Assente
Problemi etici	Assenti	Presenti	Assenti

[Vedi la tabella in formato immagine](#)

## IL MORBO DI PARKINSON: I PRIMI TRAPIANTI

Il morbo di Parkinson è una malattia molto nota perché colpisce con frequenza elevata, fino all'uno per cento della popolazione, di solito dopo i sessant'anni. Benché ne esistano chiari resoconti già nella medicina ayurvedica e nell'antico Egitto, ne dobbiamo la descrizione moderna al medico inglese James Parkinson (1755-1824), che nei primi anni dell'Ottocento pubblicò *An Essay on the Shaking Palsy* riportandone con precisione i sintomi, individuati oggi come conseguenza della morte dei neuroni cosiddetti «dopaminergici», incaricati della produzione di una sostanza, la dopamina, che modula l'attività dei motoneuroni, ed è localizzata in una regione alla base del cervello, la *substantia nigra*. Le cause che determinano la morte neuronale sono note solo in parte: in qualche caso esiste una base genetica dovuta a mutazioni specifiche, ad esempio di geni che codificano per proteine del sistema nervoso, anche se il più delle volte non è possibile individuare un'origine precisa.

Sappiamo che la familiarità alla malattia aumenta la probabilità d'insorgenza, mentre l'attività fisica sembra ridurre la frequenza. I sintomi si manifestano con tremori, rigidità, difficoltà a iniziare i movimenti e a mantenere una postura eretta nella deambulazione fino ad arrivare, nelle fasi più avanzate, a disturbi dell'equilibrio e, abbastanza spesso, a una vera e propria demenza. Come terapia si somministra per via orale la levodopa, una sostanza che viene trasformata in dopamina dai pochi neuroni che sopravvivono e permette di ridurre i sintomi. Tuttavia con il tempo tutti o quasi i neuroni dopaminergici muoiono e la levodopa smette di essere trasformata. Inoltre, occorre assumerne una quantità elevata per averne almeno un po' nel cervello – il principio dell'assuefazione vale per tutti i farmaci –, con il manifestarsi di effetti collaterali quali insonnia, nausea e a volte allucinazioni.

Il Parkinson è stato considerato molto presto una malattia ideale per la terapia cellulare: è frequente, colpisce solo soggetti adulti, il danno è localizzato in un'area ben definita del cervello dove è possibile trapiantare delle cellule con grande precisione. Il problema principale consisteva nella necessità di trovare neuroni dopaminergici, o cellule che potessero dare origine a questi neuroni. All'epoca dei primi studi effettivi (anni novanta) le cellule staminali embrionali umane capaci di formarli non erano infatti disponibili per la clinica, perché ancora in fase sperimentale. Per ovviare all'impedimento si era perciò cercato di ingegnerizzare in laboratorio altri tipi

cellulari, come ad esempio le cellule muscolari: non avendo a disposizione neuroni dopaminergici del paziente perché già malati o morti, si era tentato di modificare altre cellule prelevate dal soggetto stesso per renderle capaci di produrre dopamina. Pertanto nel genoma delle cellule muscolari erano stati inseriti alcuni geni che producessero i vari enzimi necessari alla sintesi del neurotrasmettitore. Queste ultime erano state selezionate per il fatto che non si dividono quando differenziate (non presentano il rischio di originare tumori) e perché più di altre sono efficienti nel secernere proteine. Nonostante questo, dopo varie prove si notò che i risultati erano quantitativamente modesti, dato che cellule diverse dai neuroni dopaminergici, non specializzate, producevano una quantità di dopamina troppo scarsa, che non giustificava un trial clinico. Si sapeva già, invece, che isolando la stessa regione dal cervello in feti abortiti era possibile ottenere neuroni dopaminergici abbastanza maturi da produrre quantità di dopamina comparabili ai neuroni adulti, e quindi potenzialmente sufficienti a sostituire quelli morti nel paziente.

Nei primi anni novanta Olle Lindvall<sup>6</sup>, un pioniere della medicina rigenerativa del sistema nervoso attivo all'Università di Lund in Svezia, iniziò a trapiantare cellule isolate dal cervello fetale in pazienti parkinsoniani gravi, per i quali le terapie convenzionali non avevano più efficacia. Il trapianto avveniva direttamente nella *substantia nigra*, attraverso un ago sottile che permetteva di rilasciare le cellule esattamente in sede. I risultati furono variabili. Alcuni pazienti risposero in modo eccellente, con una drastica riduzione – o qualche volta scomparsa – dei sintomi. Alcuni meno bene, con una riduzione parziale dei sintomi, e altri ancora non ebbero alcun beneficio percepibile. Per di più, tra i pazienti che avevano ricevuto un effetto benefico, alcuni rimasero in ottime condizioni di salute per più di un decennio, mentre altri peggiorarono fino a ritornare alle condizioni cliniche precedenti al trapianto. Da questa lunga vicenda furono tratti alcuni insegnamenti: primo tra tutti il fatto che, come avviene per i farmaci tradizionali, non tutti i pazienti rispondono alla terapia nello stesso modo. In medicina questa è purtroppo una regola ferrea, di cui a volte si comprende la causa (ricordate le trasfusioni di sangue e la scoperta dei diversi gruppi sanguigni?), a volte no. Nel nostro caso la variabilità degli effetti era esacerbata dalla natura del materiale di partenza: per avere un numero di cellule sufficienti a ricostituire il tessuto dopaminergico di un adulto servivano almeno cinque o sei feti, necessariamente selezionati tra quelli disponibili e quindi in età di sviluppo diverse, in variabile stato di conservazione e dai quali si prelevavano cellule dopaminergiche insieme ad altre cellule che non era possibile allora separare completamente, e che inoltre potevano aver subito danni difficili da controllare.

Questo studio fu molto importante, non solo per i pazienti che ne



beneficiarono, perché dimostrò che questo approccio sperimentale era valido e poteva funzionare. Tuttavia, data l'ampia serie di problematiche evidenziate fu essenzialmente abbandonato, per essere riconsiderato oggi, a circa vent'anni di distanza, quando popolazioni pure (o quasi) di cellule dopaminergiche sono divenute disponibili grazie all'avvento delle cellule staminali embrionali umane. Poggiandosi su queste solide basi, vedremo dispiegarsi presto la nuova battaglia di questa lunga e per ora non conclusa lotta al Parkinson: nuovi trial con cellule staminali embrionali stanno per iniziare in Svezia, in Inghilterra e negli Stati Uniti. L'ottimismo è oggi giustificato da un prodotto medicinale ben più controllato di quello usato negli anni novanta.

Occorre poi ricordare che la probabilità di trovare una cura per il morbo di Parkinson è alta, dato che il danno è localizzato in una piccola area del cervello, confinata e facilmente raggiungibile. È ben diverso, purtroppo, il caso di altre malattie degenerative, come quelle che colpiscono la maggior parte del cervello (sclerosi multipla e Alzheimer), o i muscoli: la distrofia.

#### LA DISTROFIA MUSCOLARE: TANTI APPROCCI DIVERSI

Con il termine «distrofia muscolare» si raggruppa in realtà un insieme di malattie che colpiscono prevalentemente i muscoli scheletrici e il cuore causando nelle forme più gravi, come la Duchenne, una progressiva riduzione della motilità che porta nelle estreme conseguenze alla sedia a rotelle, alla respirazione assistita, alla paralisi completa accompagnata da insufficienza cardiaca e purtroppo a una morte prematura. Il miglioramento dell'assistenza alle funzioni respiratorie e cardiache, avvenuto negli ultimi trent'anni, ha sicuramente prolungato la vita dei pazienti ma non la sua qualità; il suo affinarsi si deve invece a una corretta e costante fisioterapia e ad appropriati interventi di chirurgia ortopedica per prevenire curvature della colonna vertebrale o retrazioni tendinee del piede, oltre all'assunzione di steroidi che, in quanto anti-infiammatori, certamente ritardano il decorso della malattia ma al prezzo di pesanti effetti collaterali, quali ipertensione, obesità, osteoporosi ecc.

La forma più comune di distrofia, e una delle più gravi, prende il nome dal neurologo francese Guillaume-Benjamin-Amand Duchenne (1806-1875), che la descrisse in dettaglio verso la metà dell'Ottocento.

Nei pazienti distrofici le fibre muscolari sono più fragili del normale perché, come abbiamo visto, smettono di produrre la distrofina, codificata da un gene enorme composto di due milioni e quattrocentomila basi, il più grande del nostro genoma e il più grande che si conosca finora in natura.

Dopo il suo sequenziamento ad opera di Kunkel, si capì che la distrofina è una proteina del citoscheletro della fibra muscolare, una complessa struttura di proteine che costituiscono lo scheletro della cellula, che permette alla fibra di resistere allo stress della contrazione dopo un qualsiasi movimento o sforzo: la membrana della fibra muscolare, infatti, ha lunghezza uniforme e quando la fibra si contrae e si accorcia si accartoccia, un po' come fa una fisarmonica, per poi ridistendersi durante il rilascio. Senza la distrofina la membrana è più fragile e si danneggia durante la contrazione, ioni calcio entrano in eccesso e attivano degli enzimi (proteasi) che iniziano a digerire la fibra. Il danno è in un primo momento riparato da alcune cellule progenitrici, le già note cellule satelliti, ma queste, fossero pure cellule staminali (del che dubito), sarebbero delle dilettanti al confronto di quelle emopoietiche. Prova ne è il fatto che presto esauriscono il loro potenziale e i muscoli vengono quindi sostituiti da tessuto fibroso, rendendo ogni tentativo di cura quasi impossibile. Infatti, qualsiasi agente terapeutico, perfino un farmaco tradizionale, trova un muro, una sorta di spessa cicatrice di sostanze fibrose all'interno dei muscoli, che impedisce l'accesso alle poche cellule sopravvissute e che ancora potrebbero produrre la distrofina.

### *I primi trapianti cellulari per la distrofia e perché non funzionarono*

Fu nel 1989 che Terry Partridge pubblicò su «Nature» il famoso esperimento condotto all'Hammersmith Hospital di Londra, nel quale un trapianto di cellule satelliti avevano completamente colonizzato un muscolo di topo distrofico, iniziando a produrre distrofina. Sulla base dell'entusiasmo del momento alcuni trial clinici furono subito iniziati in Canada e negli Stati Uniti. Le cellule venivano isolate da un donatore (un genitore del paziente, in quel caso), cresciute in coltura e poi iniettate in molti siti diversi di un singolo muscolo del malato. I risultati furono deludenti per una serie di motivi che sarebbero stati evidenti a un'analisi accurata della situazione, e che invece la fretta aveva fatto trascurare. Cito di seguito i tre più importanti.

Tanto per cominciare, le dimensioni: un muscolo di topo è grande come o poco più di un chicco di riso. È facile quindi iniettare le cellule in tutto il suo volume, con una singola iniezione. Quelli umani, fossero anche quelli di un bambino, sono circa mille volte più grandi in scala (un topo adulto pesa 30 grammi, il peso dei bambini varia con l'età) e per coprire l'intera area di un singolo muscolo di iniezioni ne servirebbero migliaia, soprattutto perché, come si scoprì successivamente, le cellule migrano di appena un millimetro, spesso anche meno, dal sito d'iniezione.

Altro punto cardine: mentre i topi di laboratorio sono tutti uguali tra loro, come fossero gemelli – solo topi e ratti possono essere allevati in modo da

ottenere che tutti gli individui siano immunologicamente identici –, negli esseri umani genitori e figli lo sono solo in parte, dato che le due metà del corredo genetico del figlio sono equamente ripartite tra madre e padre. Di conseguenza se un soggetto umano viene sottoposto a trattamento cellulare rigetterà comunque le cellule di un donatore, fosse anche un genitore, perché verranno riconosciute come estranee, a causa della parte di corredo che non corrisponde; l'unico modo di evitare l'insorgere di questo potente meccanismo che vanifica la cura, causando ulteriori e pesanti patimenti, è di sottoporre il paziente a un regime di immunosoppressione tramite farmaci specifici che inibiscono la risposta immunitaria. Purtroppo negli esperimenti portati avanti allora l'immunosoppressione venne effettuata solo in alcuni trial: non si era capito che anche le cellule satelliti inducevano una robusta risposta immune ed erano di fatto rigettate.

Da ultimo, il problema maggiore risultò essere la scarsissima sopravvivenza delle cellule al trapianto diretto nel muscolo. La stragrande maggioranza di quelle iniettate muore infatti già il primo giorno, in parte perché le cellule non emopoietiche non sopravvivono quando non sono ancorate alla matrice extra-cellulare, che forma l'impalcatura dei tessuti, in parte per motivi che ancora ci sfuggono. Questo fenomeno si verifica anche nei muscoli del topo, ma la maggiore capacità di proliferare posseduta dalle cellule del roditore rispetto a quelle umane e le minime dimensioni del muscolo iniettato spiegavano la differenza tra il successo nel topo e il fallimento nell'uomo. Molti anni dopo quegli esperimenti Partridge era solito dirmi, ogni volta che ci incontravamo in un congresso scientifico e tornavamo sull'argomento: «Non è rimasto un solo topo distrofico in Europa e Nord America che non sia stato curato in un modo o in un altro». Ma quanto ai pazienti...

Questo, a prima vista, potrebbe essere un forte argomento in favore di quanti si oppongono alla sperimentazione animale ai fini della ricerca scientifica, poiché la sperimentazione sul topo distrofico (lo stesso è vero in ambito oncologico) non è predittiva del risultato che poi si otterrà nei pazienti umani. In realtà, le cose sono ben più complicate, se si superano slogan e luoghi comuni. La sperimentazione su piccoli e grandi animali è *necessaria* per arrivare alla sperimentazione clinica, ma *non sufficiente* per predire il risultato. Se una terapia non funziona nel topo, è inutile andare avanti e bisogna cambiare strada. Se invece funziona, come nel caso iniziale di Partridge e come successe a me circa dieci anni dopo, bisogna passare a un grande animale, con una fisiologia più simile alla nostra e soltanto in caso di risultati positivi si può passare all'uomo. Se i ricercatori clinici nei primi anni novanta non avessero ceduto al desiderio, umano e comprensibile, di provare subito una terapia sui pazienti, avrebbero potuto sperimentare più a lungo sui cani affetti dalla distrofia di Duchenne e scoprire che dimensioni dei muscoli

e diversità immunologica rappresentano barriere enormi, da superare prima di arrivare all'uomo. Molto dopo quegli eventi ho ripreso le ricerche su questo tipo di trapianto cellulare, ma con un approccio diverso e soprattutto avvalendomi di cellule diverse.

Come anticipato nel primo capitolo, nel 1998 avevo pubblicato con alcuni colleghi del San Raffaele di Milano, Giuliana Ferrari e Fulvio Mavilio, un articolo su «Science» in cui riportavo che nel midollo osseo esistono alcune cellule, molto poche in verità, che sono in grado di formare fibre muscolari durante la rigenerazione del muscolo scheletrico successiva a un danno. Cercando di studiare l'origine delle cellule del midollo capaci di formare muscolo ero arrivato, nel giro di un paio d'anni, a identificarle nei vasi sanguigni dell'embrione e anche nei vasi sanguigni dei muscoli del soggetto subito dopo la nascita. Se isolate nell'embrione, inoltre, queste cellule erano in grado di contribuire alla generazione di molti tessuti del mesoderma ma non a quella del sangue, né del sistema nervoso o degli epitelii. Quando isolate dai vasi dei muscoli dopo la nascita, invece, formavano unicamente muscolo liscio (il loro destino naturale) e muscolo scheletrico. Si tratta quindi di cellule progenitrici diverse dalle cellule satelliti, che formano esclusivamente fibre muscolari, cui assegnammo il nome di «mesoangioblasti».

Oggi sappiamo che questi costituiscono una sottopopolazione dei periciti, le cellule scoperte dal fisiologo francese Charles Rouget (1824-1904) nell'Ottocento, che circondano i piccoli vasi sanguigni di cui regolano alcune funzioni, come la contrazione e la permeabilità. Una volta isolati, riuscii a far crescere i mesoangioblasti in coltura, prima nel topo e poi nell'uomo, e osservai che potevano formare nuove fibre muscolari. Insieme ai miei colleghi pubblicai molti lavori su queste cellule, tra cui uno studio in cui analizzammo tutti i geni da loro espressi con una metodologia che si chiama «micro-array», un sistema per misurare simultaneamente l'espressione di migliaia di geni di un certo tessuto o tipo cellulare. Si basa sul legame (ibridazione) del gene con una sequenza complementare precedentemente legata a un micro-pozzetto di plastica. Mi resi conto che queste cellule producono alcune delle proteine che, in caso d'infiammazione, i globuli bianchi usano per legarsi tra loro e attraversare l'endotelio, l'epitelio sottile che riveste la parete interna dei vasi, e l'intera parete dei capillari.

Si dà il caso che nella distrofia muscolare il danno alle fibre si accompagni a un'infiammazione cronica. Pensai allora che se avessimo iniettato i mesoangioblasti direttamente nelle arterie (in questa fase sperimentale ancora di topo), questi sarebbero stati capaci di legarsi, sebbene meno efficientemente dei globuli bianchi, e attraversare l'endotelio, raggiungendo così, con una sola iniezione, tutti i muscoli irrorati dall'arteria scelta. Iniettare una cellula nell'arteria di un topo non è cosa proprio semplicissima, ma imparammo la tecnica da un allora giovane neurologo, Yvan Torrente, che a

sua volta l'aveva appresa in Canada nel laboratorio dove questa metodologia era stata messa a punto.

Attraverso una serie di esperimenti preliminari dimostrai che se i mesoangioplasti erano iniettati in vena, si fermavano tutti nel primo filtro capillare che incontravano, i polmoni, dove non avrebbero potuto svolgere alcuna azione benefica, semmai causare danni, disponendosi tra vaso sanguigno e alveolo a ostacolare il passaggio dell'ossigeno. Se invece le cellule erano iniettate nell'arteria femorale, si distribuivano per circa la metà nei muscoli a valle della stessa e per il resto passavano nel circolo venoso per arrestarsi nel fegato, nella milza e nei polmoni. Questa osservazione sembrò offrirmi un'arma potente per poter ovviare al problema della distribuzione delle cellule nei muscoli da raggiungere.

Iniziiò così, verso la fine del 2001, una nuova sperimentazione pre-clinica sui topi distrofici, circa dieci anni dopo i fallimenti conseguenti al trapianto delle cellule satelliti direttamente nei muscoli. Il trapianto funzionò bene, anche se i topi non tornarono mai normali.

Tuttavia, misurai senz'ombra di dubbio che la loro funzione motoria era migliorata e che in molti muscoli era riapparso il sarcoglicano, il prodotto del gene mutato in questa distrofia del topo, che è un modello per la distrofia dei cingoli. Insomma, se i muscoli non tornavano a uno stato normale, i segni della malattia si attenuavano, e di molto. La cosa sembrava funzionare sia con cellule sane prelevate da un altro topo (lo ricordo, i topi sono tutti identici tra loro) sia con cellule del topo malato, dopo che queste fossero state geneticamente corrette, quindi «curate» con un vettore virale che esprimeva la proteina mancante nelle cellule malate. Fu questo il lavoro pubblicato su «Science» nel 2003 che attirò sul nostro gruppo una grande attenzione, sia da parte della comunità scientifica sia di molti malati. La situazione era finalmente propizia, e abbastanza matura per tentare la sperimentazione su un gruppo di pazienti.

### *Mesoangioplasti: dai modelli animali alla sperimentazione sull'uomo*

Memori dei fallimenti precedenti, prima di iniziare un trial clinico sui pazienti provai lo stesso trapianto in un modello di distrofia muscolare in un grande animale, il Golden Retriever.

Qualche decennio prima dei nostri esperimenti, in un allevamento di cani negli Stati Uniti era nato un cane zoppicante e il veterinario che seguiva gli animali sospettò subito fosse affetto da distrofia muscolare. Anche se la conferma giunse solo molti anni dopo, quando il gene della distrofina fu clonato e sequenziato, la madre del cucciolo distrofico fu mantenuta in vita come portatrice. È importante a questo punto ricordare che in tutti i

mammiferi affetti dalla distrofia di Duchenne, sono solo i maschi ad ammalarsi, mentre le femmine sono portatrici sane e tutt'al più sviluppano sintomi minimi della malattia<sup>7</sup>. Fu così costituita all'epoca una prima colonia di cani in cui la metà dei nati maschi sviluppa una forma di distrofia molto simile a quella umana. Con il tempo la pratica di creare colonie di questo tipo si è diffusa per scopi di ricerca scientifica e fu per questo che noi iniziammo a collaborare con la scuola veterinaria di Maisons-Alfort, comune alla periferia di Parigi, dove esisteva la colonia di cani distrofici più vicina a Milano.

Uno dei miei collaboratori di allora, Maurilio Sampaolesi, ora professore a Ku Leuven in Belgio, doveva prima prendere un aereo per la capitale francese e successivamente tornare con una biopsia muscolare dei cani malati, da cui venivano isolati e coltivati i mesoangioblasti, sia normali che distrofici. Questi ultimi erano poi geneticamente corretti in coltura con un vettore virale che esprimeva una micro-distrofina. Perché una versione miniaturizzata? Per il motivo che la distrofina intera non entra in un vettore virale, che ha una capacità limitata, sufficiente per geni più piccoli che causano altre forme di distrofia, ma non abbastanza grande per la proteina intera. Successivamente, una volta pronte le cellule, Rossana Tonlorenzi, mia collaboratrice tecnica, si recava in laboratorio durante la notte e le preparava in piccoli tubi sterili che Sampaolesi passava a prendere al mattino in modo da prendere il primo aereo utile per Parigi, così che le cellule fossero iniettate nelle arterie dei Golden Retriever prima di mezzogiorno. Scioperi improvvisi delle compagnie aeree, cattive condizioni meteorologiche, scioperi a Parigi di metro e/o taxi sarebbero risultati tutti rischi mortali per il progetto, strutturato su tempi strettissimi per mantenere le cellule in vita, ma in questo fummo fortunati.

I cagnolini trapiantati miglioravano la loro motilità e cominciai a trovare distrofina espressa nelle fibre muscolari. Non in tutti i cani trattati però. Quelli trapiantati con le loro stesse cellule «corrette» in laboratorio, in particolare, migliorarono pochissimo o nulla. Capii soltanto parecchi anni dopo che la micro-distrofina funziona in un topo dentro una gabbia dove l'animale si muove poco, ma non in un cane da caccia che appena può corre. Infatti venimmo a sapere che bastava far correre su una ruota (come quella che usano i criceti) i topi distrofici curati con la micro-distrofina per far ricomparire la malattia. Questo risultato mi indusse a scartare, nel caso della sperimentazione sull'uomo, l'idea di usare le cellule del paziente geneticamente corrette con la micro-distrofina e a pianificare il trial clinico scegliendo cellule normali da un donatore sano, un fratello che fosse immunologicamente simile al paziente. Cosa significa però «immunologicamente simile»? Le cellule del nostro corpo esprimono gli Hla (*Human Leukocyte Antigens*, antigeni leucocitari umani), differenti in persone diverse in modo analogo ai gruppi sanguigni, per cui quando sono identici in due individui distinti, riducono di molto la risposta immune e il rischio di

rigetto. Gli esseri umani ereditano un tipo di Hla dal padre e un altro dalla madre, per cui due fratelli hanno una probabilità su quattro di avere ereditato entrambi gli stessi Hla sia dal padre che dalla madre. In questo caso le cellule del fratello sano saranno quasi del tutto compatibili con i tessuti del paziente distrofico. Uso l'avverbio «quasi» volutamente, perché oltre agli antigeni maggiori appena introdotti, esiste anche una numerosissima serie di antigeni minori che sono uguali tra loro in due individui diversi solo nel caso dei gemelli identici.

Per questo motivo programmai di usare una bassa dose d'immunosoppressione che poi, in effetti, si rivelò essere ben tollerata dai pazienti. Ci rivolgemmo quindi al Duchenne Parent Project (Dpp) italiano, un'associazione di genitori di pazienti Duchenne attiva in molti paesi, grazie alla cui mediazione entrammo in contatto con le famiglie costituite da genitori con almeno due figli, un bambino malato e un fratello sano. Tra questi ultimi, come visto nel primo capitolo, sei risultarono eleggibili come donatori e quindi sei fratelli malati furono selezionati per il trial.

Misurare correttamente l'effetto di una qualsiasi terapia per una malattia neuro-muscolare è un problema non da poco e la sua soluzione si basa ancora oggi su test di attività motoria volontaria che richiedono una piena collaborazione dei pazienti, cosa non sempre facile quando questi sono bambini. In quegli anni (lo ricordo, siamo nella seconda metà degli anni zero), per di più, non esisteva alcun metodo standardizzato tanto la malattia era considerata incurabile, per cui dovemmo strutturare dal nulla un trial osservazionale misurando la funzione motoria di ventotto bambini (i sei scelti più i ventidue che si erano offerti per la fase di controllo), ogni tre mesi, per un totale di quindici mesi complessivi. La procedura reiterata nel tempo mi diede come risultato una curva che misurava il loro progressivo declino motorio nel periodo di osservazione. Mi aspettavo che la funzione motoria migliorasse solo nei pazienti sottoposti al trapianto, ma non negli altri.

Il 15 marzo 2011 procedemmo al primo trapianto e, nonostante una serie di imprevisti sul piano logistico che riuscimmo a risolvere, il trial si concluse in poco più di due anni. Trattandosi di un trial di fase I/II, i risultati attesi riguardavano la sicurezza del trattamento, cioè la natura degli eventi avversi (ad esempio trombosi, infezioni ecc.) che avrebbero potuto verificarsi, e la sua efficacia iniziale, che esaminammo come effetto sulla funzione motoria.

I risultati mostrarono che il trattamento era sicuro ma l'efficacia minima, anche se nel paziente più giovane osservai un effetto che descriverò a breve. Ancora una volta, risultati promettenti nei modelli animali non si erano confermati tali nei pazienti.

Spero di arrivare presto a un nuovo trial, con un protocollo migliorato, una nuova strategia di correzione genetica, questa volta effettuata nelle cellule dei pazienti senza ricorrere a fratelli immunologicamente compatibili. Conto

infine di riuscire a selezionare bambini molto piccoli nella speranza, supportata da nuove prove sui modelli animali, che si possa arrivare all'efficacia clinica dell'intervento. Se guardo indietro a quegli anni, la delusione, rispetto alle aspettative suscitate dai risultati nei cani distrofici, fu forte e dolorosa, soprattutto nell'osservare l'inarrestabile progressione della malattia nei bambini che a quel trial avevano partecipato.

### *Non c'è un piano B*

Tra i bambini trattati, è il caso di un paziente di allora nove anni, che chiamerò «Alessandro», ad avermi colpito in modo particolare.

Quando iniziamo il trapianto di cellule Alessandro cammina ancora, ma i segni della malattia sulla sua deambulazione sono evidenti: la schiena inarcata e il busto all'indietro denotano quella che con termine tecnico viene chiamata «andatura anserina». Il metodo più comunemente usato per misurare la motilità dei pazienti distrofici è chiamato *Six-Minute Walk Test*, ed è generalmente condotto in una palestra: il paziente deve camminare per sei minuti e il numero di metri che riesce a percorrere indica la sua motilità residua; minore è il numero dei metri percorsi, più vicino sarà il momento in cui dovrà ricorrere alla sedia a rotelle. Alessandro, che seguiamo da più di un anno, sta peggiorando rapidamente e i genitori ripongono molta fiducia nel trapianto di cellule che stiamo per iniziare (è la primavera del 2011). Come medici e sperimentatori del trial, spieghiamo chiaramente ai genitori e ad Alessandro che questo studio clinico serve solo a verificare la sicurezza del trapianto e non bisogna quindi attendersi un beneficio, soprattutto per non crearsi false illusioni. Inizia il primo dei quattro trapianti consecutivi e i genitori ci annunciano che Alessandro sta meglio, cammina più sicuro, cade di meno e questa tendenza è confermata dal fisioterapista che lo segue. Ma queste sono appunto impressioni e la suggestione può fare molto (il famoso effetto placebo). Servono dati oggettivi. Andiamo in palestra e il peggioramento continuo dei mesi precedenti rallenta: il numero di metri percorso si stabilizza. Non ci sono però chiari miglioramenti. Finalmente arriva il risultato della biopsia e nel muscolo trapiantato è presente la distrofina. È molto poca ma è la prima prova tangibile e inequivocabile che almeno qualcuna delle cellule donate dal fratellino ha formato qualche fibra muscolare sana, o quasi. Tra noi clinici sussurriamo che è troppo presto e troppo poco per cantare vittoria, però... Nella comunicazione con Alessandro e con i genitori manteniamo un atteggiamento professionale, anche se è evidente che stanno confidando che qualcosa possa cambiare nel decorso della malattia e ci leggono dentro la stessa, piccola speranza, sebbene dalle nostre parole non trapeli nulla. Passano i mesi e Alessandro rimane stabile sia



nelle condizioni cliniche sia nelle prove in palestra. Poi qualcosa cambia, in peggio.

Alessandro cresce in altezza e in peso, i suoi muscoli anche, ma le cellule trapiantate sono sempre quelle, poche, troppo poche. Il ragazzo cade e fa fatica a riprendere a camminare. Il quadro clinico peggiora rapidamente e così le prove in palestra. Proviamo un quinto trapianto, avendo ancora cellule a disposizione, ma non cambia più nulla. Dopo qualche altro mese, Alessandro è confinato sulla sedia a rotelle. Ricordo un colloquio teso con i genitori che mi chiedono quale sarà la prossima mossa, come penso di risollevarla la situazione. La risposta è concisa e purtroppo drammatica: «Non lo so». Non c'è un piano B. Mi appello alle cose dette tante volte: «Non abbiamo mai parlato di terapia, di miglioramenti». Formalmente il nostro comportamento è stato corretto. Non sono più sicuro che avere iniziato quest'avventura sia stata la scelta giusta.

Anche quando si è animati dalle migliori intenzioni, infatti, anche quando i pazienti scelgono consapevolmente di partecipare a un trial clinico, è complicato rimanere distaccati e gestire i rapporti umani in base a dei meri risultati scientifici, soprattutto se questi sembrano aprire delle possibilità di guarigione.

#### L'INFARTO DEL MIOCARDIO. DIMENSIONE DIVERSA, ANALOGO RISULTATO

A partire dai primi anni duemila molti trial clinici di terapia cellulare sono stati condotti per un gran numero di malattie genetiche o acquisite. Tra queste, una delle più studiate è stata l'infarto del miocardio, altro caso caratterizzato da grandi speranze e cocenti delusioni. L'infarto del miocardio è purtroppo un evento molto frequente, tra le principali cause di morte nei paesi occidentali. Si tratta dell'ostruzione improvvisa di un vaso sanguigno che nutre una parte del muscolo che costituisce la parete del cuore. L'ostruzione è quasi sempre causata da un frammento della parete di un vaso a monte; se questa è danneggiata il frammento si stacca dalla placca aterosclerotica, una massa di grasso e tessuto fibroso che si accumula nei vasi con gli anni e in seguito a una dieta ricca di grassi e zuccheri. Esso circola finché non si arresta d'improvviso in un vaso più piccolo della sua massa e ferma il flusso di sangue nel tessuto a valle che, poco dopo, muore per mancanza di ossigeno. Nonostante il trattamento acuto dell'infarto sia migliorato molto negli ultimi decenni (grazie a farmaci antiaggreganti, anticoagulanti, nitrati ecc.), in una buona percentuale di casi – e a seconda dell'estensione dell'area infartuata –, la parte morta viene sostituita da una cicatrice incapace di contrarsi, e il cuore si trova così a fare enorme fatica per

pompare il sangue a ogni pulsazione. Con il tempo il sangue si accumula nel ventricolo, il cuore si dilata e il paziente va incontro a una cardiomiopatia dilatativa che porta all'insufficienza cardiaca. Seguirà un necessario trapianto di cuore o il paziente alla fine morirà.

Nel 2001 Piero Anversa, un patologo italiano attivo da tanti anni negli Stati Uniti, aveva pubblicato un articolo secondo cui le cellule isolate dal midollo osseo sarebbero state in grado di dare origine a nuove cellule cardiache se iniettate dopo un infarto, migliorando così la funzione cardiaca<sup>8</sup>. Il lavoro non fu riprodotto da altri laboratori, i quali dimostrarono invece che queste cellule riescono al massimo a stimolare la formazione di nuovi vasi sanguigni aumentando così l'apporto di ossigeno alla parte superstite adiacente all'infarto. Per quanto interessante e importante, l'effetto è modesto e la zona del cuore che è morta con il trattamento di certo non risuscita.

A tutt'oggi non è quindi possibile sostituire la cicatrice del cuore con un nuovo tessuto muscolare funzionante. Questo sarebbe l'obiettivo della medicina rigenerativa per tale patologia, ma non esiste una prova che ciò accada in misura tale da portare a qualche miglioramento. Ancora una volta molti gruppi di ricerca partirono subito con numerosi trial clinici, a fronte dei modesti risultati appena evidenziati; a differenza della distrofia muscolare, l'infarto del miocardio è purtroppo molto comune e ci sono ben altri interessi economici dietro la possibilità di sviluppare una terapia efficace, con cellule o in qualunque altro modo, come vedremo in dettaglio nel capitolo 6.

Com'era lecito aspettarsi, in tutti i trial clinici i cui risultati sono stati pubblicati, gli effetti sono stati modesti e transienti o addirittura nulli, tanto che una meta-analisi (cioè uno studio comparativo dei vari trial già conclusi) ha dimostrato che dove i criteri sperimentali erano stati rigorosi non si osservava alcun beneficio dal trattamento, mentre erano gli studi con lacune metodologiche a riportare i pur modesti benefici. Insomma un completo fallimento.

*Provando e riprovando, alla fine dovrà funzionare!*

In base a queste considerazioni ritenevo che non ci fossero ancora trial clinici seri e che non ce ne sarebbero stati fino a quando non si fosse trovato il modo di sostituire il tessuto morto con un nuovo miocardio funzionante.

Nei primi mesi del 2018 ho pertanto svolto una piccola ricerca su quanti trial operativi con cellule staminali siano attualmente registrati su ClinicalTrials.gov<sup>9</sup>, il sito web del governo americano che funge da database degli studi clinici finanziati da fondi pubblici e privati in tutto il mondo (l'equivalente europeo si chiama EudraCT<sup>10</sup>). Ho trovato in tutto centonove trial, di cui appena cinquantasei completati, ma di questi solo sette

riportavano i risultati. Cerchiamo di analizzare la situazione nel dettaglio. Tanto per iniziare, se centonove sono i trial registrati su ClinicalTrials.gov, probabilmente saranno altrettanti su EudraCT e molti, molti di più saranno quelli non registrati.

Perché si registra un trial clinico? Per far sapere alla comunità medico-scientifica, ai pazienti e a chiunque sia interessato che in un certo ospedale nel mondo si programma, si conduce o si è conclusa una sperimentazione basata sulla somministrazione di un nuovo farmaco (di cellule staminali o comunque di un nuovo trattamento) a pazienti affetti da una certa malattia aventi specifiche caratteristiche, chiamate in gergo «criteri di inclusione» (età, sesso, assenza di altre malattie ecc.). Dal punto di vista dei ricercatori coinvolti, l'essere registrati su un sito ufficiale offre, o meglio, dovrebbe offrire una garanzia di serietà e professionalità. In realtà serve davvero poco per registrare un trial: tipo di malattia, numero di pazienti previsto, tipo di trattamento, sede o sedi dove si svolgerà e stato di avanzamento dei lavori (in fase di reclutamento dei pazienti, in corso o concluso). Molti trial inoltre, alla voce «Documentazione di supporto», cioè le prove che l'eventuale terapia possa funzionare, scrivono «Nessuna». In altre parole il registro è un elenco, non sufficiente a garantire che il trial sia condotto secondo le norme vigenti. La situazione peggiora ulteriormente se cerchiamo i trial che pubblicano i propri risultati: sui cinquantasei completati, sono solo sette. Degli altri quarantanove non sappiamo e probabilmente non sapremo mai nulla, se i pazienti abbiano ricevuto un beneficio (e in caso, di quale entità) o se invece abbiano subito degli effetti non previsti, eventi avversi anche gravi.

Almeno una delle cause di questa incredibile situazione è di natura commerciale. Se vogliamo continuare a vendere la nostra terapia non conviene far sapere che non funziona, o funziona troppo poco per giustificare costi e rischi per i pazienti. Ormai sono passati più di dieci anni dalle prime sperimentazioni cliniche con cellule staminali per l'infarto del miocardio e altre malattie del cuore, e di pazienti guariti o anche solo chiaramente migliorati non se ne sono ancora visti. Il perché oggi più o meno lo sappiamo: le cellule iniettate sopravvivono in piccola percentuale, producono magari per breve tempo fattori solubili che migliorano la sopravvivenza delle cellule non immediatamente uccise dall'infarto, ma non riescono a formare nuove cellule del cuore, i cardiomiociti, per cui il loro modesto effetto dura poco. Esistono nuove strategie, ma per ora non in sperimentazione clinica.

Si è pensato di ricorrere anche alle cellule riprogrammate del paziente: le iPSc potrebbero generare nuovi cardiomiociti e ne potremmo creare così tante da compensare l'inevitabile e massiccia morte cellulare che segue il trapianto, esattamente come accade per il muscolo scheletrico. È probabile che nei prossimi anni si darà il via libera a dei trial che si avvalgano di queste cellule, e non resta che attendere per scoprire come vanno le cose, almeno per quelli

condotti in modo serio e rigoroso. Nel frattempo, molte *companies* continuano a trattare i pazienti a prezzi esorbitanti nonostante l'impossibilità di dimostrare un effettivo beneficio.

Su questo fronte, l'ultimo esempio di questa pratica di cui sia venuto a conoscenza riguarda una *company* statunitense che aveva sviluppato, negli ultimi anni, un prodotto medicinale basato sulle cardiosfere. Si tratta di microscopiche palline costituite da cellule progenitrici e cellule differenziate e si suppone, ma non ne sono certo, da cellule staminali, sulla cui reale esistenza nel cuore vi è oggi grande scetticismo. Le cardiosfere furono inizialmente sviluppate nel mio laboratorio di Roma, nei primi anni duemila, da Elisa Messina e Alessandro Giacomello, ricercatori ospiti che avevano avuto l'intuizione di estendere al cuore il lavoro allora di moda sulle neurosfere, per i quali feci da consulente. Il principio con cui si forma una sfera è semplice: fatta esclusione per quelle del sangue, le cellule non riescono a vivere in sospensione, pertanto quando le forziamo in questa condizione, ad esempio crescendole in contenitori di plastica non adatti all'adesione cellulare, o muoiono o formano una sfera. In quest'ultimo caso la cellula isolata si divide in due cellule figlie che, non trovando appigli cui aggrapparsi, restano adese tra loro fino al momento della nuova divisione, al termine della quale anche le quattro nuove cellule resteranno unite tra loro, e così via. In assenza di costrizioni nello spazio la struttura cresce come una sfera. Di solito le cellule esterne continuano a dividersi mentre quelle interne iniziano a differenziare. È attraverso questa procedura che, utilizzando le cellule del sistema nervoso, si formano le neurosfere mentre, nel caso di cellule isolate dal cuore, le cardiosfere, come fu dimostrato nel mio laboratorio.

L'articolo fu pubblicato nel 2004 sulla rivista «Circulation Research»<sup>11</sup>; poco dopo un gruppo americano iniziò a collaborare con questi ricercatori per sviluppare il prodotto medicinale. Personalmente avevo qualche riserva sull'idea di iniettare queste microscopiche palline nelle arterie coronarie di pazienti cardiopatici; poiché contengono tanto cellule differenziate che indifferenziate unite insieme, si ritiene che le sfere riescano a colonizzare meglio il tessuto cardiaco infartuato, o comunque quello patologico.

La *company* arrivò a un trial clinico di fase III che mostrò assenza di ogni beneficio al trattamento – perlomeno questo fu il risultato, negativo, che venne divulgato –, le azioni in borsa crollarono. La storia non si chiude qui: come un'araba fenice, la stessa azienda ha iniziato una sperimentazione, tuttora in corso, su pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne già in una fase avanzata della malattia e, ancora non bastasse, con cellule derivate da un donatore, con tutti i problemi immunologici ormai noti. L'azienda ha ben pensato di esplorare un nuovo mercato riproponendo la cura con le cardiosfere ai pazienti distrofici, che non hanno terapie cellulari serie per

l'insufficienza cardiaca che accompagna la patologia. In un recente convegno scientifico la *company* ha annunciato «risultati incoraggianti», suscitando così l'entusiasmo della comunità dei malati di Duchenne. Perché una terapia che ha fallito in diversi tipi di cardiopatia debba invece funzionare in quella distrofica, non mi è chiaro; comunque, non appena saranno diffusi conosceremo i risultati di questo nuovo trial.

La medicina rigenerativa è una disciplina impegnativa, la strada è lunga e piena di ostacoli da superare. A volte in questi ostacoli si inciampa o perché il ricercatore vuole vedere a tutti i costi il bicchiere mezzo pieno e sopravvaluta i risultati del suo lavoro, o perché esistono interessi commerciali che spingono a vendere la famosa pelle dell'orso prima di averlo abbattuto. Ma le cose non vanno sempre così: il trapianto di cornea è un caso di collaborazione virtuosa tra accademia e industria che ha dato i suoi frutti, culminando in una terapia di successo.

#### IL TRAPIANTO DI CORNEA: QUANDO I CONTI TORNANO

Torniamo a parlare di epitelio e di uno in particolare, la cornea, che ricopre la superficie esterna dell'occhio. Essa è una membrana trasparente, mantenuta umida dalle lacrime che produciamo di continuo senza rendercene conto.

Dovendo mantenere un'assoluta trasparenza, così che la luce possa raggiungere la retina che la converte in un impulso nervoso per informare il cervello di cosa vediamo, la cornea è molto delicata. Ustioni anche leggere, provocate ad esempio da uno schizzo di acido, o infezioni più severe la possono danneggiare; quando va bene, la membrana viene riparata da alcune cellule staminali localizzate al suo margine, al confine con la congiuntiva, la parte bianca del nostro occhio. Quando invece va male e il danno la coinvolge interamente, non c'è rigenerazione e l'occhio viene presto ricoperto dalla proliferazione della congiuntiva (come fosse una cicatrice), che però è opaca e causa la perdita parziale o completa della vista. Il trapianto di cornea da cadavere è una delle possibili soluzioni, ma spesso richiede immunosoppressione ed è limitato dalla difficoltà di reperire cornee in buono stato di conservazione.

Tuttavia, di occhi ne abbiamo due. Nelle ustioni unilaterali è possibile isolare le cellule staminali dall'occhio sano, crescerle in coltura su un supporto trasparente fatto di fibrina – avente la forma esatta di una cornea – e che il chirurgo applica sulla superficie dell'occhio dopo aver rimosso meccanicamente la congiuntiva che lo ricopriva. Questo trattamento ha successo in circa l'80% dei pazienti, che tornano a vedere perfettamente dall'occhio trapiantato. I primi tra questi a sperimentare la terapia continuano

a vedere a ormai vent'anni dal trapianto, si può pertanto dire che essa sia stabile e in grado di guarire. Tramite questa tecnica si possono trattare anche le gravi ustioni bilaterali della cornea (spesso quindi con persone virtualmente cieche) a patto di trovare, in uno dei due occhi, ancora un piccolo frammento intoccato contenente le cellule staminali da coltivare.

I casi d'insuccesso che non siano dovuti a un'infezione accidentale, sono conseguenti al numero di cellule staminali effettivamente presenti nella coltura. Per i primi decenni dopo la loro scoperta, infatti, non era possibile identificare con esattezza quali cellule fossero staminali all'interno di una coltura, ma oggi sappiamo che queste esprimono una specifica proteina nel nucleo che permette di individuarle, dal bizzarro nome di «p63 $\Delta$ N $\alpha$ ». Grazie a una metodica detta «immunofluorescenza», si può colorare un tessuto tramite un anticorpo che riconosce e si lega unicamente a questa specifica proteina delle staminali. Osservando poi il preparato al microscopio a fluorescenza, le strutture riconosciute dall'anticorpo (i nuclei, in questo caso) saranno fluorescenti se esprimono la proteina, scuri altrimenti. Si poté così osservare che in tutti i casi trattati in cui le cellule staminali erano meno del 3% della popolazione totale il trapianto falliva, mentre aveva successo quando superavano tale soglia. Per questo motivo è oggi possibile stabilire in anticipo quando effettuare il trapianto e quando no.

Nel 2015 le cellule epiteliali corneali espanse in laboratorio sono state in assoluto il primo prodotto di terapia avanzata a base di cellule staminali della storia a ricevere la *marketing authorization* dall'Ema, il primo a essere immesso sul mercato con il nome «Holoclar»<sup>12</sup> e quindi offerto ai pazienti come terapia a carico dei sistemi sanitari nazionali in Europa. Forse non è un caso che questo successo abbia, come protagonisti, Graziella Pellegrini e Michele De Luca (allievo di Howard Green), che come vedremo hanno speso la loro vita a trasformare la scienza di base sulle cellule staminali epiteliali in nuove terapie.

\*\*\*

Alla fine di questo *excursus* che conclusione possiamo trarre, al di là del fatto ora ovvio che alcune terapie cellulari funzionano mentre altre – molte di più – ancora no? Che cosa distingue i successi dai fallimenti? Esistono strade per trasformare anche questi ultimi in terapie efficaci?

Innanzitutto, come anticipato parlando del trapianto di midollo, i successi si verificano sempre quando si riescono a far attecchire in modo stabile le cellule trapiantate nel tessuto malato. Ciò si può ottenere facilmente nel caso di malattie che colpiscono il sangue o gli epitelii: per il primo, con i farmaci

citotossici è possibile eliminare parte delle cellule del midollo osseo creando «spazio» per le cellule trapiantate. Anche nel caso dei secondi, è il chirurgo a rimuovere con il bisturi l'epitelio da sostituire così che il nuovo tessuto trapiantato è costituito al 100% da cellule sane o curate. *Fare posto alle cellule sane* è quindi una pratica fondamentale.

Nel caso dei muscoli, del cuore o del cervello per motivi evidenti non è possibile rimuovere il tessuto malato e le cellule trapiantate devono competere con le cellule malate che rimangono ancora presenti nella parte colpita. Non conviene nemmeno aspettare che le cellule residenti muoiano, perché a questo evento segue un accumulo di denso tessuto fibroso che tende ad aggravare la situazione. Come si può superare questo problema? In qualche caso una soluzione sembra possibile: *in primis*, nel trattamento della leucodistrofia metacromatica, una malattia rara di cui parlerò nel prossimo capitolo, si possono modificare in laboratorio cellule molto diverse da quelle colpite così che producano una grande quantità della proteina la cui assenza causa la malattia; ciò funziona bene quando la proteina in questione può essere rilasciata e captata dalle cellule residenti malate. Nel caso del muscolo scheletrico, invece, si può sfruttare il fatto che le fibre muscolari che lo compongono sono cellule molto grandi contenenti anche centinaia di nuclei: è quello che stiamo cercando di fare nel mio laboratorio di Manchester. Se riusciamo a far incorporare in una fibra muscolare malata la cellula trapiantata, possiamo cercare di ingegnerizzarla in modo che riesca a correggere geneticamente anche i nuclei vicini. Per quanto riguarda il cuore, infine, una soluzione potrebbe essere costituita dalla preparazione di strati di tessuto muscolare cardiaco sano da applicare sulla superficie dell'area infartuata. Solo il tempo ci dirà se queste o altre strategie funzioneranno bene o no.

Una seconda lezione importante emersa dai fallimenti è che per curare una malattia con cellule staminali dobbiamo essere in grado di isolare quelle malate nel paziente, espanderle in coltura e quindi «curarle», cioè correggere o sostituire il gene mutato. In tutti i tessuti che non hanno un rapido ricambio di cellule staminali (i tessuti stabili o perenni di Bizzozero) queste di solito non sono presenti, o non si riesce a crescerle in coltura per motivi che ancora ci sfuggono, o sono state consumate dalla malattia o, infine, quando anche riusciamo nel nostro intento e vengono trapiantate, non riescono a rinnovare il tessuto a lungo perché esauriscono presto la loro capacità di auto-mantenersi, riportando la situazione al punto di partenza.

Esiste però un altro approccio che promette di curare le cellule direttamente nella loro sede, *in vivo*, invece di sostituire le cellule malate con quelle sane, e che illustrerò nel prossimo capitolo: la terapia genica.

<sup>1</sup> G.R. Martin, *Isolation of a Pluripotent Cell Line from Early Mouse Embryos Cultured in Medium Conditioned by Teratocarcinoma Stem Cells*, in «Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America», v. LXXVIII, n. 12, 1981, pp. 7634-7638.

<sup>2</sup> Peter Coffey si è formato a Oxford ed è professore di oftalmologia a Ucl, e da pochi anni anche all'Università della California. Si occupa da sempre di malattie della retina.

<sup>3</sup> L. da Cruz *et al.*, *Phase 1 Clinical Study of an Embryonic Stem Cell-derived Retinal Pigment Epithelium Patch in Age-related Macular Degeneration*, in «Nature Biotechnology», v. XXXVI, n. 4, 2018, pp. 328-337.

<sup>4</sup> Mariano Barbacid, nato a Madrid nel 1949, ha studiato in Spagna per poi trasferirsi ai National Institutes of Health nel Maryland, dove ha svolto i suoi fondamentali studi sugli oncogeni. Nel 1996 è tornato nella sua città natale per fondare il Centro di oncologia molecolare (Cnio), che tuttora dirige.

<sup>5</sup> K. Takahashi, S. Yamanaka, *Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors*, in «Cell», v. CXXVI, n. 4, 2006, pp. 663-676.

<sup>6</sup> Olle Lindvall (1946) ha studiato a Lund ed è divenuto professore di neurologia clinica e presidente della Divisione di neurologia presso l'Ospedale universitario della città svedese. È stato il primo di un gruppo di studiosi internazionali a trattare il Parkinson attraverso la terapia cellulare.

<sup>7</sup> La Duchenne colpisce solo i maschi perché il gene della distrofina è localizzato sul cromosoma X. Gli esseri umani posseggono quarantasei cromosomi, ereditati metà dalla madre e metà dal padre. Quarantaquattro di questi, detti «autosomi», sono identici tra maschi e femmine, mentre due, detti «cromosomi sessuali», differiscono, XX nelle femmine e XY nei maschi. Quando si formano le uova e gli spermatozoi, i cromosomi si dividono, durante un processo chiamato «meiosi», in ventidue autosomi più un cromosoma sessuale per cellula; uova e spermatozoi contengono quindi la metà dei cromosomi delle cellule somatiche, così che quando alla fecondazione si fondono ricostituiscono il numero completo per una data specie. Le femmine posseggono due cromosomi X, pertanto tutte le loro uova contengono un cromosoma X. I maschi invece un cromosoma X e uno Y, quindi gli spermatozoi contengono alternativamente o un X o un Y. Ne consegue che quando uovo e spermatozoo si incontrano, il nascituro sarà un maschio se lo spermatozoo porta il cromosoma Y, o una femmina se invece porta il cromosoma X. Quando un gene subisce una mutazione (e quindi non produce la distrofina) il destino del nascituro dipende dal sesso: se i maschi ereditano il cromosoma X mutato, non ne hanno un altro sano e quindi si ammalano, se invece ereditano il cromosoma X sano, saranno del tutto normali e non trasmetteranno la malattia ai propri figli. Invece le femmine, se ereditano un cromosoma X mutato ne hanno un altro sano e quindi non si ammalano, ma quando avranno dei figli potranno trasmettere tanto il cromosoma sano quanto quello malato. Sono pertanto definite «portatrici sane» e devono, se a conoscenza della loro condizione, avvalersi di un consultorio genetico quando decidono di avere dei figli. La probabilità di dare origine a un figlio distrofico è esattamente del 50%, ma poiché la legge di Murphy («Se qualcosa può andare storto, lo farà») sembra avere la meglio sulle leggi della genetica di Mendel, è frequente incontrare una famiglia con due figli maschi entrambi malati.

<sup>8</sup> D. Orlic *et al.*, *Bone Marrow Cells Regenerate Infarcted Myocardium*, in «Nature», v. CDX, n. 6829, 2001, pp. 701-705.

<sup>9</sup> Cfr. <https://clinicaltrials.gov>.

<sup>10</sup> Cfr. <https://eudract.ema.europa.eu>.

<sup>11</sup> E. Messina *et al.*, *Isolation and Expansion of Adult Cardiac Stem Cells from Human and Murine Heart*, in «Circulation Research», v. XCV, n. 9, 2004, pp. 911-921.

<sup>12</sup> Holoclar è stato sviluppato all'Università di Modena e Reggio Emilia, con il supporto della casa farmaceutica Chiesi Farmaceutici di Parma.



4.

## Il gene altruista. La verità sulla terapia genica

Se gli esseri organici non possedessero un'intrinseca tendenza a variare, l'uomo non potrebbe fare nulla. Egli, pur senza intenzione, espone i suoi animali e le sue piante a varie condizioni di vita, e sopraggiunge quindi la variabilità, che lui non può prevenire né controllare.

C. DARWIN, *La variazione degli animali e delle piante allo stato domestico*, 1868

Non ho visto un solo paziente affetto dalla distrofia muscolare di Duchenne trattato con una terapia di medicina rigenerativa continuare a camminare e a muoversi per più di pochissimi mesi rispetto al periodo in cui si perde normalmente la capacità di deambulazione, qualunque fosse la terapia sperimentale ricevuta. Ho però assistito alla guarigione dopo un intervento di terapia genica di bambini affetti da gravissime immunodeficienze congenite, e li ho visti riprendere una vita perfettamente normale: qui non serve chiamare in causa alcuna statistica per giustificare la bontà della cura. Senza terapia genica ora quei bambini sarebbero morti; c'è quindi la speranza per noi ricercatori di inverare una vita di sforzi e continue frustrazioni in un straordinario risultato: la gioia dei bambini salvati. Quella che segue è la storia di trent'anni di lavoro, successi, delusioni, drammi e fatica.

### QUESTIONI DI CODICE

Ogni organismo biologico possiede un genoma, l'insieme di tutti i geni che ne costituiscono il corredo informativo, necessario alle operazioni di biosintesi delle proteine, i principali costituenti delle cellule e dei tessuti, più altro Dna che invece ha funzione regolativa (e probabilmente altre, ancora ignote). Il gene è un segmento di Dna composto da una sequenza ininterrotta di nucleotidi, a loro volta costituiti da quattro piccole molecole o basi azotate,

adenina (A), timina (T), guanina (G) e citosina (C) legate a uno zucchero, il desossiribosio. Questi composti prendono il nome di «nucleosidi». Quando legati al fosfato diventano appunto «nucleotidi» e sotto questa forma sono aggiunti al Dna nella fase in cui una cellula si divide e deve pertanto duplicarlo nella nuova cellula in formazione, o, in una fase successiva, all'Rna durante la trascrizione del Dna che serve a produrre le proteine. Il fosfato forma lo scheletro di due eliche complementari, la famosa «doppia elica» del Dna. È sorprendente e affascinante che dalla ripetizione di sole quattro basi azotate (A, T, G, C) origini tutta la diversità del mondo animale e vegetale.

A ogni tripletta di basi (ad esempio CCG), detta «codone», corrisponde uno specifico aminoacido, la molecola che, in quanto unità costitutiva delle proteine, è aggiunta in sequenza ad altri aminoacidi per formare la proteina in costruzione. Poiché le combinazioni di triplette sono 74 e gli aminoacidi sono solo 20, ogni aminoacido può essere codificato da più triplette, ma non viceversa, per cui una specifica tripletta codifica solo per un dato aminoacido. Alcune triplette indicano inoltre la fine della proteina (stop): il Dna, infatti, è un lungo testo che non ha punteggiatura, una sequenza ininterrotta che l'apparato di trascrizione deve saper leggere, riconoscendo dove inizia e dove finisce il gene.

Come avviene la trascrizione? Un enzima, chiamato «Rna polimerasi», inizia a trascrivere una copia del gene in una molecola di Rna messaggero (mRna). La doppia elica del Dna viene aperta da opportuni enzimi e uno dei due filamenti viene copiato in una molecola molto simile al Dna, detta «Rna», la cui sequenza è ad esso complementare. Come nel Dna, le basi azotate sono legate a uno zucchero, il ribosio, che a sua volta è legato allo scheletro di fosfato. Nucleotide dopo nucleotide, la catena dell'Rna (che rimane sempre a singola elica) si accresce fino a quando la polimerasi non incontra un codone di stop. Quella sintetizzata però non è la molecola matura, pronta a produrre la proteina. Si chiama infatti pre-mRna. Negli anni ottanta si comprese che il gene è composto di segmenti precisi che codificano per la proteina, detti «esoni», intercalati a segmenti che non servono a codificare, gli «introni». Durante la maturazione gli introni sono tagliati via dall'mRna maturo (con un processo chiamato *splicing*) che passa nel citoplasma e si lega ai ribosomi, gli organelli che costituiscono la fabbrica delle proteine. Qui, piccoli Rna transfer (tRna) trasportano il giusto aminoacido legandosi alla specifica tripletta sull'mRna. La catena di aminoacidi cresce, e quando finita rispecchia esattamente la sequenza di basi che si trovava nel corrispondente gene<sup>1</sup>.

La sequenza di Dna così trascritta può variare in seguito a una mutazione, causata da molteplici agenti chimici o fisici (ad esempio radiazioni), detti appunto «mutageni». La gran parte delle mutazioni sono senza conseguenze (silenti), o perché colpiscono regioni di Dna inter-geniche (cioè che non

codificano proteine) o perché portano alla sostituzione di un aminoacido con un altro simile, così che la proteina funziona ugualmente bene. A volte però una mutazione può avere conseguenze gravi: uno dei più significativi esempi è certamente l'anemia falciforme. In questa malattia genetica, comune nell'area mediterranea, una singola sostituzione (da acido glutamico a valina in una specifica posizione) nella proteina globina, che legata all'eme nell'emoglobina trasporta l'ossigeno ai tessuti, è estremamente dannosa. In seguito alla mutazione, la proteina funziona normalmente se c'è molto ossigeno ma precipita quando questo si trova in bassa quantità, deformando il globulo rosso che assume la forma di una falce e a causa dello stress muore più velocemente, provocando un'anemia grave, che dopo più di mezzo secolo dalla sua identificazione non ha ancora una terapia efficace.

Negli anni settanta, con l'avvento della biologia molecolare, iniziò presto un'impresa colossale, l'identificazione di tutti i geni le cui mutazioni causano malattie, detti «geni patogeni». Dopo l'intensificarsi delle ricerche e il miglioramento degli approcci sperimentali avvenuto negli anni ottanta, il sequenziamento del Dna (ovvero la decifrazione della precisa sequenza dei nucleotidi da cui è composto), era divenuto una procedura ormai attuabile che richiedeva, però, una tecnologia allora avanzata e complessa, medievale se comparata a quelle in uso oggi. Per sequenziare un solo gene di 300.000-400.000 nucleotidi, si impiegava all'epoca qualche anno; oggi il genoma completo di un individuo, formato da miliardi e miliardi di nucleotidi, può essere sequenziato in pochi giorni e per una cifra tutto sommato modesta, circa mille dollari, con tempi e costi che potrebbero diminuire ancora in un prossimo futuro.

Il problema principale nell'individuare i geni patogeni è rappresentato dal fatto che il Dna di individui diversi appartenenti alla stessa specie è molto simile, ma non identico, in ciascun soggetto (tranne che nei gemelli monozigoti). All'interno del Dna di ogni individuo esistono infatti piccole differenze che si manifestano in alcuni nucleotidi, definite «polimorfismi», che solo raramente rappresentano una mutazione alla base di una malattia genetica, mentre solitamente sono responsabili delle variazioni naturali tra i vari individui della stessa specie. L'identificazione dei «geni-malattia» umani si costruì perciò attorno al sequenziamento del Dna di soggetti appartenenti a famiglie dove esistevano più parenti colpiti dalla stessa patologia. Se una variazione era presente solo negli individui malati ma non in quelli sani, era probabile che fosse la causa del morbo. Nel suo complesso si trattò di un immane sforzo collettivo, durato una ventina d'anni nella sua fase «calda» e non ancora completato, che portò all'identificazione di molte migliaia di mutazioni responsabili di centinaia di malattie genetiche.

Una volta stabilito che mutazioni in uno specifico gene fossero responsabili dell'insorgenza di una data malattia, fu possibile progettare di aggiungere una copia sana del gene alle cellule malate. Come? Usando i virus come trasportatori del gene corretto, definiti in gergo «vettori virali».

I virus sono infatti organismi elementari di dimensioni ultramicroscopiche mancanti di una struttura cellulare propria, costituiti da un unico acido nucleico (Dna o Rna) rivestito da un involucro proteico chiamato «capside», che oltre a proteggerli ne consente l'adesione sui recettori di membrana della cellula ospite. Date le loro caratteristiche quali agenti di natura non cellulare, spesso non vengono considerati delle vere e proprie forme di vita; incapaci come sono di una sintesi proteica autonoma, sono obbligati a una vita da parassita e infettano le cellule di un organismo ospite per replicarsi, sfruttandone l'apparato biosintetico che riprogrammano in funzione dei propri scopi.

Scoperti verso la fine dell'Ottocento, fin dai primi anni settanta del secolo scorso era stato possibile modificarne artificialmente alcuni, mantenendo intatta la loro capacità di penetrare nelle cellule del corpo, sostituendo all'interno del loro acido nucleico il gene patogeno con il gene terapeutico, cioè la copia sana del gene mutato. Questa manipolazione necessitava di tecniche d'ingegneria genetica che erano allora piuttosto complesse, mentre oggi un bravo studente di biologia molecolare le impara in due settimane attraverso kit preformati e facili da usare.

Lo sviluppo dei primi vettori virali permise ai programmi ancora teoretici di terapia genica di concretizzarsi in questa direzione. Verso la fine degli anni settanta, infatti, alcuni precursori come Robert Michael Blaese<sup>2</sup> negli Stati Uniti e Claudio Bordignon<sup>3</sup> in Europa, progettarono di usare i geni come medicine, in modo analogo a quanto stava avvenendo per la terapia cellulare che si proponeva di usare le cellule come farmaco. Nasceva con loro una nuova disciplina, presto denominata «terapia genica». Il concetto di per sé è elementare, molto meno la sua attuazione. Di cosa si trattava? Utilizzando un vettore virale costruito in laboratorio, si potevano infettare («trasdurre» il termine tecnico), le cellule colpite dalla malattia con una copia sana del gene che ha subito la mutazione. Così facendo, il gene mutato rimane al suo posto nella cellula malata e continua a non funzionare adeguatamente. Il gene «sano», invece, produce la proteina la cui mancanza genera la malattia e dovrebbe quindi andare in soccorso della cellula in questione, riparandola. Le condizioni biologiche soddisfatte o da soddisfare affinché l'operazione funzioni sono numerose, limitando il campo di applicazione del trattamento: 1) ci deve essere una sola proteina necessaria e sufficiente a causare la

malattia, detta per questo «monogenica»; 2) la mutazione deve essere recessiva: se essa provoca la sintesi di una proteina anormale che non solo funziona male ma impedisce il funzionamento di una proteina normale, la mutazione si chiama «dominante» e non può essere curata dall'aggiunta di una copia sana del gene; 3) il vettore deve produrre una quantità di proteina simile, o meglio ancora maggiore, di quella di una cellula normale; 4) un numero sufficientemente alto di cellule deve essere effettivamente trasdotto e quindi «curato» (si stima il 5-10% del totale per proteine a funzione enzimatica, e il 30-40% per proteine strutturali); 5) le cellule «curate» devono avere una vita lunga (ad esempio i neuroni) o si devono auto-rinnovare (ad esempio le cellule staminali).

## CURARE LE IMMUNODEFICIENZE CONGENITE

### *Ada*

Il gene che codifica per l'enzima adenosina deaminasi (*Ada*) fu uno dei primi a essere identificato da diversi gruppi americani come responsabile, quando mutato, di una forma grave di immunodeficienza congenita da deficit di adenosina deaminasi. In sé l'enzima serve a degradare – cioè a ridurre in molecole più piccole – l'adenosina. Benché quest'ultima sia presente in tutte le cellule del corpo, per motivi ancora ignoti la sua mancata espressione causa la morte selettiva dei linfociti, una sottopopolazione dei globuli bianchi che ci difende dalle malattie identificando e distruggendo tutto quello che riconosce come *non-self*, ossia batteri, virus e parassiti vari. La malattia che deriva dalla mancata funzione dell'enzima è estremamente rara: basti pensare che finora sono state trattate complessivamente poche decine di pazienti, che rappresentano l'intera popolazione dei malati in Europa. Esistono naturalmente anche altre forme di immunodeficienza congenita, di cui parlerò tra poco, dovute a mutazioni in altri geni rispetto a quello qui descritto, e tutte molto infrequenti, così che anche raggruppandole in base ai sintomi e non alla mutazione, l'insieme di queste malattie si colloca comunque nell'ambito delle patologie rare.

Le immunodeficienze congenite presentano la terribile caratteristica di colpire i bambini fin nei primissimi anni di vita, a volte inibendo completamente il sistema immunitario. L'assenza di linfociti causata dalla deficienza di *Ada* rende il bambino malato potenzialmente suscettibile a tutte le infezioni, tanto che anche un raffreddore può a livello teorico essere fatale. Fino a poco tempo fa i piccoli pazienti dovevano vivere in una bolla d'aria filtrata e ricevere costanti iniezioni endovena dell'enzima purificato di solito

da sangue bovino, che solo in piccola parte riusciva a ricostituire qualche difesa immunitaria, e comunque, nonostante il trattamento, presto o tardi morivano per infezioni da cui non era possibile difenderli del tutto.

Negli anni ottanta questi pazienti iniziarono a essere sottoposti al trapianto di midollo da un donatore immunologicamente compatibile, ma quando questo non era disponibile la prognosi era infausta perché il trapianto si dimostrava, allora più di oggi, associato a un elevato rischio di *graft versus host*. La terapia genica poteva fornire una risposta a questa situazione di emergenza, e inizialmente si considerò di usarla per l'appunto solo nei pazienti privi di un donatore compatibile, per sondarne la sicurezza e le eventuali problematiche; oggi i risultati sono tali e così positivi che si pensa di considerarla come terapia di prima scelta, rendendo il trapianto di midollo sostanzialmente obsoleto e superato per questa malattia.

Dopo anni di ricerca pre-clinica sui topi e sulle cellule dei pazienti *in vitro*, nei primissimi anni novanta iniziarono i primi tentativi direttamente sui malati. Questi vedevano impegnati i già citati gruppi di Robert Michael Blaese ai National Institutes of Health di Bethesda negli Stati Uniti, e di Claudio Bordignon al San Raffaele di Milano.

Il 15 settembre del 1990 la prima paziente fu trattata con un protocollo di terapia genica a Bethesda<sup>4</sup>, e poco dopo altri anche al San Raffaele. I risultati videro un successo transiente, dovuto alla correzione genetica effettuata in una piccola percentuale di linfociti, che sopravvissero al trattamento e iniziarono a funzionare regolarmente, restituendo ai bambini delle difese immunitarie quasi normali. Fino a qui le circostanze sembravano ottimali, non fosse che i linfociti, che originano dalle cellule staminali emopoietiche del midollo osseo, hanno una vita media di pochi mesi e, al sopraggiungere della loro morte naturale (per vecchiaia, potremmo dire), la malattia ricompariva.

Questa evidenza fornì una prima lezione: per ottenere un effetto permanente bisognava curare le cellule staminali del sangue direttamente all'interno del midollo osseo. Sappiamo che queste cellule continuano a rigenerare per tutta la vita del paziente, e si riteneva che una volta curate all'origine avrebbero cominciato a produrre linfociti sani e funzionanti, così da debellare la malattia in modo permanente. Ci volle relativamente poco tempo e una serie di piccoli ma importanti miglioramenti del protocollo, ma alla fine si riuscì a trasferire il gene sano nelle cellule staminali emopoietiche del midollo osseo. I lavori pubblicati in quegli anni segnano una pietra miliare della terapia genica<sup>5</sup>. Tramite questa procedura i pazienti ricevettero allora e continuano a ricevere oggi un trapianto autologo, privo di alcun rischio sul piano del rigetto. Per ottenere un buon attecchimento delle cellule geneticamente corrette nel sito del trapianto bisogna fare spazio, uccidendo preventivamente parte delle cellule residenti malate, in questo caso con una bassa dose di farmaci citotossici. I protocolli sui linfociti e sulle cellule

staminali emopoietiche erano stati condotti rispettivamente all'inizio e alla fine degli anni ottanta e furono i risultati dei secondi, in particolare, a rivelarsi estremamente validi: i bambini iniziavano ad avere linfociti funzionanti in numero quasi normale, non avevano più bisogno della somministrazione dell'enzima endovena e potevano riprendere una vita regolare. Ci si rese conto, inoltre, che prima si trattano i pazienti (quando possibile entro il primo anno di vita) più completo il successo della terapia. I bambini più piccoli, trattati subito dopo la diagnosi, guarirono perfettamente; quelli in età più avanzata, dopo i tre, quattro anni, sopravvissero comunque e poterono godere di una vita relativamente normale, anche se il loro sistema immunitario non tornò mai del tutto normale, lasciandoli più suscettibili alle infezioni rispetto ai coetanei sani.

Nel 2016, venticinque anni dopo i tentativi di Bordignon e di Blaese, i ricercatori del San Raffaele di Milano che avevano proseguito le ricerche sul fronte delle immunodeficienze, Luigi Naldini, Maria Grazia Roncarolo, Alessandro Aiuti e Fabio Ciceri, hanno ottenuto dall'Ema la *marketing authorization* ufficiale della terapia genica per l'Ada, che ora è un farmaco, dal nome commerciale «Strimvelis», somministrato ai pazienti in centri specializzati e rimborsato dal sistema sanitario nazionale come avviene comunemente per un trapianto di midollo, una chirurgia o una chemioterapia. Un quarto di secolo è un periodo molto lungo per un singolo individuo, breve per la storia della medicina, soprattutto se si considerano le rigide e complesse regole ora vigenti per garantire il massimo della sicurezza possibile ai pazienti che si sottopongono a terapie sperimentali.

### *Scid-X1*

Il San Raffaele non era l'unico centro dove si studiavano le immunodeficienze congenite: molti istituti negli Stati Uniti, a Londra e a Parigi elaboravano terapie per varianti dovute a differenti mutazioni in geni pure diversi tra loro, tutte originanti, però, malattie simili.

Tra il 1999 e il 2002 il gruppo di Marina Cavazzana<sup>6</sup> e Alain Fischer<sup>7</sup>, che studiava una forma d'immunodeficienza congenita chiamata *Severe Combined Immune Deficiency-X1* (Scid-X1) all'Ospedale Necker-Enfants malades di Parigi, condusse un trial clinico su dieci pazienti di circa un anno di età. Premetto che quello che si verificò nei loro pazienti era impossibile da prevedere. A loro va il merito di aver fatto fronte alla situazione nel modo più rapido ed efficiente possibile, e di aver informato immediatamente la comunità scientifica del problema insorto, cosa da non sottovalutare per la correttezza deontologica e la grande professionalità dimostrata.

La Scid-X1 è dovuta alla mutazione di un gene diverso dall'Ada; esso

infatti è espresso nei linfociti e codifica per un recettore che lega un fattore di crescita, facendoli proliferare. In sua assenza la popolazione dei linfociti non aumenta demograficamente, generando una immunodeficienza simile all'Ada. Per combatterla si decise quindi di adottare una strategia simile: le cellule staminali emopoietiche prelevate dal paziente venivano «curate» in coltura con un vettore virale che esprimeva la copia normale del gene mutato, per poi essere re-infuse nel corpo del malato, come in un auto-trapianto di midollo analogo a quanto descritto per i pazienti di Bethesda e Milano. Anche in questo caso erano stati condotti esperimenti pre-clinici in vari modelli animali, che avevano mostrato come il protocollo risultasse sicuro ed efficace.

Subito dopo aver ricevuto la terapia genica, il numero dei linfociti iniziò a crescere e tornò in un primo tempo normale; tuttavia, tra due e cinque anni dopo l'intervento, in tre pazienti il numero dei linfociti iniziò ad aumentare rapidamente e senza alcun controllo, tanto che essi svilupparono una malattia molto simile a una leucemia linfatica, una grave disfunzione del sistema emopoietico per la quale i linfociti proliferano senza maturare, scatenando una successiva invasione generale dei tessuti con gravi conseguenze (anemia, emorragie e infezioni), spesso letali. In un trial clinico un caso come questo è definito, lo abbiamo visto, *Serious Adverse Event* (Sae, evento avverso severo) e proprio per la sua gravità va immediatamente riportato agli enti regolatori nazionali, ad esempio l'Agenzia italiana del farmaco (Aifa), e sopranazionali come l'Ema. Un Sae, come accadde nel caso che stiamo discutendo, può portare alla sospensione forzata del trial clinico per esigenze di sicurezza. Purtroppo uno dei bambini colpiti morì, mentre gli altri sopravvissero grazie alla terapia in uso per queste leucemie. Negli stessi anni, a Ucl, il gruppo di Adrian Thrasher<sup>8</sup> stava trattando altri dieci bambini Scid-X1 con un protocollo molto simile: anche in questo caso uno di essi sviluppò una leucemia, che per fortuna fu curata con successo. L'impatto di questi episodi nella comunità scientifica fu devastante.

In seguito a una decisione degli enti regolatori condivisa dalla comunità medico-scientifica, tutti i trial di terapia genica furono sospesi, fino a quando non si fosse capito il motivo dell'evento avverso. Cos'era successo? Il vettore virale che portava il gene corretto, iniettato nei bambini colpiti, si era integrato in un punto preciso del loro genoma, sempre lo stesso, escludendo così che potesse trattarsi di un caso. Era la prima volta che si notava questo fenomeno. Di solito i vettori virali che si usano in questo tipo di terapia genica si integrano, come i virus naturali da cui derivano, all'interno del Dna dell'ospite in modo casuale. Si ritiene oggi, anche in seguito a quanto capito dopo questo sfortunato esperimento, che ognuno di noi ospiti nelle proprie cellule molte migliaia di sequenze virali, residui di virus naturali che si sono integrati nel Dna dei nostri antenati, i quali le hanno poi trasmesse ai loro discendenti nello stesso modo in cui hanno trasmesso i geni necessari per le



funzioni vitali. Nel caso del trial di Cavazzana e Fischer, la combinazione del sito d'inserzione in una regione attivamente trascritta del genoma aveva portato a produrre una grande quantità della proteina terapeutica, che aveva forzato i linfociti a dividersi senza poter maturare, generando così una leucemia. Da allora si svilupparono metodi sofisticati per sequenziare tutti i siti del genoma dove i vettori virali si inseriscono per ridurre – se non proprio eliminare – questo rischio, definito con termine tecnico «mutagenesi inserzionale», perché andando ad attivare in modo incontrollato un gene che regola la proliferazione delle cellule può portare alla formazione di un tumore. Tutto il campo rallentò per circa un decennio e si accesero infuocate discussioni sull'opportunità di continuare o no con la terapia genica che, a detta degli inevitabili Soloni del caso, «invece di curare uccide».

La terapia genica è davvero così pericolosa? Proviamo a dare uno sguardo ai numeri per capire quale realtà ci presentano. Tra il 1990 e la prima metà degli anni zero nei vari centri clinici presenti a Milano, Parigi e Londra furono trattati una quarantina di bambini affetti da immunodeficienze congenite. Di essi un solo paziente morì, tutti gli altri sopravvissero e guarirono completamente o quasi dall'immunodeficienza. Senza terapia genica quei bambini sarebbero ora *tutti* morti. Questo non significa che non fosse giusto e necessario fare il possibile per migliorare la sicurezza delle nuove terapie, tuttavia c'è una legge amara che spesso dimentichiamo, ovvero che non esiste progresso della medicina senza rischio per i pazienti, e l'unico modo di eliminare completamente questo rischio è fermare la ricerca. Ovviamente, ed è quasi pleonastico affermarlo, la scelta di una nuova terapia sperimentale è giustificata solo da malattie gravi e incurabili. Anche tra queste c'è però una differenza. Le immunodeficienze congenite portano a morte nei primissimi anni di vita, la distrofia muscolare dopo vari decenni. Un rischio elevato (ma sempre razionalmente e sperimentalmente giustificato) è accettabile in un paziente che comunque sarà destinato a morire molto presto e non ha quindi altro da perdere, molto meno in un altro che ha davanti almeno quarant'anni di vita durante i quali una nuova terapia più sicura potrebbe divenire possibile.

\*\*\*

Nonostante l'episodio negativo, all'affacciarsi del nuovo millennio l'entusiasmo per la terapia genica si estese presto a tutti i ricercatori che lavoravano su altre malattie genetiche e sui tumori, e poco dopo a ogni altra disciplina medica o quasi.

L'interesse per questa tecnica portò quindi a sviluppare due principali

forme di terapia, *in vivo* ed *ex vivo*. Nella prima, il vettore virale che esprime il gene terapeutico è iniettato direttamente nel corpo del soggetto all'interno del circolo sanguigno o nell'organo che si vuole correggere geneticamente; nella seconda, le cellule sono prelevate dal corpo, coltivate artificialmente *in vitro*, esposte al vettore virale e poi, una volta curate, iniettate di nuovo nel soggetto da cui erano state estratte.

Verso la fine degli anni ottanta molte malattie genetiche potevano già essere studiate *in vivo* su numerosi modelli animali disponibili alla ricerca, in parte per ragioni naturali, dato che molte malattie colpiscono tanto gli animali quanto l'uomo, in parte perché in alcune specie, topi soprattutto, le patologie possono essere indotte artificialmente attraverso tecniche d'ingegneria genetica, dando origine a vere e proprie colonie di animali mutati, definiti in gergo *topi knockout* dato che in essi alcuni geni sono volontariamente silenziati.

La tecnica era stata sviluppata nei primi anni ottanta negli Stati Uniti da alcuni ricercatori, tra cui anche il nostro Mario Capecchi all'Università dello Utah, che per questo avrebbe vinto il Nobel nel 2007. In cosa consisteva? Come sappiamo, le cellule staminali embrionali danno origine a tutti i tessuti del corpo compresa la linea germinale, costituita da uova e spermatozoi. Capecchi e i suoi collaboratori furono in grado di introdurre nel genoma delle cellule staminali embrionali di topi sani la mutazione che causa una certa malattia, attraverso una procedura divenuta poi nota come *gene targeting*. Le cellule staminali embrionali, in sospensione liquida, vengono sottoposte a una corrente elettrica (elettroporazione) che ne apre la membrana in numerosi punti e fa penetrare il gene che vogliamo, mutato, al posto del gene endogeno, sano. È un metodo brutale, che uccide molte cellule e nelle altre fa inserire il gene a casaccio, anziché nel *locus* desiderato. Ma in una piccola percentuale di casi, il gene di nostra scelta si inserisce correttamente nel genoma, sostituendo il gene endogeno. Si possono quindi isolare le cellule staminali embrionali che hanno subito la mutazione e iniettarle in un embrione sano, che diviene chimerico, contenendo cellule proprie (sane) e cellule che provengono dall'esperimento (malate). Queste ultime, una volta iniettate, colonizzano anche le gonadi (testicoli o ovaie) dell'embrione, e producono spermatozoi o uova «malati» che al momento del concepimento danno origine fondendosi a un individuo affetto dalla stessa mutazione che causa la malattia nell'uomo. Questo nuovo sviluppo tecnico aveva quindi portato alla creazione di numerosi modelli animali della patologia, su cui era possibile sperimentare nuovi protocolli di terapie cellulari e geniche.

Sulla base dei risultati in modelli animali e di altre considerazioni cliniche, i ricercatori si trovarono alla fine a poter scegliere tra terapia genica *in vivo* ed *ex vivo*. Ad esempio, nel caso delle immunodeficienze congenite, la terapia genica è preferibilmente *ex vivo* dato che nei modelli animali l'iniezione

diretta del vettore virale nel midollo osseo o nel sangue si era dimostrata poco efficace.

La terapia *in vivo* è invece la prima scelta per tutti quegli organi o tessuti in cui è estremamente difficile effettuare una biopsia (cuore, cervello, alcuni muscoli), e vede impiegati vettori virali che possono rimanere nelle cellule anche per mesi senza tuttavia integrarsi nel genoma, funzionando perciò come ospiti della cellula, di cui non diventano mai parte costitutiva. Non comportano pertanto il rischio della mutagenesi inserzionale, ma causano una risposta immune contro le proteine del virus che sono riconosciute come *non-self* dai linfociti. Altro problema è costituito dal fatto che questi vettori sono diluiti a ogni divisione cellulare, e vengono quindi perduti rapidamente dalle cellule che si dividono di continuo nei tessuti labili, mentre permangono in tessuti perenni come il muscolo e il cervello, le cui cellule in un individuo adulto si dividono poco o nulla. Di fronte al bivio se intraprendere una via *in vivo* o *ex vivo*, i ricercatori scelsero, semplificando un po', quella *ex vivo* per le cellule che continuano a dividersi tutta la vita, ad esempio le emopoietiche, *in vivo* per tutti gli altri casi.

Inizialmente la terapia *in vivo* era sembrata la più semplice: bastava un'iniezione e via, sperando che funzionasse e non si verificassero eventi avversi. Nella seconda metà degli anni novanta era questo l'approccio più comune, che però aveva dato luogo a un altro, grosso guaio.

### *Un altro evento fatale a Filadelfia*

Nel 1999 si verificò un altro grave evento avverso, questa volta a Filadelfia, dove un paziente trattato tramite terapia genica morì in seguito alla somministrazione di un vettore virale per la cura sperimentale di una malattia del fegato. La patologia è dovuta alla carenza di un enzima epatico che partecipa al metabolismo dell'urea chiamato «ornitina trans-carbamilasi», la cui assenza causa un accumulo diffuso di ammonio, uno ione tossico per molti tessuti. Nelle forme più gravi la malattia genera pesanti disturbi motori, letargia e porta rapidamente alla morte, a meno che il paziente non riceva entro breve tempo un trapianto di fegato che però, lo sappiamo, è molto critico, tanto nel *follow up* che per la scarsità di donatori.

Il vettore virale ingegnerizzato in laboratorio consentiva invece l'espressione dell'ornitina trans-carbamilasi nelle cellule dell'organo, ripristinandone la normale funzione enzimatica. Anche in questo caso l'esperimento, condotto all'Università di Pennsylvania dal gruppo di James M. Wilson, era stato preceduto da numerosi studi pre-clinici che si erano dimostrati efficaci e sicuri in animali affetti dalla stessa sindrome, anche se qualche evento avverso nei primati era stato probabilmente sottovalutato.

Il gruppo che partecipava al test era formato da diciotto persone, trattate secondo differenti dosi del vettore virale, secondo un classico protocollo che vede aumentare progressivamente la dose del farmaco in successivi scaglioni di pazienti. Il primo paziente del sesto scaglione, che riceveva la dose più alta, aveva beneficiato della terapia con modesti effetti avversi (quali febbre e alterazioni degli enzimi epatici). Quando tuttavia arrivò il turno di Jesse Gelsinger, un ragazzo di 18 anni proveniente dall'Arizona e soggetto anch'egli alla dose massima, si scatenò un gravissimo evento avverso: il corpo di Jesse reagì con una potentissima risposta immune che portò molto presto all'insufficienza funzionale di molti organi, seguita da morte cerebrale e a quel punto, a soli quattro giorni dall'intervento, dalla morte del ragazzo. Il motivo del diverso destino dei due pazienti trattati con la dose massima fu oggetto di innumerevoli discussioni e alla fine non fu mai chiarito. In quei giorni Jesse presentava livelli molto elevati di ammonio nel sangue e, secondo i criteri d'inclusione, non doveva essere trattato. Una successiva indagine mostrò che il modulo di consenso informato (in cui si spiegano ai pazienti potenziali rischi e vantaggi del trial) non era sufficientemente chiaro e, cosa più grave, che in quello studio Wilson nutriva interessi economici significativi, e quindi non unicamente scientifici, che potrebbero averlo influenzato a forzare il completamento. Per questi motivi, in seguito all'evento fu interdetto dagli studi di terapia genica per cinque anni.

L'episodio portò a una reazione simile a quanto avvenuto in seguito all'evento fatale del Necker, con l'aggravante di una negligenza che invece non esisteva nel caso di Parigi, e insegnò un'altra dura lezione. Com'era già accaduto per il morbo di Parkinson, se sottoposti a terapia genica alcuni pazienti beneficiano del trattamento, altri non presentano alcun tipo di risposta e altri ancora, in qualche caso, subiscono effetti tossici che possono essere fatali. Il perché di questa situazione rimane una delle grandi domande aperte della medicina rigenerativa, una di quelle cui bisogna trovare una risposta il più velocemente possibile.

## I GENI E LA DISTROFIA MUSCOLARE

Stante il fallimento della terapia cellulare basata sul trapianto di cellule satelliti descritta nel capitolo precedente, la terapia genica apparve subito come una possibile soluzione per la distrofia muscolare, soprattutto dopo che gli esperimenti iniziali sui topi erano apparsi molto promettenti. Tra il 1993 e il 1998 vari gruppi di ricerca negli Stati Uniti e in Francia iniziarono a usare vettori adenovirali per trasferire il gene della distrofina in topi malati. Il vettore era iniettato direttamente nel muscolo colpito, secondo lo schema già

applicato per i protocolli di terapia cellulare che abbiamo analizzato. I primi risultati sperimentali mostravano senz'ombra di dubbio che le fibre di interi muscoli di topo distrofico trasdotte dagli adenovirus riuscivano a esprimere di nuovo la distrofina. Ne seguì sui media generalisti un grande entusiasmo e prematuri proclami da parte degli stessi ricercatori, che prevedevano una cura imminente. Purtroppo i problemi della sperimentazione erano molti e sarebbe bastato guardare ai risultati con occhio più distaccato per poterli individuare.

In primo luogo, gli esperimenti coronati da successo erano stati condotti su topolini neonati. Quando furono ripetuti su topi adulti, i risultati furono molto deludenti, in sostanza nulli. La cosa non è necessariamente dovuta al fatto che terapie di questo tipo funzionano bene se applicate nelle fasi iniziali della malattia; nel caso specifico, la distrofia dei topi è lieve e quindi ci sarebbe il tempo e la possibilità per intervenire anche in topi meno giovani. I motivi del successo nei topi neonati erano altri, principalmente due: a) nel neonato la lamina basale, una sorta di guaina che circonda e protegge le fibre muscolari, è ancora in via di formazione e i vettori adenovirali la possono attraversare facilmente, nonostante le loro dimensioni piuttosto importanti, che infatti non consentono loro di penetrare una lamina matura e assai più spessa; b) come non bastasse, nei topolini neonati anche il sistema immune è immaturo e non reagisce contro i vettori adenovirali, anzi si tollera ad essi, cioè impara a riconoscerli come *self* e di conseguenza non tenterà più di eliminarli a una successiva esposizione<sup>9</sup>. Poiché alcuni adenovirus sono patogeni, curare un neonato rendendolo incapace di reagire a una successiva infezione virale non sembra una brillante idea. Inizialmente adottati per la loro grande capacità di trasferire geni nelle cellule, i vettori adenovirali furono presto abbandonati per la terapia delle malattie genetiche e in particolare per la distrofia muscolare di Duchenne<sup>10</sup>, venendo sostituiti da vettori «adeno-associati», derivati dagli omonimi *Adeno-associated Virus* (Aav), più piccoli, meno immunogenici e quindi divenuti i vettori di scelta per la terapia *in vivo*, la cui sperimentazione iniziò a metà degli anni novanta ed è tuttora in corso.

I primi risultati della loro applicazione nei topi distrofici, questa volta anche in quelli adulti, furono molto incoraggianti, con espressione di una variante più piccola della distrofina, chiamata «mini-distrofina», in tutte le fibre muscolari dei muscoli iniettati. Nel 2010 si passò quindi alla sperimentazione sui cani distrofici, e sono ora in corso trial clinici negli Stati Uniti. I risultati sono incoraggianti, ma c'è ancora molto lavoro da fare. Produrre abbastanza vettore di grado clinico per trattare tutti i muscoli del corpo è tecnologicamente complesso e oltremodo costoso. Inoltre gli Aav, anche se meno immunogenici degli Av, immunizzano comunque il paziente (qualora non lo sia già per una precedente esposizione a un Aav presente in natura). Infine, essendo più piccoli degli adenovirus con spazio per geni altrettanto piccoli, non facevano che peggiorare la limitazione della capacità

dei vettori, che già non riuscivano a contenere l'intero gene della distrofina.

Come mai, allora, si tentarono comunque dei trial clinici? Molti anni prima, nel 1990, una genetista di Oxford, Kay Davies<sup>11</sup>, ricercatrice famosa e molto influente, aveva osservato un paziente affetto da una forma più lieve di distrofia muscolare, detta di Becker, che lo aveva confinato su una sedia a rotelle solo dopo i sessant'anni, permettendogli una vita quasi normale. Prima che Lou Kunkel clonasse il gene della distrofina, si riteneva che la distrofia muscolare di Duchenne e di Becker fossero due malattie diverse, grave la prima, lieve la seconda. Clonando la proteina responsabile della malattia si capì invece che il gene colpito è lo stesso in entrambe le forme di distrofia, mentre la differenza si produce nel tipo di mutazione e nelle sue conseguenze. Nella distrofia di Duchenne, infatti, la mutazione previene del tutto la sintesi della proteina, di cui non si trova traccia nella fibra muscolare; in quella di Becker la mutazione causa solitamente la mancanza della sola parte centrale del gene, in porzioni variabili sui diversi pazienti, e consente alla fibra di riuscire comunque a produrre la distrofina, più piccola ma almeno in parte funzionante. La scoperta del fatto che una proteina corta causasse una malattia molto lieve portò alcuni ricercatori, tra cui Jeffrey S. Chamberlain<sup>12</sup> all'Uw Medicine di Seattle, a costruire in laboratorio mini e micro-distrofine che potessero essere accomodate più facilmente in un vettore virale, superando quindi il problema delle dimensioni. Ma una volta costruita, come possiamo dimostrare che la mini o la micro-distrofina funzionano e permettono comunque di aiutare il paziente a mantenere una normale funzione del muscolo? Il modo migliore, si pensò, è prendere un topo distrofico e renderlo transgenico per l'una o l'altra forma di distrofina<sup>13</sup>.

*Tabella 2. Principali caratteristiche dei vettori virali attualmente in uso nella terapia genica*

Vettore	Virus di origine	Genoma	Capacità	Integrazione nel genoma ospite	Mutagenesi inserzionale	Risposta immune	Uso corrente
Av (Adenoviral Vectors)	Adenovirus	Dna	≤ 30 Kb	No	No	Forte	Oncologici
Aav (Adeno-associated Vectors)	Adeno-associato	Dna	≤ 5 Kb	No	No	Media	<i>In vivo</i>
Rv	Retrovirus	Rna	≤ 8 Kb	In regioni attive	Rischio elevato	No	<i>Ex vivo</i>

Lv	Lentivirus	Rna	≤ 8 Kb	Casuale	Rischio modesto	No	Ex vivo
----	------------	-----	--------	---------	-----------------	----	---------

*Nota:* Av e Aav derivano da virus che non si integrano nel genoma dell'ospite ma possono persistere anche anni in cellule che non si dividono come i neuroni. Gli Av sono oggi usati prevalentemente quando si vuole indurre una potente risposta immune contro la cellula trapiantata, come nel caso dei tumori. Gli Aav sono i vettori di scelta per la terapia *in vivo*. Rv e Lv sono usati quasi esclusivamente su cellule in coltura; le proteine del capsido virale sono perdute nei successivi passaggi di lavorazione e non sono viste dall'ospite, per cui non inducono una risposta immune. Av a parte, gli altri vettori sono piccoli e possono ospitare sequenze di Dna che codificano per proteine piccole o di medie dimensioni. Per geni più grandi non sono dunque efficaci e occorre aggirare il problema, con mini-geni ottenuti eliminando parti meno essenziali del gene originario. I geni a Rna sono retro-trascritti in Dna e si integrano nel genoma dell'ospite, in qualche caso causando mutazioni silenziose (mutagenesi inserzionale) ma, raramente, capaci di causare un tumore.

[Vedi la tabella in formato immagine](#)

I risultati di questi esperimenti furono incoraggianti: tutti i topi distrofici che nascevano esprimendo una o l'altra forma di mini o micro-distrofina non contraevano la malattia, e sembravano perfettamente normali. Ovviamente, una cosa è prevenire l'insorgenza della malattia dalla fecondazione, un'altra cercare di curarla quando ha già causato danni al tessuto. L'aver curato i topi distrofici in utero non garantiva che con lo stesso trattamento sarebbero stati curati dopo che la malattia fosse insorta.

Esisteva inoltre un altro problema, di cui alla fine degli anni novanta non si era ancora pienamente consapevoli, ma che noi abbiamo già incontrato nella sperimentazione sui Golden Retriever distrofici. Se i topi sono chiusi in gabbia, di solito si muovono solo per mangiare e copulare. Se invece si crea un ambiente più vario, per esempio inserendo una piccola ruota, i roditori possono correre l'equivalente di alcuni chilometri in una sola notte. Qualche anno dopo, un fisiologo di Filadelfia, Lee Sweeney (che ha lavorato per decenni all'Università di Pennsylvania), ottenne i topi distrofici e transgenici da Jeffrey Chamberlain e li fece esercitare, constatando che in realtà la protezione dalla malattia da parte della micro o mini-distrofina era solo parziale e variava in base a due aspetti: a) la lunghezza del gene, che in genere funzionava meglio tanto più era completo, e b) il preservarsi di alcune parti della porzione centrale dello stesso, dotata di funzioni specifiche come ad esempio legare l'enzima che producendo ossido nitrico permette la vasodilatazione (lo stesso meccanismo del Viagra) e quindi un maggiore afflusso di sangue al muscolo.

Solo allora si capì che per valutare il procedere della malattia e di una determinata terapia sperimentale la disamina dei muscoli non basta: è essenziale far correre gli animali e misurare la forza dei loro muscoli durante e dopo lo sforzo. Un concetto simile vale per gli esseri umani e per questo è

importante identificare dei test che permettano di misurare accuratamente la funzione che s'intende ripristinare. Più in generale, non basta verificare che il tessuto esprima di nuovo la proteina che la mutazione aveva inibito, bisogna anche che questo riprenda a comportarsi come uno normale. Nel caso della distrofia muscolare di Duchenne, si sono moltiplicate nuove strategie sperimentali (come l'*exon skipping*), che sono arrivate a ottenere la *marketing authorization* da Food and Drug Administration (Fda) ed Ema negli ultimissimi anni, anche se l'evidenza di efficacia è modesta o molto modesta.

#### EMOFILIE E TALASSEMIE: UNA SPERANZA DI GUARIGIONE IMMINENTE

In attesa di sapere cosà accadrà dei nuovi trial clinici di terapia genica per la distrofia muscolare, voglio raccontare di due malattie gravi e abbastanza comuni, per cui le speranze di cura sono attualmente alte. L'emofilia è una malattia dovuta a mutazioni in uno dei geni che esprimono i fattori della coagulazione (fattore VIII e IX ne provocano le forme più comuni).

Si tratta di proteine prodotte dal fegato che partecipano alla coagulazione del sangue in seguito alla lesione di un vaso sanguigno. Se mancano, il sangue coagula con estrema difficoltà e ferite anche banali possono causare emorragie, in qualche caso mortali. Ben più pericolose sono inoltre eventuali emorragie interne, prevalentemente nelle aree delle articolazioni e nel cervello, che possono comportare numerose e gravi ripercussioni cliniche, rispettivamente della motilità e a livello neurologico. Il trattamento attuale per chi è affetto dalla patologia è basato sull'infusione periodica del fattore della coagulazione mancante, soluzione tutt'altro che ottimale per l'impossibilità di mantenerne costante il livello, con necessità di continue infusioni e i costi che queste comportano. A volte la perdita di sangue è tale da richiedere trasfusioni di sangue intero, fatto che soprattutto in passato ha causato il verificarsi di episodi di esposizione al sangue di donatori che non erano stati controllati per il virus Hiv. Oggi si spera che Aav diretti al fegato, ed esprimenti il fattore VIII o IX, possano rappresentare una cura efficace, una volta superati i problemi legati alla loro produzione e immunogenicità.

La beta-talassemia (o anemia mediterranea) è un'altra grave malattia genetica del sangue, la cui origine è anche più complessa, ed è legata in particolare all'azione dei nostri globuli rossi. Essi sono infatti carichi di emoglobina, la molecola incontrata nel caso dell'anemia falciforme, che ha la specifica funzione di catturare l'ossigeno dove si può trovare in grandi quantità – nei polmoni – per cederlo ai tessuti dove la sua presenza è invece scarsa.

In un essere umano adulto essa è composta da due proteine alfa e due beta,



quattro proteine uguali a due a due e legate tra loro con all'interno una molecola, l'eme, che lega o cede ossigeno a seconda della concentrazione ambientale del gas. Anche nel feto si trovano le globine alfa ma le beta sono sostituite dalle catene gamma, che hanno un'alta affinità per l'ossigeno, dato che lo prendono dalla placenta della madre dove è presente in minori quantità rispetto ai polmoni. Quindi, un'emoglobina formata da catene gamma (invece che beta) cattura più ossigeno ma ne cede di meno, visto che i tessuti fetali richiedono poco ossigeno rispetto a un adulto. Per effetto di una mutazione nelle regioni regolative del gene le proteine beta non vengono prodotte nei globuli rossi, costringendo la persona affetta ad avvalersi unicamente dell'emoglobina di tipo fetale. I tessuti ricevono meno ossigeno rispetto a un individuo sano e chiedono al midollo osseo (attraverso il rilascio di un ormone chiamato «eritropoietina») di produrre più sangue, come succede se ci troviamo in alta montagna, in seguito alla minore quantità di ossigeno presente nell'aria. Anche se il midollo può eseguire il compito senza difficoltà, il danno è causato dalla qualità dell'emoglobina generata. Il tessuto si espande per fornire più sangue, i globuli rossi prodotti senza proteine beta non funzionano a dovere e muoiono più velocemente all'interno della milza, che stanti le grandi dimensioni raggiunte spesso deve essere rimossa chirurgicamente.

Dovendo sottoporsi a frequenti trasfusioni di sangue, i pazienti affetti da beta-talassemia hanno una bassa qualità di vita, ed è comune il verificarsi di problemi connessi all'insufficienza cardiaca. Quando un donatore sano è disponibile, il trapianto di midollo rappresenta una cura definitiva. Per tutti gli altri, si provò inizialmente seguendo l'approccio classico della terapia genica *ex vivo*, ovvero la correzione genetica in coltura delle cellule staminali emopoietiche malate prelevate dal paziente, seguita dalla loro re-introduzione attraverso un trapianto autologo, ma la tecnica non funzionò. Anche se il vettore virale inoculato era stato ingegnerizzato per esprimere alti livelli di beta-globina, la cellula corretta non ne produceva: la regolazione dell'espressione di questi geni è molto complessa, solo in parte conosciuta, e il gene terapeutico veniva spento. Dopo molti anni di ricerche, inserendo alcune regioni regolative nel vettore virale si è finalmente riusciti a produrre alti livelli di beta-globina anche *in vivo*, tanto che molto recentemente, nell'aprile 2018, il gruppo di Marina Cavazzana ha riportato sul «New England Journal of Medicine» il ripristino di livelli di emoglobina quasi normali nei malati trattati con questo nuovo vettore<sup>14</sup>.

Ho finora elencato successi e insuccessi della terapia genica. L'impressione che ne emerge è che dal punto di vista del paziente si sta invariabilmente da una parte o dall'altra, si guarisce oppure no. Ebbene, non è proprio così. Ci sono infatti bambini e malati colpiti da malattie genetiche (come le immunodeficienze congenite) che sono oggi «potenzialmente guariti», cioè non presentano più i sintomi delle loro patologie. Ho aggiunto l'avverbio «potenzialmente» per prudenza, perché il *follow up* è ancora troppo breve – solo pochi anni –, per tirare delle conclusioni definitive. C'è anche il participio «guariti», però, a risuonare in tutta la sua vibrante potenza. Detto in altre parole, i pazienti di cui parlo oggi sono sani ma la malattia genetica da cui sono stati curati potrebbe ricomparire fra cinque o dieci anni. È possibile ma, sulla base del fatto che la cellula staminale è guarita, non probabile. E non credo sia a questo punto necessario ricordare nuovamente un piccolo particolare, decisamente importante: se non fossero stati trattati con terapie di medicina rigenerativa, i pazienti sarebbero tutti inesorabilmente morti. Ma c'è di più: nonostante le condizioni veramente desolanti in cui i vari governi che si sono succeduti negli ultimi decenni hanno ridotto la ricerca italiana (ne parlerò dettagliatamente nel capitolo 6), le storie a cui mi riferisco sono tutte italiane; di esse si sa poco o niente, mentre dovrebbero essere motivo di orgoglio nazionale.

Cominciamo dal San Raffaele di Milano. Dopo avere perfezionato il protocollo per l'Ada-Scid (che, lo ricordo, si regge sul trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche geneticamente corrette in coltura), i ricercatori del gruppo hanno impiegato la tecnica nell'ambito di un'altra immunodeficienza congenita rara e molto grave, la sindrome di Wiskott-Aldrich, che è stata curata. Essa porta il nome di due pediatri, il tedesco Alfred Wiskott che per primo ne descrisse le manifestazioni cliniche nel 1937, e lo statunitense Robert Aldrich che invece analizzò la malattia in dettaglio subito dopo la fine della Seconda guerra mondiale, nel 1954, studiandone l'eziologia in una famiglia di pazienti di origini olandesi. Benché presenti tutte le caratteristiche principali di un'immunodeficienza congenita, la sindrome di Wiskott-Aldrich è resa più complessa dal manifestarsi di altri pesanti sintomi come la piastrinopenia, una scarsa presenza di piastrine nel sangue che ingenera frequenti emorragie (la quantità di piastrine circolanti è inferiore a  $150.000/\text{mm}^3$ , mentre i valori di riferimento in un soggetto sano variano tra i  $150.000$  e i  $400.000/\text{mm}^3$ ), oltre a eczemi e a una forma di diarrea emorragica. I malati, quand'anche riuscissero a sopravvivere, presentano l'ulteriore alta probabilità di sviluppare tumori.

La patologia è molto intricata dal punto di vista biologico, tanto che i precedenti tentativi di cura si erano dimostrati totalmente inefficaci. Tuttavia, il trattamento sviluppato per l'Ada-Scid prospettava l'apertura di una nuova interessante via terapeutica. Poiché il gene responsabile della Wiskott-Aldrich

(chiamato in termine tecnico con l'acronimo «Was») è anch'esso espresso nelle cellule emopoietiche, si pensò di utilizzare lo stesso protocollo ottenendo infatti gli stessi risultati, cioè una guarigione completa. In un certo senso, da un punto di vista strettamente medico-clinico questo risultato non sorprende più, ma dobbiamo naturalmente tenere in debita considerazione che per i genitori e i familiari di questi pazienti la cura ha rappresentato un evento epocale.

La strepitosa performance italiana tuttavia non finisce qui. Gli stessi ricercatori del San Raffaele, in collaborazione con due eccellenti medici clinici, Alessandra Biffi, pediatra ora ad Harvard e Maria Sessa, neurologa ora a Cremona, sono riusciti a estendere il protocollo a un'altra malattia rara e altrettanto terribile, fin dal suo nome: leucodistrofia metacromatica, una malattia lisosomiale. I lisosomi sono, semplificando leggermente, lo stomaco delle cellule. Quando queste inglobano delle particelle esterne quali frammenti di cellule morte, grassi e proteine del plasma (la parte liquida del sangue), questi finiscono nei lisosomi che, proprio come accade nel nostro stomaco, contengono degli specifici enzimi che digeriscono le molecole liberando aminoacidi, nucleotidi e altre ulteriori, piccole molecole che passano nel citoplasma, e sono riutilizzate come mattoni per costruire altri elementi chimici come proteine, membrane e acidi nucleici di cui le cellule hanno bisogno per sopravvivere. In alcuni casi una mutazione colpisce uno di questi enzimi e come diretta conseguenza la cellula non riesce più a digerire una specifica molecola, che pertanto continua ad accumularsi all'interno del lisosoma fino a ingolfare l'intera cellula e a farla morire. L'insieme di queste malattie colpisce spesso organi diversi, con serie conseguenze. Una delle forme più gravi, per l'appunto la leucodistrofia metacromatica, è dovuta alla mancanza dell'enzima che serve a rimuovere i gruppi solfato (sali di zolfo), da varie molecole. In sua assenza sono i neuroni del cervello che s'ingolfano e muoiono. Nelle forme più acute i pazienti colpiti, ancora infanti, perdono la vista e la capacità motoria prima dei due anni, e muoiono in genere poco dopo. Per questo temibile morbo non esisteva alcun trattamento, nemmeno di tipo palliativo, e la difficoltà era ampliata dalla sua localizzazione nel cervello.

Prima di raccontarvi la fine di questa storia devo fare un'ulteriore, breve digressione biologica. Il nostro organismo è dotato di speciali «cellule che mangiano», i fagociti, gli spazzini del corpo. Inglobano, come tutte le altre cellule ma molto più efficacemente di esse, particelle anche molto grandi – fino alle dimensioni di virus e batteri – e le digeriscono, quando tutto funziona come deve, nei loro lisosomi. Sono cellule fondamentali per proteggerci dalle infezioni e per rimuovere le cellule morte. I fagociti, che hanno nomi diversi e più specialistici in base all'organo in cui risiedono, originano tutti dalla cellula staminale emopoietica. Conseguenza di questo

fatto è che ripetendo un protocollo quasi identico a quello dell'Ada-Scid, è possibile correggere geneticamente i fagociti di tutto il corpo, inclusi quelli del cervello, che prendono il nome di microglia<sup>15</sup>.

I ricercatori del San Raffaele hanno brillantemente capito che per trattare la leucodistrofia la copia sana del gene mutato non sarebbe bastata, per il problema dato dalle sproporzioni tra le cellule «curate» reintrodotte e le cellule malate residenti nel cervello, la stragrande maggioranza, che non si possono rimuovere. La microglia è una frazione molto piccola delle cellule che compongono il nostro cervello, e anche curandole tutte l'enzima necessario non sarebbe stato prodotto a sufficienza. Pertanto le cellule staminali emopoietiche sono state corrette geneticamente e reingegnerizzate usando un promotore molto potente, che generava dieci o più volte la quantità normale di enzima, e ancora non bastava. Occorreva curare infatti non solo la microglia, ma soprattutto i neuroni che si trovano nel cervello, pure malati.

Abbiamo visto che i lisosomi spesso rilasciano all'esterno il loro contenuto, cioè le molecole che hanno ingerito (in variabile stato di degradazione), e con loro anche gli enzimi che le degradano. La microglia non fa eccezione. Grazie alle cellule staminali emopoietiche precedentemente corrette in coltura, la microglia che da queste si origina torna a espellere anche l'enzima che digerisce i gruppi solfato, quello mancante nel caso della leucodistrofia metacromatica. Le cellule circostanti del cervello, ancora malate, trovandolo nello spazio extra-cellulare lo possono finalmente assumere («endocitare», in termine tecnico), tornando a funzionare regolarmente. Sembra incredibile che basti solo questo. E dubiterei anch'io, se non avessi visto i dati clinici e soprattutto i bambini in carne e ossa correre per i corridoi del reparto di pediatria del San Raffaele, dove nel periodo tra il 2010 e il 2012 erano ricoverati anche i pazienti per il mio trial sulla distrofia.

Finora ho usato il verbo «curare», non esattamente in linea con le considerazioni introdotte all'inizio di questo paragrafo. In questo caso, in effetti, «curare» non è espressione del tutto corretta. Dovrei scrivere «prevenire», perché in realtà la terapia funziona solo se viene somministrata *prima* che insorgano i sintomi. Mettetela in atto anche poco tempo dopo la loro comparsa, ed è già troppo tardi. La progressione della malattia è semmai ritardata ma non arrestata, ancora una dura lezione che ricorda una delle regole auree che abbiamo più volte messo in luce, cioè che molto spesso per curare le malattie genetiche *bisogna intervenire il prima possibile*, se si riesce anche prima che queste si manifestino. La leucodistrofia metacromatica è una malattia molto rara e non esistono per il momento esami standardizzati che possano permettere di identificarla prima della nascita, durante la gestazione. Infatti, i primi casi di pazienti guariti e coronati da successo sono rappresentati dai fratellini di bambini già colpiti dalla malattia<sup>16</sup>. In questo caso il test diagnostico era effettuato alla nascita e il trapianto delle cellule

staminali geneticamente corrette era eseguito nei primi mesi di vita, prevenendo così l'insorgenza dei sintomi che, a distanza di quattro o cinque anni dall'intervento, non si sono più ripresentati. Per quanto ancora questo possa durare, non lo sappiamo.

#### L'EPIDERMOLISI BOLLOSA: UN SUCCESSO ITALIANO

Vi ho raccontato solo alcune delle tante storie che hanno caratterizzato questi anni impegnativi e meravigliosi. Se nella maggior parte dei casi i trial non hanno funzionato, quasi tutti hanno lasciato un segno, un'indicazione che lascia aperta la speranza per migliorare i trattamenti. Vorrei aggiungere allora una nota positiva, terminando con una storia alla quale tengo in particolar modo, la cura dell'epidermolisi bollosa.

Si tratta di una malattia genetica della pelle con conseguenze terribili per la vita dei pazienti, anche in questo caso bambini che manifestano la patologia nei primi anni di vita. Da cosa è generata? Se ricordate la nostra pelle è formata di due strati, l'epidermide, il livello più esterno, poggiata e saldamente ancorata allo strato sottostante interno, il derma. L'epidermide protegge il nostro corpo dagli agenti esterni ed è nutrita dal derma, che contiene i vasi sanguigni di cui l'epidermide è priva. Per effetto dell'epidermolisi, di cui esistono forme diverse a seconda del gene mutato, l'ancoraggio dell'epidermide al derma viene meno, tanto che se la persona malata struscia accidentalmente una parte del corpo su una superficie mediamente dura, l'epidermide si stacca completamente dal derma. Potete immaginare quale sia la vita di questi bambini, che solo nelle forme meno acute della patologia riescono a sopravvivere fino all'età adulta. Bende, pomate, ulcere, dolore, infezioni sono all'ordine del giorno e, in caso di sopravvivenza, ricorrenti tumori causati dai velocissimi cicli di rigenerazione cui l'epidermide è costretta.

I protagonisti di questa storia sono due medici italiani, Michele De Luca e Graziella Pellegrini, e un piccolo paziente di nome Hassan, un bambino siriano profugo in Germania e affetto da epidermolisi bollosa.

Come tutti gli allievi di Howard Green, De Luca è oggi un leader indiscusso nel campo delle cellule staminali dell'epitelio, ma, a differenza dei suoi colleghi che si sono concentrati sullo studio della biologia di queste cellule, De Luca ha speso tutta la sua vita a tentare di trasformare la conoscenza acquisita sulle cellule staminali in nuove terapie per i pazienti, in qualche caso salvando vite umane – senza menzionare il protocollo clinico del trapianto di cornea (di cui ho parlato nel capitolo precedente), grazie al quale, e con giustificata enfasi, si può affermare che abbia ridato la vista ai ciechi<sup>17</sup>.

Nel 2005 De Luca e il suo gruppo avevano pubblicato sulla prestigiosa rivista «Nature Medicine» un lavoro d'avanguardia su questa malattia<sup>18</sup>. Il paziente, un ragazzo di trentasette anni di nome Claudio, fu trattato su un'area precisa del corpo, la parte anteriore delle cosce, come prova di principio che la terapia sviluppata potesse funzionare. Il concetto era lo stesso visto ormai molte volte. Le cellule del paziente sono isolate (cosa che nel caso di Claudio non fu facile, data l'età e lo stato della sua epidermide, soggetta per tre decenni alle dinamiche appena elencate), cresciute in laboratorio e trasdotte con un vettore virale che esprime la proteina necessaria perché siano di nuovo in grado di ancorarsi al derma sottostante. Verificato che ciò accada *in vitro*, le cellule sono ulteriormente espanse fino a formare un foglietto di epidermide che il chirurgo applica sul corpo del paziente, dopo aver letteralmente «raschiato» l'epidermide malata. Questo tipo di intervento garantisce una colonizzazione totale: tutte le cellule impiantate sono geneticamente corrette perché quelle malate sono rimosse meccanicamente dal chirurgo; se l'epidermide attecchisce, a livello teorico il paziente può dirsi guarito, come fu per Claudio, che vide le sue gambe tornare sane.

Dieci anni dopo, nella primavera del 2015, De Luca riceve una telefonata. È un chirurgo tedesco che lo chiama su richiesta del padre di un paziente, un ingegnere siriano rifugiato in Germania. Suo figlio, Hassan, è in condizioni gravissime, anche a causa della fatica e dello stress legate alla fuga dalla Siria. Ha perso l'80% dell'epidermide, presenta su tutto il corpo infezioni da stafilococco e *Pseudomonas*, due batteri che attaccano spesso soggetti debilitati, è in coma farmacologico e la situazione è così drammatica che i medici hanno già comunicato ai genitori che non c'è più nulla da fare. Il padre tuttavia non si arrende. Dopo aver effettuato una ricerca su Internet, scopre che un paziente colpito dalla stessa malattia è stato curato in Italia (si trattava di Claudio, per l'appunto) da De Luca e Pellegrini, e chiede al medico tedesco di poterli almeno contattare. De Luca ci pensa un po', le condizioni di Hassan sono davvero molto critiche, infine decide di accettare la sfida. Volò in Germania e torna in Italia con un piccolo frammento dell'epidermide residua di Hassan. Com'era possibile prevedere, fortunatamente, le cellule di un bambino proliferano molto più rapidamente di quelle di un adulto. Una volta «curate» con il vettore virale, le cellule di Hassan tornano a essere normali e cominciano a formare dei lembi di epidermide sana, che dimostra di aderire bene al derma sottostante. Iniziano così i viaggi di ritorno in Germania con i lembi di epidermide curata. Vista l'entità del danno, distribuito su tutto il corpo del bambino, non si può fare tutto in una volta sola e servono ben tre colture di cellule, tre viaggi e tre interventi chirurgici per ricostituire prima gli arti, poi il dorso e infine le rimanenti zone malate.

Hassan migliora progressivamente, le infezioni possono essere debellate, il coma farmacologico indotto non ha più necessità di essere mantenuto<sup>19</sup>. Il

bambino viene dimesso dopo qualche settimana dall'ultimo trapianto e torna a casa. A parte qualche cicatrice, che comunque sparirà presto, Hassan vive ora come un ragazzo normale, gioca con gli altri coetanei e non ha più paura di sfiorare alcun oggetto, cosa che fino a poco tempo prima avrebbe significato un immediato pericolo. Di nuovo, non sappiamo se sia stato curato per sempre: per le terapie sperimentali non esistono infatti dati e *follow up* di altri pazienti, e quindi non possiamo prevedere quanto a lungo durerà questa nuova pelle. Per il momento lui e la sua famiglia si godono quello che solo pochi anni fa sarebbe stato considerato un miracolo.

Quando sentite dire che la terapia genica è pericolosa e non ha mai curato nessuno, rispondete che non è vero, e raccontate di Hassan.

---

<sup>1</sup> La storia di come tutto questo complesso meccanismo fu scoperto è affascinante ma non può essere riassunta qui, pena delle imprecisioni inaccettabili. Il paragrafo intende fornire degli strumenti di orientamento per cominciare a muoversi nel territorio dei geni e del loro funzionamento: per ovvi motivi è molto semplificato e chiedo perdono delle inevitabili inesattezze, necessarie per non appesantire la lettura. Per chi volesse saperne di più, rimando al capolavoro di un grande giornalista scientifico: H. Freeland Judson, *The Eighth Day of Creation*, Cold Spring Harbor, Cshl Press, 1996.

<sup>2</sup> Robert Michael Blaese, genetista americano nato nel 1939 e da poco in pensione, ha lavorato ai National Institutes of Health di Bethesda ed è stato il padre della terapia genica, conducendo nel 1990 il primo esperimento al mondo su due bambine con immunodeficienza congenita.

<sup>3</sup> Claudio Bordignon (1950), laureatosi in medicina a Milano negli anni settanta, ha prestato servizio per molti anni al Memorial Sloan Kettering Cancer Center di New York, studiando ematologia sperimentale e costruendo le basi del suo approccio alla terapia genica con l'idea di creare in Italia un centro d'avanguardia – cosa che, in effetti, è riuscito a fare come direttore dell'Istituto Telethon di terapia genica del San Raffaele di Milano, da lui fondato. Ha sempre avuto una visione della medicina molecolare che precedeva di vent'anni qualunque altro ricercatore. L'idea di curare le malattie trasferendo geni era già chiara nella sua mente quando gli altri brancolavano nel buio.

<sup>4</sup> N. Angier, *Girl, 4, Becomes First Human To Receive Engineered Genes*, in «The New York Times», 15 settembre 1990. Cfr. <https://www.nytimes.com/...>

<sup>5</sup> R.M. Blaese *et al.*, *Treatment of Severe Combined Immunodeficiency Disease (Scid) Due to Adenosine Deaminase Deficiency with Cd34+ Selected Autologous Peripheral Blood Cells Transduced with a Human Ada Gene*, in «Human Gene Therapy», v. IV, n. 4, 1993, pp. 521-527; C. Bordignon *et al.*, *Transfer of the Ada Gene into Bone Marrow and Peripheral Blood Lymphocytes for the Treatment of Patients Affected by Ada-deficient Scid*, in «Human Gene Therapy», v. IV, n. 4, 1993, pp. 513-520; R.M. Blaese *et al.*, *T Lymphocytes Directed Gene Therapy for Ada-Scid: Initial Results after 4 Years*, in «Science», v. CCLXX, n. 5235, 1995, pp. 475-480; A. Aiuti *et al.*, *Correction of Ada-Scid by Stem Cell Gene Therapy Combined with Nonmyeloablative Conditioning*, in «Science», v. DDXCVI, n. 5577, 2002, pp. 2410-2413.

<sup>6</sup> Marina Cavazzana, nata a Venezia nel 1959, opera nei laboratori dell'Hôpital Necker-Enfants malades di Parigi. Ha studiato medicina a Padova e ottenuto un PhD all'Università Paris VII. Da sempre si occupa di malattie ematologiche, area in cui ha prodotto straordinari risultati per le immunodeficienze e più di recente per la talassemia.

<sup>7</sup> Alain Fischer, nato a Parigi nel 1949, è direttore dell'Institut national de la santé et de la

recherche médicale (Inserm) del Necker, e da sempre, insieme a Cavazzana, studia le malattie genetiche del sangue. Dal 2002 è membro della prestigiosa Académie des sciences.

<sup>8</sup> Adrian Thrasher, nato nel Sussex nel 1962, è professore di immunologia pediatrica e Wellcome Trust Principal Research Fellow al Great Ormond Street Institute of Child Health (Ucl Ich). È fondatore della *company* Orchard Therapeutics. Laureato in medicina nel 1986 al Saint George's Hospital Medical School, University of London, ottenne il dottorato nel 1995 a Ucl, dove ha svolto tutta la sua carriera.

<sup>9</sup> Durante le fasi terminali dello sviluppo fetale e subito dopo la nascita, il sistema immunologico deve imparare a distinguere ciò che è proprio (*self*) e deve essere tollerato da quello che invece è estraneo (*non-self*) e va distrutto. Durante questo periodo critico tutto ciò che è presente (le cellule del proprio corpo ma anche qualsiasi agente estraneo) è riconosciuto come *self*. Tutto quello che invece verrà in contatto con il sistema immune successivamente a periodo (detto di «tollerizzazione») sarà riconosciuto come *non-self* e distrutto.

<sup>10</sup> È bene precisare che sono però rimasti in auge nella sperimentazione sui tumori. Il fatto di essere fortemente immunogenici è un *vulnus* per le malattie genetiche, dove vogliamo che il nostro gene continui a funzionare il più a lungo possibile e non sia distrutto insieme alle cellule che lo esprimono; è invece un vantaggio in ambito oncologico, perché rinforzano la risposta immune dell'ospite contro il tumore.

<sup>11</sup> Dame Kay Elizabeth Davies (1951), è una delle più insigni genetiste del Regno Unito. Ha studiato e svolto tutta la sua carriera professionale a Oxford, contribuendo alle attuali conoscenze sul cromosoma X e sul gene della distrofina. È inoltre direttrice dell'unità di genetica funzionale del Medical Research Council e ricopre numerosi importanti incarichi istituzionali.

<sup>12</sup> Jeffrey S. Chamberlain si è laureato in biochimica alla Rice University di Houston e ha ottenuto il PhD all'Università di Washington, dove insegna neurologia presso la School of Medicine. Ha dato contributi decisivi alla ricerca sulla distrofia, sviluppando nuovi vettori virali e studiando i meccanismi di riparazione della distrofina. Dal 2012 fa parte della commissione medico-scientifica di Telethon.

<sup>13</sup> Come si genera un animale transgenico? Si lega il Dna corrispondente al gene d'interesse a valle di un frammento di Dna promotore, che come il nome suggerisce ne promuove la produzione o in tutte le cellule (promotore ubiquitario) o nelle cellule di interesse, quelle muscolari in questo caso (promotore tessuto-specifico). Questo costrutto (così chiamato perché costruito in laboratorio) viene quindi iniettato nella cellula uovo appena fecondata. Successivamente gli embrioni vengono impiantati in un utero ospite. Per evitare confusione, si noti che nel topo transgenico si aggiunge un gene iniettato nel nucleo della cellula uovo; nel citato topo *knockout*, invece, si elimina un gene, silenziandolo.

<sup>14</sup> A.A. Thompson *et al.*, *Gene Therapy in Patients with Transfusion-Dependent  $\beta$ -Thalassemia*, in «The New England Journal of Medicine», v. CCCLXXVIII, n. 16, 2018, pp. 1479-1493.

<sup>15</sup> La glia costituisce la componente non neuronale del sistema nervoso e svolge numerose funzioni di supporto ai neuroni. La microglia, in particolare, si occupa della fagocitosi nel sistema nervoso, e come tutte le cellule fagocitarie, deriva dalla cellula staminale emopoietica.

<sup>16</sup> A. Biffi *et al.*, *Lentiviral Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy Benefits Metachromatic Leukodystrophy*, in «Science», v. CCCXLI, n. 6148, 2013, pp. 853-855.

<sup>17</sup> Grazie a un'illuminata e lungimirante iniziativa che vede coinvolte l'Università di Modena e Reggio Emilia e la Fondazione Cassa di risparmio di Modena, De Luca e Pellegrini operano presso il Centro di medicina rigenerativa Stefano Ferrari, che prende il nome da un comune e rampollo amico, professore e poi preside della facoltà di biotecnologie, che aveva fortemente voluto questo centro ma ci ha lasciato prima di poterlo inaugurare nel 2008. Per far funzionare questa costosissima *Gmp facility* (che descriverò in dettaglio nel capitolo 6), con l'aiuto di Chiesi Farmaceutici, ormai raro esempio di capitalismo umanitario, Ferrari, Pellegrini e De Luca avevano creato una *company biotech*, Holostem Terapie Avanzate, che ha reso possibile



l'operazione.

<sup>18</sup> F. Mavilio *et al.*, *Correction of Junctional Epidermolysis Bullosa by Transplantation of Genetically Modified Epidermal Stem Cells*, in «Nature Medicine», v. XII, n. 12, 2006, pp. 1397-1402.

<sup>19</sup> T. Hirsch *et al.*, *Regeneration of the Entire Human Epidermis Using Transgenic Stem Cells*, in «Nature», v. DLI, n. 7680, 2017, pp. 327-332.

5.

## Una scienza di frontiera. La medicina rigenerativa di domani

Le esplorazioni sono stupende prima di farle e dopo averle fatte, ma tutt'altro che comode mentre si fanno.

S. BUTLER, *Erewhon*, 1872

Al grande fisico danese Niels Bohr si attribuisce la frase «è molto difficile fare previsioni, soprattutto circa il futuro». Penso che questa considerazione valga per ogni aspetto della nostra vita e particolarmente in un campo complesso come la medicina rigenerativa, che – si potrebbe obiettare – distoglie risorse da altre terapie, forse meno all'avanguardia ma potenzialmente utili per una popolazione di pazienti molto più ampia, spesso appartenenti ai paesi del Terzo mondo; mi riferisco, ad esempio, alla messa a punto di nuove terapie contro la malaria.

Se tuttavia crediamo che valga la pena investire fatica e denaro nella medicina rigenerativa è perché promette con ragionevole attendibilità di curare definitivamente malattie gravissime, per le quali non esiste alcuna altra terapia efficace e che in molti casi conducono il paziente a una morte atroce. L'orizzonte di applicazione è dunque molto serio: ben altra cosa rispetto all'idea – purtroppo diffusa – della medicina rigenerativa come stregoneria, ultima manifestazione tecnologica della tanto agognata fonte di eterna giovinezza in cui ci si immerge anziani, o con un fisico debilitato dall'uso e abuso a cui si sono sottoposti i propri organi, per riemergerne di nuovo giovani e sani. Quest'ultima concezione ha ovviamente una forte presa emotiva, e per questo è cavalcata da numerosi imprenditori tecnoentusiasti e sognatori sensazionalisti: tutti abbiamo paura di invecchiare e di morire, e l'idea di evitare il decadimento progressivo delle nostre facoltà fisiche e mentali oppure le malattie, ed eludere il limite supremo della morte, può spingere verso territori pericolosi, non meno delle manipolazioni genetiche quando non impiegate per curare ma per scopi edonistici, come ringiovanire o selezionare i caratteri che desideriamo trasmettere ai nostri figli. Per gli addetti ai lavori sono secondarie e piuttosto irrilevanti tutte quelle applicazioni che, attraverso la rigenerazione dei tessuti, possono rallentare l'azione del tempo, ritardarne le manifestazioni, offrire la sensazione che la

nostra corsa verso la morte proceda meno speditamente.

Ma se questi aspetti della medicina rigenerativa – i più pubblicizzati dai media e da certa propaganda legata a movimenti come il Postumanesimo o il Transumanesimo<sup>1</sup> – non sono realmente centrali e non costituiscono lo scopo che gli operatori seri cercano di raggiungere, cosa è lecito aspettarsi da essa in futuro? Quali sono, realisticamente, le applicazioni che tra qualche anno si potranno eseguire a livello di routine in un comune ospedale? Da cosa saremo in grado di guarire e come potremo permetterci di vivere grazie ai risultati raggiunti in questo campo? Le implicazioni da considerare sono numerose, e vanno dagli esperimenti sugli animali all'uso di tessuti embrionali e fetali umani, fino alla medicina di precisione (anche con nano-robot) e alla terapia genica; questi coesisteranno con una progressiva ma paradossale discesa nel dominio della vanità man mano che le applicazioni della terapia si separano dalla cura diretta delle malattie: più le tecnologie e gli strumenti diventano sofisticati più è possibile usarli anche per finalità meramente commerciali, sulla spinta di motivazioni estetiche o narcisistiche gratuite. Se è vero che il sonno della ragione genera mostri, il torpore della medicina rigenerativa ne produrrà, temo, di più simili a quelli raccontati da Dino Risi che da Goya.

Sporgersi oltre il limite, superare la frontiera e accingersi a una prima esplorazione di ciò che ancora non si conosce o non si riesce a definire con sufficiente chiarezza, significa cominciare a prendere familiarità con concetti che oggi, al di fuori della ricerca scientifica, appaiono ancora sorprendenti: riparare i geni *in vivo* nel corpo del paziente, generare cellule secondo necessità, ricostruire i tessuti mescolando il nostro materiale organico con altro creato in laboratorio, ingegnerizzare cellule del nostro corpo in grado di eseguire compiti specialistici secondo la nostra volontà.

Le applicazioni della medicina rigenerativa sono innumerevoli: in questo capitolo cercherò di fornire una panoramica su quelle che più probabilmente si concretizzeranno in un prossimo futuro. La lista degli argomenti che tratterò non è certamente esaustiva, data la velocità a cui si muove il mondo della scienza, per cui nuove pratiche ora impensabili potrebbero divenire realtà, o altre che sono oggi secondarie e in fase di definizione potrebbero rivelarsi di importanza capitale. Se per ora non sono numerose le malattie che possono dirsi davvero «curate» con la terapia genica e cellulare (immunodeficienze congenite, leucodistrofia metacromatica, epidermolisi bollosa, ustioni della cornea sono le principali che abbiamo analizzato) e speranze concrete si nutrono anche per il morbo di Parkinson, l'atrofia muscolare spinale e altre malattie del sangue tra cui emofilie e talassemie, resta ancora molto da fare. I traguardi raggiunti ci consentono tuttavia di fare un primo bilancio delle nostre scoperte e di ricavare qualche lezione importante, valida in moltissime applicazioni terapeutiche: come abbiamo visto, infatti, le maggiori probabilità di successo si concretizzano laddove

all'interno delle zone malate del nostro corpo è possibile fare spazio per le cellule trapiantate, rimuovendo completamente quelle deviate, cosa però non sempre facile da effettuare. Se quest'operazione è possibile per il sangue e gli epiteli, per le malattie che colpiscono altri tessuti è necessario trovare vie alternative, ad esempio quelle che abbiamo visto nel capitolo precedente, così che le poche cellule che attecchiscono possano svolgere il lavoro necessario non solo per se stesse ma anche per quelle malate, già residenti nel tessuto e che non possono essere eliminate.

#### «UNICUIQUE SUUM». LE TERAPIE PERSONALIZZATE

Medicina personalizzata, ovvero «singola cura per singolo paziente». Un approccio che consente interventi sempre più mirati, con strategie terapeutiche che, considerando il profilo biologico del malato, permettono di giungere a una diagnosi e a un intervento terapeutico letteralmente cuciti addosso alla singola persona, in grado di eliminare tutte le tare del modello generico – farmaco uguale per tutti i pazienti affetti dalla stessa malattia – che causa risposte differenti allo stesso trattamento. Anni fa sarebbe sembrata un'utopia; oggi il principio alla base di questa strategia appartiene da tempo all'esperienza clinica.

Antesignana della medicina personalizzata fu, più di cent'anni fa, la pratica delle trasfusioni di sangue, che come abbiamo visto divenne di routine nel corso della Prima guerra mondiale. La conoscenza del gruppo sanguigno del donatore e del ricevente permette di predire se la trasfusione per quello specifico individuo sarà benefica o dannosa, e non è che il primo passo verso la definizione del profilo biologico del paziente, la base di partenza per la personalizzazione della cura. Similmente a quanto avvenuto per le trasfusioni, dagli anni sessanta del Novecento si iniziò a osservare che molti farmaci sortiscono un effetto differente in pazienti diversi. Se la maggior parte di questi trae un beneficio dalla somministrazione (così non fosse, il prodotto dovrebbe essere ritirato dal mercato), alcuni non manifestano alcuna risposta evidente e altri (di solito, per fortuna, pochi) ne ricevono un danno. Fino a qualche tempo fa non c'era modo di predire su chi il farmaco avrebbe avuto un effetto benefico e su chi nefasto.

Oggi ciò è diventato possibile in alcuni casi, quando attraverso il sequenziamento del Dna siamo in grado di individuare il danno molecolare del paziente, ossia quale tra le sue molecole risulta alterata o del tutto assente e quindi causa la malattia. Un esempio ormai classico è rappresentato dai recettori per i fattori di crescita e dai sofisticati farmaci di nuova generazione, gli anticorpi monoclonali. Di cosa si tratta? Abbiamo già incontrato più volte

gli anticorpi, le proteine prodotte dai linfociti e circolanti nel siero, in grado di riconoscere una molecola estranea al nostro organismo (*non-self*) e distruggerla, sia che si tratti di un batterio, di una cellula proveniente da un altro individuo, o di un virus. Il nostro siero contiene quindi una grande varietà di anticorpi diversi, diretti contro altrettante specifiche molecole.

Negli anni settanta del secolo scorso César Milstein<sup>2</sup>, immunologo argentino che operava presso il dipartimento di biochimica dell'Università di Cambridge, riuscì in un'impresa che cambiò per sempre l'immunologia e per cui nel 1984 ricevette il Nobel. Milstein fuse un singolo linfocita con una cellula di mieloma, un tumore del sangue. L'ibrido, formato dalla fusione e definito quindi «ibridoma», poteva proliferare indefinitamente secondo la natura tumorale della cellula di mieloma, mantenendo però la capacità del linfocita di produrre uno specifico tipo di anticorpo. Poiché questo anticorpo derivava dal clone generato da una singola cellula, quella nella quale il linfocita era stato fuso, fu definito «monoclonale». Si tratta di una scoperta fondamentale, perché ha permesso di avere a disposizione per la prima volta un'arma molecolare diretta in modo specializzato contro una parte (detta «epitopo») di un'eventuale molecola estranea. Se questa parte è importante per la molecola *non-self* e ha funzione potenzialmente dannosa per l'organismo, con gli anticorpi monoclonali la possiamo fermare con grande precisione. Ad esempio, un anticorpo diretto in modo preciso contro la parte di un recettore per un fattore di crescita grazie al quale una cellula tumorale prolifera, maschererà questo sito, impedendo al fattore di crescita di legarsi al recettore e la cellula tumorale smetterà di moltiplicarsi ulteriormente. Alcuni tumori sono causati da mutazioni di specifiche proteine; non tutti i pazienti con lo stesso tumore presentano però la stessa mutazione nelle proteine coinvolte. Solo se la mutazione corrisponde esattamente a quella per cui l'anticorpo monoclonale è stato preparato, le cellule tumorali saranno bloccate o distrutte, altrimenti il trattamento non avrà effetto. Aver vinto una battaglia non significa però vincere la guerra: il tumore, infatti, esattamente come un parassita, si adatta alla risposta dell'ospite, sia naturale sia terapeutica, e tra tanti milioni di cellule possono comparirne alcune che, a causa di una successiva mutazione, riescono a crescere senza esprimere la proteina mutata che era stata il bersaglio dell'anticorpo monoclonale. Queste cellule sopravvivranno quindi al trattamento e dopo un tempo variabile daranno origine a una recidiva del tumore, che sarà a quel punto insensibile alla terapia che aveva funzionato prima.

Un altro esempio di medicina personalizzata, nell'ambito della medicina rigenerativa, è rappresentato dagli oligonucleotidi, impiegati nelle terapie al confine tra farmaco tradizionale e terapia genica per combattere diverse malattie genetiche, tra cui la distrofia muscolare. Ricorderete che si tratta di corte sequenze di nucleotidi costruite in laboratorio e modificate

chimicamente per facilitarne la diffusione nei tessuti del paziente. Un farmaco tradizionale può avere tantissimi effetti: inibire l'infiammazione, stimolare la crescita di nuovi vasi sanguigni, bloccare diverse attività enzimatiche ma, per sua natura, non può riconoscere specifiche sequenze di Dna o Rna. Gli oligonucleotidi invece sono costruiti perché riconoscano una specifica mutazione del gene della distrofina e la mascherino, in modo che venga prodotta una proteina un po' più corta ma sempre funzionale. Tecnicamente questa pratica si chiama *exon skipping* (salto dell'esone), e permette di codificare per una proteina che manchi di una sezione della parte mutata. Pertanto, affinché un paziente possa partecipare a un trial clinico basato su un oligonucleotide che permette di saltare la mutazione dell'esone 51 (il gene della distrofina è composto da più di settanta esoni e altrettanti introni), deve avere proprio quella mutazione, pena l'impossibilità di ottenere alcun effetto. Peraltro, anche tra pazienti con la stessa mutazione alcuni risponderanno meglio di altri al trattamento, e non conosciamo ancora la ragione di questa variabilità. Possiamo supporre che chi risponde meglio abbia accumulato nei muscoli una quantità minore di tessuto fibroso che costituisce una barriera tra le fibre muscolari residue da curare e l'oligonucleotide. Tra i clinici ciò ha portato al consenso sull'idea che iniziare il trattamento molto presto, o comunque il prima possibile (un concetto che vale quasi sempre per la medicina rigenerativa) aumenti la probabilità di efficacia terapeutica. Tuttavia, anche tra bambini della stessa età la quantità di fibrosi può variare molto, come si può vedere attraverso una risonanza magnetica. Sapremo presto se questo strumento di diagnosi sarà utilizzato in futuro per decidere a priori chi potrebbe beneficiare maggiormente della terapia e chi meno. In realtà non è facile stabilire un nesso causale tra questi due fattori, fibrosi e risposta alla terapia, che potrebbe essere influenzata anche da altre condizioni, ad esempio dalla capacità spontanea di riparare i tessuti, o di crescere nuovi vasi ecc.

Per la medicina personalizzata c'è dunque ancora molto da studiare e da capire, ma è probabile che essa diventi sempre più importante, man mano che i nostri strumenti d'indagine continueranno ad affinarsi, espandendosi probabilmente anche su altre branche della medicina, come ad esempio l'oncologia molecolare. L'insieme di queste pratiche aumenta e di molto i costi di sviluppo delle terapie e di somministrazione delle stesse, dato che un singolo trattamento potrà funzionare solo per un singolo paziente; allo stato attuale non è ancora chiaro, quindi, se e come potremo permetterci il nuovo paradigma a livello di welfare o di supporto pubblico alla cura.

Forse ricorderete l'immagine di Dario Fo alla gogna con due zampe di maiale che sporgono al posto delle mani. Era il 1998 e il neo-premio Nobel per la letteratura intendeva rivendicare il sacrosanto diritto della satira di «far crescere il dubbio, che è alla base del progredire», esprimendo il suo dissenso all'idea di trasformare organi di maiale in organi umani. Nello specifico, oggetto della critica erano gli xeno-trapianti (dal greco *xénos* «straniero, estraneo»), in cui si utilizzano cellule, tessuti e organi provenienti da un individuo di una specie diversa rispetto a quella del soggetto che riceve il trapianto. Fo riteneva intollerabile la prospettiva di «umanizzare» il maiale, allo scopo di rendere più facile prelevare il fegato o un rene dall'animale per trapiantarli in un uomo. Otterremmo così un uomo-maiale (voi direte che già ce ne sono tanti), o un maiale-uomo, creatura ben strana. Per non parlare della guerra di brevetti che si scatenerrebbe, visto che i maiali umanizzati si possono fabbricare in molti modi diversi, ciascuno oggetto di un brevetto accompagnato dalle ovvie e immancabili diatribe legali. Perché tutto questo? Per trovare alternative praticabili alla donazione, vista la cronica scarsità di organi umani e la necessità di ovviare al problema del rigetto; con l'avvento delle tecniche d'ingegneria genetica si era pensato infatti di creare maiali transgenici che esprimessero antigeni d'istocompatibilità umani.

Con il tempo, tuttavia, questo filone di ricerca si è progressivamente arenato per due ragioni fondamentali. Innanzitutto perché, sebbene l'animale venga «umanizzato», l'organo lo diventa solo in parte: salvo quelli d'istocompatibilità, tutti i geni espressi rimangono del maiale, e ciò determina la difficoltà di spegnere completamente una risposta immune contro l'organo di un'altra specie. In secondo luogo, per i rischi connessi a pratiche di questo genere, tra cui la possibilità che un virus ospite abituale nel maiale (e quindi, rispetto all'animale, tollerato) diventi invece pericoloso in un'altra specie: in questo caso l'aspetto immunitario non si pone, perché il virus spesso lo evade o colpisce prima che una risposta si sviluppi. Non è evidentemente desiderabile trapiantare un organo sano e funzionante in un paziente se si corre il rischio di sviluppare malattie prima completamente estranee e dalle conseguenze potenzialmente sconosciute. I ricercatori sono spesso molto testardi e l'avvento di tecniche di *genome editing*, di cui parlerò più avanti, ha rilanciato l'idea del maiale umanizzato grazie alla nuova possibilità di correggere tutti i geni suini potenzialmente pericolosi, qualcosa che a me sembra tuttavia più pubblicità che una seria prospettiva scientifica<sup>3</sup>.

Oggi l'idea dominante tra i ricercatori è piuttosto di ricostruire gli organi usando biomateriali e cellule del paziente. Si tratta di quella che viene designata come «ingegneria dei tessuti», una nuova disciplina che riunisce la biologia cellulare e la scienza dei materiali. Promette di ricostruire gli organi di una persona malata usando le sue cellule insieme a materiali biocompatibili – pertanto non tossici – che arrivino a produrre sia nei bioreattori (dei

complessi macchinari che mimano le condizioni del corpo come la temperatura, l'ossigenazione, i flussi ematici ecc.), sia nel corpo stesso del paziente un rene o una trachea funzionanti, e così via.

Qualche anno fa Pedro Almodóvar ha costruito la trama di un avvincente melò-horror (*La pelle che abito*) intorno alla storia di un chirurgo che, perdendo la moglie in un incidente nel quale rimane carbonizzata, cerca di creare una pelle perfetta, che sia ignifuga e impenetrabile, resistente a ogni agente atmosferico. In qualche modo potremmo dire che l'ingegneria dei tessuti, sviluppatasi negli ultimi vent'anni, abbia dato corpo – consentitemi il gioco di parole – all'idea del chirurgo interpretato da Antonio Banderas. Sulla scorta di Almodóvar, a maggio 2016 la prestigiosa rivista «Nature Materials» annunciava la creazione di una «pelle 2.0» da parte di un gruppo multidisciplinare composto dai dermatologi dell'Harvard Medical School e del Massachusetts General Hospital e dagli scienziati dei materiali del Massachusetts Institute of Technology di Boston<sup>4</sup>. Elastica e in grado di proteggere, riparare e idratare lo strato sottostante, tanto da farlo sembrare più giovane e in salute, è un materiale polimerico flessibile e in grado di adattarsi alla pelle, sviluppato a partire da una sostanza ideata per colmare le rughe e spianare le borse sotto gli occhi; il prodotto si chiama «XPL» e potrebbe diventare un possibile trattamento in alternativa all'auto-trapianto di epidermide. È ancora troppo presto, però, per concludere che la pelle artificiale sia in tutto e per tutto equivalente a quella naturale.

Nonostante le applicazioni futuristiche, la ragione principale dei massicci investimenti in questa nuova disciplina risiede nelle liste sempre più lunghe di pazienti in attesa di un trapianto d'organo, a fronte di un numero sempre gravemente insufficiente di donatori. Ogni giorno circa tredici persone nel Regno Unito ricevono un trapianto, ma nello stesso giorno quattro persone muoiono dopo averne atteso uno invano. E anche per coloro che riescono a ottenerlo si prospetta comunque un'immunosoppressione a dosi elevate con tutti i problemi che ne derivano, come tossicità per vari organi, depressione del sistema immunitario che se evita il rigetto può portare allo sviluppo di tumori ecc.

Il termine «ingegneria dei tessuti» fu reso popolare da Robert S. Langer<sup>5</sup> e Joseph P. Vacanti<sup>6</sup> verso la fine degli anni novanta, anche se si ignora chi abbia coniato il termine in realtà. Fu poi l'agenzia governativa americana National Science Foundation, che finanzia la ricerca di base in campi scientifici e ingegneristici, a pubblicare nel 2003 un dossier dal titolo *L'emergenza dell'ingegneria dei tessuti come area di ricerca*, che ne sancisce la nascita ufficiale. Gli ingegneri costruiscono case, ponti e porti, gli ingegneri dei tessuti costruiscono organi in laboratorio, o per lo meno ci provano. La cosa è molto più facile a dirsi che a farsi, per varie ragioni. Prima tra tutte, le cellule del paziente potrebbero non essere più disponibili o perché



consumate dalla malattia o perché non facilmente ottenibili da un dato organo (pensiamo sempre al cuore e al cervello, nei quali è arduo effettuare una biopsia). In futuro le cellule riprogrammate del paziente (oggi si generano persino dall'urina) saranno in grado di dare origine alle cellule specifiche anche nel caso queste non siano più disponibili in partenza, ma per ora le iPSc si affacciano timidamente alla clinica e, al momento in cui scrivo, non sono a conoscenza di trial clinici d'ingegneria dei tessuti che le utilizzino. In realtà i primi successi dell'ingegneria dei tessuti, almeno parziali e spesso controversi, si sono avuti con organi cavi, quali la trachea, la vescica e l'uretra. I tubi sono in generale più facili da riparare rispetto a strutture compatte (meglio il lavandino del televisore), ma comunque presentano delle criticità importanti.

I biomateriali, infatti, devono costituire una struttura tridimensionale che mimi l'intero organo (la trachea è necessaria per tutta la sua lunghezza) o quando possibile di una parte di esso (come abbiamo visto, di un fegato basta la metà), per permettere alle cellule di inserirsi e distribuirsi come in un tessuto naturale e di svolgere le loro normali funzioni; al tempo stesso, la struttura ingegnerizzata non deve causare reazioni infiammatorie o immunitarie da parte dell'ospite, che potrebbe riconoscere il biomateriale come estraneo e cercare di distruggerlo. Infine, i biomateriali devono essere ovviamente riassorbibili, cioè lentamente degradabili dalle cellule che li colonizzano che dovrebbero sostituirli progressivamente con i componenti della matrice extra-cellulare che esse stesse sintetizzano. I biomateriali che soddisfano questi presupposti sono definiti per l'appunto «biocompatibili» e sono gli unici che hanno una reale potenzialità clinica.

In questo momento, dividiamo i biomateriali in sintetici e naturali. I primi sono costruiti in laboratorio usando molecole che somigliano a quelle naturali; i secondi sono costituiti da organi di animali o più raramente umani (da cadaveri o da organi scartati dopo interventi chirurgici) da cui le cellule sono state rimosse con detergenti per lasciare solo l'impalcatura di base, che sarà riempita con le cellule del paziente. Per questo motivo sono anche definiti «decellularizzati». Le questioni ancora da risolvere rispetto a questi materiali sono tante: attecchimento e sopravvivenza delle cellule, integrazione nel corpo del paziente, mantenimento a lungo termine della funzione originaria e desiderata.

Da tempo collaboro con Paolo de Coppi, chirurgo neonatale italiano a Ucl, che cerca di produrre un esofago umano partendo da un esofago decellularizzato di maiale, ricolonizzato da cellule umane sia epiteliali che muscolari (essendo il mio campo di *expertise*, fornisco queste ultime). La struttura che si ottiene assomiglia abbastanza a un esofago naturale, ma per il momento sembra ancora immatura, più fragile. Se fosse trapiantata direttamente in un paziente, per rimpiazzare un tratto di esofago danneggiato

o assente dalla nascita (è il caso di chi soffre di atresia neonatale), il rischio che questa nuova struttura non regga la pressione causata dal passaggio del bolo alimentare sarebbe molto elevato, con conseguenze gravi. Pertanto si cerca di ottenere una buona maturazione dell'organo, in bioreattori e/o trapiantandolo *in vivo*, prima di sottoporlo a un collaudo funzionale reinserendolo nella sua posizione anatomica naturale. Tutto questo prende tempo e tanti soldi. Purtroppo questo campo è stato, forse più di altri, dominato da forti interessi commerciali che hanno spinto alcuni ricercatori a esagerare il risultato e a passare troppo rapidamente alla sperimentazione clinica. Il caso più noto è forse quello del chirurgo italiano Paolo Macchiarini, la cui reputazione sulla stampa è passata in breve tempo da quella di leader dei trapianti di organi bioingegnerizzati, osannato per aver eseguito il primo trapianto di trachea nei secondi anni zero a Ucl<sup>7</sup>, a «truffatore» accusato di aver alterato i risultati dei suoi studi clinici e di aver nascosto la morte di alcuni pazienti, nel cui corpo non si era integrata la trachea artificiale impiantata.

Macchiarini, come riconosciuto dal Karolinska Institutet di Stoccolma dove lavorava, è finito sulle pagine dei giornali nel 2016, con pubblica condanna. Non voglio entrare nel merito della specifica vicenda, esaminata da comitati che hanno avuto a disposizione gli elementi per giudicare. Voglio però ribadire che, in aree di frontiera della ricerca medica, il confine tra rischio assunto con consapevole responsabilità e rischio non controllato è a volte difficile da definire, anche per i cosiddetti «esperti». Le considerazioni sull'opportunità o meno di un intervento si confondono giocoforza con la possibilità di trovare risposte ai problemi dei pazienti in tempi che non siano biblici. Da una parte, infatti, se si arriva ad agire sul paziente senza i dovuti controlli, il rischio di fare danni è altissimo; dall'altra si può continuare a effettuare controlli scrupolosissimi per anni mentre i pazienti muoiono in attesa di una cura. Quale potrebbe essere stato l'errore di valutazione commesso da Macchiarini? Non avendo esaminato il dossier specifico, posso solo fare qualche supposizione e basarmi su quanto di dominio pubblico. Lavori pre-clinici poi dimostrati non riproducibili e addirittura falsi, interventi su pazienti condotti in modo non ortodosso, eventi avversi gravi e perfino decessi tenuti nascosti, sono tutte accuse che hanno portato alla sua condanna e al pubblico discredito.

Abbiamo visto che una volta terminata la fase pre-clinica, in cui un nuovo approccio terapeutico viene testato attraverso studi in laboratorio condotti sugli animali, inizia la fase clinica vera e propria, che prevede il coinvolgimento di un numero via via più consistente di esseri umani, secondo tre diversi stadi. In questo senso esiste uno standard internazionale di etica e qualità scientifica nella progettazione, conduzione, registrazione e verbalizzazione di studi clinici su soggetti umani, che va sotto il nome di

*Good Clinical Practices* (Gcp), introdotte nel 2004. A garantire tanto la tutela dei diritti, della sicurezza e del benessere dei soggetti che partecipano allo studio, in conformità con i principi stabiliti dalla Dichiarazione di Helsinki<sup>8</sup>, quanto l'attendibilità dei dati relativi allo studio clinico è proprio l'aderenza a questi standard. Da quanto si può ipotizzare per il caso di Macchiarini, nella fase clinica gli eventi avversi e le morti non furono riportati forse nella speranza che il caso non venisse scoperto, non si ripetesse e quindi non conducesse al blocco di tutta la sperimentazione. Il contrario di quanto era accaduto qualche anno prima per i pazienti che avevano ricevuto protocolli di terapia genica al Necker di Parigi. Ci si potrebbe chiedere: «Se il paziente è morto, che importanza ha riportare l'evento?». Per il paziente nessuna, ma per la comunità medico-scientifica fondamentale, non fosse altro perché permette ad altri di non ripetere gli errori commessi e obbliga tutti a ritornare in laboratorio per cercare soluzioni diverse, più sicure.

Allo stato attuale, gli organi che sono stati ricostruiti con ingegneria tessutale e impiantati in pazienti sono molto pochi, e sono tutti cavi: trachea (Macchiarini non è stato il solo; altri trapianti sono stati eseguiti a Ucl con successo), bronchi, arteria polmonare, vescica e uretra. Forse il caso Macchiarini ha portato i ricercatori a riconsiderare meglio i rischi connessi a questa disciplina, soprattutto per la possibilità che l'organo ingegnerizzato non sopporti lo stress funzionale e si laceri con conseguenti emorragie, o nel già citato caso dell'esofago durante la deglutizione, con dispersione del cibo appena ingerito nel torace. È necessario essere molto prudenti e scrupolosi, prendere ancora tempo per evitare che altri episodi tragici possano gettare discredito sulla disciplina e ritardarne paradossalmente molto più a lungo, per molti anni, lo sviluppo.

#### GLI ORGANOIDI: AVATAR IN MINIATURA

In passato, per studiare la funzione di un organo i fisiologi cercavano di isolarlo e, una volta divenuto possibile, connetterlo a una macchina che facesse circolare il sangue mantenendolo vivo per alcune ore, in modo da poterne misurare qualche parametro vitale prima che le condizioni sub-ottimali ne causassero una progressiva degenerazione. Una situazione certo non ideale, in parte superata quando i biologi cellulari iniziarono a coltivare *in vitro* le cellule di quello stesso organo. In due dimensioni e su un substrato di plastica le cellule mantengono certe funzioni (così, ad esempio, quelle epatiche producono ancora albumina), ma perdono quelle che dipendono dalla struttura tridimensionale dell'organo, e quindi il loro studio può dare solo informazioni limitate circa l'organo in esame.

È qui che entrano in gioco gli organoidi, un'area di ricerca nuovissima, la cui nascita nel 2009 si deve al gruppo di Hans Clevers<sup>9</sup> a Utrecht. Resa possibile dallo sviluppo delle tecniche di coltura cellulare in tre dimensioni, la tecnologia sta riscuotendo grandi favori e suscitando aspettative più o meno giustificate, insieme a qualche timore. Perché tanto entusiasmo? Gli organoidi ci porteranno – questo almeno è l'orizzonte prospettato da chi li considera una via concreta per lo sviluppo delle ricerche biomediche –, a raggiungere un maggiore livello di complessità funzionale garantendo possibilità straordinarie per riprodurre e studiare la fisiologia e la patologia degli organi e dei loro processi, aprendo grandi scenari alla ricerca medica, alla sperimentazione di farmaci e terapie. Immaginate infatti di poter disporre di mini-reni, mini-fegati, addirittura mini-cervelli formati da aggregati tridimensionali di cellule provenienti dallo stesso paziente, su cui testare gli effetti di un farmaco. Come suggerisce il termine «organoide», si tratta infatti di organi microscopici, cresciuti a partire da una o poche cellule staminali, adulte o embrionali, all'interno di un gel costituito da diverse molecole della matrice extra-cellulare del nostro corpo. Il risultato è appunto una struttura che assomiglia spesso a un microscopico intestino o addirittura a un microscopico cervello, con la corteccia cerebrale in superficie e i centri vitali al di sotto. Finora tutti gli organoidi che ho visto fotografati in pubblicazioni o congressi scientifici, ricordano miniature dell'organo in questione ma, dimensioni a parte, sono diversi dall'organo originale e anche tra di loro, in diverse riproduzioni dello stesso modello.

Questo *vulnus* è vincolante rispetto all'uso che si vuole fare degli organoidi? Dipende. In teoria essi servono a tantissimi scopi: a studiare lo sviluppo degli organi (molto ostico altrimenti, perché gli embrioni umani da cui si potrebbero generare non sono facilmente disponibili), ma anche a investigarne la funzione, l'insorgere di malattie, la risposta alle terapie e addirittura, se prodotti in grandi o grandissime quantità, al trapianto nei pazienti, al posto del trapianto di cellule o di organi da un donatore. Per alcuni di questi scopi la differenza tra organoide e organo originale non è importante, per altri sì. Se vogliamo studiare come si forma un fegato umano non basta avere un po' di cellule che si aggregano tra loro, bisogna che i vasi sanguigni e i dotti biliari, essenziali per la sua funzione complessiva, si formino e posizionino correttamente, altrimenti ciò che studieremo non corrisponderà all'originale. Fino ad oggi gli organoidi epatici non raggiungono questa complessità strutturale e funzionale, ma anche qui si presentano casi diversi: se analizziamo la risposta a un farmaco di una cellula malata all'interno del suo ambiente naturale, non sarà decisivo il fatto che l'organoide non ricostituisca esattamente l'organo originale, purché la singola cellula risponda al farmaco come avrebbe fatto nel fegato normale. Per esaminare invece il passaggio di agenti infettivi (di recente è stata riprodotta

in un organoide l'infezione del virus Zika – uno dei virus, come Ebola, originari dell'Africa e causa di patologie spesso gravi) è molto importante che la barriera epiteliale, che separa i tessuti sottostanti del mondo esterno, sia integra e identica a quella naturale, altrimenti le informazioni che otterremo dall'esperimento non ci diranno molto di attendibile circa quel che succede in un fegato reale.

Infine, per il trapianto di organoidi, ancora lontano dalla pratica clinica, il problema rimane quello che si affronta già oggi con le cellule o con i virus: riuscire a far arrivare la nostra nuova «medicina» dove deve, in un luogo preciso all'interno del nostro corpo, cosa molto disagiata per la complessità meccanica dell'organismo e che con gli organoidi potrebbe rivelarsi ancora più complessa, date le loro maggiori dimensioni (un organoide può contenere migliaia di cellule e quindi avere un volume di vari ordini di grandezza superiore ad esse). Se al posto di un organoide del fegato volessimo trapiantare organoidi che ricostituiscano bronchioli normali in un paziente affetto da fibrosi cistica, dovremmo per forza sostituire i bronchioli malati con i nostri organoidi, aventi stesso diametro, stessa struttura e analoga capacità di integrarsi funzionalmente nell'albero respiratorio.

Oggi questa tecnica è ancora impossibile da implementare e in un caso come questo scommetterei sull'ingegneria dei tessuti, che utilizza l'impalcatura già esistente dei bronchi, più che sugli organoidi, i quali dovrebbero ricrearli unicamente a partire da cellule all'interno di un gel. Pur essendo una promessa della medicina rigenerativa, essi non sono ancora pronti per la clinica ed è sempre bene sbagliare per eccesso di pessimismo che, al contrario, di ottimismo.

#### FABBRICARE LE CELLULE IN LABORATORIO

Come e perché è comparsa la vita sulla Terra? E la forma di vita che conosciamo, basata sulle molecole di carbonio, è la sola possibile o nell'universo esteso, su altri pianeti al di fuori dello spettro del visibile o dell'osservabile, ne esistono e prosperano altre che non riusciamo nemmeno a immaginare? Ciò che sappiamo con certezza è che la vita su questo pianeta è iniziata più di un miliardo di anni fa in condizioni ambientali oggi non più possibili, in primo luogo perché se la vita si formasse continuamente dalla combinazione di molecole organiche, queste diventerebbero subito cibo per i micro-organismi già esistenti (il pesce grande mangia il pesce più piccolo, che può crescere solo se il pesce grande ancora non c'è). Il concetto di base è che per pensare a qualcosa di «vivo» non basta immaginare una molecola che sia in grado di crescere (anche i cristalli possono accrescersi nel tempo), o

addirittura di fare una copia di se stessa. Bisogna che queste reazioni avvengano in uno spazio circoscritto, così che le molecole piccole (aminoacidi, nucleotidi, vitamine, lipidi) necessarie per costruire le molecole grandi (proteine, Dna, Rna ecc.) non si diluiscano nel fluido o nella sostanza in cui sono immerse, ma rimangano confinate e quindi disponibili in quello spazio: una cellula primordiale. Immaginiamo un palloncino isolato dal resto del mondo (in origine il mare o un lago, con ogni probabilità) da una sottile membrana costituita da lipidi impermeabili che crea un «dentro» e un «fuori». Un'identità, un'unità, un «pieno» che si forma a partire dal vuoto e dà origine ai processi onto e filogenetici. È la vita così come studiata, a cominciare da Darwin, dalla moderna biologia.

In passato si sono effettuati molti esperimenti nel tentativo di riprodurre questo processo, che hanno portato alla formazione *in vitro* delle molecole, i mattoni con cui la cellula è costruita. Tuttavia mescolare le molecole in una provetta, agitare vigorosamente e aspettare che si formi una cellula in modo spontaneo è probabilmente un modo un po' troppo ingenuo di agire. Anche se l'idea di creare dal nulla una cellula del nostro corpo ha affascinato i biologi per decenni, è stato necessario un approccio più sottile e riproducibile in laboratorio per arrivare a un risultato clamoroso, creare artificialmente la vita dal nulla, anche se non proprio nei termini che si erano ipotizzati in partenza.

Craig Venter, famosissimo ricercatore e imprenditore americano, personaggio che occupa spesso le pagine dei giornali per le sue notevoli capacità comunicative, creative e manageriali – doti che di rado si trovano tutte insieme nella stessa persona –, nel 2010 riportò su «Science» di essere riuscito a trasformare un batterio di una specie in un'altra, attraverso la creazione di quella che lui stesso aveva definito «vita sintetica»<sup>10</sup>. Nelle *facilities* della società Synthetic Genomics da lui fondata nel 2005, era riuscito a sintetizzare molecole di Dna sempre più lunghe, fino a più di un milione di nucleotidi, ma non sapeva se questo Dna fosse in grado di attivarsi realmente, ossia di portare alla produzione di proteine funzionali. Per testare la bontà del Dna sintetizzato, ha pertanto selezionato un batterio e ne ha sostituito il Dna con quello costruito artificialmente. Il risultato dell'esperimento ha aperto una nuova era della biologia: il batterio ospite si è rapidamente trasformato nel batterio il cui genoma era stato sintetizzato in laboratorio. Perché mai – potreste domandare – qualcuno dovrebbe voler trasformare un batterio in un altro? Semplice: una volta dimostrato che il Dna costruito in laboratorio funziona e codifica per le proteine che vogliamo, diviene possibile modificare il genoma e ottenere che il batterio produca una proteina utile per uno scopo desiderato, ad esempio un enzima che degradi sostanze tossiche che si accumulano nell'ambiente, o che possa sintetizzare idrocarburi eliminando la necessità di estrarre petrolio dal suolo, o ancora che sia efficace per produrre vaccini. Questa rivoluzione non è ancora applicabile

a cellule di organismi superiori, data la loro maggiore complessità, ma ha già suscitato perplessità e timori sia per il rischio che i batteri creati in laboratorio possano divenire pericolosi per la salute dell'uomo, sia per l'atavico timore religioso che «in questo modo si gioca a fare Dio». Circa il primo punto, possiamo anche continuare a girare film distopici di fantascienza ma in mezzo secolo di esperimenti, con trilioni di micro-organismi geneticamente modificati creati in provetta, non si sono visti mostri microscopici che abbiano causato tremende epidemie. Gli organismi cresciuti in laboratorio, siano essi batteri o su scala più grande topolini transgenici, non sono in grado di competere nel mondo reale, proprio perché non sono sottoposti a selezione naturale. In natura, un topo che non presta la dovuta attenzione ai predatori ha altissime probabilità di divenirne preda e vittima e quindi di non passare i suoi geni alle generazioni future. In questo modo la natura seleziona i topi più attenti e scaltri e lo stesso fa con i predatori, che altrimenti morirebbero di fame e ugualmente non passerebbero i loro geni alla prole. Ora, se una colonia di topi è stata cresciuta in laboratorio per decenni (cioè per migliaia di generazioni) senza vedere un predatore, la pressione selettiva non viene esercitata. Se uno di questi animali – lo stesso vale per un batterio – fosse liberato in natura, ad esempio in campagna, non avrebbe alcuna chance di sopravvivere.

Quando, nel 2013, gli attivisti della Lega anti-vivisezione dichiararono con orgoglio di avere liberato animali «torturati» nei laboratori del dipartimento di farmacologia di via Vanvitelli a Milano, la stampa coprì in dettaglio questo avvenimento. È bene precisare che gli animali «salvati» in questo modo non possono che avere subito due destini. È possibile che siano stati tenuti per tutta la vita in altre gabbie, questa volta negli appartamenti dei loro liberatori, proseguendo quindi la prigionia, oppure che siano stati liberati nell'ambiente, diventando facile preda dei gatti del circondario. Pur non essendo un bioeticista, non vedo il presentarsi di un problema etico nel modificare il genoma di un batterio o anche di un paziente, se questa operazione può generare un beneficio per l'ambiente o per il paziente stesso.

Non si tratta di «giocare a fare Dio», ma di usare gli strumenti che la natura e la nostra intelligenza ci hanno dato per modificare in meglio il mondo che ci circonda. In fondo la medicina, fin dai suoi albori, ha avuto come scopo principale quello di migliorare la condizione di chi soffre: se per raggiungere questo scopo somministra prima erbe o farmaci e poi arriva a correggere il genoma del paziente, non riesco a vedere cosa ci sia di strano o sbagliato.

BISTECCHIE A PROVA DI VEGANO

Oggi, attraverso le biotecnologie si cerca di alleviare la fame nel mondo, modificando piante per renderle capaci di crescere in terreni aridi, di resistere ai principali parassiti risparmiando l'uso di tonnellate d'insetticidi tossici o addirittura di contenere vitamine non presenti naturalmente nel prodotto originale, che se ingerite come parte della dieta abituale potrebbero salvare decine di milioni di vite umane in tutto il mondo.

L'insieme delle procedure per manipolare il cibo geneticamente è spesso combattuto o addirittura proibito da vari governi, quello italiano in prima fila, per compiacere una crescente fetta della popolazione che rifiuta qualsiasi argomento venga da fonti scientifiche «ufficiali», considerate corrotte e al soldo delle multinazionali. Costoro sono convinti che gli organismi geneticamente modificati (i vituperati Ogm) siano lo strumento del demonio.

Forti delle loro convinzioni e scevre da ogni dubbio, queste persone dimenticano troppo facilmente che mentre trovano nel supermercato sotto casa tutto il cibo che vogliono (e biologico, non sia mai), un numero enorme di persone muore di fame o in seguito ad avitaminosi da qualche altra parte del pianeta<sup>11</sup>.

In linea teorica rendere più efficiente la produzione non solo di alimenti a base vegetale, ma anche e soprattutto di quelli di derivazione animale, è un'intenzione lodevole, la risposta perfetta a un'angosciante preoccupazione ambientale ed etica. La bistecca derivata da cellule staminali potrebbe rivelarsi l'espedito risolutivo per porre fine agli allevamenti intensivi, allo spropositato consumo di acqua, foraggio e ossigeno, allo strabiliante ammontare delle emissioni di anidride carbonica nell'atmosfera a seguito delle deiezioni degli animali e del trasporto delle merci, un prezzo altissimo in termini di sfruttamento di risorse ed effetti ecologici non desiderati, solo al fine di mantenere le capricciose e poco salutari diete degli abitanti dei paesi occidentali. È questo, oggi, ciò che realmente ci costa una bistecca. Ma, alla prova dei fatti, l'idea di poterla creare in laboratorio è davvero realizzabile? Se sì, a quali condizioni?

Le bistecche sono in sostanza fette di muscoli di animale. Isolando le cellule satelliti dai muscoli è possibile farle espandere *in vitro* (anche se non indefinitamente) e poi, coltivandole in un terreno di coltura privo di fattori di crescita, farle differenziare in piccole fibre muscolari immature che contengono molti nuclei. Stiamo parlando di fibre così piccole da non essere visibili a occhio nudo: immaginate quindi quante ne servirebbero, concentrate insieme, per ottenere un prodotto delle dimensioni di un hamburger. Eppure, evidentemente, qualcuno deve credere molto in questo progetto, poiché ingenti somme di denaro sono state investite nello sviluppo di un articolo la cui preparazione costa al momento circa 200.000 dollari e, a detta di chi l'ha provato, non risulta nemmeno così saporito. I fautori della bistecca ci invitano a pazientare. «Vedrete, i prezzi scenderanno, la qualità migliorerà». È una



possibilità, ma avendo cresciuto cellule muscolari di mammifero in coltura per vari decenni so che il problema delle dimensioni è cruciale. Per loro natura le cellule muscolari, soprattutto quando maturano, consumano molto ossigeno e, se non ne ricevono a sufficienza – come accade se ne vengono coltivate troppe tutte insieme per arrivare ad avere almeno un microscopico pezzetto di tessuto muscolare –, le cellule al centro della coltura soffriranno la penuria di ossigeno ed è possibile che muoiano. Bisogna quindi coltivare tantissime cellule in moltissimi recipienti diversi, in modo che ognuno ne contenga uno o pochissimi strati. Quando hanno formato le fibre muscolari, queste si staccano e si combinano insieme ad altri componenti (sali, coloranti, eccipienti, forse del grasso), *et voilà*: la bistecca è servita. Per produrre qualcosa che rassomigli vagamente a un hamburger sono stati necessari contenitori di plastica in numero tale da riempire una o più stanze e terreni di coltura che – per il momento – contengono siero bovino e quindi prevedono comunque il coinvolgimento di animali.

Paragonate il procedimento per produrre la bistecca dalle staminali a quello per arrivare al «troncio» della val Clavicola, al centro di uno sketch televisivo che i meno giovani sicuramente ricorderanno. Era il 1965 e un giovane Raimondo Vianello, inviato di un giornale dalla città, si reca nella val Clavicola per intervistare un artigiano, Ugo Tognazzi, il quale sta lavorando senza posa a un «troncio», come nella valle è definito un tronco. Alla fine di queste estenuanti fatiche e lunghe procedure, ne ricava un solo stuzzicadenti, del tutto identico e indistinguibile da quelli prodotti industrialmente.

Con questo non voglio irridere a questa iniziativa biotecnologica e magari fra qualche anno mangerò anch'io queste bistecche. Ma per il momento sembrano anch'esse un prodotto *made in val Clavicola*.

#### «DE HUMANI CORPORIS FABRICA». COSTRUIRE O CURARE EMBRIONI UMANI

La questione si fa decisamente più complicata se dalle bistecche animali ci si sposta verso la creazione di embrioni, soprattutto umani. Ci sono vari aspetti e casi da considerare. Del primo si è discusso e scritto fino alla nausea, per cui menzionerò appena la vicenda, rimandando a testi specifici sull'argomento<sup>12</sup>. Si tratta della famosa «clonazione terapeutica», cioè del trasferimento del nucleo di una cellula del malato in una cellula uovo umana che, in una piccola percentuale di casi, dà origine a un embrione che può essere usato per derivare cellule staminali embrionali, autologhe, identiche a quelle del paziente e quindi trapiantabili senza inconvenienti immunologici. Se non venisse utilizzato come fonte di cellule ma fosse invece impiantato nell'utero di una madre «in affitto» dall'embrione si otterrebbero esseri umani

clonati, e la procedura è ovviamente uguale per gli animali: il caso della famosa pecora Dolly.

Tuttavia clonare l'uomo non avrebbe al momento ragione scientifica perché si è già osservato che gli animali clonati tramite questa tecnica presentano dei difetti in vari organi – il rene e altri visceri, che presentano grandi dimensioni, si ammalano con più facilità – compromettendo così una vita normale (Dolly venne abbattuta in seguito a complicazioni ascrivibili a invecchiamento prematuro). Cerchiamo quindi di immaginare uno scenario che potrebbe spiegare, anche se non giustificare, una clonazione. Una madre perde un figlio in tenera età. Non ne vuole un altro, riuole indietro esattamente il figlio che ha perduto. Dalle cellule del bimbo defunto sono isolati i nuclei, che vengono iniettati nelle cellule uovo della madre o di una donatrice. Di uova ne serviranno davvero tante (la percentuale di successo negli animali è dell'1-2%) perché una possa dare origine a un embrione che sarà «quasi» identico al bambino perduto e, una volta impiantato nell'utero, si svilupperà e darà origine a un bambino altrettanto «quasi» identico. Lasciamo da parte per un momento i problemi tecnici e medici (la scarsissima efficienza del processo, la possibilità d'importanti difetti nello sviluppo del bambino clonato); siamo davvero sicuri che il bambino sarà esattamente uguale all'originale? Tanto per cominciare, sarà diverso l'atteggiamento della madre in gravidanza: possiamo ragionevolmente ritenere, infatti, quale potrà essere in lei la preoccupazione e l'ansia di perdere anche la copia, e quindi tanto i segnali ormonali in utero quanto la comunicazione con il neonato dopo la nascita, saranno molto diversi rispetto alla prima volta, quella naturale. Tutto ciò potrebbe influire sulla psiche del neonato e del futuro bambino. Bisogna inoltre considerare come si sentirà quel bambino quando scoprirà di essere una copia, il mero duplicato di una persona che non c'è più. Allo stesso tempo, il bambino clonato sarà necessariamente esposto a un contesto ambientale radicalmente diverso da quello dell'originale: periodo storico diverso, amicizie diverse, eventi accidentali completamente diversi. In sostanza, tutto il processo non porterebbe che a sviluppare comunque una persona molto differente da quella che si intendeva copiare. Anche simpatizzando con il dolore della madre, rimangono quindi molti dubbi e interrogativi sull'efficacia della pratica.

Lo scopo principale per cui è stata sviluppata la tecnologia del trasferimento nucleare non è la clonazione riproduttiva, che, come si deduce già dal nostro esperimento mentale, non è sicura e condizionata da eterogenesi dei fini, ma la creazione di cellule staminali autologhe con cui curare in sicurezza le malattie genetiche, magari anche in utero. Per ottenere lo stesso risultato appena menzionato, da dieci anni a questa parte si sta progressivamente sviluppando una strategia completamente diversa rispetto alla clonazione, basata sul tentativo, in laboratorio coronato spesso da

successo, di «curare» gli embrioni malati prima di impiantarli in utero. Alcune malattie genetiche sono causate da mutazioni nel Dna dei mitocondri. Volendo semplificare, i mitocondri possono essere paragonati ai polmoni della cellula: utilizzano l'ossigeno per far avvenire delle reazioni chimiche che producono gran parte dell'energia con cui le cellule possono funzionare. Si ritiene che in origine fossero batteri indipendenti che in tempi remoti si adattarono a vivere all'interno di cellule più evolute con un vantaggio reciproco (simbiosi). Infatti, molti dei geni dei mitocondri con il tempo si sono trasferiti nel nucleo della cellula, anche se non è chiaro come questo sia potuto accadere nel corso di centinaia di milioni di anni. Il nucleo contribuisce ora a costruire circa il 70% dei mitocondri ma in cambio riceve dagli stessi quasi tutta l'energia con cui andare avanti. Un terzo dei geni originali è però rimasto all'interno di essi, e come tutti i geni, anche questi possono subire mutazioni che danno origine ad alcune malattie dette per l'appunto «mitocondriali» (altre derivano da mutazioni di geni nucleari che però codificano per proteine specifiche dei mitocondri).

Molte delle malattie mitocondriali sono gravi e incurabili, come quella del piccolo Charlie Gard, che ha attirato l'attenzione dei media nell'estate del 2017. Charlie era nato nel luglio del 2016 con una rara e gravissima sindrome di deplezione del Dna mitocondriale (Mdds) che aveva causato nel suo caso una grave encefalopatia associata a estrema debolezza dei muscoli. Per questa malattia non esiste trattamento, anche se un medico di New York, il professor Michio Hirano, direttore tra gli altri del Laboratory of Metabolic and Mitochondrial Disease della Columbia University, sta sperimentando un protocollo terapeutico basato sulla somministrazione di un nucleoside che ovvierebbe al difetto mitocondriale, una sperimentazione che a me sembra priva di ogni base logica<sup>13</sup>.

Per la gravità della sua malattia, che comporta un danno irreversibile al cervello, i medici del Great Ormond Street Hospital di Londra (Gosh), dove era stato trasferito nel febbraio del 2017, avevano deciso di accompagnare Charlie al suo inevitabile destino, ma i genitori non si arresero e portarono il caso all'attenzione dell'opinione pubblica, appellandosi all'Alta corte di giustizia che diede infine ragione al Gosh. La coppia si rivolse allora alla Corte d'appello, alla Corte suprema e persino alla Corte europea dei diritti umani, ricevendo sempre lo stesso verdetto. A complicare ulteriormente la vicenda intervennero anche numerosi clinici, che scrissero una lettera pubblica sostenendo che bisognava tentare qualche trattamento, anche dopo che lo stesso Hirano, visitato il bambino, aveva concluso che sarebbe stato comunque troppo tardi. Il caso divenne ben presto internazionale, coinvolgendo addirittura il papa e il presidente americano Donald Trump; perfino l'Ospedale Bambino Gesù di Roma si era offerto di tentare qualche non meglio specificata terapia sperimentale. Alla fine, nel corso dell'estate e

poco prima di compiere il primo anno di vita, Charlie fu ricoverato in un hospice in cui le macchine che lo facevano respirare artificialmente furono disattivate.

Nel 2018 la storia, quasi identica, si ripete per un altro bambino, Alfie Evans, ricoverato all'Alder Hey Children's Hospital di Liverpool perché affetto da una patologia neurologica degenerativa non ancora conosciuta. Anche in questo caso, di fronte all'impossibilità di una cura, e di fronte alla volontà dei medici di sospendere i trattamenti, i genitori si oppongono ricorrendo all'Alta corte inglese, che nel febbraio 2018 decide in favore dei medici. Ad aprile 2018, dopo un nuovo intervento del papa, è la Corte suprema inglese a confermare definitivamente la sospensione della terapia. Questi complessi episodi suggeriscono che in futuro diventerà frequente il caso di genitori che, non accettando la loro terribile sorte, chiedono alle macchine, al papa, al presidente e alla regina di riportare in vita a tutti i costi un figlio di cui resta solo un corpo che respira artificialmente.

Tuttavia, se Charlie o Alfie erano di fatto e purtroppo incurabili, giunti ormai allo stadio di morte cerebrale, forse si sarebbero potuti guarire se trattati quando si trovavano ancora allo stadio embrionale, a patto che l'esistenza di questa mutazione nella famiglia fosse stata nota prima della gravidanza. I geni mitocondriali, trovandosi fuori dal nucleo, sono ereditati solo dalla madre. L'uovo contiene tutti i mitocondri, mentre lo spermatozoo non ne porta con sé alla fecondazione. Se la madre è portatrice di una malattia mitocondriale (al momento le analisi genetiche che potrebbero rivelarlo non si fanno di routine a causa dei costi molto elevati), il feto avrà un'alta probabilità o la certezza di sviluppare questa malattia. Oggi però questa situazione si può controllare. Se il nucleo di un embrione appena fecondato è trasferito in un uovo sano (ottenuto da una donatrice sana) i mitocondri saranno sani e quindi la malattia genetica sarà prevenuta nel feto e in tutta la sua futura progenie. Il nascituro sarebbe, banalizzando un po' ma non troppo, un bambino che nasce da tre genitori: un padre che dona lo spermatozoo, una madre che dona il suo genoma nucleare e una seconda mamma che dona i mitocondri insieme al resto dell'uovo. Scogli tecnici (superabili) a parte, non vedo il sussistere di grandi dilemmi etici, soprattutto perché la seconda mamma dona solo i mitocondri, una frazione davvero minima del genoma ma sufficiente, se mutata, a causare malattie gravissime, in questo modo invece eliminabili completamente. A livello generale, infatti, l'argomento a favore della terapia genica sugli embrioni si basa sulla possibilità di eradicare la malattia in modo definitivo.

Il problema è serio e persistente, e lo sarà sempre di più in futuro: già oggi malati di gravi malattie genetiche iniziano a essere curati e a tornare a una vita normale; avranno quindi il desiderio e il diritto di avere dei figli che, però, avranno un'alta probabilità di sviluppare la stessa malattia. Una terapia

sull'embrione curerebbe in via definitiva questi futuri bambini e anche la loro progenie. E in quest'ottica, nell'ottobre del 2017, la notizia di un embrione umano curato in provetta con il *genome editing* da una grave cardiopatia congenita<sup>14</sup>, ha di nuovo raggiunto le prime pagine dei giornali, anche se, probabilmente per la fretta, su «la Repubblica.it» era apparsa la foto inequivocabile di un uovo di gallina, ottimo per l'alimentazione ma non ideale per manipolazioni genetiche.

I ricercatori hanno iniettato nell'embrione, tramite un ago sottilissimo, la Crispr-Cas9 (di cui parlerò in dettaglio nel prossimo paragrafo), costruita in laboratorio proprio per riconoscere, tra miliardi di nucleotidi, solo la sequenza alterata e responsabile della mutazione. I nucleotidi incriminati vengono quindi tagliati via e sostituiti da quelli corretti, presenti in tutti gli individui sani. L'embrione curato attraverso questa procedura non è stato impiantato in utero, e per il momento non si faranno venire alla luce bambini curati come embrioni, per evitare che questo trattamento provochi danni non prevedibili nel nascituro. Tuttavia vari comitati di ricercatori e bioeticisti nulla hanno eccepito all'idea di un embrione curato in provetta e poi fatto nascere, a condizione che tutti i necessari controlli garantiscano la sicurezza del procedimento. Semmai il rischio è proprio nell'iniziativa prematura e commercialmente motivata, per cui centri di riproduzione assistita potrebbero offrire questo nuovo servizio a prezzi molto alti e senza le necessarie garanzie di sicurezza.

Più in generale, qualcuno potrebbe argomentare che tutta questa linea di ricerca è valida nonostante i rischi e i dilemmi etici, perché ha come fine la cura di gravi malattie nell'embrione; è bene tuttavia precisare che ci si sta pian piano rendendo conto, e con sempre maggiore evidenza, che essa non è strettamente indispensabile, né forse così necessaria.

Grazie alla diagnosi pre-impianto è oggi possibile fecondare un certo numero di embrioni e identificare quelli sani e quelli malati. Tramite un sottile capillare di vetro si può aspirare una singola cellula dell'embrione (che nel 90% dei casi sopravvive) e usarla per stabilire se il Dna contiene la mutazione (futuro bambino malato) o no (futuro bambino sano). Uno o più embrioni sani sono quindi impiantati nell'utero della madre con la certezza che la malattia non sarà trasmessa alle generazioni successive. In più, grazie alle tecniche di crio-preservazione altri embrioni, in condizioni garantite, potranno essere preservati per future gravidanze. Salvo casi eccezionali, questa tecnica permette già ora di selezionare un embrione sano e pone interrogativi sulla necessità assoluta di intervenire per «curare l'embrione». Giusto? Sbagliato? Lascio a ognuno di voi, ora che vi ho dato gli elementi per farlo, l'onere di maturare una personale opinione a riguardo.

Immaginate un «sarto molecolare», capace di tagliare e ricucire il Dna con la maestria di Elsa Schiaparelli. Alla stessa stregua di uno stilista emergente, esso comincia oggi a comparire sempre più spesso sulle pagine delle riviste scientifiche e talvolta dei quotidiani. Nella corsa a rinforzare la riconoscibilità e l'identità del suo brand ha forse un unico punto debole: un nome pressoché impronunciabile, «Crispr-Cas9». Con questo strano e complicato acronimo si firma l'enzima che consente di effettuare il cosiddetto *genome editing*, la pratica rivoluzionaria che in futuro avrà probabilmente le maggiori ricadute applicative nell'ambito della manipolazione dei geni. A chi sia pratico del contesto editoriale il termine *editing* evoca altre potenti e familiari metafore, ad esempio le infinite sessioni tra autore ed editor, in cui quest'ultimo ingaggia una strenua lotta per suggerire all'autore del testo non solo i punti da valorizzare e potenziare, ma soprattutto quelli che segnano una caduta di tono e di stile e che vanno quindi eliminati perché rendono il testo debole, per far sì che l'opera venga pubblicata in salute e al meglio delle sue possibilità. Ciò presuppone la capacità dell'editor di sottoporre il testo a una lettura critica, riconoscendo i punti specifici in cui è necessario intervenire, e sia ben chiaro, solo in quelli e non in tutti gli altri. Allo stesso modo di un valente editor, il Crispr-Cas9 è in grado di riconoscere all'interno del nostro Dna delle sequenze specifiche di nucleotidi da correggere.

La storia di questa scoperta è per certi aspetti controversa, perché come tutte le vittorie ha molti padri. Tre diversi gruppi di ricerca arrivarono negli anni a identificare questo sistema enzimatico, che si basa sul riconoscimento e conseguente taglio di porzioni specifiche di Dna estraneo. Prima il gruppo di Yoshizumi Ishino a Osaka nel 1987, poi nel 1993 alcuni ricercatori olandesi che a Bilthoven studiavano il micobatterio della tubercolosi, infine il gruppo di Francisco Mojica all'Università di Alicante, che sempre nel 1993 è stato il primo a studiare più rigorosamente Crispr. Cosa si cela sotto questo acronimo? Esso sta per *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats*, brevi sequenze aggregate di Dna ripetute e palindrome, cioè leggibili allo stesso modo in entrambi i versi. Una struttura così peculiare del Dna non poteva passare inosservata ma la sua funzione restò ignota per molto tempo, fino a che, nel 2007, un gruppo guidato dallo scienziato francese Philippe Horvath che lavorava per la casa farmaceutica danese Danisco A/S, capì che le sequenze contengono frammenti di Dna virale dovuti a precedenti attacchi al procariote. Questi vengono utilizzati come «archivio della memoria», per riconoscere e distruggere il Dna di virus simili durante attacchi successivi. Al di là della comprensione del meccanismo biologico, nessuno di questi gruppi aveva però intravisto le immense potenzialità del sistema. Infatti, quest'arma

immunitaria dei batteri può essere utilmente usata anche per altri scopi, sfruttando la sua estrema capacità selettiva per sequenze specifiche di Dna. Tramite un enzima specializzato nel tagliare il Dna, l'endonucleasi Cas9, diretto da piccoli Rna guida che riconoscono un eventuale gene d'interesse, possiamo eliminare o sostituire proprio quel gene, intero o in parte, con una copia malata (creando un modello di malattia) o con una sana (creando un modello di terapia). Con questa tecnica possiamo quindi tagliare e ricucire porzioni specifiche e desiderate del genoma umano. Questa rivoluzionaria potenzialità fu intuata nel 2012 dalla biologa Jennifer Doudna all'Università della California a Berkeley e dalla ricercatrice francese Emmanuelle Charpentier, all'epoca operativa presso l'Università di Umea.

Ho adottato volutamente le due metafore del sarto e dell'editor: per analogia, è il Crispr-Cas9 a riconoscere le sequenze di Dna su cui poter effettuare il taglio di precisione (il sarto), mentre quali sono quelle da tagliare gli vengono indicate di volta in volta dalle molecole guida (gli editor), che vengono disegnate in laboratorio specificamente a seconda del punto in cui vogliamo eseguire l'operazione. Ricapitolando, se tagliamo a monte e a valle di un gene, quel gene viene reciso e il Dna ricucito. Abbiamo quindi rimosso un gene dal genoma; possiamo però decidere di sostituirne uno con un altro, o di intervenire su una sezione più piccola di un gene, ad esempio mutata e causa di malattia, riposizionando la parte sana. L'entusiasmo suscitato da questa nuova tecnica, di per sé effettivamente molto potente, ha fatto trascurare alcuni particolari importanti: se curiamo le cellule in coltura (*in vitro*), dobbiamo poi trapiantarle nel paziente da cui sono state prelevate. Come abbiamo già visto in numerosi casi, se è vero che si tratta di cellule sane e autologhe, rimane un problema nient'affatto secondario: a parte il sangue e gli epiteli, in tutti gli altri tessuti le cellule malate non possono ancora essere eliminate o rimosse per fare spazio a quelle sane e quindi il numero di cellule curate che va a colonizzare il tessuto rimarrà troppo esiguo per produrre un effetto terapeutico.

Esiste tuttavia anche la strada della terapia genica *in vivo*, praticata direttamente nel corpo del paziente, nel preciso *locus* che va guarito. In questo caso si ricorrerà a un vettore Aav che esprimerà la Crispr-Cas9 insieme alle sue guide, che andranno a riparare il Dna esattamente dove vogliamo noi. Sembra essere questa la nuova frontiera della terapia genica, ma prima di gridare al miracolo aspettiamo di vedere come funzionerà nei primi trial clinici eseguiti in modo sistematico.

Le questioni ancora aperte con gli Aav – risposta immune e difficoltà di produrne grandi quantità di grado clinico – rimangono, inoltre la Crispr-Cas9 è una proteina derivata dai batteri e capace di causare una forte risposta immune che la distruggerebbe insieme alle cellule curate direttamente *in vivo*. Per ovviare a questo problema si stanno producendo nuove versioni

dell'enzima, che hanno una vita molto breve e, si spera, saranno degradate dalla cellula abbastanza presto perché il sistema immune non le veda, ma non prima che queste siano riuscite a eseguire il loro lavoro di «taglia e cuci» microscopico.

#### LA FONTE DELL'ETERNA GIOVINEZZA

Uno dei malintesi che ritengo più gravi è l'idea oggi molto comune, e sempre più propagandata anche da alcuni membri della comunità scientifica, che l'invecchiamento sia una malattia. Se un tempo non avevo ragione di dubitare che l'invecchiamento fosse nient'altro che un processo naturale, ho scoperto però l'esistenza – soprattutto in rete – di una vasta letteratura che sostiene il contrario, facendo leva su argomenti che giocano sia sul confine labile tra malattia e variazione naturale, come per i geni che regolano la statura, sia sull'evolversi dell'accezione di malattia al mutare della società e delle conoscenze della scienza medica.

A voler essere davvero paranoici e complottisti – nella migliore tradizione della cultura della rete, come vedremo nel prossimo capitolo –, si potrebbe pensare che se si riesce a convincere i cittadini che la vecchiaia è una malattia, allora siamo tutti destinati ad ammalarci. Diventeremo di conseguenza una massa sterminata di fruitori di nuovi farmaci, a volte necessari altre volte meno, ma del cui consumo beneficerebbero in realtà le case farmaceutiche che li producono, intascando i relativi e ingenti profitti.

L'invecchiamento è un processo del tutto naturale, niente più che il risultato dell'usura nel tempo dei nostri organi. È certamente vero che un corpo anziano è più suscettibile di contrarre o veder insorgere tante diverse malattie (ipertensione, osteoporosi, artrite ecc.) ma la vecchiaia in sé non è una malattia. Se curassimo l'invecchiamento in via definitiva, restando per sempre giovani, sul pianeta non ci sarebbe più posto per le nuove generazioni, l'evoluzione della nostra specie si arresterebbe e quello che oggi sembra un sogno, per il singolo individuo, si trasformerebbe in breve in un incubo sul piano sociale, trasformando il mondo in un lager popolato da psicopatici e megalomani. Non riuscire a morire credo sarebbe alla fine molto peggio che invecchiare. A parte gli acciacchi, che ci accompagnano sempre più numerosi, esiste una dolcezza nell'invecchiare, un'accettazione serena del tempo che passa e forse una maggiore saggezza, anche se non ci ricordiamo più un nome o fatichiamo a tenere a mente le mille password che ci vengono richieste dai sempre più numerosi servizi digitali cui siamo iscritti.

Al momento in cui scrivo ho sessantacinque anni: se fossi nato duecento anni fa, le probabilità di essere ancora vivo sarebbero state di gran lunga



inferiori, mentre oggi arrivare a novant'anni e oltre non è poi così raro. L'importante, su tutto, è arrivarci bene. Occorre fare un'altra considerazione: rimanere giovani e vivere più a lungo sono due facce della stessa medaglia, non necessariamente indissolubili. Penso che sareste perlomeno tentati dall'offerta di vivere fino a duecento anni con la saggezza dei sessanta e il corpo dei trenta. Immaginiamo ora che possiate vivere fino a duecento anni ma con il corpo di un centenario che cade a pezzi e la mente duramente colpita dalla demenza senile: vi augurereste altri cento anni così? Dobbiamo quindi distinguere il non morire (o addirittura il resuscitare) dal non invecchiare (o addirittura ringiovanire). Inoltre, se anche creassimo dei farmaci che ci permettono di sopravvivere per secoli, produrremmo un probabile cortocircuito rispetto ai meccanismi che governano l'evoluzione delle specie, occupando spazio destinato alle nuove generazioni con le quali potremmo entrare in conflitto, a meno di considerare l'innaturale ipotesi di non riprodurci più.

Negli Stati Uniti e in altri paesi ricchi molte persone hanno deciso di farsi congelare appena morte, in attesa che una nuova terapia possa, magari tra un secolo o più, curarle dal male che ora le uccide. Sono circa dieci anni che questa nuova disciplina «scientifica», la crionica<sup>15</sup>, maschera un disegno commerciale abbastanza palese, anche in considerazione della remota possibilità che i defunti possano chiedere i danni mentre sono morti, o se non del tutto morti, in ogni caso congelati come stoccafissi. Siamo poi sicuri che tra cento e più anni, anche ammesso che l'azienda che ci ha congelato sia ancora esistente ed economicamente in salute, avremo un qualche lontano discendente così legato a noi che vorrà a tutti i costi riportarci in vita, per vedersi magari portare via la casa in cui ora vive (da erede) ma che in realtà ci appartiene? Sarà poi così bello tornare in vita quando nel frattempo tutti i nostri più cari amici e le persone amate, che magari non hanno potuto accedere all'ibernazione, sono nel frattempo scomparse?

Non voglio entrare qui nei dettagli medici o etici del fenomeno, mi limito a dare solo una breve spiegazione della tecnologia che ne è alla base: il paziente/cliente appena morto (la legge americana proibisce di farsi congelare quando si è ancora vivi, almeno per il momento) viene perfuso con un liquido antigelo concettualmente non diverso da quello che mettete d'inverno nel motore della vostra auto. Il corpo è lentamente portato a temperature di molto sotto lo zero centigrado (-40 °C) per essere così conservato fino a che non sarà trovata la cura per la malattia che ha portato alla morte del soggetto. Alla fine del processo viene incluso un piccolo, e si spera molto spettacolare, effetto «Lazzaro». L'assunto logico tuttavia preoccupa: un'organizzazione commerciale vende oggi un congelamento che potrebbe in un futuro remoto permettere di resuscitare il defunto e curare un'eventuale malattia. Sappiamo che le cellule e perfino gli embrioni, se presi a uno stadio precoce di sviluppo

(quando costituiti da ancora poche cellule), possono essere congelati e poi riportati in vita con alta efficienza, a volte anche dopo decenni, grazie a una soluzione che contiene appropriati antigelo. Questo accade perché si tratta di strutture molto piccole, trattate in soluzioni adeguate. Nessuno finora ha però pubblicato e quindi dimostrato di aver congelato un topolino giovane e sano, un essere circa duemila volte più piccolo di un umano adulto, e averlo riportato in vita dopo anche solo una settimana. Figuriamoci un vecchio *Homo sapiens* con gli organi distrutti da età e malattia, che si tenta di risvegliare dopo magari trecento anni. A quest'obiezione si potrebbe rispondere che le metodologie di oggi non permettono di crio-preservare organismi interi, ma quelle di domani potrebbero riuscirci. Seguendo questo ragionamento, cosa ci impedisce di immaginare che un giorno dallo scheletro del defunto si possa estrarre il Dna con cui costruire in laboratorio le sue cellule e montarle in una sua copia perfetta, comprendente il suo cervello e quindi la sua mente, i suoi ricordi, la sua personalità? Questa non sarebbe clonazione, cioè creare un nuovo embrione con il Dna del defunto passando attraverso un embrione, ma un gigantesco puzzle, in cui dovremmo rimettere insieme in modo appropriato tutte le cellule del corpo. Perché non fondiamo una *company*, che potremmo chiamare appunto «Lazzaro», per cui promettiamo, in cambio di una modesta somma di denaro oggi, di ricostruire domani il corpo dei defunti, a partire dallo scheletro? Che senso avrebbe, se ciò diventasse mai possibile, ripopolare di zombie un pianeta che potrebbe essere ormai abitato solo da insetti o al massimo da roditori, cosa tutt'altro che improbabile, se continuiamo a inquinare il pianeta ai tassi attuali?

La distanza tra nuove sperimentazioni e sofisticate truffe per benestanti non è così grande, come si vede. Il costo attuale per una crio-preservazione si aggira sui 200.000 dollari. In realtà, i fondatori di queste *companies* potrebbero benissimo essersi ispirati a un modello ben rodato, che negli ultimi duemila anni ha funzionato davvero bene. Pensate a qualcuno che, in cambio di denaro o dell'osservanza di regole da lui dettate, vi prometta la felicità eterna in un mondo futuro, dopo la morte. Le regole da seguire sono dure e possono rendere misera la vostra vita, ma tanto più soffrirete in questa, tanto più sarete ricompensati in quella che verrà. Evidenze dell'esistenza della vita promessa? Non ci sono, dovete crederci e basta. Vi torna forse in mente qualcosa?

L'argomento è ripreso, a un livello completamente diverso ma sempre basato su un'ipotesi attualmente non dimostrabile, dal già citato storico israeliano Yuval Noah Harari, autore di *Sapiens* e *Homo Deus*, due bestseller internazionali in cui si propongono prospettive interpretative sul passato e sul futuro degli esseri umani estremamente innovative e coinvolgenti<sup>16</sup>. Nel secondo dei volumi citati, Harari esordisce dicendo che poiché l'uomo ha sconfitto la fame, le guerre e le malattie, il suo prossimo obiettivo prevede di

sconfiggere la morte, rimanere giovani per sempre ed essere felici. Da qui il titolo del libro: non più *Homo sapiens* ma *Homo deus*, per l'appunto: nel nostro futuro vogliamo tutto quello che un tempo era privilegio esclusivo degli dei. Questa prospettiva è estrema, ma è solo un'iperbole di un sentimento che nutriamo tutti. Può la medicina rigenerativa realizzare questo desiderio? Una cosa è cercare di combattere e magari vincere, o perlomeno rallentare, il decorso di malattie che colpiscono bambini senz'altra colpa che una cattiva sorte; altra, ben diversa, è rovinarsi il fegato o i reni con una vita disordinata e poi andare in una clinica specializzata per rigenerarli così come si rifanno le pasticche dei freni usurati di un'automobile. Finché i costi e le incertezze sono così elevati, la medicina rigenerativa, per lo meno quella che usa denaro pubblico, deve avere come priorità assoluta malattie gravi e incurabili, lasciando il resto al desiderio di chi può permetterselo.

Anche se per il momento siamo ancora lontani, ma chissà per quanto, dallo sfruttamento commerciale e narcisistico di queste pratiche, capita già di vedere pubblicati, anche su riviste di altissimo livello, lavori che ci lasciano quantomeno perplessi. Nell'estate del 2017, sulla prestigiosa rivista «Cell» è stato pubblicato un articolo che propone davvero il miracolo<sup>17</sup>. Si parte dal presupposto che nel corpo di animali invecchiati – uomo incluso – si accumulino cellule senescenti che causano l'infiammazione del tessuto, ma non riescono a morire. Quale sia il vantaggio per l'evoluzione di tenere in vita cellule agonizzanti, né la scienza né l'articolo ce lo spiegano. Basterebbe iniettare, invece, nella vena della coda di un topo vecchio uno speciale peptide, una piccola proteina che disinnesca il meccanismo di sopravvivenza delle cellule senescenti e il topo – magia! – ringiovanisce. Francamente faccio molta fatica a credere che un singolo peptide che probabilmente il topo elimina nell'urina dopo pochi minuti, sia sufficiente a spostare all'indietro, e di tanto, le lancette dell'orologio biologico del fortunato animale.

Faccio invece poca fatica a immaginare che fra breve qualche *company* venderà a prezzi esorbitanti questo peptide (nella versione umana) suggerendo che possa farvi ringiovanire e condannando al dimenticatoio rimedi come creme con acido ialuronico, collagene ed estratti vegetali vari. È triste vedere come interessi commerciali si siano infiltrati in molti, se non in tutti i centri nevralgici della ricerca scientifica e riescano a modificare l'andamento della scienza e a indirizzarla verso dinamiche e aspettative di mercato, anche di fronte all'evidenza di persone che soffrono e aspettano una terapia basata per lo meno su solide basi razionali.

Il fatto che un articolo come questo sia pubblicato in una rivista del valore di «Cell», indica incontrovertibilmente come sempre più spesso il sensazionalismo e la ricerca dello scoop abbiano il sopravvento sul rigore scientifico, fomentati anche dall'inesperienza degli editor delle riviste scientifiche, quasi sempre ricercatori alle prime armi che hanno lasciato il

laboratorio per l'ufficio editoriale e che come quasi tutti gli addetti dell'editoria hanno come obiettivo principale quello di attirare l'attenzione dei lettori, di far citare l'articolo da altri e aumentare così l'appeal mediatico e il valore percepito della rivista. In questo senso, un giornale scientifico non è concettualmente diverso da un quotidiano o un settimanale. Ne consegue che se un lavoro ha le caratteristiche per suscitare l'interesse dei media e portare a un maggiore richiamo pubblicitario viene favorito, un altro brutto segno dei nostri tempi, che andremo ad analizzare nel prossimo capitolo.

---

<sup>1</sup> Cfr. E.P. Solana, *Transumanesimo e postumano: principi teorici e implicazioni bioetiche*, in «Medicina e Morale», v. LVIII, n. 2, 2009, pp. 267-281.

<sup>2</sup> César Milstein (1927-2002), nato a Bahía Blanca in Argentina, ha lavorato nel Regno Unito per la maggior parte della propria carriera, dovendosi trasferire a Cambridge in seguito al colpo di Stato militare del 1962, guidato dal generale Poggi. Ha iniziato a sperimentare sugli anticorpi dalla metà degli anni sessanta, ricevendo il premio Nobel per la medicina nel 1984, insieme a Niels Jerne e a Georges Köhler, per l'invenzione degli anticorpi monoclonali.

<sup>3</sup> A. Park, *Why Pig Organs Could Be the Future of Transplants*, in «Time», 15 febbraio 2018. Cfr. <http://time.com/...>

<sup>4</sup> B. Yu *et al.*, *An Elastic Second Skin*, in «Nature Materials», v. XV, n. 8, 2016, pp. 911-918.

<sup>5</sup> Robert S. Langer (1944), è un ingegnere americano, professore al Mit, famoso per gli studi sui polimeri che ha sviluppato per usi biologici.

<sup>6</sup> Joseph P. Vacanti (1948), chirurgo e ricercatore presso l'Harvard Medical School, è un pioniere dell'ingegneria dei tessuti nella ricerca di biomateriali che permettano di realizzare interventi chirurgici non possibili altrimenti (ernia diaframmatica e atresia biliare congenite).

<sup>7</sup> P. Macchiarini *et al.*, *Clinical Transplantation of a Tissue-engineered Airway*, in «The Lancet», v. CCCLXXII, n. 9655, 2008, pp. 2023-2030.

<sup>8</sup> La Dichiarazione di Helsinki, elaborata dalla World Medical Association e adottata per la prima volta nel giugno del 1964 al termine di una conferenza tenutasi nella capitale finlandese, è il documento di riferimento internazionale sui principi etici per la ricerca biomedica che coinvolga gli esseri umani, inclusa la ricerca su campioni biologici di origine umana. Ha subito, nel corso dei cinquant'anni dalla sua prima pubblicazione, numerose revisioni che ne hanno via via ampliato la portata e gli ambiti di interesse, in vista di un allineamento progressivo con lo svilupparsi delle conoscenze e delle relative sperimentazioni in ambito biomedico e medico-scientifico. Costituisce dunque il codice deontologico ed etico fondamentale che cerca di normare e regolare le modalità della ricerca scientifica internazionale in tutti gli ambiti dove questa tocchi direttamente la sfera umana.

<sup>9</sup> Johannes Carolus «Hans» Clevers (1957) ha svolto tutta la sua carriera all'Università di Utrecht, studiando lo sviluppo dei tumori intestinali. Ha identificato per primo le cellule staminali dell'intestino e sviluppato gli organoidi. È autore di molte pubblicazioni di altissimo livello, e ha vinto numerosi premi, tra cui lo Spinoza nel 2001 e il Breakthrough Prize in Life Sciences nel 2013 (premio monetario da 3 milioni di dollari).

<sup>10</sup> D.G. Gibson *et al.*, *Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome*, in «Science», v. CCCXXIX, n. 5987, 2010, pp. 52-56.

<sup>11</sup> Per chi volesse approfondire l'argomento, rimando a un bel libro di recente pubblicazione: R. Defez, *Scoperta. Come la ricerca scientifica può aiutare a cambiare l'Italia*, Torino, Codice, 2018.

<sup>12</sup> Cfr. <https://www.unilibro.it/...>

<sup>13</sup> La forma che aveva colpito il piccolo Charlie è dovuta a una carenza di timidina chinasi nei mitocondri. A causa del deficit di questo enzima, che non permette l'incorporazione nella catena di Dna nascente di uno dei due gruppi fosfato necessari a formarla, il Dna mitocondriale non può essere sintetizzato. Senza nuovo Dna i mitocondri muoiono, innescando la malattia. In un suo recente lavoro Hirano mostra che inoculare timidina in eccesso a topi con lo stesso deficit genetico ne allungherebbe la sopravvivenza. Nutro dei seri dubbi su questa soluzione: a cosa può servire fornire timidina in eccesso, se manca l'enzima che la converte? È come tentare di curare un paziente che non ha più l'intestino dandogli maggiori quantità di cibo. Cfr. C. Lopez-Gomez *et al.*, *Deoxycytidine and Deoxythymidine Treatment for Thymidine Kinase 2 Deficiency*, in «Annals of Neurology», v. LXXXI, n. 5, 2017, pp. 641-652.

<sup>14</sup> H. Ma *et al.*, *Correction of a Pathogenic Gene Mutation in Human Embryos*, in «Nature», v. DXLVIII, n. 7668, 2017, pp. 413-419.

<sup>15</sup> Per approfondire l'argomento rimando all'articolo *Why Cryonics Makes Sense* del blogger americano Tim Urban, pubblicato il 24 marzo 2016 sul suo blog «Wait but Why»: cfr. <https://waitbutwhy.com/...>

<sup>16</sup> Y.N. Harari, *Sapiens: A Brief History of Humankind*, London, Harvill Secker, 2011; Id., *Homo Deus: A Brief History of Tomorrow*, London, Harvill Secker, 2016.

<sup>17</sup> M.P. Baar *et al.*, *Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging*, in «Cell», v. CLXIX, n. 1, 2017, pp. 132-147.

6.  
Le lumache di Voltaire.  
Divulgare, spiegare e coinvolgere

*Signora Sirelli:* «Ma secondo lei allora non si potrà mai sapere la verità?».

*Signora Cini:* «Se non dobbiamo più credere neppure a ciò che si vede e si tocca!».

*Laudisi:* «Ma sì, ci creda, signora! Perciò le dico: rispetti ciò che vedono e toccano gli altri, anche se sia il contrario di ciò che vede e tocca lei».

L. PIRANDELLO, *Così è (se vi pare)*, 1925

SIAMO DAVVERO USCITI DAL MEDIOEVO?

«Nel 1768 le lumache francesi subirono un attacco senza precedenti. Furono decapitate a migliaia da naturalisti o semplici curiosi che volevano verificare se fosse vero quanto dichiarato da Lazzaro Spallanzani, che sarebbero state in grado di rigenerare una nuova testa»<sup>1</sup>. Tra costoro, nientemeno che Voltaire il quale, ripetute con successo le opportune verifiche empiriche, si chiese quali sarebbero state in futuro le conseguenze di un simile esperimento sull'uomo, in relazione alla distribuzione dell'anima immortale tra la vecchia e la nuova testa, una volta spuntata. Si consolò pensando che, in qualsiasi caso ciò si realizzasse, per molti una testa nuova difficilmente sarebbe potuta rivelarsi un danno.

L'aneddoto è riferito dallo zoologo inglese David Newth, e rappresenta un brillante resoconto di quello che è stato, con tutta probabilità, uno dei primi casi nella storia moderna in cui un'osservazione scientifica ha raggiunto una popolarità senza precedenti, forse per la straordinarietà del fenomeno descritto e la facilità nel riprodurre l'esperimento, valicando la stretta cerchia degli intellettuali fino a raggiungere l'allora popolo minuto, le persone comuni. Raccontare la scienza con passione può rendere l'entusiasmo contagioso e ha molto spesso provocato il verificarsi di episodi divertenti, come questo, anche se le lumache – credo – non saranno d'accordo. Ma è ancora così?

Se guardiamo con attenzione al mondo in cui viviamo e a come sta cambiando, non possiamo non accorgerci di un crescente sentimento di diffidenza e addirittura ostilità nei confronti della scienza, nutrito da una larga fetta dell'opinione pubblica. Non è un caso che il fenomeno si verifichi in questo particolare momento storico, nonostante l'esistenza di Internet e le illimitate possibilità di accesso alle fonti del sapere, che dovrebbero in linea teorica consentire a ogni cittadino di poter approfondire e valutare la fondatezza degli argomenti e delle notizie di natura scientifica apprese nelle chiacchiere con gli amici, in tv, alla radio, o più in generale nel dibattito pubblico sui media.

Alcuni anni fa, nel settembre del 2008, scrissi un articolo su «Kos», rivista di cultura e storia della scienza edita da Franco Maria Ricci, nel quale sostenevo che nei periodi di crescita economica la scienza è vista con favore, come un mezzo per accrescere il benessere, la qualità e la durata della nostra vita; nei periodi di crisi e stagnazione, come quello ormai davvero lungo e all'apparenza interminabile da cui alcune economie occidentali – Europa e Giappone soprattutto – non sembrano più in grado di uscire, essa viene additata se non come il principale nemico, quantomeno come corresponsabile del malessere globale, in quanto colpevole di non aver mantenuto le grandi promesse del mondo moderno, il benessere, la salute, la longevità. In un recente articolo, Remo Bodei ha osservato: «Si ha ora l'impressione che la politica sia diventata una *fictio*, una costruzione, capillarmente e scientificamente organizzata, di una realtà parallela (di cui le singole *fake news* non sono che i mattoni) dove operano matrici di idee ed emozioni preconfezionate, che, mediante il ritocco e l'aggiornamento continuo, producono un "clima di opinione meteorologicamente mutevole"»<sup>2</sup>. Secondo la visione oggi diffusa da molti gruppi populistici, la democrazia sarebbe, soprattutto nel suo per ora maldestro tentativo di crescita e allargamento sul piano sovranazionale (idealmente, continentale o globale), uno strumento tramite il quale soverchiare e controllare il popolo sul piano economico e legislativo, e su quello antropologico a partire dalla schedatura delle caratteristiche socio-economiche e biologiche, resa possibile dalle tecnologie digitali e dai *Big Data*.

Con la diffusione dei social media e dei blog, e soprattutto con l'aumento esponenziale dei video pubblicati in rete, divenuti oggi forse la prima fonte di informazione per molti cittadini, si è affermata in modo stabile una visione complottista della scienza, decisamente ingenua quando non apertamente paranoide, strumento di non meglio identificate oligarchie internazionali che sarebbero guidate dall'unico fine di rendere i ricchi ancora più ricchi (l'élite tanto osteggiata dagli attuali populismi). Tutto ciò è esploso come fenomeno di massa dopo l'avvento di Facebook e Twitter, come parte del fenomeno della cultura di Internet.

«La questione non è l'indifferenza di fronte ai saperi consolidati: è l'emergere di un'ostilità assoluta nei confronti di tali saperi», ha scritto Tom Nichols, professore allo Us Naval War College e all'Harvard Extension School, nel suo bestseller internazionale *The Death of Expertise*, sui nemici della conoscenza<sup>3</sup>. Le controversie scientifiche che occasionalmente occupano le prime pagine dei giornali o l'agenda dei telegiornali e dei talk show, e che poi presidiano i social media, sono il risultato di questa attitudine, che segna la nostra epoca come quella del tramonto degli intellettuali di professione (apocalittici o integrati che fossero), silenziati dalla vastità del chiacchiericcio digitale, e della nascita dei tuttologi della domenica, detentori supremi di quella verità abilmente sommersa dall'oscuro gioco delle élite dominanti.

La lotta alla cosiddetta «vivisezione» per scopi scientifici, l'emergere nel nostro paese di un movimento No Vax, per non parlare delle varie e complesse teorie pseudo-scientifiche come la fondazione aliena della civiltà umana, il falso sbarco sulla Luna, il crollo su volontà governative delle Torri gemelle, le scie chimiche, gli Illuminati, e il più recente «terraplattismo», riflettono la globale diffidenza verso la «scienza ufficiale» e hanno radici complesse. Fino a una quindicina di anni fa avrei pensato che la principale causa del profondo anti-scientismo italiano, ad esempio, fosse da ricercare soprattutto nell'educazione cattolica e dogmatica che avevamo ricevuto a scuola.

Le cose, in realtà, non stanno proprio così; la mia visione è sicuramente troppo semplicistica pur se in parte corretta, soprattutto per quanto riguarda il nostro paese: ma qual è allora la situazione italiana, quale lo stato della ricerca nel nostro paese, se questo è il clima sociale in cui gli scienziati devono operare? Come considerare la qualità della comunicazione sulle scoperte della medicina rigenerativa fornita dai ricercatori, o dai giornalisti? Oggi assistiamo al diffondersi sempre più aggressivo del fenomeno delle cure-truffa, veri business milionari che trovano nello scenario socio-culturale appena delineato un terreno di coltura fertile in cui proliferare, e di cui Davide Vannoni è certamente l'esempio più noto: l'assenza nel nostro paese di qualsiasi intervento politico, se non di natura censoria sulla scorta di una totale sottomissione alle posizioni morali della Chiesa cattolica, riflette comunque ignoranza e diffidenza. Su questo tema siamo indietro rispetto ad altri paesi europei sia in Parlamento che nelle nostre istituzioni pubbliche, a partire dalla scuola, prima responsabile della cultura dei futuri elettori e cittadini. Qual è il ruolo della scuola italiana nell'insegnamento della scienza? Sono tutte domande importanti per cercare di capire e contestualizzare questo panorama confuso. Proviamo quindi a esplorare lo Stivale dal punto di vista di chi la scienza la fa, i nostri ricercatori.



Nel campo della medicina rigenerativa l'Italia occupa un posto di tutto rilievo a livello internazionale e figura tra i migliori paesi al mondo per la qualità della ricerca, soprattutto se prendiamo in considerazione l'efficacia concreta delle terapie sviluppate. Considerate le dimensioni demografiche e le possibilità economiche di un paese come il nostro, si tratta di un vero miracolo, attribuibile al solito e non meglio definibile «genio italico», o se vogliamo essere più seri e realisti, alla caparbia e alla lungimiranza di alcuni scienziati che non si sono fatti fermare o scoraggiare dalla pessima situazione dell'accademia e della ricerca scientifica italiane, o ancora dalle limitazioni imposte dalla ristretta visione – quando non dalla vera e propria ignoranza – della nostra classe politica, senza menzionare gli interventi della Chiesa cattolica, che a più riprese ha tentato di dire la sua in ambiti di non stretta pertinenza religiosa, frenando e limitando enormemente la libertà della scienza.

Se l'Italia si prefigura come una terra desolata, nonostante il clima avverso hanno attecchito e riescono a fiorire centri di assoluta eccellenza, per una lunga serie di combinazioni fortuite che hanno reso questa situazione possibile. Esempi ne sono il San Raffaele di Milano, o il Centro di medicina rigenerativa Stefano Ferrari presso l'Università di Modena, istituzioni nate rispettivamente nel 1992 e nel 2008 per l'intervento di alcune persone dotate di visione e carisma, come don Verzé e Stefano Ferrari. Potrei citare anche l'Istituto europeo di oncologia e l'Istituto Firc di oncologia molecolare (Ifom), fortemente voluti da Veronesi, o il Venetian Institute of Molecular Medicine (Vimm), e altri ancora. Politici illuminati che abbiano facilitato queste iniziative non me ne vengono in mente; sono stati invece alcuni coraggiosi finanziatori a credere e sostenere la nascita di questi centri, che poi si sono affermati grazie al primato degli scienziati che li hanno fondati e vi lavorano.

Nel 2015 l'Italia è stata il primo paese al mondo a ricevere la registrazione di un farmaco di medicina rigenerativa (Holoclar) per le cellule epiteliali della cornea prodotte da Michele De Luca e Graziella Pellegrini a Modena. Il nostro paese ha avuto inoltre la seconda approvazione a livello europeo per un farmaco di terapia genica, Strimvelis, che cura alcune immunodeficienze congenite ed è stato prodotto al San Raffaele dall'Istituto Telethon di genetica e medicina e registrato all'Ema nel 2017. Altre gravi malattie genetiche (Wiskott-Aldrich, leucodistrofia metacromatica), di cui ho parlato nel capitolo 4, sono ormai curate e presto si attende la registrazione della relativa terapia. Non si può elencare un tale novero di successi per altre importanti nazioni come l'Inghilterra, la Francia e perfino gli Stati Uniti, che hanno a

disposizione risorse molto maggiori dell'Italia.

Nonostante la miopia delle istituzioni e la situazione economica e culturale poco confortante, il nostro paese gode di un'altissima reputazione a livello internazionale nell'ambito della medicina rigenerativa, di cui come cittadini dovremmo essere profondamente orgogliosi. Alcuni dei nostri scienziati sono all'avanguardia a livello mondiale, un vero e proprio vanto italiano, se solo fossero riconosciuti con il dovuto spazio sui media: mi limito qui a ricordare i nomi di ricercatori di cui ho parlato a lungo all'interno del libro, in particolare Michele De Luca, che ha appena ricevuto un prestigioso premio dalla Società internazionale di ricerca sulle cellule staminali come migliore ricercatore dell'anno per il 2017, o Luigi Naldini, considerato l'autorità vivente sui vettori virali, e ancora Claudio Bordignon, di cui qui ho scritto a lungo.

A rendere ancora più instabile la situazione del nostro paese è il fuoco amico che proviene dall'interno, scatenato dalla feroce campagna antiscientifica in corso da fronti sempre più ampi e sempre più disinformati dell'opinione pubblica. Umberto Eco, in occasione della laurea *honoris causa* in comunicazione e cultura dei media conferitagli dall'Università di Torino nel giugno del 2015, sostenne in modo molto chiaro: «I social media danno diritto di parola a legioni di imbecilli. Prima parlavano solo al bar dopo un bicchiere di vino, senza danneggiare la collettività. Venivano subito messi a tacere, mentre ora hanno lo stesso diritto di parola di un Premio Nobel. È l'invasione degli imbecilli. Ed è un vero e proprio “dramma” perché promuove lo scemo del villaggio a detentore della verità». Arduo dargli torto, visto quello che leggiamo e vediamo quotidianamente sul web.

Prendiamo su tutte la *vexata quaestio* dei vaccini, anche se non è di stretta pertinenza della medicina rigenerativa. La situazione ha quasi dell'incredibile, dato che si tratta della volontà di rifiutare una profilassi obbligatoria per legge. A differenza di quanto vedremo nelle conclusioni sul concetto di donazione, la decisione ha in questo caso un peso particolare, dovuto alla ricaduta della propria responsabilità sugli altri: rifiutare di vaccinarsi comporta infatti il rischio di contrarre una malattia infettiva e di contagiare così il resto della popolazione. Senza contare che molto spesso i genitori che dovessero rifiutare di vaccinare il proprio figlio decidono per un minore che, data l'età, certamente non consultano, e che quindi potrebbe divenire vittima di una scelta altrui. Il problema esiste ovunque in Europa ma è particolarmente acuto in Italia, dov'è stato e continua a essere ampiamente discusso; esso esemplifica molto bene il pericolo figurato da Eco, per cui nella nostra società ormai chiunque può dissertare su qualunque argomento, sia che lo abbia studiato per decenni, sia che non ne sappia niente. Mi riferisco ad esempio a Red Ronnie, il quale non credo abbia studiato da immunologo clinico.

E tra un'opinione personale di Ronnie espressa nel maggio 2016 a *Matrix*

(«È demenziale vaccinare i propri figli»<sup>4</sup>) e una verità fondata su osservazioni scientifiche consolidate, la rete non fa distinzione. Peraltro, nel marzo 2018, lo stesso Ronnie è stato rinviato a giudizio per diffamazione nei confronti dell'immunologo del San Raffaele Roberto Burioni, che da anni si batte a favore delle vaccinazioni<sup>5</sup>. Altro caso emblematico di questo atteggiamento ha avuto corso negli anni zero: il fatto che un signore francese, dopo essersi sottoposto a vaccinazione nel 1999, riceva una diagnosi di sclerosi multipla nel 2000 non significa per nulla che il vaccino abbia causato la malattia. Ed è gravissimo che la Corte di giustizia dell'Unione Europea supporti questa conclusione<sup>6</sup>. In realtà sono stati condotti studi statistici, che non hanno trovato alcun nesso causale tra vaccinazione per l'epatite B e la sclerosi multipla<sup>7</sup>. Qui non si tratta di essere grandi esperti di vaccini o di sclerosi multipla. Bisogna usare uno strumento chiamato «logica». Per stabilire un nesso causale tra l'evento A (vaccino) e l'evento B (sclerosi multipla) è necessario che tutti o perlomeno la maggioranza di coloro che si vaccinano sviluppino la sclerosi multipla, e che tutti o quasi quelli che sviluppano sclerosi multipla si siano vaccinati da poco con quella precisa vaccinazione. Altrimenti si tratta, come in questo caso, di due eventi completamente slegati tra loro che si succedono in una progressione temporale. Se il signore in questione, qualche giorno dopo aver ricevuto la vaccinazione, fosse stato investito da un autobus, concluderemmo che il trattamento causa uno stato confusionale che porta il soggetto a essere vittima di incidenti stradali? Non credo.

Qualche tempo fa Romano Scozzafava, anche lui aderente all'Associazione Coscioni e professore di calcolo delle probabilità alla Sapienza, aveva notato, con grande spirito di osservazione, come probabilmente l'olio santo, somministrato con l'estrema unzione, sia responsabile di migliaia di decessi. Infatti, quasi tutti coloro che lo ricevono, muoiono poco dopo.

#### SAPER DIVULGARE. IL GIORNALISMO SCIENTIFICO SUI MEDIA GENERALISTI

Se ci chiediamo a chi spetti colmare le lacune scientifiche del grande pubblico, a chi vada il nobile compito di divulgare la scienza e nello specifico la medicina rigenerativa, la risposta è prima di tutto agli scienziati, poi ai giornalisti scientifici e infine, cosa forse più importante, ai docenti universitari e delle scuole medie.

Molti scienziati, tuttavia, non sanno, non vogliono o non riescono a parlare delle loro ricerche ai non addetti, perlomeno nessuno lo insegnava a quelli della mia generazione che dovevano impararlo velocemente e a proprie spese

quando qualcuno dei loro risultati raggiungeva il grande pubblico: giornali, radio e televisione gettano il ricercatore in un agone che richiede preparazione per essere gestito nelle sue complicate declinazioni. Ricordo che durante le mie prime apparizioni in tv o in radio, all'epoca dei miei studi su topi e cani distrofici, venivo giustamente ripreso perché utilizzavo molti termini tecnici, parlavo troppo a lungo e gli ascoltatori ben presto smettevano di seguirmi. Anche i pezzi scritti per i giornali mi venivano restituiti perché troppo tecnici, e duri da digerire per chiunque non fosse un esperto. Sono stati necessari alcuni anni di aggiustamenti e perfezionamenti per imparare a rendere semplici concetti complessi, e soprattutto a mantenere in equilibrio il livello di profondità delle spiegazioni, in un continuo conflitto tra l'esigenza di non tralasciare nozioni importanti e l'aspirazione a non appesantire la mente del ricevente con troppi dati.

Oggi i giovani ricercatori dedicano molto più tempo alla divulgazione nelle scuole, dove raccontano agli studenti le proprie ricerche o quelle altrui, e si realizzano grandi possibilità di dialogo e di incontro tra comunità scientifica e cittadini nei sempre più frequenti festival, giornate e caffè scientifici e filosofici sparsi in lungo e in largo per il Belpaese. Rimane però l'incolmabile sproporzione tra i pochissimi, seppur volenterosi divulgatori, e un immenso numero di giovani e meno giovani che vorrebbero saperne di più, e non sanno dove e come ricevere una corretta informazione. David Attenborough, naturalista e divulgatore britannico o Piero e Alberto Angela da noi, sono esempi di divulgatori con una grande cultura di base e una straordinaria capacità di raccontare storie (vere) che catturano l'attenzione di chi ascolta.

Dopo che nel 1998 ho pubblicato sulla prestigiosa rivista «Science» quello che è diventato il mio articolo più citato (le cellule muscolari derivate dal midollo osseo) e fino al 2011, anno in cui ho lasciato la Penisola, molti giornalisti scientifici italiani hanno preso l'abitudine di contattarmi regolarmente, sia per seguire il mio lavoro che per chiedermi di commentare i risultati dei miei colleghi. Ho avuto così la fortuna di conoscere persone di grande spessore culturale e umano, come Romeo Bassoli, giornalista scientifico e divulgatore, che scriveva tra gli altri per «la Repubblica» e aveva fondato il master di comunicazione della scienza alla Sissa di Trieste, e Gianna Milano, freelance per le più importanti testate e a lungo collaboratrice di «Panorama».

L'incontro con Bassoli, scomparso nel 2013, avvenne nei primi anni zero; fui immediatamente colpito dalla sua grande intelligenza e cultura. Oltre a essere un grande giornalista, Bassoli ha anche avuto il merito di creare una scuola di giornalismo scientifico che ha formato un'intera nuova generazione di giovani, preparati e competenti. Gianna Milano è autrice di libri come *Storia di una morte opportuna* su Piergiorgio Welby<sup>8</sup>, malato di distrofia e

simbolo delle battaglie radicali dell'Associazione Coscioni. Due come loro costituivano l'eccezione: la maggior parte dei giornalisti scientifici italiani con cui mi era capitato di interagire, di scienza sapeva davvero pochissimo. In molti casi non era certo colpa loro – di solito, si erano occupati di calcio o di moda ed erano stati spostati senza un criterio di competenza – ma capirsi era difficoltoso e quello che scrivevano non corrispondeva quasi mai al concetto che andava spiegato. Tragica fu un'intervista in diretta con una giornalista, che mi chiedeva quale fosse la causa per cui i bambini con immunodeficienza congenita avessero contratto l'Aids, la sindrome da immunodeficienza acquisita.

A causa dei due problemi qui evidenziati, incapacità comunicativa dei ricercatori a monte e scarsa preparazione della maggior parte dei giornalisti a valle, non siamo ancora arrivati a una situazione ottimale nei flussi di comunicazione tra comunità scientifica e cittadini, che dovrebbe vedere uno scambio diretto dal laboratorio al pubblico consentendo di normalizzare il sensazionalismo flagellante nella copertura mediatica delle principali scoperte, per effetto del quale, di solito, l'ennesima nuova proteina curerà il cancro entro pochi mesi, il trapianto delle cellule del tessuto adiposo guarirà l'infarto ecc. Di queste purtroppo frequenti *défaillances* sono responsabili a volte i ricercatori stessi, per un eccesso di protagonismo, spesso gli uffici stampa, a volte i giornalisti, soprattutto i titolisti. Nel frattempo però la scienza si muove a velocità sempre maggiore, la quantità d'informazione scientifica che si accumula rende ostico anche per noi scienziati rimanere aggiornati nel nostro campo<sup>9</sup>, figuriamoci per chi li dovrebbe in teoria seguire tutti, anche se ovviamente a un livello meno profondo. Ed è importante che si stabilisca un buon dialogo tra ricercatore e giornalista, così che ci si possa aiutare a vicenda.

Ma siamo sicuri che la colpa ricada tutta sui giornali generalisti, che sarebbero responsabili di non capire e non divulgare bene i risultati scientifici, inquinando il nobile lavoro delle riviste scientifiche, che hanno da qualche tempo assunto l'impegno di portare avanti il progresso della conoscenza umana? A ben vedere, nemmeno queste sembrano essere immuni dalle tendenze menzionate, essendo colpite sempre più fortemente dal desiderio o dalla necessità di uno scoop, oltre che dallo spettro delle *fake news* e delle accuse di pubblicare dati falsi.

IL MONDO DELLE RIVISTE SCIENTIFICHE. QUANDO RISULTATI CERTI SI  
TRASFORMANO IN «FAKE NEWS»

Nella scienza c'è un solo modo per sapere se i tuoi dati o i dati di un

collega sono solidi e destinati a contribuire al progresso della conoscenza nel campo: devono poter essere riprodotti da altri laboratori, come base per ulteriori sviluppi nell'ambito di ricerca. A volte i dati sono piuttosto marginali o irrilevanti e quindi vengono dimenticati, non perché in essi ci sia qualcosa di sbagliato, meramente a causa della loro scarsa pregnanza. Tuttavia, quando vengono pubblicati alcuni articoli importanti, molti laboratori cercheranno immediatamente di riprodurli per utilizzare le nuove informazioni in vista dei loro obiettivi specifici. Immaginate cosa sarebbe successo se la tecnologia delle iPSc si fosse dimostrata impossibile da replicare in altri laboratori, com'è accaduto di recente per le cellule riprogrammate dagli acidi<sup>10</sup>. Nel caso delle iPSc, invece, tutti possono ripetere gli esperimenti e verificare i dati, il numero di pubblicazioni sull'argomento continua ad aumentare in modo esponenziale e un premio Nobel è stato assegnato nel 2012 proprio a Shin'ya Yamanaka, il suo scopritore, probabilmente con uno degli intervalli più brevi tra la pubblicazione originale e il premio.

Al contrario, quando i dati di altri non possono essere riprodotti, uno scienziato serio scrive al laboratorio dov'è stato svolto lo studio e chiede un consiglio (di solito sollecitando un protocollo più dettagliato di quello pubblicato), o fa richiesta di poter inviare una persona per imparare la tecnica e ripetere l'esperimento. Solo se i dati non possono essere riprodotti nel laboratorio originale, il *Principal Investigator* ha la responsabilità morale e professionale di spiegarne il motivo e, se giunge alla conclusione che i dati non possono effettivamente essere replicati, indipendentemente da un errore involontario o da una manipolazione intenzionale, di solito contatta la rivista e ritira l'articolo o parte di esso. Ciò accadeva occasionalmente in passato ed era apprezzato come segno di onestà. Oggi non è più così nella stragrande maggioranza dei casi.

### *L'avvento di Photoshop e l'etica delle pubblicazioni*

Questo è ciò che di solito accade in un ambiente scientifico sano ma che è stato completamente sovvertito da alcune recenti attività di *whistleblowing*, fatte passare dalla narrazione ufficiale come un encomiabile servizio a favore dell'«etica delle pubblicazioni», ma in realtà più simili a una caccia alle streghe.

La storia che sto raccontando può essere fatta risalire all'avvento di Photoshop e alle immense possibilità di editing grafico che l'applicazione ha offerto, e storicamente è coincisa con l'inizio della crisi economica globale. Se torniamo a quei giorni, è facile provare a capire cosa può essere successo: i responsabili dei laboratori hanno iniziato a vedere che i loro finanziamenti diminuivano e hanno sentito la necessità di pubblicare su riviste ad alto

impatto, per aumentare le loro possibilità di ottenere fondi per il futuro. È ipotizzabile che abbiano aumentato la pressione sui loro dottorandi e borsisti per ottenere risultati che dovevano essere di grande interesse, formalmente identici a quanto previsto dall'esperimento e, cosa più importante, ottenuti nel più breve tempo possibile, per evitare di essere anticipati dai concorrenti. Gli studenti di dottorato e i borsisti, da parte loro, sapevano molto bene che la loro possibilità di trovare il lavoro successivo in un laboratorio di alto livello, e quindi di avere accesso alla carriera desiderata, sarebbe dipesa molto dalla loro produzione scientifica.

È facile rendersi conto che la situazione era pericolosa, e avrebbe potuto aprire la porta alla tentazione di apportare degli «abbellimenti». Photoshop forniva gli strumenti, e la modifica delle immagini poteva variare, in un ipotetico *continuum*, da un cambio di contrasto e luminosità perfettamente consentiti, fino all'estremo di copiare un'immagine da un altro studio nel proprio. Per gli editor e i revisori, di conseguenza, non è sempre facile distinguere tra il corretto montaggio, un errore superficiale ma innocente e una manipolazione chiaramente intenzionale. Né è facile capire se l'eventuale manipolazione intenzionale alteri i dati o unicamente la loro rappresentazione.

### *Come affrontare il problema?*

Gli editor si sono resi conto quasi subito della situazione, e nei primi anni del 2000 hanno stabilito alcune linee guida per una corretta preparazione delle immagini. Anche gli editoriali sembravano incoraggiare gli scienziati a mostrare le imperfezioni nelle loro immagini, anziché tentare di mascherarle. È d'altro canto esperienza comune dei ricercatori come al revisore basti un'imperfezione su un'immagine presentata per la pubblicazione, per dubitare dell'attendibilità del dato rappresentato e su questa base rifiutarla. Inoltre, sebbene fossero state stabilite delle linee guida, esse non furono applicate in modo rigoroso, principalmente perché si riteneva generalmente garantita la buona fede degli scienziati, che sembrava scongiurare la necessità di controlli troppo stringenti.

Per verificare queste affermazioni è sufficiente guardare attentamente e ad alto ingrandimento le immagini di elettroforesi (un metodo per separare le proteine) pubblicate su tutte le riviste fino al 2010. Si vedrà che una determinata percentuale di queste immagini (tra uno su cinque e uno su dieci) presenterà irregolarità che sono sfuggite al controllo editoriale post-accettazione. Questo significa che un lavoro scientifico su cinque o uno su dieci è falso e dovrebbe essere ritirato? Una *fake news*? Ovviamente no. Se così fosse, la scienza non avanzerebbe, perché nessuno sarebbe in grado di riprodurre i dati precedenti. Nella maggior parte dei casi (il 95-99%, a

seconda delle fonti) tali irregolarità riflettono errori affrettati, superficiali e innocenti che non influenzano i dati e quindi, sebbene condannabili, non rappresentano un grave danno per la scienza, o una deviazione rispetto al quesito che ci si era posti in partenza. Bisogna considerare, inoltre, che quasi invariabilmente i dati manipolati e fabbricati intenzionalmente sono tecnicamente perfetti, e pertanto vengono scoperti in quanto falsi solo perché non possono essere riprodotti.

Tuttavia, molti hanno avvertito che l'uso di Photoshop doveva essere controllato, e il suo eventuale abuso punito. Chi non sarebbe d'accordo con questo principio di base? Così, nel 1997 è stato creato un Comitato per l'etica delle pubblicazioni<sup>11</sup>, che rimane da allora un riferimento standard nel settore.

Molto più tardi, intorno al 2010, sono comparsi diversi siti web con l'intento lodevole di controllare «l'etica delle pubblicazioni», e segnalare errori o cattive condotte. Qualcosa, però, è cominciato a sembrare strano.

Quasi nello stesso momento in cui sono nati questi siti web, sono apparsi gli anonimi delatori che hanno iniziato un'accurata e apparentemente instancabile analisi di possibili manipolazioni delle immagini i cui risultati, anziché essere comunicati agli autori, venivano inviati direttamente agli editor delle riviste scientifiche. Anche se fossero degli scienziati professionisti (il che sembra verosimilmente contraddetto dal loro stesso comportamento), questi informatori non potrebbero mai essere competenti in tutte le discipline, e quindi i loro dubbi sono invariabilmente estranei alla scienza che di volta in volta fa da base ai lavori, concentrandosi pertanto solo sull'immagine che dovrebbe essere stata presumibilmente manipolata.

Nella maggior parte dei casi i delatori rimangono anonimi e si rifiutano di rivelare la loro identità anche agli editor, che naturalmente la proteggerebbero dalla persona accusata (per prevenire ritorsioni), esattamente come viene fatto con i revisori. Anche se molte riviste e istituzioni affermano di non seguire, in linea di principio, le accuse anonime, in pratica lo fanno, perché sono intrappolate nella sofferta decisione se aderire a una richiesta immorale e spesso aggressivamente reiterata, e il rifiuto aprioristico di esaminare le accuse, che potrebbero essere reali e rivelare problemi con gli articoli e i loro autori.

### *Accuse anonime e crisi della percezione della scienza*

Perché le accuse anonime sono immorali? La risposta è molto precisa: altrimenti non c'è modo di valutare il fondamento logico dell'accusa; se il delatore, cioè, sta sollevando un reclamo legittimo, cercando di fare il giusto, o sta sfruttando questo meccanismo per colpire uno specifico individuo per ragioni che potrebbero non avere nulla a che fare con la scienza. In effetti, nel



caso in cui il reclamo sia legittimo, fornire l'identità all'organismo investigativo non dovrebbe essere un fastidio; inoltre, se l'accusatore si sente a rischio di una qualche forma di ritorsione, allora l'accusa dovrebbe essere fatta tramite un organo legale, con prove a sostegno delle eventuali ritorsioni attese.

La storia recente è piena di tragici esempi in cui accuse anonime hanno provocato danni significativi a persone innocenti; negli scenari peggiori questo ha permesso a persone senza scrupoli di rovinare i loro presunti nemici o di scavalcare ostacoli per il loro vantaggio personale. Accuse anonime sono eticamente accettabili ed encomiabili solo in quelle situazioni in cui l'istituzione incaricata di stabilire la verità è di per sé corrotta e non disposta ad agire nell'interesse della giustizia. Fortunatamente nella scienza le accuse anonime non hanno (ancora) causato un danno di tali proporzioni, anche se alcune persone, colpevoli o no, hanno perso il lavoro, trovando la loro reputazione distrutta e la dignità macchiata senza che nessuno conoscesse la logica, l'identità e le ragioni della persona che aveva puntato il dito.

«Frode» è una brutta parola in ogni professione, in tutte con lo stesso impatto; la possibile insinuazione (non la prova) di attività fraudolenta fa sì che gli altri pensino sempre il peggio, e quindi cerchino di evitare la persona accusata. I possibili responsabili sono quasi infiniti: collaboratori frustrati che pensano (magari a ragione) di essere stati offesi o maltrattati; scienziati che hanno un qualche motivo per colpire un collega e potrebbero trarre beneficio da un'indagine e dal suo inevitabile effetto dirompente sugli accusati, attraverso il ritardo nelle pubblicazioni o nelle domande di sovvenzioni, e con un danno alla loro reputazione; entità commerciali (ad esempio le cliniche private di cellule staminali) le cui attività o attrattive di investimento potrebbero essere danneggiate dall'esposizione pubblica di un dato scienziato; movimenti che negano il valore della scienza e cercano qualsiasi mezzo per screditarla (No-Vax, anti-Ogm, creazionisti ecc.). L'elenco potrebbe evidentemente continuare a lungo.

Screditare gli scienziati e di conseguenza la scienza è il primo obiettivo nell'agenda di queste persone. Se gli scienziati sono tutti individui corrotti, perché la società dovrebbe prendere in considerazione la loro opinione in questioni importanti e delicate come l'accesso alla terapia, gli stili di vita, i diritti individuali?

Almeno una porta è difatti stata lasciata spalancata perché quest'ultimo nefasto obiettivo potesse diventare realtà: attraverso l'etica delle pubblicazioni e le presunte alterazioni nei lavori degli scienziati. Centinaia di migliaia di articoli sono stati analizzati con sofisticati strumenti informatici, in grado di memorizzare e confrontare milioni di immagini al fine di rivelare duplicati, alterazioni e manipolazioni in alcuni di essi. Giornalisti e istituzioni ricevono migliaia di accuse, molte delle quali prive di qualsiasi sostanza,

basate su presunte irregolarità nelle immagini, non necessariamente correlate alla scienza che ne fa da fondamento, che annegano nel mare delle accuse le prove *reali* di dati manipolati *intenzionalmente*; si tratta di qualcosa che riguarda l'intera comunità scientifica.

### *L'inchiesta: un processo etico?*

Una volta che le accuse sono state avanzate, di solito sono seguite da un'indagine. L'accusato riceve un'email che quasi invariabilmente ha come oggetto «Preoccupazioni su Mario Rossi *et al.*, anno». In un tono apparentemente neutro, l'editor informa l'autore senior e responsabile del documento in esame che «un lettore» o talvolta «gli editor» hanno notato quelle che sembrano essere delle irregolarità in una o più immagini, e richiede i dati originali per poter accertare se queste apparenti irregolarità siano state causate dall'elaborazione dell'immagine, da un errore involontario o da una manipolazione intenzionale. A volte i dati originali vengono forniti, sono rivalutati e l'indagine viene chiusa perché non sono state trovate alterazioni o, nell'eventualità, si pubblica una correzione per modificare un errore non intenzionale, anche se ciò non ha influenzato i dati presentati o la loro interpretazione. Solo in poche circostanze vengono rilevate alterazioni intenzionali, e il lavoro scientifico viene ritirato. Questo approccio è giusto, equilibrato e realizzato nell'interesse della scienza e della sua integrità, ed è condiviso dall'intera comunità scientifica.

A volte le cose evolvono in modo diverso e rivelano un innegabile intento persecutorio da parte di alcuni editor che potrebbero essere collegati ai siti web sopra menzionati, il cui proposito moralizzatore iniziale sembra mascherare un'attività di *targeting* più che altro vessatoria e diffamatoria, possibilmente istruita (e sostenuta finanziariamente: come si guadagnano da vivere altrimenti i delatori «professionisti»?) da qualcuno dei gruppi citati.

Una cosa diventa a questo punto evidente: l'inchiesta diventa un processo in cui lo scienziato accusato è solo, senza nessuno che possa sostenerlo (ad esempio un avvocato), contro un pubblico ministero che è anche il giudice. Il procuratore/giudice si arroga il diritto di applicare qualsiasi regola non scritta, gli passi per la testa, ignora qualsiasi argomento che possa demolire o almeno indebolire le accuse, e infine emette una sentenza che viene immediatamente eseguita e non può essere impugnata. Che tipo di processo fa venire in mente questo scenario? E dove sta l'etica in questa moderna caccia alle streghe, che se non viene immediatamente riconosciuta come tale e fermata, distruggerà presto un numero sempre crescente di scienziati e non farà altro che screditare la scienza una volta raggiunti i media *mainstream*, come già sta accadendo? È tempo di osservare più in profondità questo fenomeno, perché seguire in

modo acritico delle regole create per uno scopo e ora applicate per raggiungerne un altro completamente diverso, non porta un vantaggio per nessuno.

### *Esiste una soluzione?*

Come contro-argomentazione non sostengo che gli scienziati, in quanto comunità, dovrebbero considerarsi al di sopra delle regole ed essere restii a farsi giudicare se accusati di qualche illecito. Tuttavia, alcune importanti linee di condotta dovrebbero essere applicate, e possibilmente subito.

1. Nessuna accusa anonima dovrebbe mai essere presa in considerazione. Gli accusatori devono identificarsi con la rivista/istituzione, che deve essere legalmente obbligata a proteggere l'identità dell'accusatore dall'imputato.

2. L'entità (morale o fisica) che avanza l'accusa dovrebbe contemporaneamente firmare una dichiarazione che indichi qualsiasi potenziale conflitto di interessi, tutte le precedenti interazioni con la persona accusata, e dove ciò sia accaduto, la natura e i risultati della situazione, e la chiara motivazione che ha portato all'avanzamento dell'accusa (ad esempio, si considerano i dati falsi, o si sono identificate delle irregolarità che minano l'ipotesi e la conclusione del lavoro).

3. Le accuse dovrebbero essere esaminate nel contesto delle basi scientifiche che l'immagine in questione si presume dimostri. In altre parole, una manipolazione intenzionale, una volta dimostrata inequivocabilmente tale, non dovrebbe essere ignorata. Tuttavia, è dovere degli editor stabilire se tale specifica manipolazione porti a risultati falsi e/o errati; in tal caso l'intero studio dovrebbe essere ritirato. Se gli autori sostengono che, dopo un accurato riesame i dati sono confermati come veri, essi dovrebbero essere invitati a ripeterli e a correggere l'immagine manipolata. Come accennato all'inizio, sarebbe di grande aiuto controllare quanti successivi lavori di altri gruppi sono apparsi in letteratura citando i dati incriminati, quanti di questi li hanno confermati e quanti hanno invece riportato risultati discordanti o contrari. È questo, alla fine, il parametro più affidabile per verificare la validità dei dati sperimentali.

4. Le regole sulla corretta pubblicazione dovrebbero essere applicate al momento della sottomissione del manoscritto, ad esempio, presentare le immagini complete nei dati supplementari (e non solo il frammento di esse inserito nell'immagine composita), come in effetti la maggior parte delle riviste sta ora richiedendo. È invece discutibile richiedere le immagini originali dopo molti anni a causa di un'accusa anonima. Gli editor devono assumersi la loro parte di responsabilità nell'assicurare il controllo della qualità dei documenti, piuttosto che indagare retroattivamente solo su alcuni

di questi, ignorando altre ovvie alterazioni semplicemente perché non sono nel mirino degli anonimi accusatori. Qualunque legge sia applicata, dovrebbe essere applicata a tutti.

5. Se l'accusa risultasse infondata, gli imputati dovrebbero vedere immediatamente ripristinata la loro dignità, nello stesso modo in cui questa era stata messa in discussione. Dovrebbero ricevere una lettera firmata dall'editor responsabile che indica come non sia stata compiuta alcuna negligenza da parte degli autori citati: se le pubblicazioni vengono rilasciate per la possibilità di rimanere nel pubblico dominio, anche i pettegolezzi privati restano in circolazione a lungo e possono essere molto dannosi.

Indubbiamente, il significativo cambiamento avvenuto all'interno dell'ambiente scientifico e il suo sempre più faticoso accesso a fondi a fondi limitati per la ricerca, sia da fonti pubbliche che private, hanno alterato la dinamica con cui operiamo; questo era inevitabile e ha consentito un'attività senza scrupoli su tutta la linea, nessuna delle quali è accettabile.

L'evidenza dimostra che la scienza procede oggi più velocemente che mai; sarebbe probabilmente saggio rivalutare il controllo di qualità dei dati presentati e applicare regole severe al momento della pubblicazione (come fanno molte riviste), quando gli autori possono ancora facilmente produrre dati o ripetere gli esperimenti, abbinandoli a un approccio strutturato contro le accuse di negligenza, per fermare la crescente attività di caccia alle streghe che persegue tutti gli obiettivi immaginabili ma non certo quello di moralizzare la scienza, o la medicina; anzi, alimentando i fanatismi produce l'insensato effetto collaterale di indebolirne i rappresentanti primari, gli scienziati, dando così spazio alle speculazioni, ai capitalisti a caccia di facili profitti e agli spacciatori di false cure mediche, che sul piano economico amplificano alcune aberranti storture dell'attuale modello sanitario.

#### A CACCIA DI PROFITTI. SOLDI E SANITÀ

Cos'hanno a che vedere i costi della sanità attuale con i problemi specifici della medicina rigenerativa? Oggi come oggi, l'obbligo morale di fornire la migliore assistenza medica possibile, tipico della cultura europea, si scontra con la necessità di chiudere in pareggio o addirittura in attivo il bilancio di quelle che sono diventate a tutti gli effetti delle «aziende ospedaliere». Il termine induce quantomeno un sospetto. Un'azienda ha come missione quella di fare utili, un ospedale deve invece erogare le migliori terapie disponibili al minore costo possibile, obiettivo di per sé critico, stante anche il progressivo miglioramento di strumenti diagnostici e terapeutici che ovviamente hanno costi sempre più elevati. Il tutto è aggravato da fenomeni di corruzione e

illeciti vari, come le prescrizioni a pazienti inesistenti o deceduti di farmaci rimborsati dallo Stato e poi venduti sul mercato. Anche tralasciando questi fenomeni, tipici ma non esclusivi del nostro paese<sup>12</sup>, la vulnerabilità rimane, con una popolazione che invecchia, ha bisogno di assistenza medica per periodi sempre più lunghi e a costi sempre maggiori. A questo dobbiamo aggiungere una sostanziale differenza tra Europa e Stati Uniti: mentre in America ognuno paga per sé, in Europa ognuno paga per tutti. Fornire le migliori prestazioni possibili al minor costo possibile diventa allora più che altro un miraggio.

In questa situazione tutt'altro che rosea sul piano finanziario irrompe la medicina rigenerativa, che salva (o promette di salvare) molte vite umane ma costa uno sproposito. È però il caso di analizzare i dettagli, per cercare di capire il fenomeno: i distinguo sono qui veramente importanti. Le poche (finora) terapie sperimentali che funzionano, per le immunodeficienze congenite, le malattie lisosomiali, l'epidermolisi bollosa, costano da mezzo milione a un milione di euro ad applicazione, una volta ricevuta l'approvazione da parte dell'Ema con relativa immissione sul mercato. Una cifra enorme, se si pensa che deve essere singolarmente sostenuta per tutti i malati che si sottopongono al trattamento. Tuttavia, quando davvero curano la patologia e restituiscono il paziente a una vita normale, le terapie di medicina rigenerativa rappresentano un risparmio per il sistema sanitario, perché eliminano i costi di assistenza e le cure palliative che a volte si protraggono per decenni, e alla fine sono molto più onerose. L'assistenza di un paziente affetto dalla distrofia di Duchenne (tra farmaci, visite di controllo, supporti medici, interventi di chirurgia correttiva, fisioterapia ecc.) può arrivare a costare complessivamente quasi un milione di euro<sup>13</sup>, quella di un paziente emofilico perfino di più.

### *Il caso Glybera*

Nel 2012, all'epoca dell'approvazione da parte dell'Ema del trattamento di terapia genica commercializzato come «Glybera», ero stato nominato come esperto per l'Italia del Committee for Advanced Therapies (Cat), istituito proprio dall'Ema per valutare la validità dei farmaci di nuova concezione, come appunto quelli di terapia genica o cellulare, per i quali veniva richiesta l'autorizzazione all'immissione sul mercato. Avevo il ruolo di contro-relatore di un collega inglese, per cui mi lessi con attenzione il corposo dossier presentato dalla ditta che chiedeva l'autorizzazione.

Glybera è un prodotto sviluppato da uniQure, una *company* olandese con sede anche negli Stati Uniti<sup>14</sup>, per contrastare la deficienza da lipoproteina lipasi. I soggetti che ne sono affetti non riescono a digerire i grassi e, qualora

li ingeriscano accidentalmente, sviluppano delle pancreatiti acute che richiedono un immediato ricovero ospedaliero, e in qualche caso possono avere esito fatale. Sono pertanto costretti a una dieta estremamente rigorosa, sotto il costante rischio di un ricovero d'urgenza. La malattia è rarissima, dato che conta meno di una dozzina di malati in tutto il mondo. Nello specifico, Glybera è un vettore Aav che produce un enzima, la fosfolipasi, normalmente prodotto e secreto dal pancreas. Il vettore viene inoculato attraverso una sola iniezione nel muscolo della gamba (scelto perché le fibre muscolari non si dividono e il vettore può rimanere nel tessuto anche per anni e, inoltre, per la buona capacità di secernere proteine) iniziando a produrre l'enzima mancante, la cui presenza si può facilmente misurare nel sangue del paziente in seguito alla somministrazione. Tutti i malati sottoposti al trattamento riportarono un miglioramento della qualità di vita, e videro prefigurarsi la possibilità di reintrodurre piccole quantità di grasso nella loro dieta. Grazie al farmaco, una paziente riuscì addirittura a portare a termine con successo una gravidanza. Per quanto positivi, questi sono solo racconti, difficilmente riconducibili a solidi dati sperimentali, per cui alla fine il Cat decise di selezionare come unico parametro oggettivo per misurare il decorso della malattia il numero dei ricoveri ospedalieri, ognuno dei quali era indice di una pancreatite acuta che il farmaco avrebbe dovuto prevenire. In effetti i ricoveri si erano ridotti drasticamente dopo il trattamento, e mi ero convinto che questa terapia avesse buone probabilità di funzionare. Mancava però la significatività statistica della differenza tra i ricoveri prima e dopo il trattamento, dati i pochissimi pazienti. Non vi tedio con i dettagli tecnici: se la differenza tra pre e post trattamento era evidente (molti ricoveri prima, pochissimi dopo), i numeri di questi ricoveri rimanevano troppo esigui. I pazienti però non sono modelli animali e non mangiano unicamente quello che diamo loro. Da questo punto di vista, un controllo della dieta è obiettivamente quasi irrealizzabile. Non è inverosimile immaginare che un malato, sentendosi improvvisamente meglio grazie al farmaco, si sia concesso uova e pancetta, costringendo così il suo organismo a richiedere più fosfolipasi di quanta il vettore riesca a produrre, subendo un nuovo attacco di pancreatite che, da solo, basta a rendere non significativa la differenza tra pre e post trattamento. Seguendo questo elementare argomento (il trend conta più della significatività statistica quando i numeri dei pazienti sono troppo piccoli), il Cat suggerì l'approvazione di Glybera da parte dell'Ema e su questa storia, in cui la consulenza era basata su una ragionevole speranza anziché su fredde e potenzialmente ingannevoli statistiche, scrissi con alcuni colleghi del Committee un articolo sulla prestigiosa rivista «Nature Reviews Drug Discovery»<sup>15</sup>.

Non tutte le storie hanno però un lieto fine. UniQure fissò per Glybera un prezzo di circa un milione di euro, giustificato dalla necessità di coprire le ingenti spese necessarie a sviluppare il vettore virale di grado clinico, e dal

fatto che i pazienti sono pochi, essendo la malattia rarissima. Inoltre, per mantenere l'autorizzazione l'Ema esigeva che lo studio venisse ampliato ad almeno un'altra dozzina di pazienti, con ulteriori costi per UniQure e senza prospettiva di rientro economico. La situazione diventa quindi parossistica: a cinque anni dall'autorizzazione, il numero complessivo di pazienti che hanno usato Glybera sembra assommi al numero complessivo di uno, uno solo! Non si sa perché gli altri (seppur pochissimi) pazienti non si siano voluti sottoporre al trattamento, fatto è che la *company* ha deciso di non richiedere l'estensione dell'autorizzazione. Com'è potuto accadere tutto ciò? UniQure continuava a perdere soldi nella produzione di un farmaco di cui i pazienti non si avvalevano perché troppo costoso, e negli Stati Uniti né gli ospedali né tantomeno le assicurazioni erano intenzionati a prendersene carico, anche a causa della sua efficacia, discreta ma statisticamente non dimostrata. La strada di un medicinale non finisce insomma con la *marketing authorization*, altre variabili intervengono a ostacolarne il percorso e non sempre in modo lineare.

### *Malattie molto o poco rare?*

Cosa accadrà quando patologie «infrequenti ma non troppo» inizieranno ad avere disponibile una terapia efficace? Se pensiamo alla fibrosi cistica, all'emofilia o alla distrofia muscolare, la popolazione delle persone malate non è più composta al massimo da poche decine di pazienti, ma da migliaia di pazienti in ogni paese.

Secondo i dati emersi da una ricerca che ho effettuato sul sito dell'americana Cystic Fibrosis Foundation, nel 2017 risultano archiviati nei soli Stati Uniti più di 29.000 pazienti, a cui vanno assommati quelli che per motivi diversi non sono registrati, la cui stima è complesso stabilire; dei 29.000 iscritti, in ogni caso, più del 50% è rappresentato da adulti (> 21 anni) e tra essi il 36% possiede un diploma di istruzione superiore<sup>16</sup>, chiaro segnale delle migliorate condizioni cliniche nel trattamento della malattia, che ha consentito anche per questi pazienti un aumento significativo dell'aspettativa di vita, oltre i quarant'anni di età. Se un farmaco – convenzionale o di nuova generazione – per una malattia genetica che promette di curare un numero così alto di pazienti viene sviluppato da un'impresa privata, sia essa una piccola *company* o una inclusa nel circuito del Big Pharma, è ovvio e anche giustificato che questa si aspetti di ricavare un utile dalla sua commercializzazione, soprattutto se il prodotto è sicuro ed efficace, anche in considerazione del fatto che i costi esorbitanti sostenuti per produrlo dipendono dai meccanismi produttivi e legislativi nazionali e internazionali: tra tutti quelli che iniziano una sperimentazione, infatti, sono veramente

pochissimi i farmaci che arrivano all'approvazione per il mercato, superando progressivamente sperimentazione pre-clinica e trial clinici di fase I, II e III.

I costi molto elevati, che possono arrivare a decine o centinaia di milioni di euro, e i tempi di messa a punto, in media almeno un decennio, sono fattori che riducono a pochi anni il tempo in cui il farmaco sarà protetto dal brevetto prima che i concorrenti e i *competitors* possano produrlo e venderlo a prezzi più bassi, non avendo avuto la necessità di coprire le spese di sperimentazione. La triste conseguenza di un meccanismo complicato dettato unicamente dalle leggi di mercato è invariabilmente quella per cui il prezzo finale, una volta fissato, sarà molto alto. Se il numero di pazienti da trattare è nell'ordine delle migliaia, i costi delle nuove terapie diventano proibitivi per i sistemi sanitari (anche se, almeno in teoria, maggiore è il numero dei pazienti minore sarà il costo per singolo trattamento): pensate di trovarvi a spendere un milione di euro per ogni paziente su un totale di cinquemila, e per una singola malattia. Solo quando la terapia viene perfezionata e diviene di routine anche in centri ospedalieri non specializzati, i costi di produzione scendono in modo significativo.

Nell'autunno del 2017 la multinazionale Gsk ha raggiunto un accordo per offrire Strimvelis, il prodotto di terapia genica che cura le immunodeficienze congenite, a un costo di circa 400.000 euro per trattamento – rispetto agli iniziali 700.000 –, con previsione di rimborso in caso di mancata guarigione<sup>17</sup>. Viste le premesse, nella comunità medico-scientifica si è pensato che il farmaco avrebbe fatto presto la fine di Glybera, generando un problema etico enorme: immaginate di essere un medico che deve informare i genitori della malattia congenita del figlio, che lo condurrà a morte nei primi anni di vita. Dovrete anche precisare che non esiste cura e quindi non c'è alcuna strada che si possa tentare. Questa è un'esperienza emotivamente intensa per sé, ma se volete inevitabile. Nel secondo scenario, ancora più assurdo, dovreste comunicare ai genitori che una terapia esiste ed è efficace, ma costa circa 400.000 euro e il sistema sanitario nazionale non la rimborsa, per cui, sempre che non la possano pagare di tasca propria, il bambino morirà, quando avrebbe potuto guarire e vivere una vita normale.

Ma non è tutto. Finora le terapie geniche che hanno funzionato riguardano malattie gravi, rare e con esito fatale nella prima infanzia. Per quelle meno rare, come l'emofilia o la fibrosi cistica, possono passare anche decenni tra diagnosi e morte del paziente, e per il momento i trattamenti studiati non si sono rivelati efficaci. Non si rimborsino, diremmo noi, seguendo una logica piuttosto cruda ma corretta. La realtà non è però così banale: la terapia per le immunodeficienze congenite ha impiegato venticinque anni per raggiungere la piena efficacia clinica. Ed erano altri tempi, in cui la sperimentazione era economicamente sostenibile, in assenza degli stringenti regolamenti odierni che fanno lievitare i costi in modo considerevole. Gli enti finanziatori hanno



continuato a investire per tutto questo tempo senza avere la certezza che alla fine della strada ci sarebbe stata una cura. Cosa sarebbe successo se tutti si fossero fermati di fronte ai primi fallimenti? Il più delle volte il risultato della sperimentazione non è binario, un netto bianco o nero, ma sfumato, sui toni del grigio: gli esperimenti o più tardi il trial clinico non funzionano, però c'è un segno, un piccolo risultato che, se studiato e migliorato, a piccoli passi potrebbe portare alla fine all'esito sperato. Lo intuiamo, ma che poi sia davvero così lo sapremo solo alla fine, quando nessuno ci darà indietro gli anni, la fatica, le delusioni di questo lavoro logorante e affascinante. Ogni passo però costa, e tanto. Se l'efficacia assoluta fosse il solo criterio per andare avanti, sarebbe la fine della ricerca biomedica. E in questi ultimi anni le cose stanno rapidamente peggiorando, a causa degli interessi commerciali sempre più stringenti.

Nel caso della distrofia muscolare di Duchenne, le terapie sperimentali più diffuse oggi riguardano gli oligonucleotidi, di cui ho parlato ampiamente, e Ptc124<sup>18</sup>. Entrambe le molecole funzionano bene sulle cellule in coltura, molto meno *in vivo* nei pazienti, tanto che negli studi clinici di fase III hanno dimostrato una modesta efficacia terapeutica. Come abbiamo visto in più occasioni, il problema principale risiede nel fatto che gli oligonucleotidi sono molecole grandi e hanno notevoli difficoltà a raggiungere in profondità le fibre muscolari malate. Per questa patologia la ricerca è condotta da piccole *companies* che si reggono su un'aggressiva strategia di mercato che fa leva anche sulle associazioni dei pazienti, emotivamente coinvolti e quindi vulnerabili, perché i genitori di bambini malati hanno difficoltà tecniche e psicologiche a valutare razionalmente sia i presupposti di un trial che i suoi risultati. Ed è umano cogliere ogni nuovo aspetto positivo nella vita quotidiana del paziente come effetto della terapia. Il che non significa che questi miglioramenti non possano verificarsi, ma è improbabile poterli ascrivere al trattamento, a meno che questi non siano evidenti, anche se non è questo il caso con gli oligonucleotidi.

Basandosi sull'idea plausibile che l'approvazione avrebbe favorito successivi investimenti pubblici e privati portando a un prodotto di nuova generazione, entrambe queste molecole hanno ottenuto l'autorizzazione di mercato, Ptc124 nel 2014 con il nome commerciale «Traslarna» (solo in Europa) e gli oligonucleotidi nel 2016 con «Exondys» (solo negli Stati Uniti), non senza le polemiche di alcuni esperti che ritenevano insufficiente l'evidenza di efficacia, pur parziale, presentata<sup>19</sup>. Dato che ogni farmaco tra quelli elaborati è destinato a una frazione dei pazienti che presentano la specifica mutazione d'elezione, appena ottenuta l'autorizzazione le *companies* hanno fissato prezzi molto alti per la terapia (anche per coprire gli ingenti costi di produzione), tanto che ad esempio Exondys, sviluppato da Sarepta, costa 300.000 dollari all'anno per paziente, rimborsati dal sistema

sanitario o a volte da fondi speciali a ciò dedicati, sebbene l'effetto sia molto modesto. «Com'è possibile questo meccanismo in apparenza incomprensibile e riprovevole?», vi chiederete: Strimvelis, che comporta un unico esborso e funziona, rischia di non essere coperto dal welfare; al contrario Exondys, che funziona molto poco, è rimborsato per un numero ben più alto di pazienti che, si noti, si sottopongono alla somministrazione per almeno una decina d'anni<sup>20</sup>.

La situazione del welfare è complessa e varia da nazione a nazione, da farmaco a farmaco e dal suo stato di avanzamento verso la registrazione, con scenari e soluzioni di volta in volta diversi: in qualche caso il costo grava sul sistema sanitario nazionale, in altri è la *company* che copre i costi relativi ai periodici controlli volti ad aumentare le informazioni disponibili sulla reale efficacia del prodotto e sul possibile verificarsi di eventi avversi a lungo termine<sup>21</sup>.

Un altro punto importante da considerare risiede nella popolazione dei malati: i pazienti con immunodeficienza congenita sono pochissimi, non sono tutelati da un'associazione (o, se esiste, non ve n'è traccia in rete) e quindi non hanno alcun peso politico ed economico. I pazienti con distrofia di Duchenne sono invece molte migliaia e fanno parte di associazioni estremamente attive a livello internazionale, con ramificazioni in molti paesi. Le più importanti tra esse sono senza dubbio la Muscular Dystrophy Association, fondata da Jerry Lewis negli anni sessanta, il Duchenne Parent Project (ormai diffuso in decine di nazioni, in Italia tra le prime), l'Association Française contre les myopathies e tante altre ancora. Questi gruppi riescono a raggiungere perfino il Senato degli Stati Uniti e a influenzarne i membri, impresa davvero non banale, ricevendo ingenti fondi pubblici per finanziare la ricerca, che ci portano al prossimo tema da affrontare.

«I CAPITALISTI NON DOVREBBERO MAI AVVICINARSI AI SISTEMI SANITARI PUBBLICI»

Christopher Lynn Hedges è un giornalista americano, corrispondente di guerra piuttosto famoso e vincitore di vari premi tra cui il Pulitzer, assegnatogli nel 2002 assieme allo staff del «New York Times» per la copertura dei fenomeni legati al terrorismo. Si occupa di molti aspetti della società americana e, nel commentare la riforma della sanità varata da Obama, ha chiarito senza troppi giri di parole come l'avidità delle assicurazioni incida profondamente sulla collettività, colpendo in particolare i ceti più deboli. Nel 2013 ha lanciato una pesante accusa al sistema: «Viviamo in una nazione in

cui i medici distruggono la salute, gli avvocati distruggono la giustizia, le università distruggono la conoscenza, i governi distruggono la libertà, la stampa distrugge l'informazione, la religione distrugge la morale e le nostre banche distruggono l'economia»<sup>22</sup>. La sua affermazione fotografa con freddo disincanto la situazione culturale e politica degli Stati Uniti, ma è estendibile a molti altri paesi del mondo occidentale e all'Unione Europea in particolare.

Hedges ha dichiarato inoltre che negli ultimi decenni, a partire dalla caduta del muro di Berlino, qualcosa è cambiato nell'economia globale, e chiaramente in peggio. Pur con tutti i suoi spettri, il comunismo rappresentava un freno allo strapotere della finanza, per il rischio che di fronte ai continui abusi una popolazione impoverita dai bassi salari, provata dai licenziamenti facili e dalla disoccupazione potesse scegliere il partito comunista come soluzione finale, legittimandone l'ascesa. Il terrorismo delle Brigate rosse durante gli anni di piombo, in un'Italia che portava in seno il più potente partito comunista del mondo occidentale, costituiva un segnale concreto che quelle paure non fossero da ritenere unicamente delle fantasie paranoide. Con la fine dell'Unione Sovietica, il confinamento degli ultimi veri comunisti in apposite riserve e la totale mancanza di un'alternativa al capitalismo globalizzato e finanziarizzato, questo pericolo è venuto meno e il profitto sembra ora diventato la molla fondamentale che tiene in vita le nostre società cosiddette «avanzate».

Se in questo scenario, già di per sé inquietante, inseriamo il problema della medicina rigenerativa e delle nuove terapie sperimentali, il discorso si fa davvero complicato. Sempre secondo Hedges, la sanità rappresenta un oceano di risorse disponibili per finanzieri motivati esclusivamente dal profitto, soprattutto quando in ballo ci sono malattie incurabili e la disperazione dei pazienti e dei loro familiari, da sfruttare come un'inesauribile miniera d'oro. Si tratta di un modello di business molto aggressivo, avulso dagli schemi tradizionali della civiltà industriale. Se produco un'automobile o propongo una vacanza tutto incluso, i potenziali acquirenti valuteranno accuratamente l'offerta, i suoi costi e le eventuali garanzie. In altre parole, lo scambio si baserà su una libera contrattazione determinata dall'equilibrio tra il risparmio per chi acquista e il guadagno per chi vende. Se invece chi acquista paga, direttamente o attraverso il sistema sanitario, una speranza, un'offerta irta di mille cavilli e distinguo (nei contratti che i pazienti firmano con ogni probabilità senza leggere attentamente) così da precludere ogni possibilità di rivalsa, il confine tra business e truffa si fa sempre più sottile e la contrattazione acquista un aspetto abietto e meschino.

Mi riferisco naturalmente al mondo delle cliniche private che spacciano presunte terapie di medicina rigenerativa. Se digitate su un qualsiasi motore di ricerca la stringa *Stem Cell Clinics* potrete rendervi conto facilmente delle centinaia di cliniche che offrono trattamenti con cellule staminali per qualsiasi

malattia possiate immaginare, dalla calvizie alle malattie degenerative del sistema nervoso. Abbiamo visto quali e quanto poche siano ancora le malattie che possono essere effettivamente curate grazie alle staminali, e quale sia il livello tecnologico richiesto ai centri specializzati che le devono produrre; ebbene, esplorate pure le foto e i video dei centri che trovate nei relativi siti e controllate se la mia descrizione corrisponde a quanto vi viene mostrato. Ovviamente no. Quali siano le cellule staminali a essere utilizzate in queste cliniche non è spesso chiarito, mentre mancano quasi sempre le informazioni tecniche sull'andamento delle prove pre-cliniche, sul numero dei pazienti trattati per una specifica malattia e soprattutto sul *follow up* dei pazienti. Quanti sono guariti? Quanti sono migliorati? Quanti non hanno ricevuto effetto alcuno e quanti hanno subito degli eventi avversi? Sono numerosi i video pubblicitari che vedono persone riprendere a camminare in *slow motion* sulle note di colonne sonore da Oscar, sufficienti da soli a far vincere qualsiasi barriera logica ed emotiva. Molti pazienti disperati firmano qualunque cosa e sono pronti a vendere la propria casa per sostenere i costi di una terapia, se i risultati sono quelli prospettati nei promo. Il margine di profitto delle cliniche private è purtroppo altissimo, anche se di certo i loro bilanci non sono pubblici; inoltre, grazie alle ingenti risorse finanziarie accumulate, queste ultime possono permettersi di ricorrere a studi legali in grado di demolire facilmente qualunque tentativo di rivalsa degli eventuali pazienti delusi, anche perché, una volta presa visione dei dettagli, ci si accorge che il trattamento era stato magari definito «sperimentale» e già in partenza non era stata offerta alcuna garanzia che la terapia funzionasse<sup>23</sup>.

Filippo Buccella ha fondato, ormai vent'anni fa, il Duchenne Parent Project Italia<sup>24</sup>, e attraverso questa associazione ha creato una comunità seria e attiva che accoglie, consiglia e dà un senso alla lotta quotidiana che centinaia di genitori e famiglie devono condurre contro la malattia dei loro figli. L'associazione è in grado di aggiornare sui nuovi trattamenti non appena questi divengono disponibili, oltre a svolgere una fondamentale funzione di sorveglianza delle manovre delle cliniche private, aiutando i pazienti a distinguere tra terapie sperimentali e mere operazioni commerciali. Nel corso di un colloquio mi rendeva noto che ormai i consigli di amministrazione di molte *companies* non annoverano più nel loro organigramma clinici, ricercatori o comunque tecnici, ma solo esperti di finanza e marketing. Siamo giunti al punto in cui non è più ritenuto necessario avere a bordo qualcuno che sappia cosa si vende, ma solo persone che sappiano molto bene come si vende.

Il confine tra piccole *companies* e cliniche private che curano tutte le malattie tramite miracolose iniezioni di cellule staminali è tutt'altro che definito, e si dipana in realtà lungo un *continuum* tra «rispettabili» realtà che annoverano nelle loro fila ricercatori e clinici ben noti, e sconosciute strutture presunto Eldorado delle staminali. Alcune informazioni, tuttavia, dovrebbero permettere a chiunque, se aiutato dal medico di famiglia o da un biologo, di orientarsi in questa giungla labirintica.

Tanto per iniziare, il sito web della clinica deve annoverare pubblicazioni scientifiche su riviste riconosciute, che sostengano l'efficacia della terapia proposta per una certa malattia sia su modelli animali sia in pazienti colpiti dalla stessa patologia. Bisogna però stare attenti: per dotare tutti gli attori, più o meno titolati, dello scudo protettivo/pubblicitario della pubblicazione, negli ultimi anni è sorta una miriade di riviste scientifiche di basso o bassissimo livello che offrono a chiunque di pubblicare rapidamente e senza revisione ciò che si vuole, in cambio di una modesta somma di denaro. Io stesso ricevo in media cinque o sei richieste di pubblicazione al giorno, su qualsiasi argomento, da riviste che spesso si localizzano in aree scientifiche anche molto distanti dalle mie, a riprova del fatto che sono inviate indistintamente a tutti i ricercatori. Spesso il messaggio che ricevo è indirizzato a me, ma nel testo ci si rivolge a uno dei colleghi con cui ho di recente pubblicato un articolo. Per noi lo spam è solo un fastidio, ma quest'attività editoriale pirata offre a coloro che lo vogliono la possibilità di pubblicare una storia completamente inventata in meno di due settimane. Anche qui, con un po' di aiuto, si può comunque riuscire a distinguere il falso dal vero. Le riviste serie e riconosciute, molte delle quali sono menzionate in questo volume, si classificano per importanza sulla base di un parametro bibliografico, l'*Impact Factor* (If), «fattore d'impatto»<sup>25</sup>: più questo fattore è alto, più i lavori pubblicati nella specifica rivista sono stati citati da altri e quindi hanno avuto una reale influenza nel campo di studi. In generale, se una rivista scientifica ha un If più alto di tre punti (il «New England Journal of Medicine» è ben oltre i cinquanta, per esempio) pubblica solo articoli scientifici di elevato valore. L'If non è uno strumento perfetto, per una serie di variabili statistiche e bibliografiche che qui sarebbe noioso discutere, ma offre un parametro coerente per distinguere le riviste serie e quelle che non lo sono. Per scoprire qual è il fattore d'impatto di una specifica rivista scientifica è sufficiente digitarne il nome seguito dall'acronimo «If» su qualsiasi motore di ricerca. Molte cliniche private, comunque, non si preoccupano di questa patente di rispettabilità, convinte (a ragione) che la disperazione dei pazienti sia più che sufficiente a garantire comunque lauti guadagni. Una clinica privata che non vanta pubblicazioni o che le presenta su riviste poco credibili, in ogni caso, va considerata con sospetto.

In secondo luogo, è importante verificare qual è la natura delle cellule

staminali che saranno utilizzate nella presunta terapia: sono autologhe o eterologhe? Sono prelevate dal paziente stesso o da una banca di cellule? Di quali cellule si tratta (staminali embrionali, staminali adulte, riprogrammate ecc.), come sono caratterizzate, e soprattutto, in quale *facility* sono state preparate come prodotto medicinale? Da molto tempo in Europa, negli Stati Uniti e in Giappone si sono implementate regole molto severe sui controlli che le cellule devono subire per essere somministrate senza rischi per i pazienti, sull'onda emotiva conseguente agli eventi avversi di Parigi e Filadelfia. Nel 2006 Ema e Fda hanno equiparato le cellule a un farmaco, obbligandone la preparazione nelle *Good Manufacturing Practices facilities* (o *Gmp facilities*), strutture costosissime che dal punto di vista costruttivo e architettonico in genere somigliano ad astronavi.

L'acronimo Gmp corrisponde all'italiano Nbp, «Norme di buona preparazione», e indica l'insieme delle regole, delle procedure e delle direttive in base alle quali vengono prodotti i farmaci e le sostanze farmacologicamente attive in specifici centri – le *Gmp facilities*, appunto – sottoposti a una rigorosa validazione volta a stabilire, tramite stringenti prove documentali, che una procedura, un processo o un'attività svolta durante i test e in seguito nella produzione del farmaco mantengano il livello desiderato di conformità, stabilito dall'ente regolatore, in tutte le sue fasi. Nell'industria farmaceutica, inoltre, è molto importante che oltre al collaudo finale e alla conformità dei prodotti ci si assicuri che i risultati attesi siano ripetibili, in modo da garantire la loro stabilità e sicurezza una volta implementati e validati.

Perché questi centri sono simili a un'astronave? Ebbene, un laboratorio tradizionale è un ambiente pulito e sterilizzato, ma accessibile a chiunque indossi un camice. L'accesso a una Gmp, invece, comporta un'autorizzazione preventiva, rilasciata dal responsabile della struttura dopo un corso specifico di alcune settimane. Per entrare bisogna coprirsi interamente con camice, cappello, maschera, guanti e calzari sterili e monouso, passare attraverso una doccia d'aria e utilizzare solo materiali la cui origine e destino devono essere annotati e conservati per molti anni. In una Gmp i macchinari vengono controllati di continuo e l'aria è filtrata mille volte al minuto. Potrei continuare a elencare altre innumerevoli procedure di sicurezza, ma credo di aver reso l'idea. Se da un lato il processo di produzione cui le cellule sono sottoposte garantisce la sicurezza del paziente, dall'altro riduce di molto la possibilità di effettuare sperimentazioni cliniche, soprattutto negli ambiti universitari dove con enorme fatica si accede a finanziamenti tali da poter rivolgersi a un'officina medicinale che produca le cellule, rallentando di conseguenza lo sviluppo di nuove terapie che potrebbero alleviare o addirittura curare gravi malattie ancora da sconfiggere.

Le cliniche private, non serve dirlo, non ricorrono a cellule di grado

clinico per i loro pazienti: se la frequenza degli eventi avversi è rara, potrebbe dipendere dal fatto che a volte questi non divengono di dominio pubblico, o che ai pazienti viene somministrata una soluzione fisiologica, un mero placebo, che se non cura almeno non fa danni.

Per verificare l'affidabilità di una clinica, da ultimo, rimane il *follow up*, le informazioni sul numero dei pazienti trattati per una data malattia. Quanti pazienti hanno subito danni, e soprattutto qual è la condizione dei pazienti dopo uno, due o più anni dal trattamento? Quando questi dati non sono verificabili, com'è quasi sempre il caso per le cliniche private, il rischio che si tratti di una vera e propria truffa è molto alto. Nel 2009, in qualità di esperto di staminali, ho partecipato a una puntata di *Mi manda Rai Tre* che ha visto svilupparsi il confronto – presto diventato scontro – tra due rappresentanti di una clinica che prometteva terapie per malattie incurabili, e i pazienti che questi trattamenti avevano subito senza ricevere alcun beneficio, spesso invece con il presentarsi di nuovi danni. I due rappresentanti hanno tentato più volte di aggrapparsi a tesi complottiste, sostenendo che i pazienti in trasmissione fossero stati scelti unicamente tra quelli che non avevano ricevuto benefici, mentre questi ultimi affermavano con veemenza di essere stati truffati. Nel corso della trasmissione i rappresentanti non fornirono statistiche a sostegno della cura, già somministrata a decine di migliaia di pazienti, e non è difficile intuire il perché. Se ci fossero state eclatanti guarigioni, dopo decenni di trattamenti, lo saremmo venuti a sapere tutti molto presto.

Credo sia utile, in conclusione, ricapitolare schematicamente i tre parametri fondamentali per valutare l'affidabilità di una clinica privata: 1) presenza di pubblicazioni scientifiche serie a supporto della terapia; 2) presenza di informazioni dettagliate sulle cellule staminali usate; 3) presenza di informazioni dettagliate sull'esito a breve e a lungo termine del trattamento.

#### LA NOVITÀ DEL CASO VANNONI IN ITALIA

In questa situazione di caos comunicativo ed economico senza freni, nel 2013 esplose in Italia il caso Vannoni, con il prodotto di terapia cellulare denominato «Stamina». Certo, nel nostro paese una cura miracolosa che detta prima l'agenda dei media e diventa poi causa di scontro politico e sociale non è certo una novità assoluta. Circa un decennio prima, nel biennio 1997-1998, si era dipanato, in molti lo ricorderanno, il caso Di Bella<sup>26</sup> con la sua cura alternativa per i tumori e prima ancora, tra la fine degli anni sessanta e i primi settanta, il caso Bonifacio<sup>27</sup>, con il suo siero di capra che guariva il cancro.

È bene precisare fin da subito che Davide Vannoni non è un medico: ha studiato scienze della comunicazione a Torino ed è diventato professore associato all'Università di Udine nel 2004, dove per un periodo ha insegnato psicologia della comunicazione. È autore di testi sulla comunicazione persuasiva e sulla pubblicità, in molti dei quali aveva già messo per iscritto alcune delle strategie che avrebbe egli stesso adottato, qualche anno dopo, per pubblicizzare il suo presunto metodo di cura. Ricordo ancora il disagio nell'ascoltare un confronto televisivo tra Vannoni e Paolo Bianco, esperto di fama mondiale di cellule staminali, che aveva studiato nell'arco di una brillante carriera lunga più di trentacinque anni. Scomparso prematuramente nel 2015, Bianco è stato professore di patologia alla Sapienza, dopo aver lavorato a Londra e negli Stati Uniti, ed è stato tra i massimi esperti al mondo di cellule staminali, in particolar modo in relazione alle malattie ossee. Nonostante l'enorme disparità di competenze, in quel confronto televisivo ebbe la meglio Vannoni grazie alle più raffinate doti di comunicatore, anche se nulla di quanto affermava era sorretto da solide evidenze scientifiche, che d'altronde non potevano essere valutate criticamente dalla quasi totalità degli ascoltatori del programma, che non si può certo pretendere fossero esperti in materia.

Ma dove nasce e in cosa consiste l'ormai *infamous* metodo Stamina? Ebbene, Vannoni, colpito da una paresi, era stato trattato con cellule staminali in Ucraina, e di fronte al parziale successo della terapia (i segni della quale erano comunque ancora evidenti) aveva convinto i due biologi che lo avevano seguito, V'jačeslav Klimenko ed Elena Ščegel'skaja, a spostarsi in Italia, dove avevano messo a punto le colture cellulari delle famose cellule staminali mensenchimali, descritte nel capitolo 2, prima a Torino e successivamente, dal 2007, a San Marino. Come specificato, queste cellule possono formare osso, cartilagine, muscolo liscio e tessuto adiposo, se prelevate dal midollo osseo, ma unicamente muscolo liscio e tessuto adiposo se prelevate dal grasso del paziente. Tutti i lavori che sostenevano la loro capacità di formare altri tipi cellulari, come cardiociti o neuroni, non sono mai stati confermati ed è oggi cognizione condivisa dalla comunità che non possano formare neuroni, come sosteneva Stamina. Il gruppo affermava di aver trattato decine di pazienti affetti da disparate patologie neurologiche (paresi, Sla, Parkinson) con percentuali molto elevate di efficacia clinica o addirittura di guarigione. Il tutto, naturalmente, a caro prezzo: anche decine di migliaia di euro per applicazione. Dal 2011, grazie alla collaborazione tra Vannoni e il dottor Marino Andolina, il metodo Stamina venne offerto come terapia compassionevole<sup>28</sup> all'Ospedale di Brescia.

A parte la novità (per l'Italia) del ricorrere alle cellule staminali come nuovo strumento terapeutico per un numero variegato di malattie prima mai prese in considerazione con questo approccio, il trattamento proposto da



Vannoni non si discostava molto dalle terapie con cellule staminali delle cliniche private di tutto il mondo. Il vero elemento deflagrante di tutta la vicenda, foriero di un potenziale impatto devastante, consisteva invece nell'avallo che il governo italiano stava per fornire a Stamina, sulla base del concetto astratto di «libertà di cura».

È evidente che ciascun cittadino, se maggiorenne e consapevole, può decidere di curarsi come meglio ritiene, ma non può farlo a spese dello Stato e dei contribuenti, finché l'eventuale terapia in questione non si sia dimostrata sicura ed efficace sulla base di studi seri, e non delle sole dichiarazioni di qualche paziente, magari «comprate». Se l'allora ministro della Salute del governo Monti, Renato Balduzzi, avesse emesso un decreto legge che autorizzava la terapia in tutta Italia, le conseguenze sarebbero state enormi. Una quota imponente del budget della sanità pubblica sarebbe finita nelle tasche di Vannoni e dei suoi collaboratori attraverso il rimborso delle spese dei trattamenti realizzati nei vari centri sanitari; come diretta conseguenza, molti pazienti non abbienti si sarebbero visti rifiutare farmaci salvavita, perché i fondi non sarebbero bastati a coprire tutte le spese generate dalla commercializzazione del metodo Stamina.

Fortunatamente in Italia i governi durano per periodi imprevedibili (di solito brevi) e il nuovo ministro della Salute del governo Letta, Beatrice Lorenzin, entrata in carica nel giugno del 2013, ha ordinato quello che qualunque ministro serio avrebbe dovuto fare in un caso come questo: costituire una commissione di esperti per valutare l'efficacia del metodo. Dopo un accurato esame dei documenti disponibili, la commissione concluse, com'era del resto facile prevedere stanti le premesse, che il metodo Vannoni non possedeva alcuna base scientifica né era supportato da pubblicazioni sul metodo o sulla sperimentazione effettuata. Alla voce della commissione si aggiunsero presto quelle dell'Accademia dei Lincei, dell'Ema, della rivista «Nature», del premio Nobel Shin'ya Yamanaka e della rivista ufficiale dell'European Molecular Biology Organization, «The Embo Journal», che pubblicò un articolo firmato da tredici esperti di staminali, tutti concordi nel definire il metodo Stamina una truffa<sup>29</sup>.

Agli inizi del 2013 la somministrazione di Stamina venne poi sospesa su tutto il territorio nazionale in seguito a un'ispezione dei Nas e dell'Aifa nei laboratori dell'Ospedale di Brescia, che rilevò come le cellule del metodo Stamina non fossero preparate in una *Gmp facility* secondo procedure rigorose e pertanto non potessero essere somministrate ai pazienti, indipendentemente dalla loro millantata efficacia. A quel punto molte famiglie di pazienti fecero ricorso alla magistratura per poter proseguire le «terapie compassionevoli» del metodo Stamina. I pm, privi della cultura medico-scientifica necessaria per valutare la situazione e spesso senza ricorrere al parere di periti, nella maggioranza dei casi imposero la ripresa del

trattamento, creando, di fatto, un imbarazzante conflitto istituzionale tra diversi organi dello Stato. A peggiorare le cose, sotto la pressione popolare, fomentata soprattutto dalla trasmissione *Le Iene*, il Ministero della salute cedette a una sperimentazione clinica del metodo, stanziando per questo tre milioni di euro. Inaspettatamente, in un primo momento Vannoni si rifiutò di consegnare il protocollo clinico alle autorità, che lo ricevettero solo nell'agosto del 2013, per poi farlo valutare a due diverse commissioni di esperti nazionali e internazionali che lo definirono scientificamente inconsistente e potenzialmente pericoloso, portando così al blocco della sperimentazione. Nel frattempo, a partire dal maggio 2012, il pm di Torino Raffaele Guariniello aveva iniziato un'inchiesta che portò dopo due anni a incriminare Vannoni e altre undici persone per il reato di somministrazione di farmaci imperfetti e pericolosi per la salute pubblica, truffa e associazione per delinquere. Nonostante feroci polemiche, opportunamente fomentate, la cosa si è apparentemente conclusa con una condanna per Vannoni, e speriamo che di queste terapie ci si possa liberare.

In Italia si distinsero per l'impegno civico e la fermezza nell'anteporre la solidità della scienza alle suggestioni del marketing, tanto da essere riconosciuti come dei veri e propri «paladini anti-Stamina», Paolo Bianco, Michele De Luca ed Elena Cattaneo, che continua da senatrice a vita a intraprendere instancabili battaglie per difendere la scienza dai suoi tanti, troppi nemici. Per questo subirono insulti, aggressioni verbali, accuse di corruzione da parte dei pazienti, sobillati *ad hoc*.

### *Come evitare nuove Stamina?*

Il governo, introducendo leggi apposite, e la magistratura, applicandole in modo corretto, rappresentano le due principali barriere che possono arrestare il ripetersi di un fenomeno come Stamina. Tuttavia il fatto che cliniche private prosperino in tutti i paesi del mondo ci suggerisce che il problema sia molto complesso e di incerta soluzione. Su altre tematiche relative alla medicina rigenerativa, con particolare riferimento agli ambiti cellulari e genici, è realtà già da molto tempo l'Human Fertilisation and Embryology Act, in vigore dal 1990 nel Regno Unito, che regola l'utilizzo di embrioni e cellule germinali umane per scopi di ricerca e per impiego clinico, soprattutto per quanto riguarda le tecniche di fecondazione *in vitro*. Nel Regno Unito la legge definisce una griglia all'interno della quale è semplice capire cosa si può e non si può fare, ad esempio fino a che stadio è permesso coltivare embrioni umani in provetta, e ci sono sanzioni severe per chi disobbedisce, applicate in modo stringente. E non è finita qui. Poiché la scienza avanza molto rapidamente, la giurisprudenza si tiene al passo e la insegue a stretta posta per

evitare che una legge, ragionevole nel 1990, diventi un impedimento allo sviluppo di una nuova terapia dopo un certo numero di anni, in seguito all'evolversi e all'espandersi delle conoscenze. Così, nel 2008, è stata adottata una versione aggiornata dello stesso Act, che sostituisce quella precedente; in essa, ad esempio, la figura di «genitore» viene ridefinita a partire dalle nuove acquisizioni derivate dagli studi sulla fecondazione *in vitro*.

Dal punto di vista strettamente legislativo, la situazione non è sempre così chiara: in molte nazioni avanzate la confusione sul tema regna sovrana, forse a causa delle numerose spinte e contraccolpi che i vari gruppi di potere esercitano sui parlamenti o sui politici, con il risultato di assistere all'elaborazione di leggi contraddittorie, mal concepite e con pesanti limitazioni alla ricerca, che lasciano gli scienziati e i medici in balia dei marosi o in un vero e proprio limbo operativo, esponendoli a volte a rischi penali nello svolgimento delle proprie attività, a causa dell'ambiguità latente nelle norme.

Nel 2005 fui coinvolto dall'Associazione Luca Coscioni, di cui per un breve periodo sono stato anche co-presidente, nella battaglia per i referendum abrogativi della legge 40, che il 12 e 13 giugno 2005 non raggiunsero il quorum. Questa legge, dal titolo «Norme in materia di procreazione medicalmente assistita», approvata dal governo italiano nel febbraio del 2004, proibiva tra l'altro la derivazione di linee di cellule staminali umane mentre permetteva l'importazione di linee prodotte altrove, con un'ipocrisia che sfidava la logica oltre che il buon senso. La lotta allo studio degli embrioni trovò un potente alleato anche nella persona del presidente americano George W. Bush che, nel 2001, vietò<sup>30</sup> non tanto la ricerca sulle cellule staminali embrionali, ma l'utilizzo di fondi pubblici per finanziarla, altra decisione abbastanza illogica che per fortuna ebbe fine con l'avvento dell'era Obama, che rimosse il divieto nel 2008<sup>31</sup>. Nonostante le buone intenzioni, la rapidità con cui avanza la conoscenza scientifica spiazza il legislatore così come il divulgatore, e rende gravoso comunicare informazioni aggiornate, serie e pur comprensibili.

Ecco perché a parer mio l'educazione nelle scuole diventa l'unica soluzione per arginare il problema.

#### L'EDUCAZIONE SCIENTIFICA NELLE SCUOLE

Senza una solida cultura scientifica risulta difficile apprendere la scienza contemporanea e diventa poi arduo spiegarla ad altri. La piena comprensione è alla base di una trasmissione chiara dei saperi. Oggi nel nostro paese scuola e università sono davvero attrezzate per offrire questa cultura nel modo

corretto? Esistono iniziative extra-scolastiche che aggregano l'interesse intorno alla scienza, sostengano con iniziative concrete la divulgazione e possano affiancare le scuole e le università nell'arricchire il più possibile la crescita consapevole dei ragazzi? L'Accademia dei Lincei, ad esempio, ogni anno organizza alcune giornate in cui importanti temi scientifici sono spiegati ai ragazzi delle scuole medie, e probabilmente in questo non è sola, ma non è abbastanza rispetto al pubblico potenziale di giovani da raggiungere.

Queste istituzioni sono davvero in grado di diffondere le conoscenze intorno alla medicina rigenerativa che rappresenta un caso complesso, non tanto per la difficoltà concettuale che ne caratterizza principi e meccanismi, quanto per la loro relativa novità e la rapida evoluzione a cui sono costantemente soggetti? Sono molti gli ostacoli, alcuni senza dubbio radicati da lungo tempo nella società e nel sistema scolastico italiani, che impediscono o rendono difficoltosa questa diffusione. Ma quali sono esattamente, e come possono essere rimossi?

Questi i non facili interrogativi che, alla fine della nostra disamina, mi sento di dover porre, per tentare – mi si passi il gioco di parole – una rigenerazione anche del nostro sistema di formazione, acquisizione e trasmissione delle conoscenze, insomma del corpo dei saperi che informa la nostra comunità nazionale. Ritengo infatti che innesti fecondi e rivitalizzazione dei tessuti connettivi possano essere potenti metafore per accelerare l'avvio di un processo virtuoso che, se tutto andasse per il verso giusto, potrebbe farci uscire in qualche decennio da questo nuovo Medioevo in cui sembriamo aggirarci increduli.

### *Pragmatismo versus idealismo*

L'acqua bolle a 100 °C in pianura e a 70 °C in montagna, punto e basta. Ma se qualcuno volesse sapere il perché di questo fenomeno, per apprendere la coscienza profonda del metodo che si pone a fondamento della scienza? Se qualcuno volesse imparare a farsi delle domande, e a formularle nel modo giusto, anziché memorizzare vuote nozioni? La scuola deve in primo luogo insegnare a pensare, con spirito critico.

Quand'ero professore alla Sapienza ero solito provocare i miei studenti del primo anno di medicina – in modo bonario, s'intende – dicendo loro che, se avessi insegnato, *ex cathedra*, che gli asini volano perché hanno due possenti ali che si dipartono sui lati dall'articolazione scapolo-omerale, avrebbero diligentemente trascritto l'informazione nei loro appunti. Molti si sarebbero chiesti se fossi vittima di allucinazioni o facessi uso di sostanze psicotrope, ma pochi, pochissimi avrebbero avuto il coraggio di alzarsi e dirmi: «Professore, non abbiamo mai visto asini alati. Ci può dare qualche prova

della loro esistenza?».

E questo era il motivo per cui, entrato in laboratorio a poco più di diciannove anni, sarei stato felice di passare ore al microtomo, tagliando un piccolo blocco di paraffina in migliaia di sezioni istologiche (quelle che poi, montate su un vetrino, ci permettono di osservare al microscopio la struttura dei tessuti) senza chiedermi quale fosse la domanda cui quell'esperimento cercava di trovare risposta, il punto di partenza per i ricercatori dell'Europa del Nord, che difatti raggiungevano la maturità scientifica con molti anni d'anticipo rispetto ai colleghi mediterranei. A noi serviva tempo, e tanto, per capire che fare ricerca non significa misurare qualcosa, ma chiedersi quale sia il meccanismo di un fenomeno che osserviamo, quale domanda o domande potranno meglio tracciare la rotta verso una risposta che qualora arrivi, almeno in parte, fornisca una chiara spiegazione del problema.

Se fosse ancora necessario ripeterlo, sottolineo anch'io che nel nostro paese vi è un enorme divario tra cultura umanistica e scientifica. È impensabile che una persona colta ignori chi fosse Amedeo Modigliani, mentre è socialmente «non sanzionato o non sanzionabile», per usare il linguaggio dei sociologi, ignorare cosa sia il Dna o ritenere che i cibi transgenici contengano il Dna e quelli «biologici» invece no.

Il mio cognome è inequivocabilmente sardo. Nonostante un accento romano abbastanza riconoscibile, nuovi conoscenti mi chiedevano spesso da quale parte dell'isola provenissi, anche se sono nato e cresciuto nella Città eterna. Mi divertivo pertanto a rispondere di aver lasciato la Sardegna da spermatogonio e di aver poi ultimato la meiosi a Roma, dove la mia famiglia si era trasferita già negli anni trenta. La battuta fa ridere forse solo gli addetti ai lavori, ma resta il fatto che si regge su nozioni scientifiche ormai da scuola elementare; ciononostante, ho dovuto smettere di dare questa risposta quando ho preso atto che la grande maggioranza dei miei interlocutori mi guardava come se avessi risposto: «Vengo da Marte e sono arrivato sulla Terra dentro un uovo di cioccolato». Ora mi limito a dire più noiosamente: «Mio padre era di Sassari».

### *Non siamo soli: la crisi delle università nord-europee*

Nella primavera del 1990 mi trovai a intervistare due candidate a una borsa di studio che avrei dovuto assegnare a un ricercatore che lavorasse per due anni nel mio laboratorio, allora a Roma. Intervistai un'irlandese con PhD a Edimburgo e un'italiana che invece lo aveva conseguito alla Sapienza. Il confronto fu impietoso per quest'ultima, non tanto perché mancasse di solide basi scientifiche, tutt'altro. Mancava invece della maturità scientifica per chiedermi delle basi epistemologiche del progetto, perché volevo fare proprio

quello, quali mezzi avevo a disposizione per realizzarlo e quindi che prospettiva potevo avere di arrivare a una valida conclusione in due anni. Tutti punti che invece discutemmo a lungo con la candidata irlandese Paula Murphy, che poi vinse la borsa (e ora è professoressa al Trinity College di Dublino).

L'episodio fu per me un'ulteriore riprova di come, perlomeno fino a qualche tempo fa, i ricercatori che avevano studiato in paesi nord-europei fossero non tanto più preparati, ma sicuramente più maturi dei nostri. Fin da piccoli erano stimolati a chiedere il perché di una data osservazione e non soltanto a memorizzarla. Questo era il ricordo e l'ammirazione che avevo per la cultura scientifica inglese, ancora ben saldi in me quando mi sono trasferito a Londra nel 2012.

Nel frattempo, tuttavia, le cose erano cambiate, senza che me ne fossi reso conto. Le università inglesi, fatta eccezione per i pochissimi centri di eccellenza come Oxford o Cambridge, si erano trovate a fronteggiare costi crescenti ed entrate minori. I tagli che in tempo di crisi i governi si trovano a dover compiere colpiscono generalmente prima la ricerca e poi l'istruzione. Il trend negativo è ulteriormente sospinto dallo svolgimento stesso del progresso scientifico, per cui al crescere delle conoscenze e delle scoperte aumentano anche i costi della ricerca, e conseguentemente di un'istruzione scientifica aggiornata. Arruolare un numero sempre maggiore di studenti e raddoppiare e poi triplicare le tasse studentesche è stata la strategia adottata per far quadrare i conti. A questo punto è iniziata una competizione al ribasso, secondo un trend che si è andato progressivamente acuendo nell'ultimo decennio. Gli studenti che vogliono frequentare le università del Regno Unito pagano tanto, parecchie migliaia di sterline all'anno, quelli extra-europei addirittura decine di migliaia, e in un certo senso stante l'esborso si aspettano di «comprare» il titolo di studio, per cui chiedono ai docenti di abbassare progressivamente il livello d'insegnamento, se le nozioni da apprendere e i concetti da assimilare sono troppi o troppo complessi. Altrimenti se ne vanno altrove, in cerca di un'università più facile. Questo fenomeno danneggia gravemente l'educazione nel Regno Unito, come scrive il giornalista Peter Scott su «The Guardian»<sup>32</sup>.

Nella primavera del 2018 un gruppo di *Senior Professors* di Ucl<sup>33</sup>, molti dei quali soci della prestigiosa Royal Society, hanno espresso al «Financial Times» la loro sfiducia nell'operato del rettore, Michael Arthur, per aver creato un debito enorme in seguito all'acquisto e alla ristrutturazione di un intero campus, l'ex villaggio olimpico a East London, per aumentare ulteriormente il numero di studenti, soprattutto in materie tecniche e ingegneristiche. Argomentano che esiste un rapporto inverso tra numero di studenti e qualità dell'insegnamento, e che questa operazione, nel migliore dei casi, non farà che abbassare la qualità di quella prestigiosa (per il momento)

università. Potrebbe però andare molto peggio di così: se per qualche motivo le tasse universitarie fossero ora abbassate, come già il governo conservatore sta facendo (immaginatoci se al governo fossero i laburisti), il ritorno economico non basterebbe a coprire il debito, creando così una situazione finanziaria insostenibile.

Nel Regno Unito le cose non vanno molto bene nemmeno sul versante della ricerca. Nel maggio 2018 ho presentato una richiesta per finanziare un mio progetto di ricerca sullo sviluppo del muscolo scheletrico al Biotechnology and Biological Sciences Research Council (Bbsrc), l'ente del governo inglese che finanzia la ricerca di base. Arrivato a definire il budget, ho scoperto con mia sorpresa le nuove regole dell'Università di Manchester, estensibili a quasi tutte le università inglesi, che raddoppiano i costi della sperimentazione, calcolando non solo la parte del mio salario, ma anche l'utilizzo degli spazi necessari. Il risultato è che per fare davvero ricerca i fondi divengono appena sufficienti, e più della metà del budget totale, in caso di finanziamento, va all'università che cerca di rientrare anche in questi modi da spese sempre in aumento ma non sempre logicamente giustificate.

Si potrebbe dire che tutto il mondo è paese: le nostre università sono state progressivamente ridotte a licei per mancanza di fondi per la ricerca, che in molti casi non riescono più a fare perdendo così l'elemento fondante della loro stessa esistenza; da noi si salvano solo i centri di eccellenza citati a inizio capitolo. Cionondimeno, molti atenei forniscono ancora un'istruzione ottima che pur se pedante e nozionistica, è solida e dettagliata e favorisce gli studenti italiani che di solito fanno molto bene quando superano il gap culturale e riescono a integrarsi nel sistema inglese o di altri paesi nord-europei o nord-americani. Della fuga dei cervelli si è parlato fino alla noia e qui voglio solo accennare al tema, sottolineando che secondo me la scienza è universale e non c'è niente di male se giovani ricercatori, ma anche i loro colleghi anziani (come il sottoscritto), accettano offerte di lavoro in altri paesi. Il problema vero è che, fatti salvi i centri di eccellenza, l'Italia non attrae ricercatori stranieri in una situazione che resta quindi in forte disequilibrio, aggravato dal fatto che tanti scienziati italiani dopo aver vinto prestigiosi finanziamenti internazionali (ad esempio quelli dell'European Research Council), decidono di utilizzarli all'estero, dove trovano un ambiente di lavoro migliore che in patria.

#### INSEGNARE LA MEDICINA RIGENERATIVA

Sono convinto che per mantenere alto e rendere ancora più stabile il già solido edificio della medicina rigenerativa in Italia sia bene introdurre tra gli

insegnamenti di scienze nelle scuole medie concetti di medicina rigenerativa, ma anche di medicina generale. Dubito che un cambiamento di tematiche nelle materie scolastiche sia qualcosa di rapido da realizzare, ma immaginarlo costa poco. Non sarebbe male che al giorno d'oggi uno studente che ha completato la sua educazione media sapesse cos'è un infarto, un'infezione, che le salamandre adulte rigenerano un arto amputato mentre le rane no, che il nostro fegato rigenera mentre il nostro cuore no. Pensiamo inoltre all'importanza di una preparazione etica e allo sviluppo di una sensibilità di fronte a tematiche come la donazione e la cura di un prossimo malato. Non sono concetti astrusi e un insegnante preparato potrebbe trasmetterli senza una laurea in medicina o un'esperienza diretta in corsia o in laboratorio.

Se però ci spostiamo all'educazione universitaria, qui le vie dovrebbero essere più percorribili. Gli studenti sono meno numerosi e i professori potrebbero essere distribuiti fino ad avvicinarsi a un rapporto ottimale docente/discenti che sulla base della mia esperienza valuto in 1:10 o 1:20. Tuttavia, che io sappia, l'unico corso di medicina rigenerativa nel nostro paese è tenuto da Michele De Luca all'Università di Modena e Reggio Emilia per i pochi studenti di biotecnologie mediche. Potrebbero esistere però altri corsi di cui non sono a conoscenza, sebbene non abbia trovato insegnamenti ufficiali di medicina rigenerativa nelle molte facoltà mediche in Italia o in Europa i cui siti web ho visitato.

Anche se questi esistessero, la situazione non cambierebbe nella sostanza: la grande maggioranza di medici e studenti di medicina che vogliono approfondire le tematiche della medicina rigenerativa hanno a disposizione al massimo un seminario o un convegno ogni tanto, non un'educazione specifica sulla disciplina. La maggior parte di essi, come i medici di famiglia o gli ospedalieri, continuerà a rimanere in contatto con i malati, trovandosi nella delicata condizione di dover consigliare i pazienti sulle nuove terapie senza avere gli strumenti per distinguere le sperimentazioni serie dalle truffe. Sarebbe abbastanza agevole porre rimedio a questo problema: introdurre un nuovo insegnamento universitario non è complesso come modificare l'ordinamento scolastico dell'istruzione obbligatoria. Inoltre, ci sono delle ricadute positive sul piano del lavoro, dato che intere legioni di giovani ricercatori (che hanno appreso la medicina rigenerativa in corsi post-laurea e prevalentemente nei dottorati di ricerca) già operano nel campo e potrebbero insegnarla ad alto livello.

---

<sup>1</sup> C.E. Dinsmore (a cura di), *A History of Regeneration Research: Milestones in the Evolution of a Science*, New York, Cambridge University Press, 1991.

<sup>2</sup> R. Bodei, *Democrazia in bilico tra verità e menzogna*, in «Domenica - Il Sole 24 Ore», 9 settembre 2018.



<sup>3</sup> T. Nichols, *The Death of Expertise: The Campaign Against Established Knowledge and Why it Matters*, New York, Oxford University Press, 2017.

<sup>4</sup> *Virus, Red Ronnie: «Demenziale vaccinare i bambini». Il medico: «Sproloquio intollerabile in tv pubblica»*, in «il Fatto Quotidiano», 16 maggio 2016. Cfr. <https://www.ilfattoquotidiano.it/...>

<sup>5</sup> Vaccini, *Red Ronnie a giudizio dopo la querela di Burioni*, in «il Resto del Carlino», 19 marzo 2018. Cfr. <https://www.ilrestodelcarlino.it/...>

<sup>6</sup> Cfr. <http://www.ansa.it/...>

<sup>7</sup> D. Le Houézec, *Evolution of Multiple Sclerosis in France Since the Beginning of Hepatitis B Vaccination*, in «Immunologic Research», v. LX, n. 2-3, 2014, pp. 219-225.

<sup>8</sup> G. Milano, M. Riccio, *Storia di una morte opportuna. Il diario del medico che ha fatto la volontà di Welby*, Milano, Sironi, 2008.

<sup>9</sup> Fino a vent'anni fa la rivista «Nature» era, assieme a poche altre, il riferimento indiscusso nel panorama delle pubblicazioni scientifiche. Oggi la sola «Nature» ha generato – per gemmazione, potremmo dire – una quarantina di riviste diverse («Nature Medicine», «Nature Neuroscience», «Nature Cell Biology» ecc.), tutte di grande valore scientifico e dall'alto fattore d'impatto, responsabili di una crescita esponenziale degli articoli pubblicati che in teoria noi scienziati dovremmo leggere per tenerci aggiornati; ma quando, se poi dobbiamo anche continuare le nostre ricerche in laboratorio?

<sup>10</sup> D. Cyranoski, *Failed Replications Put Stap Stem-cell Claims to Rest*, in «Nature News», 23 settembre 2015. Cfr. <https://www.nature.com/...>

<sup>11</sup> Cfr. <http://publicationethics.org>.

<sup>12</sup> Secondo la Guardia di finanza, nel solo biennio 2010-2012 il costo per i contribuenti italiani dovuto alla corruzione nella sanità pubblica è stato di un miliardo e seicento milioni di euro. Nel *Rendiconto generale dello Stato* relativo all'esercizio finanziario 2016 la Corte dei conti definiva «devastante» l'impatto della corruzione nel nostro paese, largamente estesa a tutti i settori della vita pubblica, ma particolarmente presente nella sanità.

<sup>13</sup> E. Landfeldt *et al.*, *The Burden of Duchenne Muscular Dystrophy: An International, Cross-sectional Study*, in «Neurology», n. 83, 2014, pp. 529-536.

<sup>14</sup> Il crescente interesse delle *companies* per malattie rare e rarissime è poco comprensibile sulla base di immediate considerazioni economiche, ma è certamente un fenomeno diffuso in questi anni.

<sup>15</sup> D. Melchiorri *et al.*, *Regulatory Evaluation of Glybera in Europe—Two Committees, One Mission*, in «Nature Reviews Drug Discovery», v. XII, n. 9, 2013, p. 719.

<sup>16</sup> Cfr. <https://www.cff.org/...>

<sup>17</sup> Nella primavera del 2018 Gsk ha venduto Strimvelis a Orchard Therapeutics, una *company* inglese, iniziativa per certi aspetti sorprendente. Con questa mossa il colosso farmaceutico sembra essersi ritirato dall'agone dei *competitors* sulle malattie rare (mantiene solo una percentuale delle azioni di Orchard), secondo strategie aziendali davvero indecifrabili per chi ne è profano.

<sup>18</sup> Derivato dall'antibiotico gentamicina, Ptc124 maschera singole mutazioni che causano una fine prematura della sintesi della distrofina, o di altre proteine, e che portano quindi alla formazione di una proteina tronca e degradata. Grazie al farmaco la sintesi prosegue consentendo la produzione di una proteina normale.

<sup>19</sup> A.S. Kesselheim, J. Avorn, *Fda Approval of Eteplirsen for Muscular Dystrophy—Reply*, in «Journal of the American Medical Association», v. CCCXVII, n. 14, 2017, pp. 1481-1482.

<sup>20</sup> Nota di cronaca recente: a maggio 2018, sulla base dell'efficacia non dimostrata, l'EmA ha di nuovo negato l'autorizzazione a Exondys e l'Fda sta pensando di ritirare l'autorizzazione concessa, anche in considerazione del fatto che le assicurazioni americane si rifiutano di rimborsare un farmaco il cui effetto è irrilevante. Cfr. <https://www.ema.europa.eu/node/16836>.

<sup>21</sup> Per un aggiornamento sul contesto italiano, cfr. <http://www.parentproject.it/...>

<sup>22</sup> Cfr. <http://collectivelyconscious.net/memes/chris-hedges-we-now-live-in-a-nation-where->

doctors-destroy-health-lawyers-destroy-justice-universities-destroy-knowledge.

<sup>23</sup> P. Bianco, D. Sipp, *Regulation: Sell Help not Hope*, in «Nature», v. DX, n. 7505, 2014, pp. 336-337.

<sup>24</sup> <http://www.parentproject.it>.

<sup>25</sup> Cfr. <https://researchguides.uic.edu/if/impact>.

<sup>26</sup> Luigi di Bella (1912-2003), professore di fisiologia all'Università di Modena, divenne improvvisamente famoso alla fine degli anni novanta grazie all'omonimo metodo, da lui ideato e per anni somministrato gratuitamente ai pazienti oncologici. Si trattava di un preparato dell'ormone somatostatina e vitamine che, a detta di molti entusiasti sostenitori, portava a guarigione diversi tipi di tumore. I capelli bianchi, l'aria dolce e gentile e l'assenza di ogni interesse economico contribuirono, colpevoli la stampa e la televisione, a farne un eroe. Nel 1999, sotto la pressione dell'opinione pubblica fu iniziata dal Ministero della sanità, allora guidato da Rosy Bindi, una sperimentazione clinica che mostrò l'assenza di ogni efficacia terapeutica.

<sup>27</sup> Liborio Bonifacio (1908-1983), veterinario di Agropoli nel salernitano, partendo dall'osservazione che le capre non sviluppano tumori, nei primi anni sessanta iniziò a produrre e a somministrare gratuitamente un preparato tratto dalle feci e urina dell'animale, presto divenuto noto come «siero Bonifacio». Il siero raggiunse la notorietà nel 1969, in seguito a una notevole copertura mediatica. Nei primi anni settanta, anche qui sotto la pressione dell'opinione pubblica, fu condotta dal Ministero della sanità retto da Camillo Ripamonti una sperimentazione clinica che ne provò l'assoluta inefficacia, anche se Bonifacio continuò a somministrare il siero fino alla sua morte.

<sup>28</sup> Una terapia è fornita su base compassionevole quando la sua efficacia non è ancora comprovata da un trial clinico, e per il paziente non esistono alternative terapeutiche. In questa situazione, la linea che separa il tentativo serio e rigoroso di un'équipe medica in circostanze estreme (vedi il citato caso di Hassan) e una terapia del tutto priva di alcun fondamento diviene molto sfumato e ingarbugliato per paziente e familiari.

<sup>29</sup> P. Bianco *et al.*, *Regulation of Stem Cell Therapies under Attack in Europe: For Whom the Bell Tolls*, in «The Embo Journal», v. XXXII, n. 11, 2013, pp. 1489-1495.

<sup>30</sup> Cfr. <http://georgewbush-whitehouse.archives.gov/...>

<sup>31</sup> Cfr. [http://www.whitehouse.gov/thewhitehousepress\\_office/Removing-Barriers-to-Responsible-Scientific-Research-Involving-Human-Stem-Cells](http://www.whitehouse.gov/thewhitehousepress_office/Removing-Barriers-to-Responsible-Scientific-Research-Involving-Human-Stem-Cells).

<sup>32</sup> P. Scott, *The Only Fair Way to End University Fees Is to Raise Taxation—Sorry!*, in «The Guardian», 5 settembre 2017. Cfr. <https://www.theguardian.com/...>

<sup>33</sup> Cfr. <https://thetab.com/...>

## Un'altra medicina è possibile

Le vostre vite sono già state programmate. Diventerete adulti, poi, prima di invecchiare, ancor prima di diventare persone di mezza età, comincerete a donare i vostri organi vitali. Ecco per cosa siete stati creati, ciascuno di voi.

K. ISHIGURO, *Non lasciarmi*, 2005

### IL «PROBLEMA» DELLA SCELTA

Trent'anni fa, in Somalia, tenni un corso di anatomia alla facoltà di medicina di Mogadiscio, città allora ancora in pace, mentre le nuvole della futura guerra iniziavano ad addensarsi. Alla fine del corso dedicai una lezione allo sviluppo degli arti, parlando dei geni omeotici e dell'acido retinoico, che proprio allora venivano identificati come i regolatori molecolari della morfogenesi dell'arto. La maggior parte degli studenti dopo poco perse ogni interesse; due ragazzi, invece, quasi ipnotizzati, non persero una sola parola della mia spiegazione e iniziarono a pormi domande sempre più complesse, fino a sollevare punti cui non avevo pensato e che mi causarono un certo imbarazzo. Se fossero nati in America, oggi sarebbero sicuramente professori ad Harvard o a Stanford; invece, sono probabilmente morti, uccisi da una guerra folle di cui noi occidentali siamo in gran parte responsabili. Devo quindi ringraziare la sorte che mi ha fatto nascere a Roma, in una famiglia borghese agiata, potendo studiare e dedicare la mia vita alla ricerca.

Io *ho scelto* di fare il ricercatore. Nessuno mi ha costretto e nemmeno consigliato: è una decisione che prenderei altre cento volte qualora se ne ripresentasse l'occasione, sapendo che non avrei voluto fare altro. Sono stato quindi libero di seguire la via dello studio e della sperimentazione, in un'epoca in cui fare ricerca pura, spinti unicamente dalla curiosità di conoscere la vita e i suoi meccanismi, era una pratica possibile. Ma è ancora così? Nel corso degli anni novanta in tutti i paesi del mondo la ricerca scientifica, soprattutto quella di base, è divenuta sempre più difficile da finanziare. Si era costretti, sempre più, a concentrarsi su argomenti che potessero portare presto a un risultato concreto: brevetti, protocolli clinici, kit commerciabili, profitto, secondo una tendenza che è andata via via

amplificandosi nei decenni successivi, fino ad arrivare alla parossistica situazione attuale. È con una certa preoccupazione che guardo oggi alla sorte dei giovani che, con il mio stesso entusiasmo di allora, sono attratti dal mondo della scienza.

Non sono solo i ricercatori a dover scegliere in base a che criteri di condotta operare, quando possono farlo. Come accade in ogni nuova area del sapere umano, le domande superano di gran lunga le (poche) risposte, e molte volte è l'intuito e non la conoscenza che guida decisioni importanti. Nella complessità della società contemporanea, dove ciò che è vero e ciò che è falso risulta e risulterà sempre più indistinguibile, *scegliere* diventa un fatto morale quando riguarda la possibile ma spesso incerta cura per una determinata patologia.

Uno dei pilastri etici della medicina è rappresentato dal principio per cui nessuno, se adulto e nel pieno possesso delle proprie facoltà psichiche, può ricevere un trattamento sanitario contro la propria volontà, a meno che il rifiuto arrechi un danno a se stessi o agli altri. Il confine di queste regole non scritte è sfumato e aperto a interpretazioni: la morte indotta, ad esempio, può essere considerata un danno quando pone fine a sofferenze indicibili? E soprattutto, a chi spetta scegliere? Le decisioni diventano, infatti, particolarmente complicate quando a doversi sottoporre a pesanti terapie è un minore.

Nel 2009 Daniel Hauser, un ragazzo tredicenne del Minnesota colpito dal linfoma di Hodgkin, rifiutò di sottoporsi alla chemioterapia dopo aver ricevuto un primo dosaggio, a suo avviso troppo debilitante. Tuttavia, nel caso di questo linfoma, il successo della chemioterapia è altissimo, e rifiutarla significa scegliere consapevolmente la morte. Secondo quanto riportato dai quotidiani, i medici consultati consigliarono vivamente il trattamento, ma la famiglia fece pressione affinché il ragazzo si curasse con i metodi dei nativi americani. Il caso fu portato in tribunale nel maggio dello stesso anno, ma Daniel e la madre si resero irrintracciabili e non si presentarono alla prima udienza: contro i due fu spiccato un mandato di arresto. Alla fine si arrivò a un compromesso: il ragazzo e la sua famiglia accettarono la chemio portando avanti in parallelo i metodi di cura alternativi, ascrivendo i miglioramenti di Daniel unicamente a questi ultimi e gli effetti collaterali alla tossicità della prima. Secondo quanto dichiarato dal tribunale di New Ulm, la famiglia nutriva «una genuina e forte convinzione nei benefici della medicina olistica e, in particolare, nella Nemenhah, [che] si basa sulle pratiche di guarigione dei nativi americani. Daniel [...] non desidera ricevere ulteriori cicli di chemioterapia»<sup>1</sup>.

Circa dieci anni dopo, nel 2017, un ragazzo olandese di dodici anni rifiutò di sottoporsi alla chemioterapia per un tumore al cervello, dopo un intervento chirurgico andato a buon fine e dopo essere stato sottoposto a radioterapia.

Anche in questo caso il rifiuto era dovuto alla paura degli effetti collaterali conseguenti al trattamento. I genitori del giovane erano divorziati e avevano pareri discordanti sul da farsi: la madre sosteneva la decisione del ragazzo mentre il padre voleva che si sottoponesse alle terapie e decise di portare il caso in tribunale. Gli psicologi stabilirono che il giovane era capace di intendere e di volere e pertanto la Corte concluse che era in grado di decidere autonomamente<sup>2</sup>. La stampa non ci informa di cosa gli successe, forse per rispettare la sua privacy, forse perché le notizie durano «quanto basta» e poi scompaiono rapidamente dai quotidiani.

Al di là delle caratteristiche peculiari di ciascun caso, sono due le variabili da considerare: il tipo di tumore e la capacità del paziente di decidere in modo autonomo. Sul primo punto è ormai assodato che per alcuni tumori, come il linfoma di Hodgkin, la chemioterapia segna il discrimine tra morte e guarigione, mentre per altri, nella migliore delle ipotesi, prolunga di qualche mese l'agonia. Ovviamente il peso della decisione è diverso a seconda della probabilità di guarigione correlata alla terapia che il paziente rifiuta. Ritengo comunque sia quasi impossibile capire se la decisione del minore sia da considerarsi pienamente autonoma o influenzata da uno o da entrambi i genitori. Per questo è molto utile ricorrere all'aiuto di psicologi con esperienza su pazienti in età infantile o adolescenziale, che siano in grado di comprendere il grado di autonomia decisionale e di liberare il minore, per quanto possibile, da paure immotivate o da influenze esterne. Proprio sulla base di queste considerazioni nel mio trial al San Raffaele avevo esplicitamente richiesto la presenza di due psicologhe come membri ufficiali del team, al fine di individuare e tenere sotto controllo lo stress nei pazienti, comprendere le loro eventuali esitazioni e attese, oltre a comunicare il senso della sperimentazione al progredire delle operazioni.

È naturale che anche la scelta di partecipare a una nuova sperimentazione clinica di medicina rigenerativa, ma in generale a qualsiasi sperimentazione clinica, deve essere assolutamente libera. Libera ma consapevole. Per questo motivo, i pazienti che presentano, oltre alla patologia in esame, caratteristiche fisiopatologiche che li rendono idonei alla sperimentazione, devono essere informati in modo dettagliato ma comprensibile circa i potenziali benefici che potrebbero derivare dal trattamento, ma anche e soprattutto dei rischi che corrono. Essere precisi su questo punto non è spesso semplice come sembra, purtroppo, perché nelle sperimentazioni condotte per la prima volta non si conoscono con accuratezza quali possano essere i rischi e i benefici potenziali, che vengono in qualche modo appresi sulla pelle dei malati. Perché allora un soggetto dovrebbe sottoporsi a una sperimentazione nuova, indicata con l'espressione inglese *first in human*? La risposta più diretta, si è già visto, è che la malattia che lo affligge non ha cura e lo condannerà a una morte certa, spesso lenta ma inesorabile e quindi poco si ha da perdere, anche se la

durata di una patologia può variare da pochissimi anni a decenni, e questo ha ovviamente il suo peso.

È indispensabile allora condurre un'accurata sperimentazione su modelli animali della stessa malattia prima di portare il trattamento sugli esseri umani, come discusso in dettaglio nel capitolo 3. Il fatto che i modelli animali abbiano beneficiato del trattamento non garantisce che esso sia innocuo, ma rende più probabile che i pazienti ne ricevano almeno qualche effetto positivo; è invece ben più importante che gli eventuali eventi avversi dovuti alla sperimentazione siano stati ampiamente studiati sugli animali, per evitare seri eventi avversi sugli esseri umani, con le pesanti ricadute sui familiari e più in generale sulla comunità scientifica. Il più delle volte gli studi pre-clinici riducono di molto i rischi, ed è proprio per questo che è così grave che le cliniche private non ne effettuino. Gli accadimenti sfortunati di Parigi e Filadelfia, tuttavia, segnalano che qualche volta neppure i modelli animali possono predire problemi che potrebbero manifestarsi solo nei pazienti, ma l'occorrenza di simili circostanze è estremamente rara: se prendiamo in mano i dati, notiamo che si annoverano due soli eventi fatali su qualche centinaio di pazienti trattati in circa trent'anni di storia clinica. Nessuno può dire invece quanti sarebbero stati i morti se le terapie fossero state testate direttamente sui pazienti, senza la sperimentazione pre-clinica.

Dovendo vagliare molte variabili, un malato potrebbe decidere di non correre i rischi connessi alla prima sperimentazione clinica in assoluto, ma di aspettarne i risultati prima di scegliere se partecipare o no a un esperimento futuro. Strategia saggia, ma non scevra di un rischio importante: una sperimentazione clinica, se considerata in tutte le sue fasi dalla progettazione all'esecuzione all'analisi dei risultati, può facilmente impiegare cinque anni (o più), durante i quali la malattia in esame continua a progredire e potrebbe facilmente divenire così grave da rendere il paziente temporeggiatore non più eleggibile per la sperimentazione successiva. Insomma, per quanto cinico possa sembrare, rischiare vale anche in quest'ambito, un'amara verità che si applica alla medicina rigenerativa come a tante altre vicende umane. Non è detto che il coraggio nel rischiare sia premiato dai risultati, ma queste sono le regole del gioco, a cui non possiamo sottrarci. Se non altro queste regole, una volta rispettate con professionalità da parte dei medici, possono offrire ai pazienti una possibilità di scelta, sofferta ma consapevole, senza contare inoltre il desiderio umano e comprensibile di chi ha programmato la sperimentazione – magari dopo decenni di lavoro –, di vederla coronata da successo, così da includere nell'informazione offerta anche la speranza che funzioni, e non solo i freddi dati oggettivi a disposizione.

La mia pur limitata esperienza sulle terapie sperimentali rivela che i pazienti affetti da malattie gravi rinunciano raramente a partecipare a un trial clinico, anche quando di fase I, cioè svolto unicamente per verificarne la

sicurezza e senza attesa di un effetto benefico. La storia di Alessandro, che ho raccontato alla fine del terzo capitolo, esemplifica bene come la speranza debba sempre essere contenuta entro i rigidi limiti dei dati, se non si vuole correre il rischio di una successiva, amara disillusione.

Un altro dilemma – che nel caso delle malattie rare praticamente non sussiste – ha a che fare con la selezione dei pazienti da sottoporre al trial. Accade spesso che il medico si trovi a poterne includere nello studio un numero limitato, tra i molti che vorrebbero partecipare. La selezione, va da sé, è basata su una valutazione esclusivamente clinica. In genere nelle sperimentazioni di fase I il numero dei pazienti è molto esiguo, da cinque a dieci, frutto di un compromesso tra il desiderio di ridurre la quantità di soggetti esposti al rischio di eventi avversi, a questo stadio ancora molto alto, e la necessità di confermare il risultato su un numero diversificato di malati, pur se piccolo. Di solito età, condizioni cliniche generali e particolari caratteristiche genetiche (come il tipo di mutazione) dettano la possibilità o meno di partecipare, influenzata anche dai cosiddetti «criteri d'inclusione», stabiliti a priori per scegliere i pazienti che si spera abbiano minore rischio di subire danni e maggiore probabilità di ottenere un beneficio. Quando i pazienti con le giuste caratteristiche sono molti di più rispetto a quelli che possono essere trattati, altri fattori e variabili guidano la scelta. Ad esempio, il fatto che il malato viva vicino all'ospedale è un vantaggio che viene preso in considerazione per l'inclusione, visto che, dovesse accadere un evento avverso, il ricovero potrebbe avvenire in tempi brevi. Anche altre caratteristiche diventano molto importanti, come ad esempio quelle psicologiche: i pazienti che intraprendono un trial devono avere carattere forte ed essere maturi, specialmente se si tratta di giovani o addirittura di bambini, per non subire un trauma psichico se le cose non dovessero andare come sperato.

Ogni partecipante a una sperimentazione clinica è libero di ritirare il suo consenso in qualunque momento senza alcuna conseguenza dal punto di vista legale, anche se la decisione può causare un danno alla buona riuscita del trial, compromettendone l'esito.

In questo scenario, l'opportunità di partecipare a una sperimentazione clinica, soprattutto se di medicina rigenerativa, deve essere presentata al paziente in totale onestà, senza amplificare i possibili benefici o minimizzare i rischi. Cosa altrettanto importante, è necessario che il medico curante o comunque una persona terza, uno psicologo o psicoterapeuta competente, possa consigliare il paziente in modo che la speranza di guarire non prenda il sopravvento e chi propone la terapia non cerchi di indurre il paziente ad accettarla a tutti i costi, semplicemente per riuscire a eseguire il trial e provarne l'efficacia.

Per questi motivi è auspicata e con fatica realizzata, per lo meno in alcuni

paesi, la creazione di una nuova figura professionale di medico-ricercatore, un *clinician scientist*. Dopo decenni spesi in laboratorio, quando mi sono dovuto accostare per la prima volta alla sperimentazione clinica è stato molto faticoso capirne le rigide regole (un esperimento in laboratorio si può modificare all'ultimo momento in base a diverse variabili, un protocollo clinico scritto va seguito come fosse la Bibbia); e al tempo stesso mi trovai a dover spiegare ai colleghi neurologi cosa fosse una cellula staminale o una progenitrice, e perché volessi iniettarle nel corpo dei pazienti. Una nuova figura professionale che riunisca queste due competenze nella stessa persona potrebbe comprendere a fondo la biologia del sistema e quindi spiegare con competenza i vantaggi e i rischi della terapia. Accademie, università, associazioni professionali supportano entusiasticamente questa iniziativa che, nei fatti, è già operativa in molti centri d'avanguardia negli Stati Uniti e in Europa, ma comporta problemi pratici non del tutto risolti. Il primo è spesso di natura economica: l'università non vuole pagare un suo dipendente perché lavori in ospedale e l'ospedale non vuole pagare un suo dipendente perché perda tempo a giocare con i topi in laboratorio. Per di più, il medico ricercatore di fatto deve svolgere, a costo di un notevole impegno personale, due diversi lavori con il relativo stress e la conseguente scarsa considerazione in cui potrebbe essere tenuto dai colleghi specializzati. Come tutti i cambiamenti epocali, anche questo comporterà tempo e fatica ma alla fine la rivoluzione andrà a beneficio dei pazienti. Ed è questa l'unica cosa che conta.

«VITA TUA VITA MEA»

In natura l'unicità genetica di un individuo, portatore di variazioni che lo distinguono dagli altri soggetti della stessa specie, è la risorsa originaria cui attinge il meccanismo evolutivo della selezione naturale, che premia nel tempo solo quelle mutazioni (e di conseguenza i soggetti che le manifestano) dimostratesi vincenti in un determinato contesto ambientale. Di per sé, il sistema alla base dei rapporti tra individui è quindi competitivo ed essenzialmente egoista: se possiedo risorse genetiche che mi permettono di ottenere un vantaggio adattativo, sarò selezionato; avrò maggiore successo riproduttivo rispetto ad altri e riuscirò quindi a trasmettere i miei geni alla generazione successiva. Alla fine, se guardiamo al processo dal punto di vista dei geni, la vita non è altro che la lotta per riuscire a replicarsi attraverso le generazioni, portando al successo la propria specifica variazione.

Il comportamento che ne deriva è senz'altro l'egoismo individuale, osservabile in numerosissime specie animali. *Mors tua vita mea*. Tuttavia è evidente a tutti i naturalisti che molte di queste hanno sviluppato nel tempo



complessi sistemi di cooperazione per affrontare meglio le dinamiche della sopravvivenza, innestando la propria esistenza sulla griglia di strutture sociali. Non si compete, ma si collabora tra individui all'interno del proprio gruppo per sopravvivere, in contrasto con altri gruppi. A questo si ascrive lo straordinario successo della specie *Homo sapiens*, certamente non dotata di altre particolari caratteristiche fisiche, quali notevoli forza o velocità. L'egoismo si è quindi spostato dalla dimensione del singolo individuo a quella del gruppo o è stato effettivamente soppiantato dal comportamento sociale cooperativo? Le ricerche biologiche sull'altruismo ci interessano in questa sede perché hanno permesso di definire un modello della cooperazione, sulla base del quale si profilano diversi tipi o «qualità» di altruismo: la forma più rudimentale è quella dell'egoismo mascherato, dove si coopera con altri solo ai fini del proprio vantaggio personale, raggiunto in modo indiretto. Segue il mutualismo, dove due o più individui cooperano aspettandosi qualcosa in cambio l'uno dall'altro, in questo caso in modo diretto, movente esplicito che sostiene l'attività stessa della cooperazione. La simbiosi è una forma naturale di questa interazione. Esiste infine la forma più alta di altruismo, quello che potremmo definire «puro», privo di reciprocità, dove si compie un'azione in favore di un altro individuo senza aspettarsi alcunché in cambio, tanto in forma diretta che indiretta<sup>3</sup>. È questo, molto spesso ma non sempre, il tipo di altruismo che si configura in ambito umano e nella medicina dei trapianti, relativa alla donazione di un organo o di una parte materiale del corpo, inclusi i geni e le cellule, per favorire la vita di un'altra persona altrimenti condannata.

Il realizzarsi della donazione biologica gratuita anche a fronte di rischi personali (più o meno importanti: donare il sangue è un conto, donare un rene un altro) è un'azione umana nobile, frequente nell'ambito della medicina rigenerativa, che trasforma – in una sorta di deliziosa catarsi – le entità massimamente egoiste e individualiste, i geni, in latori di generosità e altruismo, andando a innestarsi in un malato per curarlo. *Vita tua vita mea*. Il dono di materiale biologico non è un atto scontato e presenta risvolti molto interessanti per le numerose ripercussioni filosofiche e sociali che ne conseguono, anche in virtù della natura e delle possibilità di manipolazione cui si presta il materiale di partenza. Vediamo quali casi si configurano più specificamente nel campo della medicina rigenerativa, e a quali conseguenze portano dal punto di vista etico e giurisprudenziale.

Le cellule derivate da un donatore esterno, come avviene per il midollo osseo e in seguito al trapianto di organi, assommano problemi legati alla proprietà del corpo o dei suoi componenti, secondo un criterio elementare: il corpo è mio e ne dispongo in via esclusiva. Questi problemi non sussistono o sono molto meno rilevanti quando il donatore è anonimo, cioè nel caso in cui le cellule provengano da una banca<sup>4</sup> e siano lì conservate in conseguenza di

un atto di generosità da parte di un soggetto sano che spera così di aiutare il prossimo, senza attendersi nemmeno un «grazie» da qualcuno che non conoscerà mai la sua identità.

Diverso è il caso in cui le cellule, donate alla ricerca, vengono successivamente trasformate in un prodotto commerciale, grazie al quale una *company* potrebbe generare dei profitti. Qualche anno fa un libro dell'autrice americana Rebecca Skloot ha portato all'attenzione del pubblico il caso di Henrietta Lacks<sup>5</sup>, afro-americana nata in Virginia nel 1920. La donna aveva iniziato molto presto a lavorare nelle piantagioni di tabacco, ricevendo negli Stati Uniti della segregazione un'assistenza medica di infimo livello. Nel gennaio del 1951, a qualche mese dalla nascita del suo sesto e ultimo figlio, in seguito alla quale aveva subito una grave emorragia, fu costretta a recarsi all'ospedale Johns Hopkins di Baltimora, l'unico della regione che all'epoca accettasse i neri. Accusava intensi e continui dolori all'addome, nel quale sentiva peraltro una specie di «nodo», come lo descrisse ai medici che la presero in cura. Le venne diagnosticato un carcinoma e morì qualche mese dopo, nel novembre dello stesso anno, alla giovane età di 31 anni.

Da una biopsia del tumore di Henrietta furono isolate da un ricercatore, George Otto Gey, delle cellule cancerose che, ci si accorse molto presto, avevano la caratteristica di dividersi e moltiplicarsi a un'altissima frequenza, così da permettere di effettuare test e osservazioni sperimentali e di poterle propagare in coltura in modo praticamente infinito. Ben presto le cellule di Henrietta divennero note nell'ambiente scientifico con il nome di HeLa (dalle iniziali del nome della paziente), e vennero soprannominate «immortali», proprio sulla base della loro insolita resistenza.

All'epoca nessuno dei medici pensò che fosse necessario informare i familiari dell'attività scientifica in corso, non solo per questioni razziali, o per la scarsa consapevolezza etica di quel tipo di operazioni al tempo; il fatto è che le implicazioni commerciali dell'operazione non furono immediatamente ovvie agli stessi ricercatori. Non molti anni dopo, però, le HeLa iniziarono a essere vendute e usate in tutto il mondo come primo modello cellulare a permettere di studiare il comportamento delle cellule tumorali in coltura. In seguito alle indagini della Skloot la storia venne portata alla luce, raggiungendo il grande pubblico sull'onda del successo di vendite del libro, diventato ben presto un bestseller. Alla fine di questa vicenda, la famiglia ricevette finalmente un indennizzo economico.

La questione delle HeLa apre un'ampia serie di problematiche, che vanno ben oltre il fatto – esecrabile – che i parenti di Henrietta non fossero stati informati del prelievo delle cellule. In questo caso, infatti, non si trattava di un dono ma di un vero e proprio furto. Da molti anni ciò non accade più: il paziente deve accettare una richiesta e firmare un «consenso informato» alla donazione. Rimangono però criticità importanti circa il valore intrinseco o

commerciale del dono, la sua reversibilità, e le sue conseguenze non prevedibili. Andiamo con ordine. Un tumore, una volta rimosso dal corpo del paziente, viene distrutto e di per sé è un composto organico che non ha alcun valore. Accade tuttavia, anche se molto raramente, che i prodotti biologici derivati da materiale inizialmente privo di utilità acquistino un valore commerciale, ad esempio perché presentano una rara mutazione che permette di studiare fenomeni non altrimenti analizzabili. In questo caso, il paziente non sa – e anche il medico molto spesso non può prevedere – che un tessuto biologico, donato per aiutare la ricerca, si possa trasformare in una fonte di reddito. Ma il donatore ha o no diritto di accedere a questo profitto?

Oggi le cellule staminali riprogrammate possono essere ottenute da molte sorgenti, alcune insospettabili: si possono derivare, ad esempio, da un piccolo campione di urina, che tutti produciamo e che generalmente viene subito gettata via. Eppure anche questa, se donata, potrebbe essere utile ai fini della medicina. Le cellule staminali emopoietiche, invece, si ottengono o tramite donazione di sangue, che necessita perlomeno di un ago in vena e di un controllo medico, o di midollo osseo, che comporta un intervento più lungo anche se oggi minimamente invasivo. Infine, se dalle cellule ci spostiamo agli organi, è evidente che donare un rene è un'operazione molto più delicata, che richiede un intervento chirurgico e soprattutto la rimozione di un organo vitale, esponendo quindi il donatore a un rischio per la sua salute, qualora il rene residuo dovesse subire un danno. In tutti questi casi, la cosa importante è che il donatore sia ben consapevole del valore della sua donazione e delle condizioni che la regolano.

Rispetto al partecipante di un trial clinico, che come abbiamo visto può decidere di ritirarsi in qualsiasi momento, la situazione del donatore presenta alcune caratteristiche peculiari. Innanzitutto, il dono è un atto irreversibile, salvo non venga chiarito prima che chi lo riceve deve attenersi a certe regole ben precise, stabilite a priori dal donatore (tipici i casi in cui, per godere dell'eredità, il beneficiario deve osservare una o più condizioni stabilite dal defunto), pena la perdita del dono stesso. Ora, se ci limitiamo al campione di urina, è difficile pensare che qualcuno possa volerlo indietro. Immaginiamo invece che il donatore di un rene cambi idea all'improvviso. Quest'azione comporterebbe la morte del ricevente e potrebbe configurare gli estremi di un omicidio preterintenzionale. Se ti salvo mentre stai cadendo da un ponte, l'azione non mi dà poi il diritto di buttarti giù perché nel frattempo ho cambiato idea. Se invece ti dono delle cellule che potrebbero aiutarti nella battaglia contro una certa malattia, non posso cambiare idea a metà strada, mentre le cellule sono preparate per il trapianto, perché arrecherei un danno al ricevente senza ottenere alcun vantaggio per me. Dopo l'intervento, inoltre, l'azione diviene tecnicamente impossibile, qualora volessimo indietro le nostre cellule: una volta trapiantate, esse si integrano nei tessuti del ricevente,

da cui non possono più essere rimosse.

Tuttavia potrebbe verificarsi il caso, come fu per Henrietta Lacks, che le cellule prelevate si trasformino in un prodotto commerciale. Nel 1990 il signor John Moore fece causa allo Stato della California, peraltro innescando una complessa vicenda giudiziaria che alla fine lo vide perdente, nel tentativo di ottenere una parte dei profitti scaturiti dalla vendita di una linea cellulare derivata dalla sua milza, rimossa come parte del trattamento per la leucemia che lo aveva colpito nel 1976<sup>6</sup>. A differenza di Henrietta Lacks, però, il signor Moore aveva volontariamente donato la milza alla ricerca, come fa la stragrande maggioranza dei pazienti colpiti da questa patologia; fatta salva la nobiltà del gesto iniziale, certo encomiabile, il signor Moore non aveva in sostanza fatto nulla di speciale, e non aveva portato alcun contributo intellettuale alla realizzazione del prodotto commerciale (la linea cellulare), che fu possibile preparare solo grazie alle conoscenze scientifiche dei ricercatori – anche se i giudici riconobbero che i medici non lo avevano informato del successivo sviluppo commerciale. Ciò che conta è che la differenza tra i due casi consisteva nel consenso informato che il signor Moore aveva firmato, rinunciando a ogni diritto sull'uso susseguente della sua milza.

L'esempio mette bene in evidenza come in alcune situazioni particolari si possano creare conflitti tra chi si occupa di medicina rigenerativa e i donatori, i pazienti e la società con le sue istituzioni. Tuttavia, lo ripeto, nella stragrande maggioranza dei casi le cellule servono solo per un fine terapeutico e non diventano un prodotto commerciale.

Esaminiamo ora il caso in cui il donatore sia un parente del malato, circostanza frequente in virtù dell'alta probabilità che fra consanguinei ci sia una compatibilità immunologica. Non è trascurabile il peso del condizionamento sociale: il paziente, la famiglia, gli amici si aspettano che il parente-donatore sia felice di concedere le proprie cellule, o un organo, per salvare o almeno provare a salvare la vita di una persona cara. In questo caso la libertà di scelta se donare o no è significativamente influenzata dalla pressione che il potenziale donatore subisce, e al biasimo cui inevitabilmente andrebbe incontro qualora si rifiutasse. Per evitare che queste situazioni di forte stretta sociale, stress e ambiguità si verifichino, è cruciale che una cultura medico-scientifica venga impartita soprattutto nelle scuole in modo che, già da una tenera età, i bambini siano educati al valore civile del dono, crescendo come adulti generosi<sup>7</sup>.

\*\*\*

Siamo partiti dalle chele dei granchi per arrivare all'uomo di domani, a metà tra scienza e fantascienza. Vorrei augurare a voi e a me che la medicina rigenerativa possa passare da esercizio di pochi eletti a realtà clinica consolidata, senza distruggere l'economia dei sistemi sanitari nazionali. Senza alcuna pretesa di avere tutti gli elementi necessari per una saggia decisione, suggerisco quanto segue: 1) che i ricercatori e i medici possano continuare a perseguire efficacia e sicurezza delle sperimentazioni liberandosi, per quanto possibile, dalle feroci leggi del profitto; 2) che i responsabili degli enti regolatori si sforzino di trovare l'equilibrio ottimale tra normative, tempo di realizzazione e costi, in modo da garantire la tutela dei pazienti e la sicurezza delle sperimentazioni senza far schizzare alle stelle i loro prezzi e quelli delle eventuali terapie, in tempi che devono necessariamente essere più rapidi rispetto alla media attuale; 3) che si diffonda nella popolazione, e non solo in quella dei pazienti, una maggiore conoscenza di queste tematiche e una più generale cultura medico-scientifica.

La lunga navigazione che abbiamo intrapreso in questo libro è giunta alla conclusione, senza approdare ad alcun porto sicuro: credo di avervi sommersi di dubbi, domande e problemi, nessuno dei quali lascia intravedere una soluzione netta. Tuttavia, se qualcuno di questi dubbi lo avrete fatto vostro, magari interpretandolo da un diverso punto di vista o sviluppandolo in una nuova direzione, che vi renda più consapevoli di cosa ci aspetta nel futuro, è certo valsa la fatica di scriverlo.

---

<sup>1</sup> *A Timeline of the Daniel Hauser Case*, in «Pioneer Press», 22 maggio 2009. Cfr. [https://www.twincities.com/...](https://www.twincities.com/)

<sup>2</sup> J. Pieters, *Father Can't Force Son, 12, To Undergo Chemotherapy: Appeals Court*, in «NL Times», 11 luglio 2017. Cfr. [https://nltimes.nl/...](https://nltimes.nl/)

<sup>3</sup> Per approfondire questi argomenti rimando ai testi del filosofo della scienza ed evoluzionista Telmo Pievani, autore di una meritoria opera di divulgazione sulle sfaccettature e le ricadute etico-filosofiche della teoria di Darwin, soprattutto in relazione ad alcuni comuni fraintendimenti o semplificazioni con cui essa è generalmente recepita. Cfr. T. Pievani, *Biologia dell'altruismo*, in «MicroMega», n. 7, 2010, pp. 45-63.

<sup>4</sup> Una banca cellulare è un luogo fisico (con una o più sedi) dove sono conservati, di solito congelati, campioni biologici come cellule, sangue o altri tessuti, spermatozoi e uova, disponibili per pazienti che ne abbiano necessità o anche per ricercatori che ne abbiano giustificato bisogno.

<sup>5</sup> R. Skloot, *La vita immortale di Henrietta Lacks*, Milano, Adelphi, 2011.

<sup>6</sup> C.A. Erin, *Who Owns Me? Using Historical Entitlement Theory to Decide the Ownership of Human-derived Cell Lines*, in A. Dyson, J. Harris (a cura di), *Ethics and Biotechnology*, London-New York, Routledge, 1994, pp. 157-178.

<sup>7</sup> Per approfondire queste tematiche, molto complesse e in questo volume solo brevemente accennate nelle loro linee generali, consiglio di leggere il bel libro *Il dono delle donazioni. Una prospettiva bioetica* (Padova, Il Poligrafo, 2015), scritto da Giovanni Spitale, che ancora ragazzo attendeva quel dono nella speranza di sfuggire a un'aplasia midollare, una malattia del sangue in cui il midollo osseo arresta la sua attività e smette di produrre la parte corpuscolata del sangue.

## Ringraziamenti

Vorrei ringraziare Silvia Bencivelli, Emanuela Minnai, Ottavio Di Brizzi e Nicola Giacobbo che mi hanno incoraggiato, consigliato e aiutato nella stesura, come necessario per un autore al suo primo libro.

Molto di quanto ho scritto è il risultato di discussioni con colleghi e amici, tra cui in particolare Michele De Luca che ha letto il manoscritto, e Paolo Bianco che lo avrebbe sottoposto alla sua *vis* critica se solo non fosse scomparso troppo presto. Ringrazio anche tutti i colleghi che hanno acconsentito a essere citati e a volte hanno corretto alcune inesattezze del testo. Tra questi, un ringraziamento speciale va a Fabio Ciceri che, con alterna fortuna, ha provato a insegnarmi di nuovo cos'è la medicina.

Un ringraziamento particolare ai colleghi della Lancet Commission, da cui ho imparato tanto, soprattutto sulle tematiche economiche, etiche e relative alla comunicazione. Tra questi vorrei ricordare in particolare Tracey Brown, Julian Hitchcock, Jonathan Montgomery, Steve Morris e James Wilson.

Tabella 1. Principali caratteristiche delle cellule staminali per tipologia

	Adulte	Embrionali	Riprogrammate
Origine	Tessuti adulti	Embrione pre-impianto	Tessuti adulti
Potenzialità differenziativa	Cellule del tessuto di origine	Pluripotenza	Pluripotenza
Potenzialità proliferativa	Variabile a seconda del tessuto	Illimitata	Illimitata
Rischio oncogenetico	Minimo	Elevato	Elevato
Rischio immunologico	Presente (eccetto trapianto autologo)	Presente (eccetto siti immunologicamente privilegiati)	Assente
Problemi etici	Assenti	Presenti	Assenti

[Torna al testo](#)

Tabella 2. Principali caratteristiche dei vettori virali attualmente in uso nella terapia genica

Vettore	Virus di origine	Genoma	Capacità	Integrazione nel genoma ospite	Mutagenesi inserzionale	Risposta immune	Uso corrente
Av (Adenoviral Vectors)	Adenovirus	Dna	≤ 30 Kb	No	No	Forte	Oncologia
Aav (Adeno-associated Vectors)	Adeno-associato	Dna	≤ 5 Kb	No	No	Media	<i>In vivo</i>
Rv	Retrovirus	Rna	≤ 8 Kb	In regioni attive	Rischio elevato	No	<i>Ex vivo</i>
Lv	Lentivirus	Rna	≤ 8 Kb	Casuale	Rischio modesto	No	<i>Ex vivo</i>

[Torna al testo](#)

# Indice

Abstract - Autore	2
Frontespizio	3
Copyright	4
Esergo	8
<b>Introduzione</b>	<b>9</b>
Un salto di paradigma	10
Terapia cellulare e genica	14
Cosa non è la medicina rigenerativa	19
«Forever young»?	22
Un testimone privilegiato	25
<b>1. Alla ricerca di una cura (im)possibile. Una vita al microscopio</b>	<b>29</b>
Quadrare la sfera	29
Inizi ormai lontani	32
L'incontro con le staminali	38
Nuove strade di ricerca	41
La scoperta dei topi blu	44
La «stagione buona»	48
L'affaire Francis	52
Finalmente Manchester	56
<b>2. Discendenti di Prometeo. Dalla rigenerazione alle cellule staminali</b>	<b>62</b>
Il materiale e l'immaginario	63
Chiedi alle cellule	67
Le prime osservazioni settecentesche	68
Altri casi di rigenerazione animale	71
Dall'osservazione zoologica alla medicina	72
«Stammzelle», le cellule staminali	74
Cellule che curano cellule	77
Le trasfusioni di sangue	79
Il trapianto di midollo osseo	80
Dal sangue ad altri tessuti	82



Le ustioni gravi e i trapianti di epidermide	84
<b>3. Una, nessuna, centomila. Successi e speranze della terapia cellulare</b>	<b>89</b>
Staminali embrionali e riprogrammate	89
Il morbo di Parkinson: i primi trapianti	95
La distrofia muscolare: tanti approcci diversi	97
I primi trapianti cellulari per la distrofia e perché non funzionarono	98
Mesoangioblasti: dai modelli animali alla sperimentazione sull'uomo	101
Non c'è un piano B	104
L'infarto del miocardio. Dimensione diversa, analogo risultato	105
Provando e riprovando, alla fine dovrà funzionare!	106
Il trapianto di cornea: quando i conti tornano	109
<b>4. Il gene altruista. La verità sulla terapia genica</b>	<b>113</b>
Questioni di codice	113
Virus per la terapia genica	116
Curare le immunodeficienze congenite	117
Ada	117
Scid-X1	119
Un altro evento fatale a Filadelfia	123
I geni e la distrofia muscolare	124
Emofilie e talassemie: una speranza di guarigione imminente	128
Le malattie lisosomiali: i nuovi traguardi della terapia genica	129
L'epidermolisi bollosa: un successo italiano	133
<b>5. Una scienza di frontiera. La medicina rigenerativa di domani</b>	<b>138</b>
«Unicuique suum». Le terapie personalizzate	140
Ingegneria dei tessuti: la pelle che abitiamo	142
Gli organoidi: avatar in miniatura	147
Fabbricare le cellule in laboratorio	149
Bistecche a prova di vegano	151
«De humani corporis fabrica». Costruire o curare embrioni umani	153
Il «genome editing»	158
La fonte dell'eterna giovinezza	160

6. Le lumache di Voltaire. Divulgare, spiegare e coinvolgere	166
Siamo davvero usciti dal Medioevo?	166
Lo stato dell'arte in Italia	169
Saper divulgare. Il giornalismo scientifico sui media generalisti	171
Il mondo delle riviste scientifiche. Quando risultati certi si trasformano in «fake news»	173
L'avvento di Photoshop e l'etica delle pubblicazioni	174
Come affrontare il problema?	175
Accuse anonime e crisi della percezione della scienza	176
L'inchiesta: un processo etico?	178
Esiste una soluzione?	179
A caccia di profitti. Soldi e sanità	180
Il caso Glybera	181
Malattie molto o poco rare?	183
«I capitalisti non dovrebbero mai avvicinarsi ai sistemi sanitari pubblici»	186
Cliniche private: istruzioni per l'uso	188
La novità del caso Vannoni in Italia	191
Come evitare nuove Stamina?	194
L'educazione scientifica nelle scuole	195
Pragmatismo versus idealismo	196
Non siamo soli: la crisi delle università nord-europee	197
Insegnare la medicina rigenerativa	199
Un'altra medicina è possibile	203
Il «problema» della scelta	203
«Vita tua vita mea»	208
Ringraziamenti	214