

Dammi i geni che li cambio

di **GIANNA MILANO**

MODENA. Uscita Nord dell'autostrada. L'edificio di tre piani con un involucro a "pelle di giraffa", inaugurato dieci anni fa, accoglie il Centro di medicina rigenerativa Stefano Ferrari, il polo più avanzato, a livello mondiale, di ricerca e terapie con cellule staminali adulte. L'ultimo eccezionale risultato lo hanno ottenuto su Hassan, un bimbo siriano che oggi ha 9 anni, con una malattia rara, la sindrome dei bambini farfalla o epidermolisi bollosa: un difetto genetico della pelle causa il distacco dello strato superficiale, l'epidermide, da quello profondo, il derma. La pelle è fragile e si formano bolle che si lacerano. «Una condizione devastante che non dava speranza di sopravvivenza ad Hassan, tenuto in coma farmacologico», racconta Michele De Luca, che dirige il Centro. «Utilizzando la terapia genica abbiamo inserito un gene sano nelle staminali ricavate con una biopsia dalla sua epidermide e le abbiamo fatte crescere in laboratorio fino a ottenere lembi di pelle grandi abbastanza da essere applicati su arti, schiena, e le altre parti del corpo. Le staminali geneticamente corrette hanno consentito il rinnovo della sua pelle e, a distanza di due anni, Hassan sta bene».

Ha fatto il giro del mondo la storia del bambino "dalla pelle nuova" - pubblicata su Nature - che unisce la terapia genica a quella cellulare. Il successo apre la

strada alla cura di altre malattie dermatologiche rare. E si aggiunge a un altro primato: nel 2015 Michele De Luca e Graziella Pellegrini, coordinatrice per la terapia cellulare del Centro di Modena, pionieri della tecnica che rigenera con le staminali epiteliali la cornea danneggiata da traumi, ustioni chimiche e infezioni, hanno registrato per la prima volta al mondo come "farmaco" il loro trattamento. Si chiama Holoclar, ed è nato da uno spin-off, la Holostem Terapie Avanzate, che ha come soci i ricercatori, l'Università di Modena e Reggio Emilia e la Chiesi Farmaceutici di Parma, che lo ha registrato. Centinaia le persone che hanno così recuperato la vista, tre gli ospedali certificati in Italia che usano la tecnica e oltre venti quelli in Europa.

Se il secolo scorso lo si può definire "il secolo della fisica", che cerca di far luce sulla materia del cosmo, quello attuale passerà alla storia per "il secolo della biologia". Dalla rivoluzione, promessa e

attuata, delle cellule staminali somatiche - che è possibile riprogrammare perché abbiano le potenzialità di quelle embrionali - alla terapia genica, e al genome editing. «Le conquiste delle tecnologie applicate alla materia vivente sono a ritmo serrato. La biologia sta cambiando la percezione che abbiamo di noi stessi», dice Silvia Garagna, biologa dello sviluppo all'Università di Pavia. Nel maggio 2016, un anno dopo Holoclar, l'Agenzia europea per i medicinali (Ema) ha approvato come "farmaco" Strimvelis, terapia genica sviluppata al San Raffaele Telethon di Milano (Tiget). È l'industria farmaceutica Gsk ad aver finanziato l'iter per commercializzare il trattamento che cura una rara forma di immunodeficienza, nota con l'acronimo Ada-Scid (una quindicina l'anno i casi in Europa). Per colpa di un gene "sbagliato", quello per l'enzima adenosina deaminasi, i piccoli con questa anomalia devono vivere in un ambiente asettico per- ➤

Gli interventi sugli organismi di base sono diventati prassi. Con grandi risultati terapeutici. Ma si va ben oltre la medicina

➤ ché ogni infezione diventa fatale. Li chiamano "bambini bolla".

Prima al mondo a ricevere Strimvelis è stata il marzo 2017 Shana. «Sono cinque finora i bambini trattati e altri sono in programma», dice Alessandro Aiuti, vice direttore dell'Istituto San Raffaele Telethon per la terapia genica. «Isoliamo dal midollo osseo le cellule staminali, poi le ingegnerizziamo in laboratorio inserendo con un virus la copia sana del gene, capace di produrre l'enzima normale. Dopo cinque giorni le cellule sono reinfuse nel piccolo paziente, prima sottoposto a chemioterapia per eliminare le cellule malate e favorire l'attecchimento di quelle nuove». È Molmed, la società di biotecnologie mediche fondata al San Raffaele nel 1996, che provvede alla correzione genica delle cellule per l'infusione. Le malattie rare conosciute sono oltre seimila, patologie per lo più prive di terapie, e l'80 per cento è di origine genetica. E in futuro la terapia genica potrebbe estendere il suo campo di azione a malattie del sangue comuni, come talassemia o anemia mediterranea (si correggono le staminali perché producano globuli rossi con l'emoglobina normale) ed emofilia (si inietta un virus modificato affinché il fegato produca i fattori della coagulazione).

In ottobre 2017 la Food and Drug Administration (Fda) ha approvato Yescarta, altra terapia genica che utilizza il sistema immunitario dei malati per combattere forme aggressive di tumore del sangue, come il linfoma non-Hodgkin. Yescarta, sviluppata dal National Cancer Institute dal team di Steven Rosenberg, pioniere delle terapie immunitarie contro il cancro, è commercializzata dalla Gilead. Due mesi prima, in agosto 2017, sempre la

Dolly e i suoi fratelli

La possibilità di clonare, ossia di duplicare esseri viventi biologicamente uguali, non dovrebbe coglierci di sorpresa perché i primi tentativi partono da lontano.

1938 H. Spemann propone un esperimento di trasferimento nucleare di una cellula somatica in una cellula uovo privata del nucleo: si può considerare l'inventore della tecnica della clonazione.

1952 I biologi R. Briggs e T. King mettono

in pratica l'esperimento proposto da Spemann e impiantano i nuclei di cellule embrionali di rana in cellule uovo enucleate: nascono girini.

1962 J. Gurdon preleva nuclei di cellule differenziate dell'intestino di girini di *Xenopus laevis* trasferendoli in cellule uovo enucleate, ottenendo rane fertili.

1981 P. Hoppe e K. Illmensee riferiscono di aver ottenuto topolini con il trasferimento di nuclei di cellule embrionali allo stadio di blastocisti in

Fda ha dato il benestare a un'altra terapia genica (Kymriah) della Novartis per le leucemie acute di bambini e giovani adulti: 400 mila euro per un'unica somministrazione. Yescarta e Kymriah, si basano su una tecnica complessa nota come Car-T, che significa Chimeric Antigen T-Cell-Receptor. «Non si "riparano" i geni difettosi causa del cancro, ma si trasformano le cellule immunitarie, i linfociti T, filtrati dal sangue e ingegnerizzati perché riconoscano e neutralizzino le cellule tumorali, in un farmaco», spiega Chiara Bonini, vicedirettrice della divisione di immunologia e capo unità di ematologia sperimentale al San Raffaele di Milano. A febbraio, al Bambino Gesù di Roma, l'oncoematologo Franco Locatelli ha usato su un bimbo di tre anni un'altra versione di terapia genica Car-T: con un vettore virale ha inserito nei linfociti un gene per riconoscere le cellule tumorali, e un secondo gene "suicida"

per innescare l'autodistruzione delle cellule ingegnerizzate se la risposta fosse andata fuori controllo.

Grandi speranze sono riposte oggi nel genome editing, reso possibile da una tecnica nota come Crispr-Cas9, l'acronimo sta per Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats. L'hanno messa a punto Jennifer Doudna ed Emmanuelle Charpentier dell'Università della California, a Berkeley, sancendo l'inizio di una nuova era per la ricerca biomolecolare. Crispr-Cas9 consente di intervenire sul genoma anche umano disattivando geni "difettosi", eliminando singole porzioni di Dna e sostituendole con sequenze nuove. La tecnica consente di superare gli ostacoli che finora avevano reso difficile alla terapia genica di passare dalla fase sperimentale alla applicazione clinica. «Permette di fare tutto ciò che si faceva già da almeno quarant'anni nell'ambito della ingegneria genetica, ma con una precisione ed efficienza (oltre ai costi molto ridotti) finora inattuabili», afferma Demetrio Neri, docente di bioetica all'Università di Messina. «E si potrebbe estendere anche alla linea genetica ereditaria: con interventi sui gameti, spermatozoi e cellule uovo, o, più verosimilmente, su embrioni in fase precoce, per far nascere bambini privi della malattia la cui radice genetica è stata corretta.

**Dove nascerà il primo
bambino modificato
in fase embrionale?
Probabilmente in Cina.
O forse in Italia**

oociti privati del nucleo.

1987 N. First dimostra di aver ottenuto vitelli a partire da cellule embrionali della blastocisti, le stesse utilizzate da Hoppe e Illmensee.

1996 All'Istituto Roslin di Edimburgo nasce la pecora Dolly, primo mammifero a essere clonato. Ian Wilmut trasferisce il nucleo di una cellula somatica in un ovocita non fecondato e privato del nucleo: embrione poi impiantato in una madre surrogata. Con Dolly si sovverte un dogma biologico: il differenziamento delle cellule non è irreversibile.

1998 R. Yanagimachi clona un topo, Cumulina, che a differenza di Dolly ha

presto compagnia. I ricercatori clonano altri topi, e creano anche il primo clone di un clone.

1999 Grazie alla clonazione con trasferimento nucleare, come per Dolly, nasce Galileo, un toro. E quattro anni dopo arriva la prima cavalla a essere clonata con la stessa tecnica. Creatore di entrambi è Cesare Galli dell'Università di Bologna.

2000 in Corea viene interrotto lo sviluppo di embrioni umani ai primi stadi dello sviluppo. Nasce Tetra la scimmia clonata con l'embryo splitting.

2004 Prima volta di un animale

domestico clonato su ordinazione: un gatto.

2005 all'arca di Noè degli animali clonati si aggiunge Snuppy, un cucciolo di afghano maschio, partorito da una madre surrogata di razza Labrador. Il "padre" è lo scienziato sudcoreano Hwang Woo Suk.

2018 All'Institute of Neuroscience di Shanghai clonano con la tecnica di Dolly due macachi. A differenza di altri mammiferi con le scimmie ogni tentativo era fallito. I ricercatori li hanno riattivati con "interruttori" molecolari creati ad hoc, aggiunti dopo il trasferimento del nucleo. **G.M.**

Bambini "sani" non "perfetti" o "su misura" per colore di occhi o altro».

Dove nascerà il primo bambino geneticamente modificato in fase embrionale? Forse in Cina, suggerisce qualcuno, o forse in Gran Bretagna dove la sperimentazione sugli embrioni è consolidata. O in Italia, suggerisce Giuseppe Testa, che dirige il Laboratorio di Epigenetica delle cellule staminali all'Istituto Europeo di oncologia di Milano. «La legge 40 per la procreazione assistita pur vietando la sperimentazione sugli embrioni umani, ne promuove in modo esplicito la modificazione genetica per tutelarne la salute, cioè per finalità diagnostiche e terapeutiche. Non così la Convenzione di Oviedo del Consiglio di Europa, di cui ricorre quest'anno il ventennale che l'Italia non ha mai ratificato. Un paradosso». L'arma a colpo sicuro, Crispr-Cas9, va perfezionandosi con rapidità. L'ottobre scorso negli Usa due gruppi di ricerca, del Mit e Harvard University, hanno adattato la tecnica per modificare le singole "lettere" o basi del Dna invece di intervenire sull'intero gene. E a gennaio una ricerca del Centre for Integrative Biology (Cibio) dell'Università di Trento ha reso più precisa la tecnica. «La nostra variante si chiama evoCas9 e taglia il Dna nel punto esatto in cui si vuole intervenire, con meno effetti collaterali. È coperta da brevetto e stiamo pensando a uno spin-off», dice Anna Cereseto, che firma lo studio su Nature Biotechnology.

L'editing del genoma, con Crispr-Cas9 o altre tecniche, può rivelarsi utile per creare modelli animali di malattie dell'uomo. Questo l'obiettivo della recente clonazione di due macachi, ottenuta da biologi dell'Institute of Neuroscience (Ion) di Shanghai: i tentativi di clonare primati erano sinora falliti. «Con il genome editing si potranno sviluppare embrioni di primati con malattie del cervello come il Parkinson», ha detto Moo-Ming Poo, direttore dell'istituto di Shanghai. Dai cloni alle chimere. Se un anno fa, a gennaio, i ricercatori del Salk Institute of Biological Studies hanno sviluppato un embrione chimerico con cellule umane e di maiale, in questi giorni i ricercatori dell'Università della California a Davis hanno annunciato di aver fatto la stessa cosa con una pecora. E sempre con l'editing del genoma si potranno ottenere animali con organi geneticamente compatibili per l'uomo. Con tutti i dubbi etici che ciò solleva. E l'esigenza di un confine che la biologia molecolare dagli anni '70 in poi, quando le tecniche di Dna ricombinante diedero avvio alla manipolazione genetica, ha più volte sfidato e superato. Lontana nel tempo è la Conferenza di Asilomar del 1975 quando 140 biologi decisero quasi all'unanimità una moratoria per queste nuove tecniche, «in attesa di una verifica dei pericoli potenzialmente derivanti». ■

