

21. Marzo

Due uomini come genitori biologici?



L'impresa più difficile dell'essere genitori è lasciare che le nostre speranze per i figli abbiano la meglio sulle nostre paure.

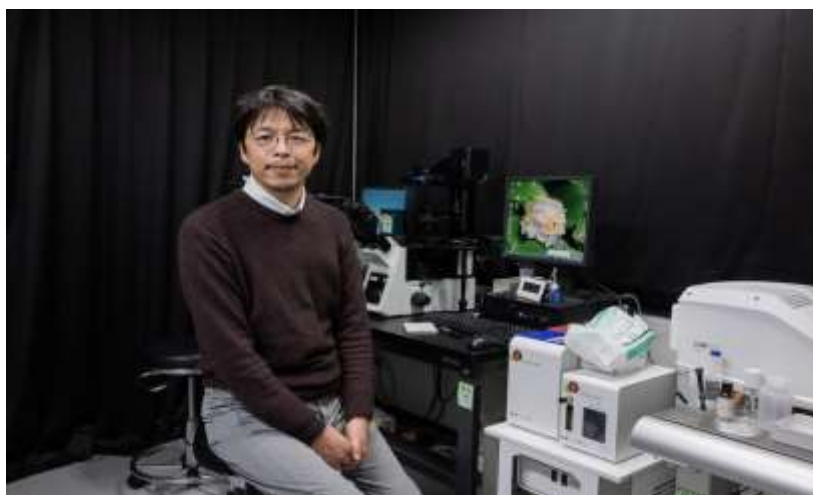
Ellen Godman

La scorsa settimana, come avevamo anticipato su **Badeker** era stato annunciato al vertice sull'editing del genoma a Londra che topi sani erano nati da **ovociti creati da cellule di topo maschio**.



Il risultato, riportato da **Nature News**, ha dato una spinta all'idea che un giorno lo stesso potrebbe essere possibile con le cellule umane, che potrebbero aiutare le persone con infertilità o consentire a due uomini di diventare genitori biologici di un bambino.

Ieri, lo studio del team di **Katsuhiko Hayashi** del *Department of Stem Cell Biology and Medicine della School of Medical Sciences, dell'Università di Fukuoka,*



Generation of functional oocytes from male mice in vitro

è stato pubblicato il 15 marzo integralmente su **Nature**
Murakami K et al. Generation of functional oocytes from male mice in vitro. Nature. 2023 Mar 15.

In sintesi.

cellule staminali di embrioni di topo maschio o cellule della pelle di topi maschi adulti che sono state riprogrammate geneticamente nelle cosiddette cellule **staminali pluripotenti** indotte.

Entrambi i tipi di cellule staminali possono dare origine a cellule che formano quasi tutti i tessuti del corpo. Se coltivate a lungo, alcune di queste **cellule staminali maschili** perdono uno dei loro due cromosomi, quindi i ricercatori hanno scelto quelle che avevano perso il **cromosoma Y** e le hanno coltivate ancora più a lungo.

Alla fine, alcune di quelle cellule hanno duplicato il **cromosoma X** rimanente, trasformandosi in **cellule XX, o biologicamente femminili**.

Successivamente, i ricercatori hanno indotto queste **cellule staminali** a trasformarsi in **ovociti**, o coltivandole con **cellule ovariche**. Infine, il team ha fecondato gli **ovuli** con **spermatozoi** ha trasferito gli **embrioni** in **topi femmina**.

Dei **630 embrioni impiantati**, **sette** hanno dato origine a cuccioli di topi sani.

Questo basso tasso di successo, circa **l'1%**, è alla base della difficoltà della strategia e permangono dubbi sul fatto che una strategia simile possa funzionare con gli uomini umani.

La perplessità principale è che il lungo processo di coltura potrebbe portare a mutazioni genetiche indesiderate nelle cellule.

Per ora, i topi con due padri sembrano sani e normali.



Per saperne di più

Nel 2020, un team guidato dal biologo dello sviluppo **Katsuhiko Hayashi**, ha descritto i cambiamenti genetici necessari affinché le cellule maturino in uova in un piatto di laboratorio. E nel 2021, gli stessi ricercatori hanno dimostrato di poter ricostruire l'ambiente delle ovaie di topo per far crescere uova che producono una prole sana ³.

Con questi strumenti in mano, il **team Hayashi** ha intrapreso un progetto per creare uova utilizzando cellule prelevate da un topo maschio adulto che sono state riprogrammate per creare cellule staminali pluripotenti indotte simili a cellule staminali.

Il team ha coltivato queste cellule fino a quando alcune di esse hanno perso spontaneamente i loro cromosomi Y. (Come negli esseri umani, le cellule dei topi maschi contengono in genere un cromosoma X e uno Y.) Hanno quindi trattato le cellule con la **reversina**, che può promuovere errori nel modo in cui i cromosomi sono distribuiti durante la divisione cellulare, e hanno cercato le cellule che erano **cromosomicamente femminile, con due copie del cromosoma X**.

Da lì, il team ha fornito alle **cellule staminali pluripotenti** indotte i segnali genetici necessari per formare uova immature. Hanno quindi fecondato le uova usando lo sperma di topo e trasferito gli embrioni risultanti nell'utero di un topo femmina.

Il tasso di sopravvivenza era basso. Su 630 embrioni trasferiti, solo 7 si sono sviluppati in cuccioli. Ma i cuccioli sono cresciuti normalmente ed erano fertili da adulti,

La tecnica, attualmente, è molto lontana da qualsiasi tipo di applicazione medica. Ci sono grandi differenze tra un topo e l'essere umano. Tali differenze spesso complicano gli sforzi per tradurre le scoperte nella biologia riproduttiva e delle cellule staminali dai topi alla clinica.

In particolare, Hayashi afferma che il suo team dovrà caratterizzare attentamente i cuccioli dell'esperimento, per cercare eventuali differenze rispetto a quelli allevati con metodi convenzionali.

Fan Guo, un epigenetista dell' **Istituto di zoologia dell'Accademia cinese delle scienze di Pechino** ritiene che sarà interessante vedere se le modifiche chimiche "**epigenetiche**" del DNA che possono influenzare l'attività genica sono conservate correttamente nelle uova derivate da cellule maschili, I **segni epigenetici** sul DNA possono influenzare lo sviluppo della prole ben oltre lo stadio embrionale.

Un'altra preoccupazione è che l'esecuzione della stessa tecnica con le cellule umane potrebbe richiedere ai ricercatori di far crescere le cellule uovo in laboratorio più a lungo di quanto fosse necessario con le cellule di topo, afferma

Mitinori Saitou, *biologo dello sviluppo presso l'Università di Kyoto*



che ha collaborato con Hayashi al lavoro . *"Se il periodo di coltura si allunga, possono accumularsi anomalie sia genetiche che epigenetiche", "Più breve è, meglio è.*

Anche se l'approccio è fattibile negli esseri umani, i ricercatori dovranno renderlo più efficiente e pratico aumentando la percentuale di embrioni che generano prole.

Ma se questi ostacoli vengono superati, l'approccio di ingegneria cromosomica di Hayashi potrebbe un giorno fornire un trattamento per alcune forme di infertilità causate da condizioni cromosomiche sessuali come la *sindrome di Turner*, in cui le donne mancano di parte o di uno dei loro cromosomi X.

Il bioeticista **Tetsuya Ishii** dell'*Università di Hokkaido a Sapporo*



ritiene che le ramificazioni del lavoro di Hayashi potrebbero anche portare la riproduzione umana in un nuovo territorio inesplorato. Se applicata agli esseri umani, tale ricerca potrebbe aiutare le coppie maschili ad avere figli biologici insieme, con l'aiuto di madri surrogate, dice.

Suggerisce anche che *un uomo single potrebbe avere un figlio biologico, in un lontano futuro* (ma non ditelo a Salvini... ndr). Tali applicazioni richiederanno più del perfezionamento tecnico di un metodo biologico, ha affermato Hayashi, ma anche una discussione sociale più ampia sull'etica e le implicazioni della loro implementazione: *"Non so se questo tipo di tecnologia possa davvero adattarsi alla società umana"*.

Può essere "illuminante" leggere anche:

Li ZK et al. Y Generation of Bimaternal and Bipaternal Mice from Hypomethylated Haploid ESCs with Imprinting Region Deletions. Cell Stem Cell. 2018 Nov 1;23(5):665-676.e4.

La riproduzione unisessuale è diffusa tra i vertebrati inferiori, ma non nei mammiferi. La delezione della regione impressa H19 negli ovociti immaturi ha prodotto topi bimaternali con crescita difettosa; tuttavia, la riproduzione bipaternala non è stata precedentemente raggiunta nei mammiferi. Abbiamo scoperto che le cellule staminali embrionali aploidi (haESC) coltivate partenogenetiche e androgenetiche mostrano un'ipometilazione del DNA simile a quella delle cellule germinali primordiali. Attraverso l'iniezione di ovociti MII o la coiniezione di spermatozoi con ESC aploidi ipometilati che trasportano delezioni specifiche della regione impressa, abbiamo ottenuto topi bimaternali e bipaternali vivi. La delezione di 3 regioni impresse nelle ESC aploidi partenogenetiche ha ripristinato la normale crescita di topi bimaternali fertili, considerando che la delezione di 7 regioni impresse negli ESC aploidi androgenetici ha consentito la produzione di topi bipaternali vivi che sono morti poco dopo la nascita. Le analisi fenotipiche dell'organo e delle dimensioni del corpo di questi topi supportano la teoria del conflitto genetico dell'imprinting genomico. Presi insieme, i nostri risultati evidenziano i fattori necessari per attraversare le barriere di riproduzione dello stesso sesso nei mammiferi.

Hamazaki N et al. Reconstitution of the oocyte transcriptional network with transcription factors. Nature. 2021 Jan;589(7841):264-269.

Durante lo sviluppo della linea germinale femminile, gli ovociti diventano un tipo cellulare altamente specializzato e formano una riserva citoplasmatica materna di fattori cruciali. La crescita degli ovociti è innescata dalla transizione dal follicolo primordiale a quello primario ed è accompagnata da cambiamenti

dinamici nell'espressione genica 1, ma la rete di regolazione genica che controlla la crescita degli ovociti rimane sconosciuta. Qui identifichiamo una serie di fattori di trascrizione che sono sufficienti per innescare la crescita degli ovociti. Indagando i cambiamenti nell'espressione genica e lo screening funzionale utilizzando un sistema di sviluppo di ovociti di topo in vitro, abbiamo identificato otto fattori di trascrizione, ognuno dei quali era essenziale per la transizione dal follicolo primordiale a quello primario. In particolare, l'espressione forzata di questi fattori di trascrizione ha rapidamente convertito le cellule staminali pluripotenti in cellule simili a ovociti competenti per la fecondazione e la successiva scissione. Queste cellule simili a ovociti indotte dal fattore di trascrizione si sono formate senza specificazione di cellule germinali primordiali, riprogrammazione epigenetica o meiosi, e dimostrare che la crescita degli ovociti e la metilazione del DNA de novo specifica del lignaggio sono separabili dalla precedente riprogrammazione epigenetica nelle cellule germinali primordiali. Questo studio identifica un nucleo di fattori di trascrizione per orchestrare la crescita degli ovociti e fornisce una fonte alternativa di ooplasma, che è un materiale unico per la biologia riproduttiva e la medicina.

Yoshino T et al. [Generation of ovarian follicles from mouse pluripotent stem cells](#). *Science*. 2021 Jul 16;373(6552):eabe0237.

Gli ovociti maturano in una sacca speciale piena di liquido, il follicolo ovarico, che fornisce i segnali necessari per la meiosi e la crescita delle cellule germinali. Sono stati sviluppati metodi per generare ovociti funzionali da cellule simili a cellule germinali primordiali derivate da cellule staminali pluripotenti (PGCLC) quando poste in coltura con cellule somatiche ovariche embrionali. In questo studio, abbiamo sviluppato condizioni di coltura per ricreare il processo di differenziazione graduale da cellule pluripotenti a cellule simili a cellule somatiche ovariche fetali (FOSLC). Quando i FOSLC sono stati aggregati con PGCLC derivati da cellule staminali embrionali di topo, i PGCLC sono entrati nella meiosi per generare ovociti funzionali capaci di fecondazione e sviluppo per vivere la prole.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 21 marzo 2022

I tanti (troppi...) buchi neri del Covid lungo

Circa un quarto delle persone che hanno avuto la malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) manifesta sintomi che continuano per almeno 1 mese, ma una su dieci non sta ancora bene dopo 12 settimane. Questa condizione molto debilitante è stata definita dai gruppi di pazienti come "covid lungo", altrove chiamata post-COVID, mentre i pazienti sono spesso chiamati trasportatori a lungo raggio COVID-19. Il lungo COVID ha un grave impatto sulla capacità dei pazienti di tornare al lavoro o a scuola, ad avere una vita sociale e può avere conseguenze economiche significative per i pazienti, le loro famiglie e per la società. La condizione è caratterizzata da sequele a lungo termine e può comportare una gamma di circa 200 sintomi diversi e sovrapposti, come affaticamento persistente, dolore toracico e muscolare, mal di testa, mancanza di respiro, anosmia, debolezza muscolare, febbre, disfunzione cognitiva (nebbia cerebrale), tachicardia, disturbi intestinali e manifestazioni cutanee. Può colpire chiunque, ma le donne sembrano avere il doppio delle probabilità di sviluppare COVID a lungo rispetto agli uomini, ma solo fino all'età di circa 60 anni, quando il livello di rischio diventa simile.

Il lungo COVID è stato descritto [anche in pazienti pediatrici](#). Uno studio italiano ha riportato che almeno un sintomo persisteva 4 mesi dopo l'infezione da COVID-19 mentre un'analisi australiana ha suggerito che solo l'8% dei bambini aveva sintomi in corso 3-6 mesi dopo una lieve infezione da SARS-CoV-2. Nessuna differenza di genere è stata osservata nella prevalenza di COVID lungo in questa popolazione pediatrica. La lunga sindrome da COVID ha una "strana" somiglianza con le sindromi post-infettive che hanno seguito i focolai di chikungunya ed Ebola.

Quali sono i fattori responsabili di questa sindrome? Potrebbero essere tanti e diversi. Danno d'organo causato da un'eccessiva risposta infiammatoria attivata dal virus, serbatoi persistenti di SARS-CoV-2 in alcuni tessuti che potrebbero innescare morbilità post-infezione, riattivazione di agenti patogeni per disregolazione immunitaria, alterazioni del microbioma ospite, problemi di coagulazione è stato ipotizzato che l'autoimmunità dovuta al mimetismo molecolare tra SARS-CoV-2 e auto-proteine svolgano un ruolo. Inoltre, è stato anche suggerito che i lunghi sintomi di COVID potrebbero non essere un risultato diretto dell'infezione da SARS-CoV-2 ma potrebbero essere la conseguenza della riattivazione del virus Epstein-Barr.

indotta dall'infiammazione COVID-19. È in corso anche la ricerca di meccanismi molecolari dettagliati alla base del lungo COVID. Alcuni spunti derivano da studi metabolici, ad esempio un alterato assorbimento e metabolismo del triptofano che potrebbe essere alla base della malattia post-infezione, mentre ulteriori ipotesi derivano da studi citopatologici che suggeriscono che SARS-CoV-2 potrebbe essere in grado di ostacolare i processi autofagici delle cellule ospiti, favorendo così il "viaggio" delle particelle virali all'interno del citoplasma cellulare e la loro sopravvivenza. Di conseguenza, è stato affermato che i modulatori del metabolismo cellulare o agenti che rafforzano l'autofagia potrebbero rappresentare una strategia terapeutica contro le sequele post-COVID, aiutando ad eliminare particelle o frammenti virali potenzialmente immunogenici e attivi. Tuttavia, ad oggi, la pleora di diversi sintomi e disturbi del COVID lungo sembra indicare che potrebbero essere coinvolti diversi meccanismi simultanei e che dovrebbero essere definiti approcci terapeutici diversi per curare questi pazienti.

Per quanto riguarda la popolazione pediatrica, i dati clinici sul COVID-19 lungo sono limitati. Le complicanze più comuni sono state dolori muscolari e/o articolari, mal di testa, dolore toracico o sensazione di costrizione toracica, palpitazioni, problemi respiratori e disturbi del sonno. I sintomi persistenti (>5 mesi) sono stati ulteriormente classificati in base ai sistemi coinvolti. grazie a un protocollo standardizzato di raccolta dei dati di follow-up sviluppato dall'International Severe Acute Respiratory and Emerging Infection Consortium (ISARIC) ha osservato che l'età avanzata e le malattie allergiche erano associate a un rischio maggiore di sintomi persistenti al follow-up su. Si ritiene che nei bambini, i meccanismi immunologici possono essere responsabili di un aumento del rischio di conseguenze a lungo termine dell'infezione. In particolare, le sequele di COVID-19 potrebbero essere collegate alla sindrome da attivazione dei mastociti e alla risposta immunologica distorta di **tipo 2 (Th2) del T-helper** nei bambini con malattie allergiche. **I sintomi del lungo Covid sembrano essere più frequenti nelle donne rispetto agli uomini**. Questa disparità di genere che viene discussa e sottolineata dai responsabili delle politiche di salute pubblica in termini diversi. Una riguarda il fatto che le donne spesso prestano più attenzione al proprio corpo e alle sue alterazioni. Questo spesso porta a un intervento diagnostico e terapeutico più rapido.

Sfortunatamente, c'è anche "una scuola di pensiero" che sostiene che il lungo gender skew COVID potrebbe rappresentare semplicemente un artefatto: potrebbe essere concepito solo da "donne isteriche di mezza età". Questo approccio sessista potrebbe certamente rappresentare un forte pregiudizio sia dal punto di vista etico che clinico e potrebbe anche avere un impatto sull'assistenza sanitaria e sui diritti lavorativi per le pazienti con COVID da lungo tempo. In realtà, le donne hanno risposte immunologiche sia innate che acquisite più forti dei maschi e sia i geni che gli ormoni sono coinvolti in questa differenza di sesso. Queste differenze immunologiche basate sul sesso contribuiscono a variazioni nell'incidenza delle malattie autoimmuni, più elevate nelle femmine rispetto ai maschi e nella suscettibilità a neoplasie e malattie infettive, più frequenti nei maschi che nelle femmine, e rappresentano probabilmente la principale causa di prevalenza femminile di COVID negli adulti. Infine, come accade con la **malattia di Lyme**, in cui il patogeno rimane nascosto e genera livelli di citochine infiammatorie più elevati nelle donne rispetto agli uomini, si può ipotizzare che frammenti di SARS-CoV-2 possano rimanere nascosti in serbatoi come i reni o il cervello, innescando alcune cascate associate all'infiammazione cronica dando origine a sintomi come dolore o nebbia cerebrale sperimentati dai pazienti con COVID da lungo tempo. È importante sottolineare che fino ad oggi non è stata segnalata alcuna differenza significativa tra i pazienti maschi e femmine più giovani. Ciò potrebbe rafforzare l'ipotesi che gli ormoni sessuali e la loro attività immunomodulante potrebbero svolgere un ruolo nei pazienti adulti con COVID lungo. È stato osservato che, rispetto ai controlli non infetti e come per il virus Epstein-Barr, il citomegalovirus e l'HIV, l'infezione da SARS-CoV-2 è associata alla generazione di un'ampia gamma di autoanticorpi che possono attaccare i tessuti dei soggetti infetti. Alcuni individui infetti sono stati trovati per avere autoanticorpi contro le proteine coinvolte in diverse attività immunologiche, comprese le risposte all'interferone, il traffico dei leucociti e la funzione/attivazione dei linfociti. Altri autoanticorpi sono tessuto-specifici, compresi gli autoanticorpi specifici per vasi sanguigni, cuore e cervello. **È stata osservata la propensione di alcuni pazienti a sviluppare oltre 15 tipi separati di autoanticorpi e oltre 10 malattie autoimmuni distinte.**

I principali meccanismi che possono contribuire allo sviluppo dell'autoimmunità nel COVID-19 sono i seguenti: 1) iperattivazione del sistema immunitario, 2) induzione di un'eccessiva formazione di trappole

extracellulari di neutrofili 3) SARS-CoV-2 cross- reazione con i componenti del sé dell'ospite. Infatti, è stato dimostrato che SARS-CoV-2 reagisce in modo incrociato con antigeni intestinali, renali, polmonari, cardiaci e cerebrali e le proteine SARS-CoV-2 possono condividere l'omologia con alcuni epitopi autoproteici, portando a percorsi di mimetismo molecolare. Inoltre, in condizioni di infiammazione, anche altri organismi delle comunità microbioma/viroma, che possono variare ampiamente tra i diversi pazienti, possono contribuire alla produzione di autoanticorpi e causare la grande varietà di reattività degli autoanticorpi.

Questo scenario complesso potrebbe spiegare la percentuale significativa di variazioni cliniche rilevate nei pazienti con COVID lungo. Long COVID è caratterizzato da una specifica disregolazione infiammatoria/immunologica di lunga durata e non può essere considerata una patologia unica ma un'enorme serie di diversi stati di morbilità. Quindi, una migliore comprensione dell'eterogeneità di questa patologia, valutando la comparsa di autoanticorpi nel siero di pazienti adulti, in particolare donne, e valutando la **risposta immunitaria Th2** e i livelli plasmatici di IgE nei bambini, potrebbero essere obiettivi importanti per iniziare a identificare e trattamenti specifici per pazienti con COVID lungo.

Considerazioni Conclusive: In Natura, gli effetti non sono che le conseguenze matematiche di un piccolo numero di leggi immutabili. La saggezza consiste nell'anticipazione delle conseguenze.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 21 marzo 2021

Le cinque C