

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI

FEDERICO II



Dipartimento di Studi Umanistici

Scuola di Dottorato in Scienze Filosofiche

Dottorato di Ricerca in Scienze Filosofiche, Curriculum Bioetica

XXXII Ciclo

**Le implicazioni etiche e giuridiche associate alle cure
oncologiche in ambito pediatrico**

Tutor:

Prof.ssa Alessandra Pica

Coordinatore:

Prof. Edoardo Massimilla

Dottoranda:

Dott.ssa Rosa Manca

Anno Accademico 2018/2019

Riassunto	4
Resumen	12
1. INTRODUZIONE	21
1.1 Il cancro in età pediatrica.....	22
1.1.1 I meccanismi della cancerogenesi	24
1.1.2 Il ruolo dell'alimentazione nella genesi dei tumori	28
1.1.3 Lo stress ossidativo.....	31
1.1.4 Cancerogenesi e senescenza cellulare	33
1.2 Le terapie per il trattamento di pazienti oncologici pediatrici	35
1.2.1 La chemioterapia	35
1.2.2 La radioterapia pediatrica	38
1.2.3 Il trapianto di cellule staminali	42
1.2.4 La terapia del dolore	43
1.2.5 Cure palliative in pediatria	45
1.2.6 Considerazioni etiche sulle cure oncologiche	48
1.2.7 Il business del cancro.....	50
1.2.9 Oncologia integrata: nuova frontiera delle cure oncologiche.....	52
1.3 La relazione medico-paziente: dal paternalismo al principio di autonomia.....	55
1.4 L'autodeterminazione del paziente e il consenso informato	59
1.5 La tutela dei diritti e della volontà dei minori in ambito sanitario	62
1.5.1 Il consenso informato dei minori in Europa	68
1.5.2 Il rispetto dei dati personali	84
1.5.3 Minori e ricerca biomedica.....	86
1.6 Il trapianto di cellule staminali in pediatria	96
1.7 Le cellule staminali ematopoietiche del cordone ombelicale	97
1.7.1 Identificazione delle cellule staminali ematopoietiche.....	99
1.7.2 Normativa europea sulla conservazione delle staminali cordonali	100
1.7.3 Aspetti etici associati all'utilizzo del sangue cordonale.....	105
1.7.4 Considerazioni sulla conservazione: tra pubblico e privato	108
1.7.5 La donazione per la ricerca: un gesto di solidarietà	110
1.8 La riserva delle cellule staminali: un bene da tutelare nei pazienti oncologici.....	116
1.9 Nuove molecole antiossidanti con azione radioprotettiva	118
1.10 La manganese superossido dismutasi ricombinante.....	120
SEZIONE SPERIMENTALE	122
2. SCOPO DELLA RICERCA.....	122

3. MATERIALI E METODI.....	124
3.1 Raccolta della legislazione e giurisprudenza.....	124
3.2 Raccolta dei campioni	124
3.3 Estrazione delle cellule mononucleate	124
3.4 Trattamento dei campioni con rMnSOD e irradiazione	125
3.5 Valutazione dell'apoptosi tramite Annessina V	127
3.6 Valutazione della senescenza	127
3.7 Identificazione delle cellule staminali attraverso microscopia confocale	128
4. RISULTATI.....	129
4.1 Valutazione dell'apoptosi dopo irradiazione.....	129
4.2 Valutazione della senescenza	132
4.3 Analisi morfologica delle cellule CD34+ al microscopio confocale.....	132
5. DISCUSSIONE SPERIMENTALE.....	134
6. CONCLUSIONI FINALI	137
BIBLIOGRAFIA.....	141
INDICE NORMATIVO	162
Riferimenti internazionali.....	162
Riferimenti giuridici dell'Unione Europea.....	163
Riferimenti giuridici nazionali	164
PARERI DI COMITATI NAZIONALI DI BIOETICA.....	171

Riassunto

Nel presente lavoro di tesi di dottorato sono state analizzate le principali problematiche etiche e giuridiche associate al trattamento dei pazienti oncologici, in particolare pediatrici, sottoposti a chemio- e radioterapie, nonché la normativa vigente, sia italiana che comparata, atta a tutelare i diritti e la volontà dei minori in ambito sanitario. Tale ricerca etico-giuridica è stata condotta in parte presso il Dipartimento di Diritto Amministrativo dell'Università di Granada (Spagna), in collaborazione con il Prof. Sanchez Mesa Martínez e del Prof. Bombillar-Sáenz, esperti di bioetica giuridica.

Parallelamente, è stata svolta un'attività di ricerca biologica con lo scopo di mettere a punto un trattamento di radioprotezione, che consentisse di limitare i danni connessi alle terapie oncologiche, particolarmente devastanti su organismi in crescita. I protocolli di cura oncologica attualmente utilizzati, comportano, infatti, un'ampia gamma di effetti collaterali indesiderati, che si manifestano non solo al momento della terapia ma anche a lunga distanza con l'insorgenza di tumori secondari in età adulta, conseguenti alla tossicità dei trattamenti stessi. A tal fine sono state utilizzate, come modello sperimentale, cellule staminali ematopoietiche provenienti dal sangue di cordone ombelicale, poiché presentano un'immaturità simile alle cellule staminali pediatriche. L'uso sperimentale di tali cellule non comporta, infatti, problemi etici rilevanti. Da qui sono scaturite considerazioni riguardanti il ruolo determinante della sensibilizzazione delle coppie in procinto di avere un figlio, alla donazione delle cellule staminali cordonali alle biobanche pubbliche: tale donazione rappresenta non solo un gesto altruistico, in contrasto con la conservazione autologa in una banca privata, ma anche un gesto di solidarietà, etico e sociale, in quanto, in caso di insufficienza nel numero di cellule staminali per l'uso trapiantologico, il campione può essere destinato alla ricerca scientifica. Su tali cellule è stato studiato l'effetto radioprotettivo di molecole antiossidanti, una delle quali di recente scoperta, la rMnSOD, a seguito di irradiazioni con raggi X, di intensità e frequenza pari a quelle utilizzate nei protocolli di radioterapia pediatrica.

Tale sperimentazione trova la sua motivazione nel fatto che nei pazienti pediatrici la radioterapia produce maggiori danni rispetto al trattamento di organismi adulti, a causa dell'alta attività proliferativa di tutti i tessuti in un organismo in accrescimento.

Partendo dallo studio dei meccanismi di cancerogenesi e delle convenzionali terapie oncologiche, sono stati esaminati gli effetti collaterali di questi trattamenti. I dati

epidemiologici mostrano che lo sviluppo del cancro infantile è massimo nei paesi industrializzati, nei quali l'alimentazione industriale ha preso il sopravvento nelle abitudini quotidiane dei nostri predecessori. È ampiamente riconosciuto che lo stile di vita e le abitudini alimentari influiscono sul rischio di ammalarsi di cancro. La qualità degli alimenti che vengono introdotti quotidianamente nel regime alimentare si riflette sullo stato di salute dell'organismo: la prevenzione inizia proprio dalle scelte alimentari. La maggior parte delle terapie si basa su protocolli standardizzati di chemio- e radio-terapia, che, come è risultato da tale studio, necessitano di un adeguamento alle più recenti acquisizioni scientifiche che oggi sono orientate verso trattamenti personalizzati e meno devastanti. Gli effetti collaterali dei protocolli convenzionali peggiorano sensibilmente la qualità della vita dei pazienti oncologici pediatrici: tali effetti si manifestano anche a lunga distanza con l'insorgenza di tumori secondari in età adulta, provocati dal trattamento stesso.

La mancata risoluzione a lungo termine delle patologie oncologiche pediatriche è attribuibile, secondo le attuali conoscenze, alla mancata attenzione all'alimentazione (a scopo anche preventivo) ed all'approccio terapeutico convenzionale, troppo riduttivo, che si adopera attualmente in oncologia, in grado di ottenere una "guarigione" solo temporanea.

La medicina dovrebbe avere, *in primis*, lo scopo di ricercare le cause delle patologie e di fare prevenzione migliorando la qualità della vita del paziente, attraverso l'adozione di uno stile di vita sano. L'integrazione di terapie alternative con i trattamenti convenzionali (oncologia integrata) permette di fornire un'assistenza "multidisciplinare" per la cura del cancro infantile, ma anche adulto. Le cure oncologiche devono essere integrate con trattamenti coadiuvanti, come l'ozonoterapia, che sfrutta l'alterato equilibrio ossidativo della massa tumorale, e con l'uso di composti antiossidanti, assimilabili con l'alimentazione. L'utilizzo di farmaci chemioterapici, così come l'esposizione a radioterapie, deve essere rimodulata in accordo con la nuova frontiera dell'oncologia, la chemioterapia metronomica a basse dosi (somministrazione frequente e regolare di basse dosi di farmaci chemioterapici). In questo modo si utilizzano dosi molto più basse di quelle dei protocolli convenzionali, in tempi più lunghi, al fine di ridurre la concentrazione plasmatica del farmaco e limitare al massimo gli effetti collaterali indesiderati, mentre le attuali terapie consistono nella somministrazione della dose massima tollerata, somministrata ad intervalli di 2-3 settimane, per consentire al paziente di riprendersi della tossicità del trattamento. Questa

modalità di trattamento induce, tra gli effetti collaterali, caduta di capelli ed esteso danno del sistema immunitario con soppressione della emopoiesi e conseguente anemia e citopenia generalizzata.

L'oncologia pediatrica è associata a rilevanti problematiche etiche in quanto raramente i pazienti pediatrici scelgono consapevolmente di sottoporsi ad una terapia, dipendono piuttosto dalle decisioni di un genitore o un tutore. Questi ultimi dovrebbero assicurare al fanciullo la protezione e le cure mediche necessarie al suo benessere, adottando tutti i provvedimenti legislativi ed amministrativi appropriati (*Dichiarazione Universale dei Diritti del Fanciullo*, 1959). La successiva *Convenzione sui diritti del fanciullo* (1989) dichiara che ai diritti degli adulti corrispondono quelli del bambino: i principi dichiarati sono la non discriminazione, la dedizione all'interesse superiore del bambino, il diritto alla vita, alla sopravvivenza e allo sviluppo integrale della sua persona. Ciò che giustifica la necessità di una speciale protezione e garanzia dei diritti dei bambini è proprio la loro assenza di maturità e, di conseguenza, il loro bisogno di aiuto, rendendoli vulnerabili innanzi a innumerevoli rischi o minacce contro la loro dignità. Al fine di tutelare i piccoli pazienti, gran parte degli ospedali pediatrici dell'Unione Europea si attiene alle linee guida indicate nella *Carta di Each* (1993), che pone le basi per un progetto depositato al Parlamento Europeo, con l'obiettivo di diventare una vera e propria Carta Europea dei diritti dei bambini ospedalizzati. La *Carta di Each* riassume gli interventi prioritari per il benessere del bambino, prima e durante il ricovero.

La parola chemioterapia incute un certo disagio perché evoca sofferenze, nausea, paure, bruciori in bocca, allo stomaco, disturbi intestinali, depressione. *“Prima di tutto il cancro non può essere definito come malattia. Almeno non nel senso che generalmente si dà al termine “malattia”, che significa un processo patologico, rapido o lento, reversibile o irreversibile dell'organismo, e non prende in considerazione le cause. Il cancro è la ribellione di una cellula, che moltiplicandosi ne genera milioni, alle leggi che regolano lo sviluppo e la vitalità di un organismo”* (Levi-Montalcini, 2000).

In questa situazione patologica, la figura del medico è destinataria di un fondamentale dovere di garanzia nei confronti del paziente. L'approfondimento della relazione medico-paziente ha portato a concludere che l'attività sanitaria e l'esercizio della medicina in generale hanno superato il modello paternalista (priorità del quale consiste nel raggiungere esclusivamente il benessere fisico del malato) ad un modello che predilige fundamentalmente il principio di autonomia della persona e nel quale i medici subordinano i loro criteri di lavoro alla volontà del paziente. Secondo questo modello, la

relazione medico-paziente è governata dall'orizzontalità e dall'uguaglianza, garantendo il rispetto e la volontà del paziente, di contro alla verticalità e alla superiorità della concezione paternalista, elevando il paziente da infermo a soggetto libero, e non semplice oggetto della terapia. Il paziente smette di essere uno spettatore e diventa un essere autonomo con capacità di decidere. Il medico non è più il *dominus* indiscusso dell'*ars medica*, ma un dipendente qualificato di un'azienda sempre più attenta ai costi, alle problematiche burocratiche e amministrative e alle necessità del paziente (Monaco & Bottari, 2012).

Fra i doveri etici, giuridici e professionali del medico rientra la necessità della formale acquisizione del consenso informato, che non sia uno sbrigativo adempimento, ma un'adeguata fase di comunicazione e interazione fra il soggetto in grado di fornire le informazioni necessarie (il medico) ed il soggetto chiamato a compiere la scelta (il paziente).

Il rispetto dell'autonomia del paziente, palesato dal documento del consenso informato, è manifestazione chiara di un superamento della concezione paternalistica del rapporto medico-paziente, secondo la quale il medico adotta una posizione attiva, decisionale, e il paziente, una posizione passiva. Il consenso informato rappresenta “*un principio fondamentale in materia di tutela della salute*”, “*un diritto genuino della persona*”. Il diritto all'autodeterminazione ed il diritto alla salute rappresentano i diritti costituzionali fondamentali dell'individuo: è pur vero che l'individuo ha il diritto di essere guarito, ma ha anche il diritto di ricevere informazioni adeguate su la natura e il possibile sviluppo del trattamento, al quale sarà sottomesso, così come le possibili terapie alternative (Corte costituzionale, 2008).

Dal confronto di vari autori e dai comitati etici internazionali, si è potuto concludere che una volta abbandonata la visione unilaterale paternalistica della relazione paziente-medico, attualmente ci si è orientati verso giurisprudenza e commissioni costituzionali responsabili per lo sviluppo di scelte terapeutiche, come uno sviluppo di un processo dialettico tra il paziente e il medico. La manifestazione del consenso a trattamenti terapeutici deve essere preceduta da un'esaustiva e corretta informazione, trasmessa con un linguaggio comprensibile, riguardante lo stato della malattia (diagnosi), la previsione sul decorso e sull'esito di un determinato quadro clinico (prognosi), le alternative diagnostico-terapeutiche, le modalità di esecuzione e le prospettive dell'intervento proposto, i rischi prevedibili e le conseguenze sulla vita futura.

Tuttavia, il consenso o dissenso del paziente di sottoporsi ad un dato trattamento non possono mai essere acquisiti passivamente; al contrario, considerata la gravità, e spesso l'irreversibilità, delle conseguenze di un rifiuto alle cure, è necessaria un'attenta analisi circa l'attendibilità e consapevolezza della decisione del paziente. Da ciò deriva che il medico deve sempre elaborare una duplice consapevolezza: da una parte, quella per cui ogni forma di accanimento clinico si configura come illecita; dall'altra, quella per cui l'affermata "parità" fra medico e paziente può peccare di un eccesso di astrazione, ponendo in ombra le difficoltà, le incertezze, le fragilità di chi vive in prima persona l'esperienza della malattia. Ciò non significa tornare ad una posizione che enfatizza l'asimmetria di sapere fra medico e paziente, ma il medico ha il ruolo di far comprendere al paziente, anche in tempi differenti, le conseguenze della sua decisione (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008).

Per quanto concerne il fondamento normativo del consenso informato, l'analisi giuridica della normativa italiana e comparata ha permesso di comprendere che esso ha avuto origine giurisprudenziale, per poi trovare un riconoscimento normativo nel diritto nazionale e internazionale. A livello europeo, l'esigenza di tutelare i diritti dei pazienti in ambito biomedico ha trovato espressione nella *Convenzione di Oviedo*, che sancisce l'abbandono della concezione paternalistica della relazione terapeutica e stabilisce che un intervento nel campo della salute non può essere effettuato se non dopo che la persona interessata abbia prestato il proprio consenso "*libero e informato*" (art. 5).

Nel panorama europeo, il tema del consenso informato appare variegato, soprattutto per quanto riguarda il concetto di "maggioranza dell'età sanitaria", età alla quale il minore può esprimere il suo consenso libero e informato indipendentemente dai genitori.

Secondo la legge italiana n. 219/2017 del 22 dicembre, i minori di età e gli incapaci di intendere devono ricevere informazioni sulle scelte relative alla propria salute, in modo consono alle proprie capacità, per essere messi nelle condizioni di esprimere la propria volontà. È compito dei genitori/tutori esprimere il consenso informato del minore ad un trattamento sanitario, tenendo conto della sua volontà, in relazione alla sua età e al suo grado di maturità, e avendo come scopo la tutela della salute psicofisica e della vita del minore, nel pieno rispetto della sua dignità (art. 3). Secondo l'Ente Nazionale di Previdenza ed Assistenza Medici (2015), prima dei 6-7 anni un bambino non può esprimere un consenso autonomo; tra i 7 e i 13 anni un bambino in qualche misura può essere coinvolto nel consenso, anche se è necessario e prevale il parere dei genitori; dopo i 14 anni, il bambino dovrebbe essere prioritariamente coinvolto, anche se il

consenso compete legalmente ai genitori. In caso di disaccordo su questioni di particolare importanza ciascuno dei genitori può ricorrere al giudice del Tribunale per i Minorenni, indicando i provvedimenti che ritiene più idonei. Nei casi in cui il paziente è esposto ad un grave rischio per la sua salute e vi sia discordanza tra la decisione del medico e la potestà del genitore o del tutore, il medico ha il dovere di informare il giudice competente perché adotti i provvedimenti di urgenza. Nel caso di impossibilità di un intervento del magistrato, il medico potrà e dovrà agire sulla base dello stato di necessità.

In Spagna, secondo la legge del 26/2015, del 28 luglio, il consenso informato viene fornito dal minore solo se questi ha un'età compresa tra 16 e i 18 anni, e verrà coinvolto un rappresentante legale solo se, secondo il criterio del medico, il paziente deve sottoporsi ad un trattamento con grave rischio per la sua salute.

Nel Regno Unito, l'adolescente tra i 16 e i 18 anni è autorizzato ad accettare/rifiutare le cure mediche senza la necessità del consenso dei genitori. Il minore di 16 anni sarà competente a rifiutare il trattamento se il medico afferma che esiste una maturità sufficiente per comprendere le informazioni pertinenti e prendere la decisione appropriata. Se il bambino decide di rifiutare un trattamento vitale, un giudice è necessariamente obbligato a intervenire per ciò che è meglio per il bambino. In Olanda, i bambini con età superiore ai 16 anni possono autonomamente prendere decisioni in ambito sanitario e i minori di 12 anni possono dare il loro consenso riguardo alla partecipazione ad un trattamento o ad una sperimentazione clinica insieme ai loro genitori. Alcuni paesi europei hanno anticipato l'età della maggioranza sanitaria, come la Danimarca, a 15 anni. Al contrario, in altri stati come Cipro, Grecia e Slovacchia, si considera esclusivamente la maggiore età comune di 18 anni (de Montalvo Jääskeläinen, 2019).

L'analisi effettuata ha portato a concludere che l'eterogeneità delle forme di tutela da presentare al paziente, riguardanti il diritto a ricevere un'informazione adeguata e a prestare consapevolmente la propria adesione al trattamento proposto, rivela la necessità di un intervento normativo di matrice europea volto ad armonizzare e uniformare le singole discipline nazionali.

L'approccio terapeutico al paziente pediatrico presenta peculiarità per il fatto che l'organismo del bambino è in evoluzione, attraverso graduali fasi di crescita e di sviluppo di tutte le sue funzioni. Pertanto, il bambino non può essere considerato "un piccolo adulto" ma un essere in continuo cambiamento, che attraversa fasi di crescita,

ciascuna con specifiche caratteristiche, fino ad avvicinarsi alle condizioni adulte (Spotti *et al.*, 2006). La fragilità intrinseca dei pazienti pediatrici ha spinto la ricerca scientifica ad identificare agenti radioprotettivi, che possano proteggere i tessuti sani dal trattamento.

La radioterapia rappresenta una componente centrale dei trattamenti oncologici, anche in ambito pediatrico, provocando però effetti collaterali rilevanti sui tessuti sani, che possono anche manifestarsi solo in età adulta. Gli organismi esposti alle radiazioni ionizzanti sono principalmente danneggiati dai radicali liberi, che sono generati dalla radiolisi dell'acqua contenuta nelle cellule. Borrelli *et al.* (2009) hanno identificato una nuova molecola, la manganese superossido dismutasi prodotta in forma ricombinante (rMnSOD), facilmente somministrabile *in vivo*, che non solo esercita un effetto radioprotettivo sulle cellule e organismi sani, ma è anche radiosensibilizzante per cellule tumorali.

Nel presente lavoro di tesi di dottorato, è stato dimostrato che la rMnSOD ha un ruolo radioprotettivo anche sulle cellule staminali ematopoietiche, in particolare, su quelle isolate dal cordone ombelicale. Proteggere le cellule staminali ematopoietiche dall'insulto radioterapico è giustificato dal fatto che, soprattutto in pediatria, sono cellule altamente sensibili, e se danneggiate, possono alterare l'emopoiesi e la funzionalità del midollo osseo. È stato scelto di utilizzare le cellule staminali cordonali per le seguenti ragioni: i) la sperimentazione su queste cellule non è associata a problematiche etiche rilevanti; ii) sono cellule fenotipicamente simili alle cellule staminali dei pazienti pediatrici; iii) possono essere utilizzate per trapianti allogenici, soprattutto in pazienti oncologici pediatrici, che possono andare incontro a recidive ed essere sottoposti a trattamenti radioterapici.

La rMnSOD, alla concentrazione di 0.5 μM , è in grado di proteggere le cellule staminali cordonali dall'insulto radioterapico, alla dose di 6 Gy totali (frazionati in tre sedute da 2 Gy ciascuna). Tali risultati sono stati confermati dalle osservazioni in microscopia a fluorescenza, attraverso la quale, si evidenziano frammentazioni nucleari e citoplasmatiche evidenti nelle cellule irradiate, significativamente inferiori nelle cellule irradiate e pretrattate con rMnSOD. Questi dati suggeriscono che rMnSOD merita di essere considerato uno strumento farmaceutico per aggirare gli effetti collaterali della radioterapia, specialmente in pazienti che particolarmente sensibili, come quelli pediatrici.

Tuttavia, maggiore attenzione dovrebbe essere riservata alla revisione dei protocolli chemioterapici, in linea con le evidenze della maggiore efficacia della terapia metronomica su quella convenzionale, che ancora oggi utilizzano “le bombe chemioterapiche” estremamente dannose. Parallelamente, non bisogna sottovalutare il legame tra cibo e salute e la necessità di migliorare la qualità degli alimenti proposti nelle mense degli ospedali pediatrici, e non solo, che dovrebbero essere dotati di nutrizionisti specializzati.

Resumen

En este trabajo de tesis, se analizaron los principales problemas éticos y legales asociados al tratamiento de pacientes con cáncer y en particular aquellos pacientes pediátricos sometidos a quimioterapia y radioterapia. Además, este estudio es completado mediante un pormenorizado análisis de la legislación italiana comparada en materia de protección de derechos y la voluntad de menores en el sector de la salud. Esta investigación de naturaleza ético-legal se llevó a cabo de manera parcial en la Facultad de Derecho de la Universidad de Granada (España) bajo la cotutoría del Prof. Sánchez Mesa y del Prof. Bombillar Sáenz, expertos en el campo de la bioética legal.

De la misma manera, se inició de forma paralela una investigación biológica con el objetivo de evaluar el rol radioprotector en las moléculas antioxidantes que permitiera limitar el daño asociado en las terapias contra el cáncer, que son especialmente devastadoras para todos los organismos en estado de crecimiento.

Así, conforme a los protocolos de tratamiento del cáncer utilizados actualmente ha quedado demostrado la aparición de una amplia gama de efectos secundarios no deseados que no solo se manifiestan en el momento de la terapia sino también se extienden más allá, dando lugar a la aparición de tumores secundarios en la edad adulta y como resultado de la toxicidad de tratamientos en sí mismos.

Para tal propósito, las células madre hematopoyéticas localizadas en la sangre del cordón umbilical, se han utilizado como modelo experimental, ya que tienen una inmadurez similar a las células madre pediátricas. De hecho, el uso experimental de estas células no implica problemas éticos significativos.

Todo ello sugiere que el análisis que recae sobre estas, es sin duda necesario para el desarrollo de un proceso dirigido a sensibilizar a las parejas en los meses previos a la concepción de un hijo y en la donación de células madre situadas en el cordón umbilical en los biobancos públicos. En este sentido, la donación representa no solo un gesto altruista en contraste con la conservación autóloga en un banco privado, sino que también un gesto de solidaridad, ética y social del donante, ya que en el caso de que el número de células madre sea insuficiente para el trasplante, la muestra puede usarse para investigación científica. Estas células han sido estudiadas respecto al efecto radioprotector de las moléculas antioxidantes —una de las cuales se ha descubierto recientemente, el rMnSOD— que después de la irradiación con rayos X aplicadas, iguales de una intensidad y frecuencia en los protocolos de radioterapia pediátrica.

Es preciso significar que de este experimento surge su propia motivación respecto al resultado que producen los pacientes pediátricos sometidos a la radioterapia, produciendo un mayor daño en correspondencia con el tratamiento aplicado en organismos adultos; debido a la alta actividad proliferativa de todos los tejidos en organismos en crecimiento.

Cumple en señalar, que a partir del estudio de los mecanismos sobre carcinogénesis y terapias convencionales contra el cáncer, se examinaron los efectos secundarios resultantes de estos. Los datos epidemiológicos muestran que el desarrollo del cáncer infantil tiene una importante presencia en aquellos países industrializados donde la nutrición industrial ha asumido los hábitos diarios de nuestros predecesores. Es ampliamente reconocido que el estilo de vida y los hábitos alimenticios influyen en el riesgo de contraer cáncer. La calidad de los alimentos que se introducen diariamente en el régimen alimentario se refleja en el estado de salud del organismo: la prevención comienza desde la elección de los alimentos.

Repárese que la mayoría de las terapias se basan en protocolos estandarizados de quimioterapia y radioterapia que sin embargo no representan un tratamiento selectivo para las células cancerosas.

Los efectos secundarios de estos protocolos empeoran la calidad de vida de los pacientes: estos efectos también comienzan a dar la cara a largas distancias, con la aparición de tumores secundarios en la edad adulta, causados por el tratamiento de quimioterapia.

La revolución fallida para el tratamiento de las enfermedades oncológicas pediátricas es atribuible a determinantes tales como la nutrición (también con fines preventivos) y al enfoque terapéutico convencional, demasiado reductor, que se utiliza en oncología solo erradicando temporalmente la patología. Por esta razón, la medicina debe centrarse de manera específica en investigar las causas patológicas y hacer prevención un instrumento para mejorar la calidad de vida del paciente, a través de la adopción de un estilo de vida saludable. La integración de terapias alternativas con tratamientos convencionales (oncología integrada) permiten una asistencia *multidisciplinar* respecto al tratamiento del cáncer infantil y de adultos.

Además, estos tratamientos oncológicos deben integrarse como elementos adyuvantes, por ejemplo las terapias de ozono, las cuales explotan el equilibrio oxidativo alterando la masa tumoral, y compuestos antioxidantes asimilables con la nutrición.

Por otro lado, el uso de medicamentos de quimioterapia y la exposición a la radioterapia deben volver a modularse de acuerdo con la nueva frontera de la oncología, la quimioterapia metronómica en dosis bajas (administración frecuente y regular de dosis bajas de medicamentos de quimioterapia). De esta forma, se usan dosis mucho más bajas que las de los protocolos convencionales, caracterizado por una aplicación en tiempos más prolongados y con el objeto de reducir la concentración plasmática del fármaco y minimizar los efectos secundarios no deseados frente a las terapias actuales las cuales consisten en la administración de la dosis máxima tolerada, administrado en intervalos de 2-3 semanas para permitir que el paciente se recupere de la toxicidad del tratamiento.

Hay que tener en cuenta, que este método de tratamiento induce entre sus efectos secundarios a la pérdida de cabello y daño extenso al sistema inmune con supresión de la hematopoyesis y la consiguiente anemia y la aparición de citopenia generalizada.

La oncología pediátrica está asociada con importantes problemas éticos ya que los pacientes pediátricos rara vez eligen conscientemente someterse a terapia, de lo que deriva una dependencia en sus decisiones que finalmente pueden ser tomadas por sus padres o tutores. Este último debería proporcionar al niño la protección y la atención médica necesarias para su bienestar mediante la adopción de todas las medidas legislativas y administrativas apropiadas (*Declaración Universal de los Derechos del Niño*, 1959). La posterior *Convención sobre los Derechos del Niño* (1989) declara que los derechos de los adultos corresponden a los del niño a través de sus principios que en particular son: la no discriminación, la dedicación al interés superior del niño, el derecho a la vida, a la supervivencia y al desarrollo integral de su persona. Todo ello justifica la necesidad de especial protección y de ir acompañado de una garantía en los derechos del niño, es precisamente su ausencia de madurez y, en consecuencia, su necesidad de ayuda la que hace vulnerables a innumerables riesgos o amenazas contra su dignidad.

Tal problemática y con el fin de proteger a los pacientes jóvenes, la mayoría de los hospitales pediátricos de la Unión Europea siguen las pautas indicadas en la *Carta de Each* (1993), siendo esta caracterizada por sentar las bases para un proyecto presentado ante el Parlamento Europeo con el objetivo de convertir este documento en una Carta europea de los derechos de los niños hospitalizados. Siendo más preciso la *Carta de Each* nos viene a indicar todas aquellas intervenciones prioritarias para el bienestar del niño antes y durante la hospitalización.

Ahora bien, la palabra quimioterapia contiene consideraciones que pueden causar algunas molestias en la medida que evocan sufrimiento, náuseas, miedos, ardor en la boca, estómago, trastornos intestinales, depresión. *“En primer lugar, el cáncer no puede definirse como una enfermedad. Al menos no en el sentido que generalmente se refiere al término "enfermedad", que significa un proceso patológico, rápido o lento, reversible o irreversible del organismo, y no tiene en cuenta las causas. El cáncer es la rebelión de una célula que genera millones al multiplicar las leyes que regulan el desarrollo y la vitalidad de un organismo”*(Levi-Montalcini, 2000).

Es en esta situación patológica, cuando la figura del médico constituye un destinatario singularizado por su deber de garantía fundamental hacia el paciente. Por ello, la profundización de la relación médico-paciente ha llevado a la conclusión de que la actividad de salud y el ejercicio de la medicina en general han excedido el tradicional modelo paternalista (la prioridad consiste en lograr exclusivamente el bienestar físico del paciente) para dar paso a un modelo que prefiere fundamentalmente el principio de autonomía de la persona y donde los médicos subordinan sus criterios de trabajo a la voluntad del paciente.

Según este modelo, la relación médico-paciente quedará establecida de manera horizontal y en condición de igualdad, garantizando el respeto a la voluntad del paciente, en oposición a la verticalidad y superioridad de la concepción paternalista; el inmediato resultado no es sino la elevada condición que paciente de enfermo adquiere como sujeto libre frente idea de simple objeto de terapia. Así, el paciente deja de ser un espectador y se convierte en un ser autónomo con la capacidad de decidir. En cambio el médico ya no ostenta el dominio indiscutible del sector médico pasando a ser un empleado calificado de una empresa cada vez más atento a los costos, a los problemas burocráticos y administrativos y a las necesidades del paciente (Mónaco y Bottari, 2012).

Ello conlleva que los deberes éticos, legales y profesionales del médico incluyan necesariamente la adquisición formal del consentimiento informado, esto es sino una fase adecuada de comunicación e interacción entre el sujeto que puede proporcionar la información necesaria (el médico) y el sujeto (el paciente) llamado para tomar la decisión.

El respeto a la autonomía del paciente, revelado por el documento de consentimiento informado, es una manifestación clara de una superación de la concepción paternalista

de la relación médico-paciente que según la cual el médico adopta una posición activa y decisiva mientras que el paciente queda encuadrado una posición pasiva.

El consentimiento informado representa: *un principio fundamental con respecto a la protección de la salud, un derecho genuino de la persona*. El derecho a la autodeterminación y el derecho a la salud representan los derechos constitucionales fundamentales del individuo: es cierto que el individuo tiene derecho a ser sanado pero también tiene derecho a recibir información adecuada sobre la naturaleza y el posible desarrollo del tratamiento a la que se someterá, así como posibles terapias alternativas (Corte Constitucional, 2008).

De la comparación de varios autores y de comités internacionales de ética, se concluyó que una vez que se abandonó la visión paternalista unilateral de la relación médico-paciente aparece una tendencia que se consolida en una jurisprudencia y que junto con las comisiones constitucionales responsables del desarrollo de opciones terapéuticas, apuestan por un modelo de proceso dialéctico entre el paciente y el médico.

En cuanto, la manifestación del consentimiento para los tratamientos terapéuticos debe ir precedida de información exhaustiva y correcta, transmitida en un lenguaje comprensible, sobre el estado de la enfermedad (diagnóstico), la predicción sobre el curso y el resultado de un cuadro clínico determinado (pronóstico), las alternativas diagnóstico-terapéuticas, los métodos de ejecución y las perspectivas de la intervención propuesta, los riesgos previsible y finalmente, las consecuencias en la vida futura.

Sin embargo, el consentimiento o la disidencia del paciente para someterse a un tratamiento hasta entonces no ejercicio, puede dar lugar a obtenerlo de forma pasiva: por el contrario, dada la gravedad, y a menudo la irreversibilidad de la decisión del paciente, se necesita un análisis sobre la fiabilidad y la conciencia de la decisión del paciente. De esto se deduce que el médico siempre debe desarrollar una doble conciencia: por un lado, aquello por lo cual cada forma de obstinación clínica se configura como ilegal; y por el otro, aquel por el cual la afirmada *igualdad* entre médico y paciente puede pecar por un exceso de abstracción, eclipsando las dificultades, incertidumbres y fragilidad de quienes experimentan la experiencia de la enfermedad de primera mano. Esto no significa volver a una posición que enfatice la asimetría de conocimiento entre el médico y el paciente, pero el médico tiene la función de hacer que el paciente comprenda, incluso en diferentes momentos, las consecuencias de su decisión (Comitato Nazionale di Bioetica, 2008).

Con respecto a la base reguladora del consentimiento informado, el análisis legal de la legislación italiana y comparativa asienta la comprensión sobre el origen jurisprudencial del consentimiento informado y encontrado reconocimiento regulatorio en el derecho nacional e internacional de un modo posterior.

En el caso europeo, la necesidad de proteger los derechos de los pacientes en el campo biomédico ha encontrado expresión en el *Convenio de Oviedo* que sanciona el abandono de la concepción paternalista de la relación terapéutica y establece que una intervención en el campo de la salud no puede llevarse a cabo a menos que después de que la persona interesada haya dado su consentimiento *libre e informado* (art. 5).

En la escena europea, el consentimiento informado parece ser variado, y en especial en lo que respecta al concepto de *mayoría de la edad sanitaria*, una edad en la que el menor puede expresar su consentimiento libre e informado independientemente de los padres.

Asimismo, de acuerdo con la ley italiana n. 219/2017 del 22 de diciembre, los menores y las personas que no pueden entender, deben recibir información sobre las opciones relacionadas con su salud, de una manera adecuada a sus capacidades, para poder expresar su voluntad. Así, es tarea de los padres/tutores expresar el consentimiento informado del niño a un tratamiento de salud, teniendo en cuenta su voluntad en relación con su edad y su grado de madurez además de incorporar como propósito la protección de la salud psicofísica y la vida del niño en relación con el pleno respeto de su dignidad (art.3).

En este sentido sobresale, la Agencia Nacional de Seguridad y Asistencia Social (2015) cuando sostiene que antes de los 6-7 años de edad, un niño no puede expresar un consentimiento independiente; entre 7 y 13 años de edad, un niño puede estar involucrado en el consentimiento hasta cierto punto, incluso si la opinión de los padres es necesaria y prevalece; después de 14 años, el niño debe estar involucrado en la prioridad, incluso si el consentimiento es legalmente de los padres.

Por el contrario a lo anterior, si existe desacuerdo sobre asuntos de particular importancia, cada uno de los padres puede apelar ante el juez del Tribunal de Menores, indicando las medidas que considere más adecuadas. En los casos en que el paciente está expuesto a un riesgo grave para su salud y existe una discrepancia entre la decisión del médico y la autoridad de los padres o tutores, el médico tiene el deber de informar al juez competente para que tome medidas urgentes. En caso de imposibilidad de una

intervención del magistrado, el médico puede y debe actuar en función del estado de necesidad.

En el caso Español, de acuerdo con la ley del 26/2015, de 28 de julio, el consentimiento informado se entenderá válidamente otorgado por el menor solo si tiene entre 16 y 18 años, y un representante legal solo estará involucrado si, de acuerdo con el criterio del médico, el paciente debe someterse a un tratamiento con riesgo grave para su salud.

Si observamos el caso de Reino Unido, un adolescente entre 16 y 18 años puede aceptar y rechazar tratamiento médico sin la necesidad del consentimiento de los padres. El niño menor de 16 años será competente para reusar el tratamiento si el médico observa la suficiente madurez para comprender la información relevante y la facultad para tomar la decisión adecuada por si mismo. Si el niño decide rechazar el tratamiento vital, entonces en ese caso un juez está necesariamente obligado a intervenir de la manera más beneficiosa para el interés del niño.

En cuanto a los Países Bajos, los niños mayores de 16 años pueden tomar decisiones de salud de forma independiente y los niños menores de 12 años pueden dar su consentimiento sobre la participación en un tratamiento o ensayo clínico junto con sus padres.

En cambio, algunos países europeos han optado en adelantar la mayoría de edad para el ejercicio del consentimiento, destacando entre otros Dinamarca, que fija dicha posibilidad a los 15 años. Por el contrario, una visión menos favorable es la observada en otros estados como Chipre, Grecia y Eslovaquia, donde la mayoría de edad se fija en 18 años (de Montalvo Jääskeläinen, 2019).

Se deduce de ello que análisis realizado condujo a la conclusión de una gran heterogeneidad en las formas de protección que referidas al paciente, en relación con el derecho a recibir información adecuada y a prestar conscientemente la adhesión al tratamiento propuesto. Con ello quiero decir que esta heterogeneidad revela la necesidad de un proyecto que tenga por objeto la intervención reguladora europea y que además favorezca la armonización de disciplinas nacionales individuales en juego.

Singular interés es el enfoque terapéutico que presenta para el paciente pediátrico presenta peculiaridades debido al hecho de que el organismo del niño está evolucionando, a lo largo de diferentes etapas graduales de crecimiento y desarrollo de todas sus funciones. Por lo tanto, el niño no puede considerarse *un adulto pequeño* sino más bien un organismo en constante desarrollo que atraviesa etapas de crecimiento cada una con características específicas hasta llegar a las condiciones del adulto (Spotti *et al.*,

2006). La fragilidad intrínseca de los pacientes pediátricos más vulnerables a los agentes teratogénicos ha impulsado la investigación científica para identificar agentes radioprotectores que pueden proteger los tejidos sanos del tratamiento.

La radioterapia en cambio es un componente central de los tratamientos contra el cáncer—incluso en el campo pediátrico— pero causa efectos secundarios significativos en los tejidos sanos que también pueden originarse en edades más avanzadas como es la de los adultos. Los organismos expuestos a la radiación ionizante además pueden ser dañados principalmente por los radicales libres, que son generados por la radiólisis del agua contenida en las células. Autores como Borrelli *et al.*, (2009) identificaron una nueva molécula, la superóxido dismutasa de manganeso producida en forma recombinante (rMnSOD) que una vez administrada fácilmente *in vivo* no solo ejerce un efecto radioprotector en células y organismos sanos, sino que también es radiosensibilizante para células cancerosas.

Como puede analizarse de todo lo dicho anteriormente, en el presente trabajo de tesis doctoral, se ha demostrado que rMnSOD tiene un papel radioprotector también en las células madre hematopoyéticas, en particular en aquellas aisladas del cordón umbilical. La protección de las células madre hematopoyéticas de la radioterapia se justifica por el hecho de que, especialmente en pediatría, son células altamente sensibles y, si están dañadas, pueden alterar la hematopoyesis y la función de la médula ósea.

Ahora bien, respecto al proceso de elección de las células madre del cordón fueron tomadas en cuenta las siguientes razones: i) la primera, porque la experimentación en estas células no está asociada con problemas éticos relevantes; ii) también en un segundo lugar, atendiendo a que son células fenotípicamente similares a las células madre de pacientes pediátricos; iii) finalmente, debido a que se pueden usar para trasplantes alogénicos, especialmente en pacientes con cáncer pediátrico, que pueden experimentar recaídas y someterse a tratamientos de radioterapia.

Por lo que hace al rMnSOD, a una concentración de 0.5 μM , es capaz de proteger las células madre del cordón frente a la agresión vinculada a la radioterapia y también respecto a una dosis de 6 Gy en total (dividido en tres sesiones de 2 Gy cada una). Estos resultados han sido confirmados por observaciones en microscopía de fluorescencia, mediante los fragmentos nucleares y citoplasmáticos que son evidentes en las células irradiadas, significativamente más bajas en las células irradiadas y pretratadas con rMnSOD. Estos datos sugieren por lo tanto que rMnSOD merece ser considerado una herramienta farmacéutica para evitar los efectos secundarios de la radioterapia en

pacientes que son particularmente sensibles, como son los casos de los enfermos pediátricos.

También, debería prestarse mayor atención a la revisión de los protocolos de quimioterapia en línea con la evidencia de la mayor eficacia de la terapia metronómica frente a la terapia convencional que don utilizados hasta de hoy como todavía *bombas de quimioterapia* extremadamente dañinas. Paralelamente, no se debe subestimar el vínculo entre alimentos y salud y la necesidad de mejorar la calidad de los alimentos que se ofrecen en los comedores de los hospitales pediátricos. Y es que además sería fundamental la presencia de nutricionistas especializados en oncología integrada en lo que concierne al análisis y la identificación de los nutrientes que necesita el paciente.

1. INTRODUZIONE

L'approfondimento delle questioni etiche associate alle cure oncologiche in ambito pediatrico è giustificato dai significativi effetti collaterali che esse comportano. Essendo il bambino un essere in continuo sviluppo, con tessuti in attiva divisione mitotica, in oncologia pediatrica ci si trova di fronte al problema di erogare una dose terapeutica che certamente induce danno ad un organismo in fase di crescita. Il paziente pediatrico è esposto a differenti rischi rispetto all'individuo adulto, sia per quanto riguarda la suscettibilità biologica che il tipo di esposizione, fenomeno che ha portato ad aumentare la consapevolezza della necessità di nuovi approcci per la valutazione dei rischi, per proteggere in modo adeguato i bambini.

Nel corso di un trattamento terapeutico, non sempre viene rispettato l'articolo 16 della *Dichiarazione di Helsinki* (1996) secondo cui "la ricerca medica che coinvolge soggetti umani può essere condotta solo se l'importanza dell'obiettivo prevale sui rischi e sull'onere per i soggetti". La stessa *Carta dei Diritti di Parigi* (2000) riconosce come obiettivo chiave della ricerca scientifica la tutela della qualità della vita del paziente oncologico.

Nel presente lavoro sperimentale saranno esaminate le questioni etiche associate alle cure oncologiche, ma anche gli aspetti giuridici, sia italiani che comparati, riguardanti le applicazioni di tali trattamenti sui minori.

Parallelamente, sarà svolta un'attività di ricerca biologica per sperimentare il ruolo radioprotettivo di molecole antiossidanti di recente scoperta su cellule staminali ematopoietiche irradiate, giustificata dal fatto che nei pazienti pediatrici possono essere maggiormente danneggiati i tessuti ad alta attività proliferativa come le gonadi o il midollo osseo ematopoietico, sede di produzione delle cellule del sangue. A tal fine sono state utilizzate, come modello sperimentale, cellule staminali ematopoietiche provenienti dal sangue di cordone ombelicale, poiché presentano un'im maturità simile alle cellule staminali pediatriche. Inoltre l'utilizzo di queste cellule non è associato a problemi etici rilevanti. Da qui è nata la necessità di riconoscere il ruolo determinante della donazione delle cellule staminali cordonali nelle biobanche pubbliche: essa rappresenta non solo un gesto altruistico, in contrasto con la conservazione autologa in una banca privata, ma anche un gesto di solidarietà, etico e sociale, in quanto, in caso di insufficienza nel numero di cellule staminali per l'uso trapiantologico, il campione può essere destinato alla ricerca scientifica.

1.1 Il cancro in età pediatrica

Nel 2018, il National Cancer Institute ha diagnosticato circa 15590 nuovi casi di tumore in bambini e adolescenti sotto i 19 anni di età (Siegel *et al.*, 2018). Comprendere i fattori scatenanti, a cui il bambino è esposto già durante la gravidanza, o prima del concepimento, non è semplice. Sicuramente sindromi genetiche, l'esposizione a radiazioni ionizzanti, il vizio del fumo dei genitori, il tipo di alimentazione della madre durante la gravidanza, i contraccettivi orali e i farmaci per la fertilità, possono incrementare il rischio di sviluppo di patologie degenerative.

Si definiscono pediatriche, i tumori che insorgono prima dei 14 anni di età e si differenziano da quelli dell'età adulta per sede d'insorgenza, velocità di accrescimento e caratteristiche istopatologiche. I più frequenti sono:

- la leucemia, che rappresenta circa un terzo dei tumori pediatrici in Europa, America e Asia; la tipologia che predomina è la leucemia linfoblastica acuta, che colpisce la filiera linfoide;
- i linfomi, tumori dei gangli linfatici, che rappresentano il terzo tipo di cancro più diffuso nei bambini dei paesi sviluppati. Il linfoma di Hodgkin è il più diffuso, mentre il linfoma di Burkitt rappresenta la metà di tutti i linfomi riscontrabili in Africa;
- i tumori del sistema nervoso centrale, che colpiscono il cervello e il midollo spinale;
- il neuroblastoma, tumore maligno che si sviluppa a livello del sistema nervoso simpatico; nei paesi sviluppati, questa forma tumorale colpisce i neonati e i bambini in tenera età;
- il retinoblastoma, tumore maligno della retina e del tessuto nervoso dell'occhio; si presenta in tenera età e per la metà dei casi è di carattere ereditario; in Europa, Nord America e in Australia questo cancro rappresenta circa il 4% di tutte le forme tumorali del bambino e nelle popolazioni africane, questa proporzione può variare dal 10 al 15%;
- il cancro del rene: il tumore maggiormente diffuso è quello di Wilms (nel 95% dei casi), che colpisce prevalentemente i bambini di età inferiore ai cinque anni;
- i tumori delle ossa, che comprendono l'osteosarcoma (50%), il condrosarcoma, il sarcoma di Ewing (35%); queste forme di cancro rappresentano dal 3 al 5% circa dei tumori pediatrici in Europa;

- i sarcomi dei tessuti molli: il rhabdomyosarcoma (RMS) è un tumore maligno a carico dei muscoli striati che collegano le ossa e che permettono il movimento, riscontrabile nei due terzi dei casi che sopraggiungono prima dei dieci anni di età.

Le cause che determinano un tumore in un bambino sembrano a tutt'oggi sconosciute, si fa avanti però sempre più estesamente l'ipotesi di correlazione con l'alimentazione e lo stile di vita. Tuttavia, sono note rarissime e particolari condizioni spesso associate a certe forme di neoplasia: per esempio, il tumore di Wilms è osservabile in portatori di emi-ipertrofia somatica (cioè il maggior sviluppo di una parte del corpo) e di aniridia (agenesia dell'iride); i tumori cerebrali in portatori di neurofibromatosi; le leucemie in bambini affetti da sindrome di Down. Si può dunque affermare che alcuni fattori genetici svolgano un ruolo importante nel favorire lo sviluppo di un tumore in un bambino, ma considerare fattori genetici come predisposizioni all'insorgenza di un tumore in un bambino non significa che tali neoplasie siano ereditarie. Solo per il retinoblastoma bilaterale (neoplasia che colpisce la retina nei primi due anni di vita) è stata accertata l'ereditarietà. Tuttavia, ci sono evidenti correlazioni tra lo stile di vita, nonché l'alimentazione, durante la gravidanza e la manifestazione di tale patologia nel neonato, come riportato nei capitoli successivi (Mastrangelo *et al.*, 2012).

Come per tutte le forme neoplastiche, la diagnosi precoce è la premessa fondamentale per attuare terapie tempestive ed efficaci, allo scopo di raggiungere una sicura e definitiva guarigione. Tuttavia, l'identificazione di una sospetta neoplasia nell'infanzia è un momento diagnostico difficile. I tumori del bambino sono talora difficili da diagnosticare in tempi brevi, proprio perché rari e perché danno segno di sé con una sintomatologia spesso vaga e non specifica, specie quando le condizioni generali del bambino e dell'adolescente non ne risultano compromesse.

Negli ultimi anni, da quando pediatri, chirurghi, radioterapisti hanno affrontato con tenacia e senza fatalismo i problemi apparentemente disperati dei tumori dell'infanzia, l'oncologia pediatrica ha avuto sviluppo autonomo. L'oncologia e la pediatria, due discipline così lontane fra loro, si sono in tal modo alleate nella lotta per la vita. I miglioramenti nella sopravvivenza e nelle percentuali di guarigione sono il risultato di questo faticoso lavoro, affrontato con metodo e sistematicità, con approccio multidisciplinare, in istituzioni oncologiche e pediatriche (Rapporto AIRTUM-AIEOP, 2012).

Molti degli straordinari progressi nella terapia oncologica pediatrica sono il risultato dello sviluppo di terapie che coinvolgono gli sforzi collaborativi di ricercatori clinici e

di laboratorio all'interno di gruppi di studi di ricerca clinica. Circa 200 strutture degli Stati Uniti, Canada, Australia e Nuova Zelanda, appartengono al National Cancer Institute funded Children's Oncology Group, nelle quali i bambini sono sottoposti alle stesse cure mediche. Ruolo fondamentale è affidato all'equipe di psicologi, che aiutano il paziente ad alleviare la sofferenza conseguente a trattamenti, biopsie e test invasivi. La maggior parte dei bambini (55%-65%) di età inferiore ai 14 anni partecipa alla ricerca, al contrario la partecipazione è molto più bassa per gli adolescenti (10%), presumibilmente perché molti adolescenti ricevono assistenza presso i centri per il cancro degli adulti o negli ospedali della comunità (Kazak & Noll, 2015).

1.1.1 I meccanismi della cancerogenesi

Il termine “cancro” fu coniato da Ippocrate, da greco *càrcinos*, che significa granchio e sta a indicare la caratteristica “infiltrativa” del tumore e la sua straordinaria capacità di aggressione nei confronti delle strutture circostanti. Il cancro è una patologia che non nasce nell'età moderna: Zink *et al.* (1999) hanno rilevato l'insorgenza di osteosarcomi nelle mummie dell'antico egizio. Attualmente è una delle principali cause di debilitazione e morte nell'uomo e negli animali. Esso si sviluppa in funzione dell'età, dell'ambiente, dell'alimentazione e della composizione genetica, sia nell'uomo che negli animali.

Con l'avvento di nuove tecnologie nell'ambito della biologia molecolare, la cancerogenesi si sta dimostrando molto più complessa dall'essere semplicemente la proliferazione clonale di una cellula, causata dall'azione di un agente cancerogeno. L'attuale modello multistep di cancerogenesi coinvolge molte mutazioni genetiche. Le caratteristiche distintive della cancerogenesi includono alterazioni genetiche coinvolte nel sostenere la proliferazione, nell'eludere i fattori oncosoppressori, nella resistenza alla morte cellulare, nell'induzione dell'angiogenesi, nell'attivazione di metastasi, nella riprogrammazione del metabolismo energetico e nell'eludere il sistema immunitario (Hanahan & Weinberg, 2011).

Durante la fase iniziale della carcinogenesi, una cellula normale subisce un'alterazione irreversibile (mutazione del DNA) e acquisisce la capacità intrinseca di proliferare autonomamente. Questa capacità rimane latente per settimane, mesi o anni, durante i quali la cellula iniziata può essere fenotipicamente indistinguibile dalle altre cellule in

quel tessuto. La conversione di una cellula trasformata in una neoplasia completamente maligna è di solito un processo prolungato, che può anche durare anni.

La promozione è considerata quella fase della cancerogenesi in cui agenti specifici, noti come promotori, incrementano lo sviluppo di neoplasie. I promotori includono agenti che non interagiscono direttamente con il DNA cellulare, non essendo genotossici, ma influenzano l'espressione delle informazioni genetiche codificate nel DNA cellulare. Quando la proliferazione cellulare acquisisce la capacità metastatizzante e invasività, inizia la fase di progressione.

Il ruolo chiave della cancerogenesi, in tutte le sue fasi (ad es. inizio, promozione, progressione) è indissolubilmente legato ai meccanismi di controllo del ciclo cellulare, influenzati da oncogeni e oncosoppressori. La proliferazione cellulare incontrollata è il segno distintivo della neoplasia e molte cellule tumorali dimostrano danni ai geni che regolano direttamente i loro cicli cellulari.

Il modello prevalente del ciclo cellulare è quello di una serie di transizioni in cui determinati criteri devono essere soddisfatti prima che la cellula passi alla fase successiva. Il ciclo cellulare è composto da una fase S (sintesi del DNA) e una fase M (mitotica), separate da due fasi di gap (G1 e G2). Queste fasi rappresentano dei veri e propri “*checkpoints*”, durante i quali vengono attivati i meccanismi di riparazione del DNA, prima di un'ulteriore progressione nel ciclo. Se la cellula presenta una serie di alterazioni e mutazioni che non riesce a riparare, si attivano meccanismi che arrestano il ciclo cellulare e attivando la morte cellulare programmata (apoptosi). Questi processi, che vengono alterati con la cancerogenesi, impediscono l'accumulo di mutazioni nella cellula e nelle cellule figlie (Malarkey, 2013).

Le inevitabili esposizioni alle radiazioni e ai prodotti chimici e gli stili di vita che espongono le persone alle sostanze cancerogene iniziano nelle prime fasi della vita. Il periodo di latenza tra l'esposizione a un agente cancerogeno e l'insorgenza clinica del cancro è generalmente lungo, spesso decenni. Di conseguenza, è stato dimostrato che esposizioni durante la gestazione, l'infanzia e l'adolescenza portano allo sviluppo del cancro in età adulta (Birnbaum & Fenton, 2003; World Health Organization, 2007). Le età più vulnerabili a fattori cancerogeni sono il periodo fetale e i primi anni di vita. L'esposizione a sostanze chimiche cancerogene durante lo sviluppo embrionale rappresenta un rischio particolarmente significativo, poiché in questa fase avviene la formazione di organi e tessuti: le cellule si replicano rapidamente e se avviene un danno al DNA, possono verificarsi difetti permanenti (Ginsberg, 2003). L'embrione dipende

completamente dall'ambiente intrauterino, influenzato dalla salute e dallo stile di vita materni. Molte sostanze chimiche possono attraversare la placenta. Sono stati trovati, infatti, agenti cancerogeni noti o sospetti nel sangue del cordone ombelicale, nel liquido amniotico ed anche nel latte materno (Zhao *et al.*, 2007; Bradman *et al.*, 2007; Nakamura *et al.*, 2008).

Durante la pubertà e l'adolescenza, aumenta il rischio di esposizione a sostanze chimiche. Gli adolescenti, che stanno acquisendo una certa autonomia per quanto riguarda la scelta di attività, alimenti e bevande, sono molto impulsivi e, talora, mancano di buon senso, aumentando l'esposizione a sostanze tossiche come il tabacco, sostanze di abuso e sostanze chimiche, presenti anche in prodotti per la cura personale (Mills *et al.*, 2002).

I bambini sono organismi in continua fase di crescita: cambiamenti notevoli nella proporzione del corpo, composizione e fisiologia avvengono durante l'infanzia. Crescita e sviluppo sono particolarmente rapidi durante i primi anni di vita: l'altezza incrementa del 50% durante il primo anno di vita ed il peso del corpo raddoppia dai cinque ai sei mesi e triplica al primo anno (Grodin & Glantz, 1994). Dato che i loro tessuti sono caratterizzati da una maggiore attività di divisione cellulare (attività mitotica) rispetto agli adulti, sono più sensibili agli agenti teratogeni, come farmaci, chemioterapici e radiazioni (Alzen & Benz-Bohm, 2011). L'Organizzazione Mondiale della Sanità (2007) ha sottolineato che l'esposizione a cancerogeni durante la vita intrauterina o nella prima infanzia può provocare lo sviluppo di tumori durante l'infanzia o durante la vita adulta. Inoltre, c'è un'evidenza diretta che i bambini siano più suscettibili degli adulti ad alcuni cancerogeni, incluse alcune sostanze chimiche e varie forme di radiazioni.

Durante l'adolescenza, il sistema riproduttivo, così come quello endocrino, subisce notevole sviluppo e crescita, dunque è particolarmente sensibile agli effetti delle sostanze chimiche cancerogene. Gli interferenti endocrini, ad esempio, influenzano il mantenimento della normale omeostasi ormonale agendo come agonisti ormonali o antagonisti, alterando così i processi fisiologici (Anderson *et al.*, 2000; Soto & Sonnenschein, 2010).

Carpenter & Bushkin-Bedient (2013) hanno riportato una tabella riassuntiva (Tabella 1) con gli agenti cancerogeni più comuni ai quali bambini e adolescenti sono esposti quotidianamente; non sono i soli agenti cancerogeni che destano preoccupazione, ma illustrano l'ubiquità dell'esposizione. L'esposizione attraverso l'alimentazione è una via

particolarmente importante, specialmente per i prodotti chimici presenti nei grassi animali.

Cancerogeno chimico	Via di esposizione	Fonte	Sito del tessuto e / o tipo di cancro
Acetaldeide	ingestione orale	consumo di alcool	bocca, faringe, laringe, esofago, seno, fegato
Amianto	inalazione, ingestione orale	aria interna ed esterna, particelle isolanti, coperture, pavimenti, materie plastiche tessili, cemento, freni e frizioni di automobili	tumori polmonari
Arsenico	Ingestione orale, inalazione	Acqua potabile contaminata da: depositi minerali naturali, pesticidi, alimenti come pesce, frutti di mare, riso, pollame; inquinamento atmosferico da produzione di pesticidi, produzione di vetro, combustibili fossili	reni, vescica, pelle, polmoni, tumore gastro-intestinale, linfomi
Benzene	inalazione	inquinamento atmosferico per evaporazione del carburante nelle stazioni di rifornimento di benzina	leucemia mieloide acuta
Diossine	ingestione orale	ubiquitario in gruppi di alimenti quali carne, pollame, pesce, di sottoprodotti involontari di processi industriali	polmoni linfoma non Hodgkin
Cloruro di vinile	inalazione ingestione orale	inquinamento atmosferico, acqua potabile, alimenti, emissioni dall'industria delle materie plastiche	fegato, cervello, polmoni, neoplasie del sistema linfatico e ematopoietico

Tabella 1. Correlazione tra agenti cancerogeni noti selezionati e vie di esposizione che colpiscono bambini e adolescenti (Carpenter & Bushkin-Bedient, 2013).

1.1.2 Il ruolo dell'alimentazione nella genesi dei tumori

Molti studi ormai concordano sul ruolo fondamentale dell'alimentazione sulla patogenesi delle più svariate malattie. È ampiamente riconosciuto che lo stile di vita e le abitudini alimentari influiscono sul rischio di ammalarsi di cancro. Le principali problematiche attuali che stanno dando origine allo sviluppo sempre più frequente di patologie degenerative, sono costituite dalla sempre più diffusa introduzione nell'alimentazione quotidiana di cibi industriali manipolati e dannosi per l'uomo. Gli interventi dell'uomo sulla Natura non sempre si sono rivelati un successo nel mantenere uno stato di salute.

Il legame tra la dieta ed il cancro è complesso: ogni giorno sono introdotte migliaia di sostanze che hanno attività biologica nell'organismo. Molte possono essere coinvolte nel processo di cancerogenesi, da sole oppure in associazioni con altre. Gli effetti della dieta sono dovuti a una combinazione di fattori che influenzano diversi meccanismi del funzionamento cellulare. Alcuni elementi presenti nei cibi sono definiti "mutageni", ovvero capaci di danneggiare il DNA e quindi potenzialmente cancerogeni. Il ferroeme, abbondante nelle carni rosse, soprattutto se cotte alla brace, promuove lo sviluppo di tumori intestinali in quanto favorisce la sintesi di nitrosammine cancerogene (prodotti dalla reazione dei nitriti con derivati degli amminoacidi).

Nell'immaginario collettivo, i gladiatori dell'Antica Roma si cibavano di carne, ma quest'interpretazione non corrisponde al vero. Infatti uno studio svolto dall'Università di Vienna nel 2014 ha rivelato che la dieta dei gladiatori era prevalentemente vegetariana, basata principalmente sul consumo di grano integrale e piatti poveri di proteine (Lösch *et al.*, 2014). Nel 2011 è stato pubblicato un lavoro di ricerca, durato circa 30 anni, dal biochimico nutrizionista Colin Campbell. Nel suo libro, *The China Study*, viene dimostrata l'importanza dell'alimentazione nella prevenzione e nella cura delle malattie degenerative, tra le quali il cancro. Egli dimostra che le proteine animali giocano un ruolo non indifferente nella genesi dei tumori: non entrano in gioco nella fase di iniziazione ma in seguito, nella fase di promozione. Infatti la somministrazione di una bassa dose di sostanze cancerogene, associata ad una dieta con il 20% di proteine animali, favorisce lo sviluppo del cancro, in topi con iniziazione cancerosa; al contrario, somministrando ad animali una dose elevata di cancerogeno, questi sviluppavano una quantità inferiore di foci (strutture primordiali del tumore), se nutriti con una dieta con il 5% di proteine. Alcune sostanze cancerose, come le ammine eterocicliche, si formano

durante una cottura della carne ad alta temperatura o durante una cottura prolungata: l'esposizione diretta alla fiamma di qualunque alimento favorisce la produzione di idrocarburi aromatici policiclici cancerogeni (Campbell & Campbell, 2011).

Naturalmente non solo le proteine animali provocano e favoriscono lo sviluppo del cancro, ma anche tante altre sostanze, ingerite inconsapevolmente con l'alimentazione, dato che queste potenzialità cancerose non sono ben conosciute o sono celate dalle industrie per non rinunciare alla produzione.

Le verdure inibiscono la cancerogenesi probabilmente attraverso numerosi meccanismi, ma il più importante è legato alle sostanze antiossidanti, quali vitamina C, vitamina E, betacarotene (precursore della vitamina A) e altri carotenoidi. Una corretta nutrizione sarebbe in grado di bloccare la manifestazione dei caratteri genici delle patologie, come il retinoblastoma bilaterale ereditario (neoplasia che colpisce la retina). Il rilevante ruolo dell'alimentazione nella genesi dei tumori è ormai evidenziato, infatti, anche dall'epigenetica (branca della genetica che si occupa dello studio di tutte quelle modificazioni ereditabili che portano a variazioni dell'espressione genica senza però alterare la sequenza del DNA). È ben noto, infatti, che la metilazione di segmenti del DNA, ottenibile con integrazione di acido folico (vitamina B) ed altri integratori, possa bloccare la lettura dei geni portatori di malattia (definiti oncogeni, nel caso dei tumori). Risulta, infatti, che femmine gravide di topi malati, opportunamente nutrite, partoriscono prole sana, che presenta lo stesso corredo genetico della prole malata, nata da madri non trattate (Waterland *et al.*, 2003; Orjuela *et al.*, 2005).

Ancora, l'assunzione di frutta e verdura ad alto contenuto di betacarotene sembra contrastare l'insorgenza del cancro al polmone. Il costante interesse economico, di riuscire ad indirizzare le necessità dell'uomo verso il mercato delle industrie agroalimentari, ha portato a ipotizzare che lo stesso effetto benefico di alcuni alimenti si potesse ottenere con la somministrazione di alte dosi farmacologiche di antiossidanti. Per questo motivo sono stati condotti esperimenti i cui risultati sono stati drammatici. In Finlandia sono state somministrate pillole di 25 mg di betacarotene a gruppi di soggetti. Lo studio è stato interrotto dopo otto anni quando fu chiaro che, contrariamente a quanto atteso, il betacarotene incrementava, nei soggetti trattati, l'insorgenza del carcinoma polmonare. Questi studi indicano semplicemente che l'uomo non è in grado di catturare in una pillola la meravigliosa complessità della natura e che corre dei rischi quando sostituisce i nutrienti naturali con molecole di sintesi, somministrate ad alte dosi

e prive dell'effetto sinergico di altre molecole presenti negli alimenti naturali (Alpha-Tocopherol & Beta Carotene Cancer Prevention Study Group, 1994).

Anche la quantità di cibo ingerito ha un ruolo nel mantenimento dello stato di salute. Ridurre la quantità di cibo, infatti, attiva meccanismi cellulari di risparmio energetico dell'organismo, inibendo attività cellulari che richiedono molta energia, come la proliferazione cellulare. Mangiare troppo, invece, è causa di obesità e di sindrome metabolica, fattore di rischio rilevante per la genesi di tumori del sistema intestinale. Una recente ricerca, che ha coinvolto circa 5000 bambini affetti da leucemia linfoblastica acuta, ha dimostrato che c'è una ridotta sopravvivenza nei bambini in sovrappeso, con indice di massa corporea (BMI) più elevato, rispetto a quelli in normopeso (Orgel *et al.*, 2016). Il meccanismo biologico che lega l'adiposità al cancro è mediato dall'insulina: l'obesità, soprattutto quella addominale, è associata ad alti livelli di insulina nel sangue. Questo ormone aumenta, *in primis*, con l'introduzione del glucosio nell'organismo, ma non solo. Le cellule tumorali consumano molto più glucosio rispetto alle cellule sane ed un maggior numero di studi ha evidenziato la forte correlazione tra glicemia alta e, ad esempio, cancro al seno. Le diete ricche di zuccheri semplici e di carboidrati raffinati (farine di tipo 0 o 00) possono promuovere lo sviluppo di tumori, aumentando la produzione di insulina, inducendo lo sviluppo del diabete e altre patologie. È ben noto come la glicemia elevata, anche all'interno dell'intervallo di normalità, sia associata ad un maggiore rischio di cancro, in particolare, alla mammella e all'intestino (Contiero *et al.*, 2013).

Alcuni alimenti possono contenere fattori che sostengono lo sviluppo di tumori, come il latte di origine animale. Il latte vaccino contiene IGF-1 (ormone della crescita insulino-simile) e ne stimola anche la sintesi: infatti, la sequenza amminoacidica di quest'ormone nella mucca è identica alla sequenza della forma umana, dunque così come viene introdotto attraverso il consumo di latte, può andare a legarsi al suo recettore e andare ad alterare la crescita dell'organismo. La produzione fisiologica di questo ormone è massima alla pubertà e declina gradualmente con l'età (è circa metà nel settantenne rispetto a quella dell'adulto). Ogni bicchiere di latte di mucca incrementa la quantità di IGF-I nel corpo umano, che sostiene l'aumento di dimensioni del cancro al seno, alle ovaie, alla prostata (tutti organi coinvolti nella regolazione degli ormoni sessuali), al colon e al polmone (Stoll *et al.*, 1997; Cramer *et al.*, 1989; Lu *et al.*, 2016).

Non bisogna sorprendersi allora se viene suggerito di interrompere immediatamente il consumo di latticini in caso di tumore: sottoporsi a cure chemioterapiche per rallentare

la crescita cancerosa e consumare latticini che contengono ormoni della crescita, è sicuramente controproducente.

1.1.3 Lo stress ossidativo

Uno dei meccanismi di partenza della carcinogenesi è rappresentato dallo stress ossidativo. Le specie reattive dell'ossigeno (ROS), per la loro reattività chimica, sono molecole molto instabili e capaci di ossidare i residui amminoacidici delle proteine, i carboidrati, le catene idrocarburiche degli acidi grassi insaturi e le basi azotate degli acidi nucleici. In particolare, le reazioni ossidative indotte dai radicali liberi causano la proteolisi o l'aggregazione aberrante delle proteine. Alcuni esperimenti, eseguiti su proteine purificate, hanno dimostrato che le proprietà chimico-fisiche sono alterate in seguito all'azione dei radicali dell'O₂ (Davies *et al.*, 1987).

Le specie reattive dell'ossigeno, oltre ad essere molecole dannose, hanno anche un ruolo in diversi processi fisiologici: fungono da mediatori in diversi pathways di segnalazione, attivando proteine come le tirosina-chinasi, fattori trascrizionali, e indurre l'espressione genica (Pinkus *et al.*, 1996).

In realtà, i ROS assumono ruoli opposti e contrari in base alle concentrazioni: quando queste specie sono presenti ad alte concentrazioni, inducono danno cellulare, mentre è stato visto che, a moderate o basse concentrazioni possono essere vantaggiose, in quanto lavorano in sincronia con i meccanismi di difesa antiossidanti cellulari che rilevano, rispondono, e trasmettono i segnali necessari al mantenimento dell'omeostasi redox (Schieber *et al.*, 2014). Generalmente, infatti, la cellula mantiene un bilanciamento tra specie ossidanti e specie antiossidanti, quello che viene definito equilibrio ossido-riduttivo o equilibrio redox.

Il danno ossidativo causato dai ROS è coinvolto nella carcinogenesi. Le cellule tumorali hanno un metabolismo molto attivo e producono molti ROS, dalla cui azione tossica hanno bisogno di proteggersi. I ROS possono intervenire in tutte e tre le fasi della cancerogenesi (iniziazione, promozione, progressione) determinando un aumento del tasso di mutazione e favorendo la trasformazione oncogenica.

Nelle fasi di iniziatazione, il radicale ossidrilico, per esempio, potrebbe danneggiare il DNA, formando 8-OH-guanina, presente in molti tumori benigni (Loft & Poulsen, 1996). Molti tumori derivano da bassi livelli cellulari di enzimi antiossidanti, che favoriscono l'accumulo di radicali liberi. Il loro effetto nell'induzione della

proliferazione, infatti, è basato sull'attivazione di principali mediatori della proliferazione cellulare con attività chinasi ROS-dipendente (Beherend *et al.*, 2003).

La fase di progressione comporta cambiamenti molecolari che permettono il passaggio dallo stadio pre-neoplastico allo stato neoplastico. Questo passaggio è irreversibile, comportando instabilità genetica, cambiamenti nella ploidia nucleare e interruzione dell'integrità cromosomica (Klaunig & Wang, 2018).

L'organismo può essere esposto ad un incremento dei livelli delle specie reattive dell'ossigeno, provenienti da fonti endogene e esogene.

Le potenziali fonti endogene di ROS includono la fosforilazione ossidativa dei mitocondri, meccanismo attraverso il quale le cellule ricavano energia, e i meccanismi di infiammazione. Durante il metabolismo ossidativo mitocondriale, circa il 4-5% dell'ossigeno molecolare viene convertito in ROS (principalmente anione superossido). È stata identificata una correlazione tra i livelli di ROS mitocondriali e lo sviluppo del tumore (Ishikawa *et al.*, 2008).

I leucociti, quali neutrofili, eosinofili e macrofagi sono anche una fonte endogena di specie reattive dell'ossigeno, che vengono prodotte e rilasciate durante un'infiammazione.

Radiazioni ionizzanti così come sostanze chimiche quali composti clorurati, ioni metallici, barbiturici, esteri del forbolo e alcuni composti perossidi rappresentano una fonte esogena di ROS, incrementando lo stress ossidativo, con conseguente danno al DNA (Klaunig & Wang, 2018).

I livelli di ROS incrementano anche a causa dell'ipossia indotta nei tumori quando il sistema vascolare non può più fornire adeguatamente ossigeno alla massa tumorale. La formazione di legami disolfuro provocata dall'incremento di ROS può influire su una vasta gamma di proteine cellulari e provocare alterazioni nella struttura dei lipidi e altri eventi a cascata (Valko *et al.*, 2007).

La maggior parte dei chemioterapici agisce incrementando i livelli di ROS nelle cellule tumorali, che superano il valore soglia che permette l'attivazione di antiossidanti e sistemi di riparazione, inducendo la cellula a morte cellulare. Si ipotizza che l'amplificazione chemioterapica dei livelli di ROS oltre il valore soglia (già più alto nelle cellule tumorali rispetto a quelle sane) spinga le cellule tumorali verso morte cellulare; questo è uno dei meccanismi proposti mediante i quali più chemioterapie inducono la regressione del tumore (Pelicano *et al.*, 2004; Yang *et al.*, 2018).

1.1.4 Cancerogenesi e senescenza cellulare

Il termine senescenza deriva dal latino “*senectus*”, vecchiaia, in quanto tale processo cellulare è fisiologicamente correlato all’invecchiamento e alle malattie associate a quest’ultimo. Nel 1965, Hayflick scoprì che le cellule sane non potevano proliferare all’infinito dopo essersi duplicate dozzine di volte, ma entravano in senescenza. La senescenza induce l’arresto permanente del ciclo cellulare, efficace per garantire che le cellule danneggiate o trasformate non perpetuino il loro genoma. Generalmente, infatti, le cellule sane crescono e si dividono in maniera strettamente controllata. Alterazioni a livello delle molecole di DNA e/o iperattivazioni di geni oncogeni accendono una serie di meccanismi atti ad arginare la capacità proliferativa anomala della cellula. Le cellule danneggiate possono andare incontro a senescenza, perdendo ogni potenziale replicativo e capacità di rispondere agli stimoli di crescita, oppure, se il danno cellulare è irreversibile, vengono avviate verso la morte cellulare programmata, o apoptosi (Kuilman *et al.*, 2010).

Sono stati identificati diversi meccanismi di senescenza: la senescenza cellulare replicativa e la senescenza cellulare prematura. L’insorgenza della prima sembra essere correlata al processo fisiologico che si verifica ad ogni fase S del ciclo cellulare, cioè l’accorciamento delle regioni terminali del cromosoma composte da sequenze di DNA altamente ripetute e che prendono il nome di telomeri. Questo determina il fatto che le cellule possono dividersi un numero definito di volte, oltre il quale entrano fisiologicamente nella senescenza replicativa, perdendo la capacità di proliferare ulteriormente (D’Adda di Fagagna *et al.*, 2003).

L’ingresso in senescenza della cellula può essere dovuto anche a fattori estrinseci, quali l’irradiazione con raggi X o UV, stress ossidativi o segnali dovuti all’espressione di alcuni oncogeni. Si parla in questo caso di senescenza cellulare precoce, e in particolare di “senescenza indotta da stress”. In seguito allo stimolo esterno, l’insorgenza della senescenza può essere rapida o può manifestarsi anche a distanza di tempo dall’insulto (Chen, 2000).

In ogni caso, tutte le cellule senescenti condividono una serie di caratteristiche che consentono la loro identificazione sia *in vitro* che *in vivo*: l’arresto del ciclo cellulare; una morfologia peculiare, in quanto le cellule possono diventare grandi, piatte, multinucleate e non quiescenti ma, piuttosto, metabolicamente attive; elevati livelli di espressione della β -galattosidasi, enzima glicosidico-idrolasi che catalizza l’idrolisi dei

β -galattosidi in monosaccaridi attraverso la rottura di un legame glicosidico; aumento dei livelli di ROS (Sikora *et al.*, 2016).

La senescenza è un meccanismo che può avere differenti conseguenze, anche opposte tra loro: è un potenziale meccanismo della cellula per evitare una trasformazione maligna, tuttavia, può anche promuovere lo sviluppo del cancro, secernendo fattori senescenti, alterando il microambiente cellulare. Gli agenti citotossici sono spesso usati in dosi elevate per eliminare le cellule tumorali, che purtroppo possono provocare gravi effetti collaterali sulle cellule sane. In alternativa, dosi più basse degli stessi agenti possono indurre senescenza nelle cellule tumorali ed evitare effetti collaterali sulle cellule sane (Ewald *et al.*, 2010). In effetti, l'induzione della senescenza è una strategia nel trattamento del cancro, tuttavia le cellule tumorali senescenti possono rientrare nel ciclo cellulare e la tumorigenesi può riprendere anche dopo tempi prolungati (Gewirtz *et al.*, 2009). Le cellule senescenti, inoltre, possono secernere molecole che promuovono l'invasione del tumore con metastasi (Parrinello *et al.*, 2005; Zeng *et al.*, 2018).

1.2 Le terapie per il trattamento di pazienti oncologici pediatrici

Il cancro infantile rimane un'importante questione di salute pubblica e, nonostante il tasso di sopravvivenza complessivo sia più elevato rispetto all'insorgenza in età adulta, rimane la principale causa di morte infantile. La collaborazione internazionale con società europee, formate da professionisti della salute, ricercatori, genitori e pazienti, insieme a tutte le parti interessate, permette di superare le sfide per aumentare sia la cura sia la qualità della vita dei bambini e adolescenti affetti da patologie oncologiche. La crescente complessità della diagnosi e della pianificazione dei trattamenti da effettuare, richiede un input multidisciplinare competente e la formazione di reti cliniche di qualità, condizioni importanti per ottenere risultati nel cancro infantile (Vassal *et al.*, 2013).

In oncologia pediatrica, la prima urgenza è ottenere una diagnosi il più rapidamente possibile, per aumentare la probabilità di guarigione.

In accordo con gli standards europei per la cura di bambini affetti da tumore della Società Europea di Oncologia Pediatrica (2009), tutti i bambini oncologici devono essere trattati secondo i migliori protocolli di terapia disponibili.

1.2.1 La chemioterapia

La chemioterapia consiste nella somministrazione di farmaci anticancro (citotossici) atti a distruggere le cellule tumorali. Generalmente i bambini ricevono una combinazione di farmaci che agiscono sulle cellule in attiva crescita e moltiplicazione rapida, come le cellule tumorali.

I tumori che più comunemente colpiscono i bambini di solito rispondono bene alla chemioterapia perché, paradossalmente, sono tumori che crescono molto rapidamente. La chemioterapia può essere somministrata per via endovenosa, per via orale, per iniezione intramuscolare o per iniezione sottocutanea, in base alla patologia. Viene spesso somministrata ciclicamente: ciò significa che il bambino alternerà periodi di trattamento e periodi di riposo. Questo aiuta il bambino a riprendersi e a recuperare le forze prima del successivo ciclo di trattamento.

Una volta confermata la diagnosi, devono essere stabiliti l'estensione del tumore (dimensione, posizione, relazione con le strutture circostanti, ed eventuale comparsa di linfonodi infiltrati).

È difficile identificare la stadiazione della neoplasia infantile. I sistemi di stadiazione generalmente passano da una malattia localizzata (stadio I) a una malattia diffusa (stadio IV) e si basano sui risultati ottenuti dall'esame clinico, dalla radiologia e dalla patologia. La stadiazione della malattia determina il trattamento cui sottoporre il paziente e la sua prognosi. Sebbene la chemioterapia sia necessaria per quasi tutti i tumori infantili, l'asportazione chirurgica è consigliata per alcuni tumori maligni, come i tumori del testicolo in stadio I ed il neuroblastoma in stadio I o II (addominale o toracico).

Qualunque sia il meccanismo attraverso il quale agisce il farmaco, c'è una correlazione tra la sensibilità ai farmaci antitumorali e lo stadio del ciclo cellulare al momento del trattamento. Durante la fase di sintesi del DNA (fase S) la maggior parte degli agenti chemioterapici risulta efficace, contrariamente alla fase di riposo (fase G₀), durante la quale la maggior parte delle cellule tumorali sarà chemio-resistente.

I farmaci anticancro possono essere classificati sulla base della fase del ciclo cellulare durante la quale sono più efficaci. Ad esempio la vinblastina e la vincristina agiscono prevalentemente sulle cellule in fase mitotica (fase M); il teniposide e l'etoposide sono efficaci durante la fase pre-mitotica (fase G₂); il metotrexato e la 6-mercaptopurina agiscono durante la fase S (Ronghe & Murphy, 2016).

Durante il trattamento possono però svilupparsi cellule "resistenti": la resistenza tumorale è correlata ad una mutazione genetica che altera il meccanismo d'azione del farmaco, come ad esempio, la modificazione delle molecole coinvolte nel trasporto del farmaco all'interno della cellula. Per evitare la farmaco-resistenza, è necessario utilizzare una combinazione di chemioterapici e somministrare la dose massima tollerata delle combinazioni, per ottenere una morte cellulare ottimale, in un momento in cui le dimensioni della popolazione resistente ai farmaci sono limitate (Goldie & Coldman, 1979).

Come molti trattamenti farmacologici, la chemioterapia ha effetti collaterali sia a breve che a lungo termine, soprattutto nei pazienti pediatrici, che possiedono cellule sane con alto indice mitotico, come quelle nel rivestimento della bocca, del midollo osseo, dei follicoli piliferi, dell'apparato digerente e le gonadi. Effetti collaterali a breve termine sono: fatica, irritazione della pelle, nausea, vomito, piaghe alla bocca, perdita di capelli, anemia, alterazioni del sistema immunitario. Le lesioni cutanee sono frequentemente osservate nelle regioni con maggiore attività mitotica come capelli, mucosa e unghie (Ceylan *et al.*, 2015).

I pazienti con masse tumorali consistenti possono soffrire di sindrome da lisi tumorale (rilascio massiccio e veloce di componenti cellulari nel flusso sanguigno dopo la rapida lisi di cellule tumorali), provocando la nefropatia da acido urico. I fosfati e il potassio vengono rilasciati nella circolazione dalle cellule lisate, portando a iperpotassemia, iperfosfatemia e ipocalcemia. Questo problema si riscontra più spesso nelle neoplasie ematologiche, ma può verificarsi anche nei tumori solidi (linfoma di Burkitt, tumori a cellule germinali, neuroblastoma metastatico). Prima di iniziare il trattamento per queste neoplasie, è necessario misurare la funzionalità renale e garantire un'adeguata idratazione (Ronghe & Murphy, 2016).

Gli effetti a lungo termine possono coinvolgere più di un organo e dipendono dal tipo di trattamento. Alcuni tipi di chemioterapia vengono somministrati direttamente nella colonna vertebrale (chiamata chemio intratecale o “chemio spinale”) e possono provocare difficoltà di apprendimento nei bambini. Ciò è più probabile se vengono utilizzate dosi più elevate di alcuni farmaci chemioterapici e se il bambino è più giovane al momento del trattamento. Molti agenti chemioterapici, comunemente utilizzati nel trattamento del cancro, possono causare lesioni acute e croniche del sistema nervoso periferico e disfunzioni definite “neuropatia periferica indotta da chemioterapia” (CIPN). Composti a base di alcaloidi o platino sono agenti comunemente usati nel cancro infantile e si sta studiando la tollerabilità di queste molecole nel sistema nervoso periferico (Kandula *et al.*, 2016).

Una classe di farmaci chemioterapici, le antracicline, usate per trattare molti tumori infantili, può danneggiare il muscolo cardiaco o influenzarne il ritmo. L'entità del danno è correlata alla dose totale del farmaco somministrato e all'età del bambino al momento del trattamento. I medici cercano di limitare il più possibile le dosi di questi farmaci, pur continuando a somministrare dosi sufficientemente elevate per trattare efficacemente il cancro. Inoltre la chemioterapia può contribuire ad un rallentamento della crescita del paziente, soprattutto se associata alla radioterapia, dovuto ai danni provocati sulle ghiandole endocrine, come l'ipofisi. Anche le gonadi sono organi altamente sensibili a questi trattamenti: la produzione di spermatozoi e di cellule uovo può essere altamente compromessa, provocando infertilità. Per alcuni, questo può essere solo temporaneo, ma per altri può essere di lunga durata o addirittura permanente (American Cancer Society, 2017).

1.2.2 La radioterapia pediatrica

La radioterapia, tramite radiazioni ionizzanti quali raggi X, raggi γ , radiazioni di particelle β e altri, è un trattamento efficace per il controllo del tumore locale. Essa consiste nell'esposizione a radiazioni elettromagnetiche o di particelle, per il trattamento di riduzione di tumori maligni. Le radiazioni possono essere erogate dall'esterno (come una radiografia), oppure somministrando materiale radioattivo. Le prime vengono erogate utilizzando un dispositivo, chiamato acceleratore lineare, che produce radiazioni fotoniche.

L'energia liberata dalle radiazioni è di tipo ionizzante, ciò significa che interrompe la struttura atomica del materiale che attraversa, in questo caso il tessuto umano. La ionizzazione produce cambiamenti chimici e biologici nei tessuti. Questi cambiamenti possono riguardare qualsiasi componente cellulare; tuttavia, il più importante è il danno al DNA, che può avere effetti precoci o tardivi. Alcune cellule moriranno rapidamente, invece altre lo faranno in un secondo momento, quando verrà "utilizzata" la regione del DNA danneggiata. Naturalmente, anche le cellule sane sono esposte alla radiazione, ma queste presentano meccanismi di riparazione del DNA più efficaci rispetto alle cellule tumorali.

La dose totale necessaria per diversi tipi di tumore varia; alcuni sono più sensibili (ad es. linfoma, leucemia), altri sono relativamente resistenti (ad es. osteosarcoma). La dose richiesta non varia con l'età del bambino, sebbene la biologia di un particolare tumore possa variare tra un bambino molto piccolo rispetto a un bambino più grande (come nel caso del neuroblastoma). La dose di radiazione è comunemente espressa in gray (Gy) o centigray (cGy), dove $100 \text{ cGy} = 1 \text{ Gy}$.

Se la dose totale fosse erogata in un singolo trattamento, l'effetto antitumorale sarebbe eccellente; tuttavia, l'effetto sui tessuti sani sarebbe troppo devastante. La dose totale è quindi suddivisa in un numero di piccole dosi o frazioni, che vengono erogate su base giornaliera. Ciò consente ai tessuti sani di riparare alcuni dei danni al DNA.

Tradizionalmente una dose di radioterapia viene somministrata quotidianamente, con un intervallo di 24 ore tra i trattamenti. La riduzione dell'intervallo tra le frazioni, ad esempio a 6-8 ore, dovrebbe comportare un maggiore effetto biologico sulle cellule sane e tumorali. Se l'intervallo è abbastanza lungo per il recupero del tessuto sano, ma non abbastanza per il recupero del tessuto tumorale, vi sarà un danno maggiore alle cellule tumorali. Questo tipo di erogazione di radioterapia si chiama iperfrazione, che tuttavia

pone problemi logistici, poiché la giornata lavorativa dura in genere 8 ore. Pertanto, la prima dose deve essere somministrata al mattino e l'ultima alla sera.

La maggior parte dei bambini sarà trattata con frazioni di circa 1.8 Gy al giorno, 5 giorni alla settimana per 2-6 settimane. La dose giornaliera erogata copre un range che va da 1.5 a 2 Gy.

Naturalmente è importante che il paziente resti fermo durante il trattamento: nella fase di settaggio del macchinario, viene definita l'area da trattare, aggiungendo generalmente un margine di 10 mm in più rispetto alla zona target. Nei bambini, che hanno una dimensione complessiva più piccola, il margine extra da irradiare è più significativo.

In tutti i pazienti, tuttavia, vengono utilizzati una serie di ausili per permettere al paziente di assumere una posizione comoda, limitandone i movimenti, come rinforzi per le ginocchia e particolari cuscini, ripieni di perline di polistirolo, che si modellano sulla forma del paziente. Questi mantengono la loro forma nel corso del trattamento e anche successivamente, in modo che il paziente assuma la medesima posizione anche durante la seduta successiva.

Il trattamento può durare dai 10 ai 30 minuti, a seconda della collaborazione, della rapidità con cui è possibile ottenere la posizione di trattamento corretta e del numero di campi da trattare. Durante la seduta, nessuno è autorizzato a restare nella sala di trattamento e l'osservazione del paziente avviene tramite televisione a circuito chiuso. Nella sala, può essere proiettato un film o riprodotta della musica. In alcuni casi, è importante preparare il bambino al trattamento facendo degli esercizi a casa: i genitori chiedono al bambino di sdraiarsi sul tavolo di casa, aspettando fuori la porta (Cowie, 2016).

La radioterapia rappresenta un trattamento efficace per il controllo locale del tumore ma gli effetti devastanti delle radiazioni ionizzanti sulla salute umana sono stati scoperti dopo la scia dell'esplosione della prima bomba atomica nel 1945. Jacobson (1952) dimostrò che l'insufficienza ematopoietica era la principale causa di morte dopo l'esposizione alle radiazioni. Queste incrementano la produzione di radicali liberi, che possono danneggiare ulteriormente i tessuti in presenza di ossigeno, formando le specie reattive dell'ossigeno che provocano alterazioni metaboliche e funzionali della cellula (Shao *et al.*, 2014).

Gli effetti collaterali a breve termine consistono in reazioni della pelle e delle mucose, che possono guarire lasciando però cicatrici. Quando viene irradiata la zona del cuoio capelluto, si può sviluppare perdita dei capelli dopo 10-14 giorni. Una piccola parte dei

pazienti può soffrire di una sindrome da ipersensibilità alle radiazioni (di origine genetica): le radiazioni devono essere evitate in questi pazienti poiché gli effetti collaterali possono essere devastanti o potenzialmente letali (Cowie, 2016).

I bambini soffrono particolarmente per gli effetti collaterali a lungo termine provocati dalla radioterapia. Questi si verificano dopo diversi anni o decenni. Le radiazioni provocano danni in modo particolare ai tessuti ad alto indice mitotico, quali il midollo osseo emopoietico e le gonadi. In particolare, nel bambino il midollo osseo emopoietico è molto attivo, ciò comporta un'estrema sensibilità al danno da radiazioni. Ne consegue pertanto una grande difficoltà nell'erogare la giusta dose in ambito pediatrico (Georgiou *et al.*, 2010).

Lo sviluppo del sistema nervoso centrale è molto sensibile all'effetto dannoso della radioterapia. Infatti bambini di età inferiore a 3 anni possono manifestare alterazioni neurocognitive.

Dosi di 25 Gy inibiscono lo sviluppo dei tessuti molli, mentre 30 Gy compromettono la futura crescita ossea, provocando asimmetria e scoliosi. Possono inoltre svilupparsi tumori secondari dopo diversi anni, soprattutto nella regione esposta all'irradiazione (Meadows, 2001).

La figura 1 mostra i campi richiesti per l'irradiazione all'intero del polmone e del rene in un paziente con tumore di Wilms (tumore maligno de rene) e metastasi polmonari. L'area da trattare coinvolge anche la ghiandola mammaria, provocando ipoplasia mammaria o scarso sviluppo durante la pubertà (Cowie, 2016).

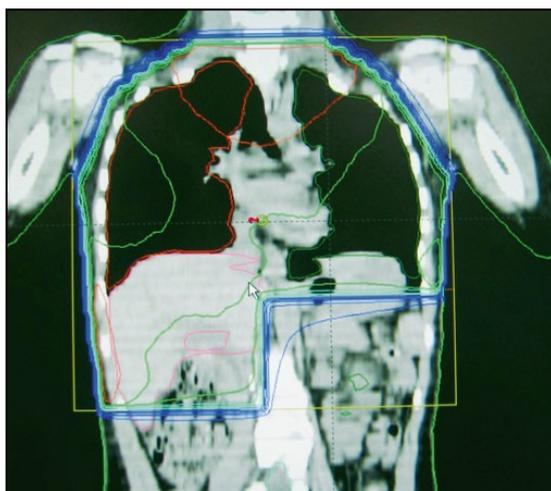


Figura 1. Scansione di una tomografia computerizzata di un paziente con tumore di Wilms che necessita di radioterapia su entrambi i polmoni e sul fianco destro (Cowie, 2016).

Questi effetti dannosi possono essere minimizzati attraverso l'utilizzo di una dose efficace totale più bassa in un tempo complessivo adeguato. La curva dose-risposta della radioterapia ha una forma sigmoidea: una piccola diminuzione della dose può comportare una forte riduzione dell'effetto antitumorale (Figura 2).

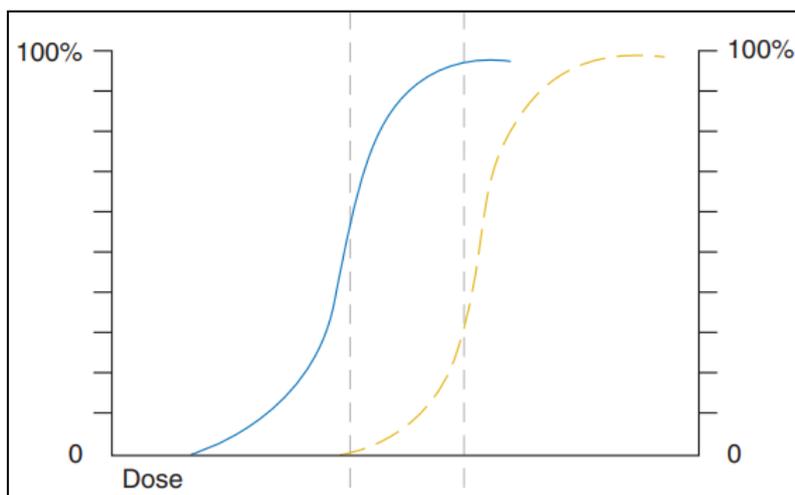


Figura 2. Curve dose-risposta che mostrano la relazione tra la dose crescente e la probabilità di guarigione del tumore (curva blu) e la normale probabilità di complicanze del tessuto (curva gialla). Il rapporto terapeutico è determinato dalla separazione orizzontale tra le curve. Un agente protettivo ideale sposta la curva di complicazione verso destra senza influire sulla curva di controllo del tumore (Mell & Movsas, 2008).

L'energia delle radiazioni può provocare danni direttamente, per rilascio di elettroni, e/o indirettamente dalla produzione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), danneggiando le cellule tumorali (Hernández *et al.*, 2015). Tuttavia, possono verificarsi danni nei tessuti sani vicini, in cui si può innescare un arresto irreversibile del ciclo cellulare e produzione di fattori che stabiliscono la senescenza cellulare. Che siano prodotti naturalmente o artificialmente, i ROS sono la fonte principale e persistente di danno ossidativo endogeno al DNA nelle cellule (Chen *et al.*, 2007). È stato dimostrato che i ROS in alta concentrazione provocano senescenza cellulare irreversibile *in vitro* (Shimura *et al.*, 2016). Shao *et al.* (2014) hanno mostrato *in vivo* la correlazione tra i ROS e la senescenza cellulare: topi irradiati manifestavano alterazioni nelle cellule progenitrici ematopoietiche, significativamente attenuate dall'applicazione di molecole antiossidanti.

La radioterapia può avere effetti diversi a seconda della dose e del tipo di tessuto esposto: cellule endoteliali cardiovascolari esposte ad una dose molto elevata (> 10 Gy) hanno mostrato alti livelli di apoptosi, mentre l'esposizione a una dose moderata di radiazioni (0.5-10 Gy) ha indotto principalmente la senescenza (Wang *et al.*, 2016).

La radioterapia, tramite radiazioni ionizzanti, funge da trattamento efficace per il controllo locale del tumore, ma con effetti collaterali sulle cellule sane, che possono indurre infiammazione e fibrosi nelle regioni irradiate e vicine. La ricerca ha rivelato che il fenotipo senescente è osservabile negli organi irradiati. Questo processo inizia con un danno al DNA mediato dalle radiazioni, dopo di che si verifica un arresto del ciclo cellulare per stabilire infine la senescenza (Li *et al.*, 2018).

1.2.3 Il trapianto di cellule staminali

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche rappresenta, attualmente, la cura principale per numerose malattie del sangue come la leucemia e i linfomi. Trattandosi di una cura complessa è necessario che si verifichino le seguenti condizioni: in primo luogo, lo stato di salute del malato deve essere in grado di tollerare una chemioterapia ad alte dosi; in secondo luogo, la malattia da curare deve essere sensibile ai farmaci.

Il prelievo delle cellule staminali emopoietiche può essere effettuato attraverso l'aspirato midollare, l'afèresi di sangue periferico e l'utilizzo di sangue cordonale.

Il malato è sottoposto a chemioterapia ad alte dosi, detto “regime di condizionamento”, capace di indurre un’aplasia midollare irreversibile, fondamentale per l’eradicazione della malattia e per l’immunosoppressione necessaria all’attecchimento del trapianto.

Esistono tre principali tipi di trapianto emopoietico: autologo, allogenico e singenico. Si parla di trapianto autologo quando la persona che dona il midollo (donatore) è la stessa che lo riceve (ricevente); di trapianto allogenico quando il donatore è un fratello, un familiare, o un non familiare, compatibile con il malato; di trapianto singenico, molto raro, quando il donatore e il ricevente sono gemelli monovulari

Le complicanze infettive sono tra le cause più importanti di mortalità correlate al trapianto: i fattori di rischio più rilevanti sono la possibilità di rigetto del trapianto e la riabilitazione immunitaria ritardata. Ai soggetti viene somministrato un trattamento profilattico antibatterico, antimicotico e antivirale durante le fasi di preparazione, non sempre sufficienti ad evitare gli effetti collaterali di questo trattamento (Yeşilipek, 2014).

1.2.4 La terapia del dolore

La diagnosi sospetta di cancro di un bambino può iniziare con una visita dal pediatra o al pronto soccorso con sintomi sospetti di una malattia virale o di lesioni lievi. I test iniziali stimolano a effettuare successive valutazioni e lo sviluppo di un piano terapeutico, generalmente in un ospedale pediatrico o in un centro medico regionale. C’è urgenza di confermare la diagnosi e iniziare il trattamento; un processo che richiede almeno 2-3 giorni può ridurre al minimo le preoccupazioni prolungate per bambini e famiglie. In pochi giorni, ai genitori vengono fornite ampie informazioni sul cancro e probabilmente viene offerta la possibilità di partecipare a uno studio clinico (Kodish *et al.*, 2004).

Il dolore è la manifestazione più tangibile della propria malattia: è un segnale importante per effettuare la diagnosi iniziale e diventa un fattore sensibile nell’indicare l’evoluzioni positive o negative durante il decorso della patologia. Il dolore rappresenta, tuttavia, un costante riflesso di paura e ansia per tutto quello che la malattia comporta. L’incidenza del dolore durante una malattia oncologica pediatrica, è elevata: in più del 50% dei casi, è presente fra i sintomi d’esordio e la percentuale aumenta durante il decorso della malattia. Nel 100% dei casi, i piccoli pazienti percepiscono il dolore

iatrogeno, cioè secondario e provocato dalle procedure terapeutiche. Pertanto, la gestione del bambino affetto da neoplasia non può prescindere da un'attenta valutazione e terapia del sintomo dolore, il quale mina l'integrità fisica e psichica del bambino, che ne conserva il ricordo (Benini, 2000).

L'esperienza del dolore ha componenti biologiche, cognitive ed emotive, per questo gli psicologi svolgono un ruolo chiave nell'alleviare la sofferenza. Dolore e angoscia sono le sensazioni percepite dai piccoli pazienti quando vengono sottoposti a procedure mediche come biopsie del midollo osseo ed altri esami invasivi. Non è semplice individuare l'approccio migliore al dolore in un bambino oncologico, anche se le metodiche a disposizione sono molteplici. A oggi, sono state specificate delle linee guida che permettono di seguire al meglio il bambino sofferente e di migliorarne la qualità della vita. Un certo numero di interventi cognitivo-comportamentali sono effettuati per ridurre il dolore e l'angoscia, come la distrazione, il rilassamento, l'ipnoterapia, interventi psicologici e farmacologici (Patterson & Jensen, 2003; Spirito & Kazak, 2006). Il tipo di intervento viene scelto in base allo sviluppo cognitivo del bambino: ad esempio, la distrazione è più efficace con i bambini più piccoli, mentre le immagini guidate, il rilassamento e l'autoipnosi sono migliori con gli adolescenti (Cohen, 2008). L'utilizzo di un minor numero di procedure invasive e l'uso crescente dell'anestesia generale a breve durata hanno ridotto l'ansia e il dolore associato alla chemioterapia, anche se sono state sollevate alcune preoccupazioni per quanto riguarda la nefrotossicità di questo tipo di anestesia su un cervello in via di sviluppo (Stratmann, 2011). Alcuni tumori (ad es. tumori cerebrali) e particolari trattamenti (come chemioterapie che attraversano la barriera ematoencefalica) hanno effetti neurotossici sul sistema nervoso centrale in via di sviluppo che può compromettere, a breve e a lungo termine, la neurocognizione e prestazioni scolastiche del paziente. Un approccio psicologico - riabilitativo basato sulla "bonifica cognitiva" permette ai pazienti di migliorare l'attenzione, la concentrazione e la memoria e gli insegnanti applicano strategie per aiutare il paziente a riabilitarsi a scuola e a casa. Gli psicologi hanno un ruolo importante per presentare nel modo migliore i trattamenti proposti dal medico e il consenso informato, incoraggiando anche il coinvolgimento dei genitori (Kazak & Noll, 2015).

Come in tutti gli ospedali pediatrici, l'equipe medica dell'azienda Ospedaliera di rilievo del "Santobono-Pausilipon" (Napoli) è molto attenta alla gestione del dolore, praticando una terapia farmacologica atta a ridurre il dolore acuto procedurale, ovvero provocato

da procedure diagnostiche e/o terapeutiche. Spesso i bambini sono sottoposti a procedure di breve durata, ma molto dolorose, senza un'adeguata analgesia. Per molti pazienti il semplice prelievo venoso e altre procedure più invasive, come il prelievo midollare, sono pratiche effettuate con frequenza e temute sia dai piccoli pazienti che dai loro familiari. Per migliorare le pratiche invasive, vengono effettuate, sul paziente, procedure di sedazione (Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale "Santobono-Pausilipon", 2018).

La sedazione procedurale consiste in interventi farmacologici, fisici e psicologici utilizzati per prevenire, ridurre o eliminare nei bambini le sensazioni dolore derivanti dalle pratiche mediche. Il farmaco prevalentemente utilizzato è il protossido d'azoto, inalato nei pazienti pochi minuti prima dell'inizio della procedura. Questa molecola ha una velocità d'azione molto alta (2-3 minuti) ed ha una precoce dimissibilità, infatti il bimbo si sveglia dopo poco. Inoltre, tale molecola stimola la produzione di oppioidi endogeni, riducendo notevolmente lo stato di ansia del bambino e portandolo ad uno stato di euforia, che gli consentirà di ricordare la procedura non come momento di sofferenza, piuttosto di eccitazione (Babl *et al.*, 2008).

1.2.5 Cure palliative in pediatria

Curare anche quando non si può guarire è un dovere morale. I doveri professionali del medico non si esauriscono sul tradizionale terreno preventivo, riabilitativo e terapeutico con finalità "curative", ma si proiettano verso la tutela della "salute" in un'accezione ampia, in cui risulta compreso anche l'alleviamento della sofferenza, l'assistenza psicologica al paziente ed eventualmente ai suoi familiari (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008).

Un approccio che migliora la qualità della vita dei malati è rappresentato dalle cure palliative, spesso necessarie nel corso di una terapia oncologica. Le cure palliative sono un insieme degli interventi terapeutici, diagnostici e assistenziali, rivolti sia al paziente, la cui malattia non risponde più a nessun intervento farmacologico o chirurgico, sia alla famiglia. Questo tipo di assistenza viene utilizzato soprattutto quando il paziente presenta un cancro ormai incurabile, in caso di fibrosi cistica, oppure per il trattamento di una malattia irreversibile ma non progressiva, come la paralisi cerebrale. Le cure palliative non si limitano solo alla somministrazione di farmaci, ma comprendono

l'assistenza attiva a corpo, mente e spirito del bambino, al fine di migliorarne la qualità della vita, prevenendo e/o minimizzando la sofferenza. La necessità di interventi per ridurre la sofferenza è fondamentale e risulta che i bambini seguiti da squadre di cure palliative possono vivere per periodi di tempo più lunghi e il benessere emotivo dei genitori può aiutare a prendere decisioni sulle cure dei loro figli (Feudtner *et al.*, 2010). Le cure palliative pediatriche sono pianificate ed erogate attraverso gli sforzi collaborativi di un team interdisciplinare che comprende il bambino, la famiglia e gli operatori sanitari. È un percorso che inizia quando viene diagnosticata la malattia e continua indipendentemente dalle terapie somministrate per il trattamento della patologia. Il bambino può ricevere le cure palliative in ospedale, in clinica oppure a casa. La preferenza del bambino e della famiglia per il luogo di assistenza è rispettata per quanto possibile e richiede un adeguato collegamento in rete con strutture mediche locali. Un sondaggio su bambini con cancro di età compresa tra 10 e 18 anni presso il Memorial Sloan Kettering, a New York, ha mostrato che circa il 35% dei pazienti accusavano dolore, sonnolenza, nausea, tosse, mancanza di energia e di appetito. Tali sintomi erano prevalentemente associati allo stato di ricovero e alla chemioterapia recente (negli ultimi 4 mesi) (Muckaden *et al.*, 2011).

Uno studio di Hinds *et al.* (1999) che ha coinvolto bambini e adolescenti ha rivelato che la coorte di pazienti più giovane percepisce un forte affaticamento (*fatigue*), inteso come debolezza con l'ambiente ospedaliero, frequenti interruzioni del sonno e dolore. Gli adolescenti hanno descritto la *fatigue* come un'esperienza onnicomprensiva che influenza il loro stato fisico, mentale ed emotivo in relazione alle emozioni negative, alla noia e all'insonnia. Interventi utili sono stati il riposo, lasciando il centro di trattamento, la distrazione, la terapia fisica e il sollievo medico/farmacologico. L'esatta patofisiologia della *fatigue* non è nota. Negli adulti, probabilmente essa è correlata alla degradazione proteolitica e lipidica dovuta dalla neoplasia e alle anomalie endocrine dovute all'infiltrazione del tumore (Sweeney, 2004).

Quando si affrontano i sintomi fisici in un bambino con malattia avanzata, può essere importante ricordare che l'obiettivo in questa fase è massimizzare il comfort e migliorare la qualità della vita al meglio possibile, tenendo conto dei possibili effetti collaterali e benefici di un determinato trattamento.

La Raccomandazione del Consiglio d'Europa del 2003, sull'organizzazione delle cure palliative, ha riconosciuto che esse dovrebbero essere una parte vitale e integrante dei servizi sanitari. Tutti coloro che necessitano di cure palliative dovrebbero essere in

grado di accedervi senza ritardi, in un ambiente che sia, per quanto ragionevolmente possibile, coerente con i suoi bisogni e le sue preferenze. L'accesso alle cure palliative dovrebbe essere basato sul bisogno e non dovrebbe essere condizionato dal tipo di patologia, dalla localizzazione geografica, dallo status socio-economico o da altri fattori analoghi. Programmi formativi specifici in questo ambito dovrebbero essere inseriti nella formazione di tutti i professionisti sanitari.

In Italia, la legge del 22 dicembre 2017, n. 219 (Norme in materia di consenso informato e di disposizioni anticipate di trattamento) affronta il tema della terapia del dolore, del divieto di ostinazione irragionevole nelle cure e della dignità nella fase finale della vita. In accordo con l'art. 2, il medico ha il dovere di alleviare le sofferenze del paziente, anche in caso di rifiuto o di revoca del consenso al trattamento sanitario indicato. A tal fine, è sempre garantita un'appropriata terapia del dolore, con il coinvolgimento del medico di medicina generale e l'erogazione delle cure palliative, secondo la precedente legge, del 15 marzo 2010, n. 38. Tale legge tutela il diritto del cittadino ad accedere alle cure palliative e alla terapia del dolore. All'interno della cartella clinica, devono essere riportati le caratteristiche del dolore rilevato e della sua evoluzione nel corso del ricovero, nonché la tecnica antalgica utilizzata e il risultato antalgico conseguito.

In Spagna è stato adottato il *Plan Nacional de Cuidados Paliativos* (Piano Nazionale di Cure Palliative) nel dicembre 2000. Il Piano intende offrire le cure palliative secondo i bisogni, preferibilmente con finanziamenti pubblici, per garantire qualità, efficacia ed efficienza, e soddisfare malati, famiglie e professionisti. In particolare, il Piano mira a facilitare l'interdisciplinarietà e il coordinamento con altri settori (non sanitari) coinvolti, per focalizzare l'attenzione sulla casa come luogo più appropriato per le cure palliative, per assicurare lo sviluppo di linee guida e standard e per stimolare la formazione dei professionisti e delle famiglie.

In accordo con l'attuale legge 4/2017, tutte le persone, con una malattia terminale, hanno il diritto di ricevere, con il massimo rispetto, cure palliative, compresa la sedazione palliativa in caso di dolore o qualsiasi altro sintomo, conforme a protocolli specifici. Il servizio sanitario spagnolo garantisce tale assistenza palliativa anche a casa, se la qualità di assistenza è paragonabile a quella ospedaliera.

Le cure palliative non vogliono in alcun modo abbreviare la durata della vita né tanto meno prolungarla oltre il dovuto, si pongono a servizio dell'esistenza: esse non incidono

sulla quantità della vita ma solo sulla qualità, per il paziente e i suoi familiari (Falvo, 2014).

1.2.6 Considerazioni etiche sulle cure oncologiche

L'obiettivo primario dell'approccio terapeutico dovrebbe essere quello di fornire la migliore cura possibile per una malattia in atto, riducendo al minimo gli effetti collaterali, in particolare quelli a lungo termine. Questo include non solo la necessità di promuovere la salute del paziente, ma anche il dovere di valutare il suo stato psico-fisico durante il trattamento. La valutazione dell'efficacia delle terapie non può prescindere dalla necessità di porre attenzione all'emotività del paziente, alla sua reazione alla malattia e all'alterazione della qualità della vita durante e dopo il trattamento.

Nella lotta contro il cancro, le terapie della medicina convenzionale sono l'asportazione chirurgica, la chemioterapia e la radioterapia.

Il primo rimedio permette la rimozione di una parte del tumore, in quanto quest'ultimo non è che lo stadio finale e più visibile di una situazione patologica che coinvolge tutto l'organismo. Pertanto, dopo l'asportazione, le probabilità di sviluppo di recidive sono molto alte, in quanto le difese del paziente saranno ulteriormente indebolite dal trauma delle ferite, dall'intossicazione dell'anestesia, dagli antibiotici e dagli altri medicinali.

La chemioterapia consiste nella somministrazione di farmaci chemioterapici, non selettivi, che pur riducendo/sopprimendo le cellule cancerose, non dotate dei sistemi di riparazione dal danno farmacologico, danneggiano le cellule sane.

Tuttavia l'azione dei chemioterapici si manifesta su tutti i tipi cellulari a metabolismo veloce, quindi sia sul pool di cellule tumorali che sulle cellule dei tessuti sani ad alto indice mitotico, come il midollo osseo (di qui le anemie, la conseguente stanchezza, la caduta dei globuli bianchi) e la radice dei capelli (che quindi cadono) (American Cancer Society, 2019). Le ripetute somministrazioni di chemioterapici, inoltre, non hanno alcun effetto sulle cellule staminali tumorali, in stato quiescente, poiché cellule metabolicamente inattive, che quindi sfuggono al trattamento. Dunque dopo un iniziale e apparente successo della chemioterapia, il malato, con il sistema immunitario indebolito, svilupperà generalmente in breve tempo un nuovo tumore, questa volta ancor più difficile da curare (Prieto-Vila *et al.*, 2017).

La radioterapia, invece, rende incapace la cellula neoplastica di replicarsi, alterando i meccanismi di riparazione del DNA. Se le cellule tumorali sono molto numerose, la

radioterapia perde in parte o completamente la sua efficacia. Il trattamento radioterapico deve essere allora integrato con la chirurgia e con la chemioterapia (Felletti, 2017).

L'esposizione precoce alle radiazioni aumenta il rischio di sviluppare un tumore secondario in età adulta. Si pensi a i bambini pre-puberli esposti alle radiazioni ionizzanti dai test di bomba atomica nelle Isole Marshall dal 1946 al 1958, che svilupparono il cancro alla tiroide anche 30 anni dopo l'esposizione (Takahashi *et al.*, 2003). Allo stesso modo, dopo l'incidente nel reattore nucleare di Chernobyl nel 1986, è stato riscontrato un aumento del rischio di cancro alla tiroide tra le persone che avevano meno di 18 anni al momento dell'esposizione e il loro rischio è rimasto elevato per più di 2 decenni. Tuttavia, la percentuale di rischio di sviluppare il cancro alla tiroide non è aumentata tra gli adulti (Brenner *et al.*, 2011).

In pediatria, farmaci chemioterapici e radiazioni possono compromettere la funzionalità delle gonadi, sede di produzione di gameti (spermatozoi nei maschi e cellule uovo nelle femmine) e del midollo osseo ematopoietico, sede delle cellule staminali ematopoietiche necessarie per il rinnovamento cellulare del sangue. L'esposizione di questi tessuti ad agenti teratogeni può danneggiare le cellule staminali, comportando un'alterazione dell'emopoiesi e un'inadeguata produzione di gameti, con conseguente infertilità (Ogilvy-Stuart & Shalet, 1993; Green & Rubin, 2014). Risulta infatti che circa il 70% dei pazienti che guariscono da patologie cancerose in età pediatrica sviluppano patologie secondarie che possono diventare croniche, come infertilità, patologie cardiovascolari e polmonari, disfunzioni renali, problemi all'apparato muscolo/scheletrico, tumori secondari e danni al sistema cognitivo (Kazak & Noll, 2015).

La terapia proposta dovrebbe preservare la qualità della vita del paziente, di lenire i sintomi e di non peggiorare una situazione clinica resa già precaria dalla malattia. Non è eticamente giusto basarsi sull'antico concetto del paternalismo, ma sul rispetto della persona e sulla conoscenza delle sue necessità. Attualmente non vengono rispettati tali principi: i medici molto spesso utilizzano dosaggi estremamente alti di chemioterapici, a volte anche ingiustificati, spesso provocando conseguenze che possono essere invalidanti per il paziente. La tossicità iatrogena del farmaco può essere più invalidante dello stesso tumore.

Non è più sufficiente saper associare semplicemente il farmaco alla patologia, ma bisogna comprendere se sia opportuno e se è lecito farlo, poiché vi è il grande rischio di praticare terapie eccessive, che allungano il processo del morire, arrecando un danno al

paziente, invece che essergli di aiuto. In molti casi, durante lo studio di un nuovo farmaco, viene preso in considerazione il periodo durante il quale le dimensioni della massa tumorale restano invariate, indipendentemente dall'effettiva sopravvivenza dei pazienti. Tuttavia, l'intervallo libero da progressione, ovvero l'intervallo di tempo tra l'inizio del trattamento e la progressione del tumore, non significa necessariamente che il paziente viva più a lungo (Wise, 2016).

Una scelta morale dipende da una regola di comportamento, il cui fondamento è un principio morale. Ciò si concretizza nella consapevolezza che la tutela della vita, pur rimanendo un obiettivo fondamentale della medicina, deve avere limiti etici. In particolare, non devono essere applicate terapie sproporzionate, che prolungano l'esistenza del paziente, senza offrire però una reale cura. Un trattamento è definito proporzionato o sproporzionato in base ai seguenti elementi: probabilità di successo, aumento della durata di vita, aumento della qualità di vita, oneri (fisici, psichici, economici del soggetto). Il trattamento in eccesso è eticamente riprovevole perché provoca danni fisici e psichici al paziente, aumenta la sofferenza dei familiari e genera un'iniqua distribuzione di risorse (Cattorini *et al.*, 1996).

1.2.7 Il business del cancro

Nel 2015, negli Stati Uniti sono stati spesi circa 80,2 miliardi di dollari per l'assistenza sanitaria correlata al cancro: il 52% di questa cifra è destinato a visite ambulatoriali, il 38% per degenze ospedaliere (American Cancer Society, 2017). Inoltre si stima che il costo per la cura del cancro aumenterà a livello globale con una spesa totale prevista di 458 miliardi di dollari entro il 2030 (Callahan & Darzi, 2015).

Non sorprende, pertanto, che ogni anno venga investito un importo considerevole nella commercializzazione di servizi e prodotti per il cancro, soprattutto nelle aziende farmaceutiche, con marketing aggiuntivo, condotto da ospedali e da singoli medici. Le industrie farmaceutiche restano ancorate alla medicina convenzionale, secondo la quale la causa di una patologia è attribuibile ad un malfunzionamento di una fase della catena di montaggio. Fornendo al paziente un funzionale sostituto (il farmaco) alla molecola endogena carente o danneggiata, il punto difettoso della catena di montaggio (la funzionalità dell'intero organismo) può in teoria venire "riparato" e la salute ripristinata.

Tale concezione non riconosce (oppure semplicemente nasconde per interessi economici) l'imponente complessità dell'intercomunicazione tra gli elementi cellulari, che non interagiscono tra loro in maniera lineare, secondo la fisica newtoniana, ma sono intrecciati in una complessa ragnatela di *loop* comunicativi, secondo l'attuale fisica olistica. Una disfunzione biologica può essere causata da un errore di comunicazione lungo qualunque percorso del flusso di informazioni: da qui scaturiscono i tanti effetti collaterali dell'assunzione di un farmaco, che interagisce non con una ma con tantissime strutture dell'organismo (Lipton, 2006).

In gran parte, il bersaglio del mercato del cancro è il consumatore. I malati di cancro sono particolarmente vulnerabili e diventano vittime della strategia di marketing delle aziende farmaceutiche: lo scopo della pubblicità è quello di vendere più prodotti possibili attraverso annunci pubblicitari, spesso strutturati come testimonianze di pazienti o comportano la descrizione di apparecchiature o servizi nuovi e unici, con poche recensioni e pochi dati specifici sugli esiti (Deutscher Ethikrat, comitato etico tedesco, 2011).

Le testimonianze possono essere fuorvianti o male interpretate e i pazienti possono presumere che i risultati mostrati possano essere raggiunti da tutti. Raramente vengono fornite le informazioni su rischi e costi, utilizzando messaggi emotivi per motivare il paziente a sottoporsi al trattamento (Vater *et al.*, 2014).

Poiché la componente delle spese sanitarie attribuibile al cancro è grande, è ragionevole aspettarsi che le aziende farmaceutiche, i centri medici e le pratiche desiderino pubblicizzare i loro servizi per aumentare la quota di mercato (Holcombe, 2015). La popolazione interessata rappresenta un settore estremamente vulnerabile, pertanto è essenziale che le attività di marketing non traggano vantaggio dalle paure del paziente, rispettando i principi etici di onestà, imparzialità, rispetto e trasparenza, proposti dall'American Marketing Association (2019). I conflitti di interesse nel mercato farmaceutico, durante l'approvazione di farmaci antitumorali, hanno forti conseguenze sulle prospettive di vita dei pazienti oncologici. Studi clinici imprecisi e pazienti male informati, con aspettative non realistiche, costringono quest'ultimi a sottoporsi ad interventi che, per lo più, non sono nel loro interesse. Prevenzione intensiva, diagnosi precoce e trattamenti più tempestivi e mirati sono priorità fondamentali nel controllo del cancro. Bisogna valutare adeguatamente l'efficacia di un farmaco, utilizzando criteri statistici più significativi, stimando il rapporto rischio-beneficio e costi-benefici (Wise, 2016).

Attualmente la comunità scientifica sta rivalutando l'azione antitumorale di antiossidanti naturali, quali l'ascorbato di potassio, la curcuma e la garcinia, ma chi può avere interesse a prescrivere prodotti così economici, oltretutto, non brevettabili? (Patrikios *et al.*, 2015; Pimentel-Gutiérrez *et al.*, 2016; Cavicchio *et al.*, 2017).

1.2.9 Oncologia integrata: nuova frontiera delle cure oncologiche

La via della guarigione di un malato non può prescindere dal concetto dell'integrazione delle "armi" a disposizione per combattere le malattie oncologiche. Non si può pensare di poter guarire i pazienti limitandosi a somministrare unicamente dei farmaci. Inattesi successi si stanno ottenendo con l'oncologia integrata, dalla quale non vengono escluse l'ozonoterapia, l'uso dei fitoterapici o l'immunoterapia, tutte pratiche che non possono prescindere da uno stile di vita sano.

I farmaci sono comunque indispensabili per guarire o anche per tenere controllata la malattia in fase avanzata, ma attraverso quella che attualmente viene definita la "chemioterapia metronomica a basse dosi". Il termine chemioterapia metronomica è attualmente usato per indicare la somministrazione frequente e regolare di basse dosi di farmaci chemioterapici. In questo modo si utilizzano dosi più basse, in tempi più lunghi, al fine di ridurre la concentrazione plasmatica del farmaco e limitare al massimo gli effetti collaterali indesiderati, mentre le attuali terapie consistono nella somministrazione della dose massima tollerata, somministrata ad intervalli di 2-3 settimane, per consentire al paziente di riprendersi della tossicità del trattamento.

La terapia metronomica non va ad agire esclusivamente sulle singole cellule, ma sul microambiente del tessuto canceroso, attraverso l'ostruzione dell'angiogenesi tumorale e la modulazione del sistema immunitario del paziente, guidandolo a riconoscere e eliminare direttamente le cellule tumorali e le cellule staminali tumorali, attraverso meccanismi ancora non ben definiti (Vives *et al.*, 2011; Simsek *et al.*, 2019).

Secondo gli studi di Psihogios *et al.*, (2019), molti composti antiossidanti, assimilabili con la dieta, interagiscono con specifici farmaci chemioterapici, migliorandone l'azione oncotossica, permettendo di somministrare dosi più basse di chemioterapico e contenere gli effetti collaterali. Ad esempio, l'omega 3 aiuta l'assorbimento delle chemioterapie a base di platino, la vitamina C coadiuva l'azione del metotrexate e del bortezomib, la vitamina D quella del tamoxifene. Esperimenti preliminari *in vitro* hanno dimostrato

che la curcumina, alla concentrazione di 20 µg/mL, in combinato con basse dosi di daunoblastina (3.1 ng/mL), altera l'equilibrio ossidativo delle cellule di leucemia linfoblastica acuta, portando queste cellule a morte cellulare (Iannotta *et al.*, 2018).

Importante coadiuvante delle terapie convenzionali per il trattamento dei pazienti oncologici è l'ozonoterapia, l'introduzione di ozono nell'organismo, per via intravenosa, per iniezione intra-articolare o sottocutanea, per insufflazione intestinale o applicazioni locali. L'ozono è una forma di ossigeno a tre atomi (mentre l'ossigeno presente in natura è formato da due atomi). Non viene mai utilizzato puro, ma sempre miscelato con l'ossigeno, che funge da veicolo. Utilizzato a questa concentrazione (circa il 3%) l'ozono non ha alcun effetto tossico, ma diventa un agente terapeutico straordinariamente versatile.

Poiché, a differenza di quanto si possa pensare, il cancro cresce in assenza di ossigeno, è stato dimostrato che aumentando la disponibilità di ossigeno, attraverso l'ozonoterapia, si può rallentare la crescita del tumore e inibire metastatizzazione. Inoltre, la carenza di ossigeno crea un ambiente acido, terreno fertile per il tumore, bloccando anche le difese immunitarie, che necessitano di elevate quantità di ossigeno per attaccare la massa tumorale, che invece si espande in un ambiente ipossico.

Le cellule tumorali vivono meglio in assenza di ossigeno, conseguenza del fatto che abbiano un sistema antiossidante rudimentale per sbarazzarsi delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). Quindi, l'ozono potrebbe esercitare importanti effetti citotossici sulle cellule neoplastiche, che presentano uno scarso sistema antiossidante (Clavo *et al.*, 2018).

L'ozono è un efficace adiuvante, complementare alle terapie convenzionali, riducendo gli effetti indesiderati prodotti dalla chemioterapia. È stato dimostrato che il precondizionamento con ozono esercita un effetto protettivo dalla tossicità indotta dai chemioterapici, come il cisplatino (Borrego *et al.*, 2004).

Le cellule tumorali rilasciano una serie di molecole (antigeni associati al tumore) che sono riconosciute dal sistema immunitario; tuttavia, le cellule cancerose sviluppano dei meccanismi di immunosoppressione, mediata da citochine, come il decremento dell'espressione degli antigeni di superficie, e l'espressione di neoantigeni, sfuggendo così al sistema immunitario. In questo modo il tumore si evolve e può metastatizzare.

I pazienti oncologici pediatrici sviluppano spesso chemio-resistenza o comunque sviluppano tumori che non possono essere curati con chemio- e radio-terapie. Le immunoterapie sono ormai diventate terapie alterative altamente performanti per molti

malati di cancro. Alcuni di questi nuovi farmaci stanno cambiando il panorama per il trattamento dei tumori pediatrici. L'immunoterapia consiste nella somministrazione di farmaci coniugati ad anticorpi, progettati a riconoscere e legarsi ad un antigene di superficie tumorale specifico, al fine di attivare le cellule del sistema immunitario (cellule natural-killer e macrofagi).

Sono state sviluppate strategie capaci di riconoscere non gli antigeni espressi dalle cellule tumorali, che nel tempo vengono modificati, rendendo inutile la terapia, ma markers di membrana specifici. In particolare, vengono raccolti i linfociti T dal sangue periferico del paziente e modificati geneticamente (denominati CAR-T) per essere reindirizzati con precisione verso il bersaglio tumorale. I CAR-T attualmente approvati per uso clinico sono in grado di identificare le molecole CD19 o GD2, markers specifici delle cellule di leucemia linfoblastica, linfomi non-hodgkin, e neuroblastoma (Wedekind *et al.*, 2018).

La prevenzione ma soprattutto la cura dei tumori e di altre patologie degenerative possono essere realizzate attraverso uno stile di vita sano. È sempre più evidente come l'alimentazione costituisca un fattore importante per la sopravvivenza dell'uomo e per la salvaguardia dell'ambiente. Già nel V secolo a.C., Ippocrate scriveva *"fa che il cibo sia la tua medicina e la medicina sia il tuo cibo"*. L'atto del nutrirsi dovrebbe implicare il corretto comportamento degli operatori del sistema economico, che ruota intorno all'industria alimentare, nell'ottica di prevenzione delle patologie del nostro tempo. La trasformazione industriale del cibo, conseguente alla rivoluzione della produzione e della distribuzione alimentare, ha avuto un ruolo importante nella genesi delle malattie che caratterizzano il mondo moderno. In risposta a ciò, è nata la necessità di rivalutare la qualità degli alimenti, fondamentale per preservare la salute dell'uomo. Il controllo dell'apporto calorico e l'acquisizione di corrette e sane abitudini culinarie rappresentano l'obiettivo da raggiungere in una strategia preventiva, per ridurre l'incidenza di tumori e di patologie croniche, in preoccupante aumento (Mayne *et al.*, 2016).

1.3 La relazione medico-paziente: dal paternalismo al principio di autonomia

L'obiettivo dell'assistenza sanitaria consiste nel migliorare lo stato di salute, del singolo individuo e della popolazione, considerando i seguenti principi per la risoluzione di problematiche etiche nell'ambito biomedico: beneficenza, non disumanità, autonomia e giustizia. Il principio di *beneficenza* consiste nell'aiutare il paziente, promuovendo i suoi interessi legittimi e tutelando i suoi diritti, prevenendo ed evitando le condizioni che possono arrecare danno. In altre parole consiste nel curare il paziente e promuovere il suo benessere, esclusivamente dal punto di vista fisico, senza tener presente le preferenze personali del paziente.

Il principio di *non disumanità* obbliga a non arrecare danno intenzionalmente, non causare dolore e sofferenza, non offendere, non privare dei beni necessari alla vita e non esporre a rischio di danno.

Rispettare il principio di *autonomia* significa tutelare il diritto di una persona a esprimere le proprie opinioni, scegliendo e realizzando le azioni in base ai propri valori e credenze personali, mitigando tutte quelle circostanze che possono impedire l'autonomia dell'agire di una persona.

Il principio di *giustizia* si distingue in formale e materiale. Secondo la giustizia formale, coloro che usufruiscono degli stessi diritti devono essere trattati nello stesso modo e coloro che non hanno gli stessi diritti devono essere trattati in una maniera differente. La giustizia materiale garantisce una giusta distribuzione dei benefici, dei rischi e dei costi, considerando però differenti criteri di priorità, che possono essere il bisogno, l'impegno, il merito, il mercato, e infine, in alcuni casi, può essere giustificata anche una distribuzione basata sul criterio dell'uguale quota ad ognuno.

Di questi quattro principi, la beneficenza costituisce il principale obiettivo e fondamento della pratica della medicina, mentre gli altri tre costituiscono i limiti entro i quali si può conseguire l'obiettivo (Beauchamp & Childress, 2001).

La medicina tradizionale assunse, nella relazione medico-paziente, il modello *paternalista*, secondo il quale la beneficenza è il dovere primario dell'assistenza sanitaria. La priorità di tale modello consiste nel raggiungere il benessere fisico del malato. Espressione esplicita del modello *paternalista* è la prima versione del giuramento di Ippocrate, che recitava: “*regolerò il tenore di vita per il bene dei malati*”

secondo le mie forze e il mio giudizio, mi asterrò dal recar danno e offesa” (Galán Cortés, 2001).

Secondo la concezione tradizionale ippocratica, la medicina ha il compito di ripristinare l'ordine naturale dei fenomeni, perso con la malattia: solo con lo studio della natura (*Physis*) attraverso la ragione (*logos*) è possibile conoscere l'origine e il rimedio delle malattie e comprendere come intervenire. Il malato è considerato come un soggetto che si discosta dall'ordine supremo prestabilito che governa in natura ed è considerato un *infirmus* (“senza fermezza”), ovvero appartenente ad uno stato di debolezza fisica, psichica e spirituale, che rende incapace di prendere decisioni. Il medico viene identificato come colui che fornisce la soluzione alla malattia, ma senza dare spiegazioni (*herba, non verba*). Nella relazione medico-paziente di carattere paternalista, verticale e asimmetrico, il medico adotta una posizione attiva, decisionale, e il paziente, una posizione passiva, ricordando il motto del paternalismo politico, coniato da Luigi XIV (*tutto per il popolo, ma senza il popolo*): tutto per il paziente, ma senza il paziente (Cadenas Osuna, 2018).

Il paternalismo è stato così definito da Gerald Dworking (1971): interferire sulla libertà d'agire di una persona, giustificata da ragioni che si riferiscono esclusivamente al benessere, al bene, alla felicità, alle necessità e agli interessi della persona “costretta”. Consiste dunque nell'esercizio di un potere di un soggetto (il medico) su un altro soggetto (il paziente), con la finalità di evitare che il malato possa esporre sé stesso ad un rischio di qualsiasi tipo. Il medico, al pari di un giudice, emana una “sentenza senza appello”, senza considerare l'opinione del paziente e le conseguenze a lungo termine (Incorvati, 2014).

Beauchamp e McCullough (1984) definiscono il *paternalismo* come una limitazione intenzionata dell'autonomia di una persona da parte di un'altra, quando quest'ultima si appella esclusivamente alla beneficenza verso la persona, la cui autonomia è così limitata. Al contrario, Alemany (2011) dichiara che il principio di *beneficenza* può essere complementare al principio di *autonomia*, in quanto chiarisce le condizioni di applicazione dell'autonomia del paziente, senza le quali non ci sarebbe il valore ultimo da assegnare.

Nella società moderna, l'attività sanitaria e l'esercizio della medicina in generale hanno superato il modello *paternalista*, basato sul principio etico di *beneficenza*, passando ad un modello che predilige fundamentalmente il principio di *autonomia* della persona e nel quale i medici subordinano i loro criteri di lavoro alla volontà del paziente. Secondo

questo modello, la relazione medico-paziente è governata dall'orizzontalità e dall'uguaglianza, garantendo il rispetto e la volontà del paziente, di contro alla verticalità e alla superiorità della concezione paternalista, elevando il paziente da infermo a soggetto libero, e non semplice oggetto della terapia. Il paziente smette di essere uno spettatore e diventa un essere autonomo con capacità di decidere. Il medico non è più il *dominus* indiscusso dell'*ars medica*, ma un dipendente qualificato di un'azienda sempre più attenta ai costi, alle problematiche burocratiche e amministrative e alle necessità del paziente (Monaco & Bottari, 2012). Lo stesso Platone (V sec a.C.) distingueva il “medico dei liberi”, che fornisce ai pazienti i dettagli sul loro stato di salute e sui trattamenti da effettuare, e il “medico degli schiavi”, che impone i trattamenti senza dare spiegazioni (Osler, 2007). Il riconoscimento dell'autonomia individuale presuppone che ogni individuo sia autore della propria “biografia”.

Nella trama moderna della relazione tra medico e paziente, la prospettiva in cui si comincia a discutere l'esigenza etica, secondo la quale il paziente debba consentire alle cure, è connessa al rinnovamento della professione del medico e del suo esercizio, nella direzione di un de-centramento autoritario delle informazioni, che persegue l'obiettivo di una diffusione orizzontale della responsabilità dell'atto di cura (Marzocco, 2014).

L'inversione di questa scala di valori è conseguenza del superamento del concetto di salute in termini strettamente fisici (buona salute intesa come assenza di malattia), ma tutelare la salute del paziente significa anche lasciare che egli decida autonomamente se sottoporsi ad un dato trattamento, difendendo così il suo diritto al libero sviluppo della personalità (Corcoy Bidasolo, 1998). Questo può accadere solo se il medico fornisce al paziente le informazioni necessarie, per permettergli di prendere le sue decisioni in piena libertà. Infatti, la decisione di un paziente in ambito sanitario può essere dichiarata “autonoma” se sono rispettate tre condizioni: intenzionalità, conoscenza adeguata e assenza di influenze interne o esterne, classificabili in coercizione, manipolazione e persuasione (Beauchamp & McCullough, 1984). Quando il paziente non è cosciente o non è capace di intendere (come nei casi di pazienti in coma, con disabilità, o molto anziani), il medico deve essere in grado di riconoscere se la decisione presa dal paziente sia valida o sia non consapevole, applicando quello che Alemany definisce come *paternalismo debole* (Alemany, 2011).

Attualmente la relazione medico-paziente si è trasformata da rapporto fondamentalmente duale in un rapporto plurale, in cui il paziente è posto in relazione con un numero considerevole di figure di professionisti dell'ambito sanitario. Il

processo di specializzazione delle diverse branche della medicina, la crescente complessità dell'organizzazione sanitaria ed il perfezionamento delle tecnologie diagnostiche rappresentano alcune fra le principali cause del passaggio dal tradizionale rapporto "a due poli" ad un modello relazionale ramificato e composito.

In questo modo il rapporto terapeutico si trasforma da relazione interpersonale a relazione depersonalizzata, soprattutto quando la figura del medico subisce processo di burocratizzazione. Appare evidente che la relazione medico-paziente non può fondarsi su modelli unilaterali, ormai declinati, come il paternalismo medico ed i modelli incentrati esclusivamente sulla volontà del paziente, come principio astratto rispetto al suo concreto costituirsi nel contesto di vita della persona, in cui il medico è considerato un mero esecutore.

Nel rapporto terapeutico assume un ruolo centrale il principio di affidamento: attraverso la fiducia si può forse superare la contrapposizione tra il perseguimento del bene del paziente e la sua autonomia. Se la malattia stessa compromette la sfera dell'autonomia del malato, allora sarà la medicina, nella sua finalizzazione alla cura della malattia, a promuovere l'autonomia del paziente. La tutela dell'autonomia si presenta, in questo senso, quale fine intrinseco alla stessa pratica medica, e non soltanto quale argomento da contrapporre all'invadenza della medicina moderna.

Pertanto, l'autonomia non va ridotta alla sola accezione negativa di "non interferenza", ma va intesa anche positivamente, sia come fonte del dovere del medico di informare il paziente e verificare l'effettiva comprensione dell'informazione data, sia come capacità dello stesso medico di ascoltare e di comprendere le richieste del paziente (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008).

In ambito pediatrico è difficile sradicare la concezione paternalista della relazione medico-paziente. Secondo la tesi di Aristotele, formulata nell'opera *Ethica Nicomachea* (IV sec. a.C.), i bambini possono anche conoscere la geometria o la matematica, ma non sono saggi ed esperti, poiché non hanno ancora abbastanza esperienza: è la "lunghezza del tempo" che produce l'esperienza. *"Perché ci si potrebbe chiedere anche questo: per quale ragione un ragazzo può essere un matematico, ma non un sapiente o un fisico? Non si deve forse rispondere che gli oggetti della matematica derivano dall'astrazione, mentre i principi della sapienza e della fisica si ricavano dall'esperienza"*.

1.4 L'autodeterminazione del paziente e il consenso informato

L'introduzione di metodologie di cura sempre più invasive, che attraverso presidi medici e macchinari sofisticati sono in grado di sostituirsi a diverse funzioni vitali dell'organismo, impone la riflessione circa il ruolo del paziente nelle scelte che riguardano il proprio corpo. L'autodeterminazione della persona rappresenta il punto più intenso e estremo della libertà esistenziale, che si declina come libertà giuridica. La base giuridica del diritto fondamentale all'autodeterminazione è nitidamente individuata dalla sentenza della Corte Costituzionale n.471 del 1990 che sottolineava il valore costituzionale dell'inviolabilità della persona umana e *“della libertà nella quale è postulata la sfera di esplicazione del potere della persona di disporre del proprio corpo”*. L'articolo 2 della Costituzione tutela l'integrità della sfera personale e la libertà di autodeterminarsi nella sfera privata, così come afferma l'obbligo del rispetto dell'integrità psico-fisica e della personalità del malato. Il soggetto è considerato come libero costruttore della propria personalità (Rodotà, 2012).

L'evoluzione della società dell'informazione ha reso accessibili al pubblico, in misura sempre crescente, le conoscenze professionali, nonché gli errori legati all'esercizio della professione sanitaria. La divulgazione della conoscenza ha comportato la sottomissione dell'arte medica, trasformando la figura del medico da detentore del sapere a prestatore di servizi.

Il nodo problematico dell'alleanza terapeutica, che sempre deve guidare il rapporto di cura, si rinviene nell'atto attraverso il quale il paziente esprime la propria volontà in ordine al trattamento sanitario propostogli ed in tal modo autorizza il medico all'intervento. Il consenso dell'interessato si rivela quale essenziale e come presupposto imprescindibile per ogni attività che si compia nella propria sfera personale e corporea. La Corte Costituzionale, con la sentenza n.438 del 2008, individua nel consenso informato del paziente un diritto della persona, finalizzato alla realizzazione dell'autodeterminazione del soggetto e alla sua salute. Il consenso dunque è espressione non soltanto della tutela della salute (oggettiva) del soggetto, ma soprattutto espressione del diritto fondamentale dell'autodeterminazione (Salvatore, 2014).

Se ognuno ha il diritto di essere curato, ha anche il diritto di ricevere le opportune informazioni in ordine alla natura e ai possibili sviluppi del percorso terapeutico e le eventuali alternative. Tali informazioni devono essere il più possibile esaurienti proprio per garantire la libera e consapevole scelta del paziente. Nonostante la doverosità di

assistere il malato, alla presenza di indiscutibili evidenze scientifiche, il medico è costretto a desistere di fronte ad un chiaro rifiuto volontario e consapevole della persona, in accordo con l'art. 35 del Codice di deontologia medica (Chieffi, 2014).

L'affermazione della libertà del soggetto si manifesta, in reazione alle terribili pratiche naziste della seconda guerra mondiale, col *Codice di Norimberga* (1947), secondo il quale il consenso volontario del soggetto umano deve essere assolutamente necessario, prima di sottoporre i pazienti a trattamenti di qualsiasi tipo, e deve prevedere che il soggetto abbia sufficiente conoscenza e comprensione di tutti gli elementi della materia in questione, per poter assumere una decisione "illuminata e consapevole". Tale diritto si estende alla base del rapporto tra il paziente ed il medico e al riconoscimento della potestà della persona al pieno esercizio della sovranità del proprio corpo e della propria vita (Rodotà, 2012).

Attualmente la scienza dispone di strumenti di intervento in grado di trasformare profondamente il modo di vivere la malattia, fino ai momenti terminali dell'esistenza, aprendo inediti spazi di scelta per il paziente. Questi non solo è chiamato a scegliere tra le varie tipologie e modalità di cure disponibili, ma anche, consapevolmente e nei limiti di legge, a rifiutarle o a rinunciare ai trattamenti medici già in corso. Il diritto ad essere informati rappresenta la condizione di possibilità dell'esercizio dell'autodeterminazione del paziente, in ordine alle scelte riguardanti il proprio corpo (Marzocco, 2014).

La normativa italiana riconosce il fondamentale diritto ad essere curati, ma non l'obbligo generale di curarsi: l'ordinamento vigente non ammette un'imposizione forzata di un trattamento coscientemente rifiutato, pur se necessario al mantenimento in vita della persona. Sebbene il personale sanitario sia investito di tutelare la salute del paziente, tale obbligo giuridico trova un limite nella cosciente, libera ed informata opposizione dell'interessato. Il diritto del paziente a rifiutare le cure proposte non solleva il medico dal dovere di informarlo in scienza e coscienza, accertando anche la comprensione dell'informazione fornita e la consapevolezza del paziente circa le conseguenze delle sue scelte (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008).

In assenza di un rischio per la salute della collettività e dello stesso individuo, prevale il diritto del paziente di decidere in piena libertà ed autonomia di ricevere o di rifiutare le cure mediche, di non subire invasioni sul proprio corpo da parte di soggetti estranei. Secondo quanto dichiarato nella Corte di Appello di Firenze (1990), la salute non è un bene che possa essere imposto al soggetto interessato, ma deve invece fondarsi sulla volontà dell'individuo, sul suo diritto all'autodeterminazione. Ad esempio, nel caso

della profilassi immunologica, se la malattia non fosse contagiosa o epidemica, non pregiudicando la salute degli altri, lo Stato non potrebbe imporre per legge un obbligo di vaccinazione, neanche in riferimento al dovere di preservare la propria salute, indispensabile per consentire l'espletamento di quelle attività (lavoro e difesa della patria) considerate come doverose dalla Costituzione italiana (art. 4 e 52) (Chieffi, 1997).

In assenza del consenso del paziente, il medico, concretamente in possesso della capacità professionale di praticare atti terapeutici, non dispone di un pieno potere di cura. Bisogna considerare da un lato la possibilità tecnica e professionale di prestare cure, e dall'altro, la reale attuabilità dell'atto medico, che non può prescindere dall'autorità, che solo il paziente può attribuire al medico stesso, attraverso la manifestazione del consenso informato, autorità destinata, a venire meno nel momento in cui il paziente neghi o ritiri tale consenso (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008). La modalità, attraverso la quale viene raccolto il consenso del paziente al trattamento prescelto, mostra tuttavia una divaricazione esistente tra l'astratta enunciazione del diritto e la sua concreta realizzazione. La legislazione nazionale e internazionale inserisce il consenso tra i diritti fondamentali della persona, la pratica dell'acquisizione dello stesso, attraverso moduli prestampati, impedisce la reale comunicazione tra paziente e sanitario. La burocratizzazione di tale procedura evidenzia come la traduzione giuridica delle regole proprie del consenso dovrebbe essere ripensate (Salvatore, 2014).

1.5 La tutela dei diritti e della volontà dei minori in ambito sanitario

La capacità giuridica è definita come l' idoneità ad essere soggetto di diritti e doveri, per essere "beneficiario" e titolare delle norme giuridiche; con la nascita ogni individuo, anche se estremamente prematuro, acquisisce lo statuto giuridico di persona e, di conseguenza, la titolarità del diritto alle cure, riconosciuta a chiunque, a prescindere dall'età, dal sesso, dalla razza, e da qualunque altra condizione personale e sociale (art. 3 della Costituzione). La capacità di agire, di compiere specifici atti legali con piena validità ed efficacia, in piena maturità e autonomia personale, si riconosce, invece, con il raggiungimento della maggiore età. Ciò nonostante nulla impedisce di dimostrare che una persona maggiorenne non ha la capacità sufficiente per agire (ad esempio, a causa di una malattia mentale temporanea), incidendo sulla validità e l'efficacia dell'atto compiuto. Al minore di età è riconosciuta la capacità giuridica ed è titolare dei diritti fondamentali delle norme giuridiche nazionali ed internazionali. Tuttavia, assumendo *a priori* che la sua capacità di agire e di comprendere gli atti giuridici sia insufficiente, essa è oggetto di un sistema di protezione specifico, come la patria potestà, che comprende i seguenti diritti e doveri: vegliare sul minore, fornirgli una formazione completa, nonché rappresentarlo e gestire i suoi beni, con i limiti stabiliti dalla legge (Oliva Blázquez, 2014).

La *Dichiarazione Universale dei Diritti Umani* (1948) riconosce a livello mondiale la dignità, l'uguaglianza e i diritti di ogni singolo cittadino. In particolare, "ogni individuo ha diritto alla vita, alla libertà, alla sicurezza della propria persona e alle cure mediche e ai servizi sociali necessari" (art. 3). Secondo l'art. 25, la maternità e l'infanzia hanno diritto a ricevere speciali cure ed assistenza. Inoltre, tutti i bambini, nati nel matrimonio o fuori di esso, devono godere della stessa protezione sociale.

Il diritto alla salute comporta che l'individuo sia libero di chiedere e ricevere cure mediche, di scegliere il luogo ed il medico curante. Gli unici limiti di questo diritto sono relativi all'organizzazione e la burocrazia del sistema. La necessità di porre maggiore attenzione all'assistenza sanitaria è giustificata dal fatto che le dinamiche culturali degli ultimi vent'anni hanno prodotto un aumento della domanda delle prestazioni sanitarie e l'emersione di una nuova categoria di bisogni, non riferibili direttamente a situazioni patologiche. L'aumentata consapevolezza in merito ai diritti del malato ha aumentato le aspettative sui servizi e incentivato la vigilanza sulla qualità e sicurezza delle

prestazioni. Parole come comunicazione, trasparenza e partecipazione sono prepotentemente entrate a far parte del lessico abituale delle istituzioni imponendo dunque una riflessione etica sull'amministrazione delle aziende (Monaco & Bottari, 2012). L'approccio terapeutico dovrebbe basarsi sul rispetto dell'autonomia e della competenza del paziente, sulla riservatezza e prevenzione di tutti i conflitti di interesse. Rispettare l'autonomia del paziente significa che questi assume un atteggiamento attivo e indipendente nel processo decisionale. Affinché questo accada, i pazienti devono essere pienamente informati e comprendere le implicazioni della loro condizione, del loro trattamento, delle complicanze e dei risultati. Tuttavia, la stragrande maggioranza dei bambini non ha la capacità di essere veramente informata e fa affidamento su altri, per questo motivo i medici hanno la responsabilità di garantire un vero consenso informato, anche se attraverso terze parti. La competenza del paziente dipende dal suo livello di comprensione, che gli consente di valutare le questioni etiche poste da una situazione clinica, assimilarle e raggiungere una decisione razionale (Attard-Montalto, 2001).

Le leggi e le linee guida internazionali sottolineano continuamente l'importanza del rispetto dello sviluppo dell'autonomia dei bambini, oltre al rispetto della riservatezza e alla competenza individuale. Le trasformazioni sociali e culturali che hanno avuto luogo nella nostra società hanno determinato un cambiamento dello status sociale del bambino, dando un nuovo approccio alla costruzione delle fondamenta dei diritti umani per i bambini. Il primo documento internazionale che tutela i diritti dei bambini è la *Dichiarazione Universale dei diritti del fanciullo* (1959), secondo la quale il fanciullo ha diritto a ricevere il trattamento, l'educazione e le cure speciali di cui esso necessita per il suo stato o la sua condizione (principio V). Inoltre in tutte le circostanze, il fanciullo deve essere fra i primi a ricevere protezione e soccorso (principio VIII).

Secondo la *Convenzione sui diritti del fanciullo* (1989), ratificata in Italia nel 1991 (legge del 27 maggio 1991, n. 176), ai diritti degli adulti corrispondono quelli del bambino: i principi dichiarati sono la non discriminazione, la dedizione all'interesse superiore del bambino, il diritto alla vita, alla sopravvivenza e allo sviluppo integrale della sua persona. Ciò che giustifica la necessità di una speciale protezione e garanzia dei diritti dei bambini è proprio la loro assenza di maturità e, di conseguenza, il loro bisogno di aiuto, rendendoli vulnerabili innanzi a innumerevoli rischi o minacce contro la loro dignità.

L'infanzia è il simbolo della vulnerabilità e implica una serie di caratteristiche che sono proprie del bambino. Il primo e più evidente è la "nudità". Plinio il Vecchio scriveva, nell'introduzione alla *Naturalis Historia*: "solo l'uomo essa [la natura] getta nudo, nel giorno della sua nascita, sul nudo suolo, dove egli può solo vagire e piangere". Il secondo è la sua necessità di aiuto. "Gli uomini non sono naturalmente né re, né grandi, né cortigiani, né ricchi. Tutti nascono nudi e poveri, soggetti a tutta la miseria della vita, alla sofferenza, alle necessità, ai dolori di ogni tipo...Ecco cosa è veramente l'uomo" (Rousseau, 1982).

La *Convenzione* comporta che gli adulti debbano esercitare doveri non soltanto nei confronti di altri adulti, ma anche nei confronti di un'umanità differente, ovvero quella dei bambini. Risulta però inapplicabile il criterio della reciprocità, in quanto i bambini non possono esercitare dei doveri nei confronti degli adulti (Clapham & Marks, 2009). I bambini, infatti, non possiedono "autonomia morale", in quanto non hanno ancora acquisito la consapevolezza necessaria ad agire realizzando un sistema ordinato di intenzioni, in quanto non hanno ancora esperienza di vita (Caporale, 2014). L'idea dell'infanzia intesa come una fase peculiare della vita dell'individuo, caratterizzata dal bisogno di protezione e di educazione risale alla metà del diciassettesimo secolo. Secondo il filosofo britannico John Locke (XVII secolo), la conoscenza di un individuo cresce unicamente ricevendo "il materiale" dall'esperienza. Il bambino acquisisce le idee e i pensieri dai sensi e migliora la sua facoltà di pensare con l'esercizio. In questo modo, componendo idee e riflettendo sulle proprie operazioni, accresce il suo patrimonio come la sua facilità di ricordare, immaginare e ragionare. La mente e la memoria del bambino sono come una "tabula rasa", in cui solo l'esperienza iscrive i contenuti. "Da dove si procura tutto il materiale della ragione e della conoscenza? Rispondo con una sola parola: dall'esperienza. Su di essa tutta la nostra conoscenza si fonda e da essa in ultimo deriva" (Locke, 2013). Egli delinea l'infanzia come un periodo ben preciso dello sviluppo umano, governato dalle sue regole, in cui l'individuo ha un atteggiamento fortemente ricettivo verso il mondo esterno, influenzando lo sviluppo della persona verso l'età adulta: "le piccole, o quasi invisibili impressioni derivate dalle nostre tenere infanzie, sono fondamentali e hanno conseguenze a lungo termine" (Gregoriou & Papastephanou, 2013). Proprio per questo, è fondamentale tutelare il fanciullo ospedalizzato per non traumatizzarlo e non provocare "segni indelebili" nella sua psiche che si cronicizzano fino a comprometterne la personalità.

Durante la condizione di malattia, esiste una forte correlazione tra dolore psichico e dolore fisico, e viceversa, attraverso la somatizzazione e l'espulsione del dolore interno sul corpo esterno. Il corpo sofferente rimanda sensazioni, paure, visioni di sé, spesso inedite. La patologia impone una percezione differente del proprio corpo, che da efficiente e sano passa ad una dimensione di corpo malato e fragile. In un breve arco di tempo, il corpo non è più l'oggetto che mette in relazione col mondo esterno, ma diventa soggetto che chiede totale attenzione. Questa nuova visione della realtà corporea inciderà significativamente sul modo di leggere il mondo della salute e il mondo della malattia (Benini, 2002). Dal punto di vista psicologico, la patologia diventa rottura con la propria "normalità", creando una crisi che si ripercuote sul fisico della persona e sulle proprie capacità cognitive e relazionali.

Inoltre la tendenza dei genitori di celare ai bambini la vera entità del loro stato di salute non fa altro che danneggiare il malato. Il bambino comprende che la sua quotidianità è stata sconvolta e il percepire la tensione dei genitori nel riferirgli le informazioni, gli genera ancora più ansia e angoscia, moltiplicata dalla paura di porre domande a questi ultimi, con il risultato che nel momento in cui egli avrebbe bisogno di essere rassicurato, si ritrova solo con le sue angosce (Kanisza & Dosso, 1998).

Nell'ambiente ospedaliero interviene non solo un medico, ma un'intera squadra con diverse competenze e ruoli, in cui ci sono regole e leggi che si sovrappongono alla singola relazione medico-paziente. Secondo Rivas Flores & Rivas Gayo (2016), l'individuo ospedalizzato si interfaccia con la nuova quotidianità instaurando tre livelli di relazione. Il *microcosmo* rappresenta la relazione più personale ed intima: il confronto con i medici. Questo è inserito in un universo più grande ed impersonale, che fornisce le sue regole e le sue norme, ed è noto come *mesocosmo*, ovvero il mondo delle istituzioni, regolate da protocolli, linee guida pratiche e cliniche, e accordi di lavoro. Infine lo "spazio" universale che governa l'attività sanitaria a livello politico e organizzativo è definito *macrocosmo*, che stabilisce le leggi sia a livello nazionale che autonomo.

Al microcosmo appartengono tutti quelli che sono coinvolti nel processo decisionale, durante il quale i pareri di alcuni (ad esempio, il parere del medico) possono essere subordinati ad altri, come nell'antica concezione paternalista. Attualmente l'ascolto del paziente è imprescindibile e la sua volontà deve guidare il processo decisionale.

In molti casi il confronto di pareri tra famiglia, paziente e medico genera conflitto tra gli interlocutori e potrebbe essere necessario ricorrere ad altre istanze come il Comitato

Etico, appartenente al *mesocosmo*. Qui il medico professionista ha il diritto/dovere di difendere il paziente dalle ingiustizie sanitarie e dalla mancanza di equità nell'accedere alle cure mediche.

Non esiste una convenzione universale che definisce a quale età il bambino diventa competente nel prendere le decisioni autonomamente. I minori della stessa età potrebbero mostrare differenti livelli di maturità. Età e contesto sociale giocano un ruolo fondamentale nell'acquisizione della competenza di assumere decisioni e prevedere le differenze. Il concetto di maturità implica lo sviluppo di diverse capacità, che sono interdipendenti: cognitiva, emozionale e etico-morale. La capacità cognitiva è un fattore necessario, ma non sufficiente per poter comprendere le informazioni, il valore delle differenti alternative e le relative conseguenze. Secondo lo psicologo svizzero Jean Piaget, l'evoluzione delle capacità e dell'intelligenza del bambino si orchestra nelle seguenti tappe: sviluppo del sistema sensoriale – motorio (dalla nascita ai due anni di età); pensiero pre-operazionale, principalmente egocentrico (dai 2 ai 7 anni), pensiero logico, basato su un'operazione concreta (7-8 anni, fino all'adolescenza), pensiero logico, basato su un'operazione formale (dall'adolescenza fino all'età adulta) (Piaget, 1991).

I bambini acquisiscono la capacità di comprendere le conseguenze di un dato fenomeno molto presto, già a partire dai 9 anni, e sono in grado di fornire un consenso consapevole, compiuti i 12 anni (Weithorn & Campbell, 1982; Hein *et al.*, 2014). Nonostante ciò in molti paesi non si raggiunge la maturità legale prima dei 18-21 anni. Avere acquisito capacità decisionale significa essere in grado di: esprimere e comunicare una scelta; comprendere le informazioni fornite dal medico, prestando attenzione; abilità di ragionamento logico e di previsione di rischi e benefici; apprezzare la natura della situazione, comprendere le diverse opzioni e la rilevanza di queste sulla situazione personale (capacità di ragionamento astratto) (Appelbaum & Grisso, 2001). Per essere considerato competente, il bambino deve aver appreso queste competenze. Tuttavia, la competenza decisionale non è un fenomeno on-off, ma è relativo alla scelta da prendere in una specifica situazione. Grootens *et al.*, (2017) hanno dimostrato che intorno ai 12 anni i bambini sono già capaci di prendere decisioni, ma non hanno ancora acquisito il senso del pericolo, a causa dello sviluppo non lineare delle diverse aree del cervello: il sistema motivazionale di ricompensa, situato nel circuito corteccia - gangli basali - talamo, completa il suo sviluppo già durante l'adolescenza, invece il lobo prefrontale, dove risiede il sistema di controllo, inizia a svilupparsi tra i 12 e i 18 anni

molto lentamente, completando il suo sviluppo solo in età adulta. Per questo motivo, gli adolescenti hanno più difficoltà a riconoscere i rischi e le loro decisioni sono fortemente influenzate dalla situazione circostante. L'ambiente ospedaliero è però considerato come un contesto "freddo", poco influenzato da fattori sociali ed emozionali, in cui il processo decisionale prevede una riflessione logica e razionale, permettendo di assumere una decisione competente, non impulsiva. Tuttavia, l'adolescente non sarà all'altezza della decisione a lungo termine, in quanto il contesto potrebbe cambiare, in una situazione "calda" e emotivamente instabile (Agón López, 2017).

Una delle decisioni più difficili che devono affrontare i genitori di bambini gravemente malati è se devono parlare con il proprio figlio della loro prognosi sfavorevole e della morte imminente. La pediatria abbraccia una vasta fascia di età con bambini e adolescenti con una capacità di comprendere la sofferenza, la perdita e la morte. La diversa capacità dei bambini di concettualizzare la morte rende la decisione sulla divulgazione dello stato di salute del bambino ancora più complessa. Però, la non divulgazione di solito non è benefica perché i bambini sono probabilmente consapevoli di morire, nonostante la mancanza di una comunicazione diretta e concreta. Sfortunatamente, senza una comunicazione diretta e risposte concrete, i bambini spesso temono il peggio, e trovano difficile comunicare questa paura, in particolare alla famiglia, perché anche loro vogliono proteggere gli altri dalla "verità" (Madden *et al.*, 2017).

La partecipazione del minore nel processo decisionale, in favore o contro il sottomettersi ad un trattamento medico, favorisce a migliorare il suo stato di salute, permettendo a quest'ultimo di prepararsi a quello che deve affrontare, riducendo l'ansia e fornendo maggiore tranquillità. Coinvolgere i bambini nelle decisioni importanti contribuisce a migliorare il controllo e la percezione di ciò che gli accade (Grodin & Glantz, 1994). In questo modo la partecipazione del minore diventa parte integrante dell'attenzione medica e il coinvolgimento del paziente pediatrico sembra migliorare l'azione stessa del trattamento stesso (Committee on Bioethics, American Academy of Pediatrics, 2016).

La condizione di "minore di età" rappresenta una fase temporale e non permanente. Il riconoscimento dei diritti e della libertà del minore e, pertanto, della sua capacità di prendere una decisione, si fonda sulla necessità che questa maturi progressivamente; il bambino deve apprendere le conseguenze della decisione adottata, così come i vantaggi e gli svantaggi, in modo che, quando raggiunge la maggiore età, sia un soggetto maturo

non solo formale ma anche materiale, per decidere e agire. In questo modo il minore ha la possibilità di completare il suo sviluppo come individuo che aspira a integrarsi pienamente nella società come soggetto attivo, attraverso l'assunzione delle proprie decisioni e la valutazione dei rischi e dei vantaggi (de Montalvo Jääskeläinen, 2019). I fattori principali che determinano la capacità di agire nel processo decisionale in ambito sanitario sono: i) la capacità di comprendere e comunicare le informazioni rilevanti; ii) la capacità di pensare e di scegliere con un certo grado d'indipendenza; iii) la capacità di valutare i potenziali benefici, rischi e danni. Il bambino deve essere capace di comprendere le alternative disponibili, esprimere la sua preferenza e formulare domande rilevanti. Deve poter scegliere senza coercizione o manipolazione e essere capace di pensare per sé stesso (Coleman & Rosoff, 2013).

1.5.1 Il consenso informato dei minori in Europa

L'evoluzione culturale e giuridica del rapporto medico paziente ha portato ad individuare nella persona coinvolta, e dunque nel malato, il titolare delle decisioni rispetto alla propria salute ed alle cure a lui rivolte. La rivendicazione dell'autonomia da parte dei cittadini nell'ambito dell'assistenza sanitaria ha contribuito a creare un contesto favorevole per l'approvazione da parte dell'American Hospital Association della *Carta dei diritti del paziente* (Patient's Bill of Rights, 1992), riconoscendo la volontà del paziente ed il rispetto della sua autonomia decisionale.

Decisioni sulle cure cui essere sottoposti si devono basare su un presupposto informativo di carattere tecnico e morale. La scelta terapeutica è basata su un giudizio di compatibilità e coerenza della proposta medica con la dignità e autonomia del paziente. La volontà da cui far dipendere la scelta morale su un determinato trattamento deve essere quella del soggetto (agente morale), cui il trattamento stesso è rivolto (Casonato, 2009).

L'età pediatrica comprende individui peculiari per struttura biologica di base, metabolismo, maturità dei sistemi, potenzialità di crescita e sviluppo. Pertanto i trattamenti necessari sono generalmente complessi, ad alta intensità assistenziale e richiedenti competenze e tecnologie dedicate. Questa particolarità non riguarda l'intensità della sofferenza, ma i suoi connotati.

Nell'alleanza terapeutica il paziente è soggetto partecipe, responsabile e consenziente di ogni decisione che riguarda la sua persona e la salute. Il minore è un paziente in fieri cui

corrisponderebbe un quasi-partecipe e quasi-responsabile di ogni decisione che riguarda la sua salute. È ricevente mai veramente libero perché non veramente autonomo. La persona adulta è riconosciuta come soggetto e come *autocoscienza* e tale riconoscimento non avviene per il bambino (così come per il folle e l'animale) che sarà soggetto, e fino a quando non lo sarà resta nel dominio dell'allevamento, della beneficenza e dell'assistenza (Amodio, 2014).

Secondo la *Carta Europea dei Bambini Ospedalizzati* (1986), il minore ha il diritto di non essere ricoverato in ospedale, se può ricevere le cure necessarie a casa, o comunque fare in modo che l'ospedalizzazione sia il più breve e veloce possibile. Il medico è tenuto a fornirgli le informazioni esatte, in base alla sua età e sviluppo mentale, sull'intero trattamento al quale è sottoposto e sulle prospettive positive che offre. I genitori hanno il diritto a ricevere tutte le informazioni relative alla malattia e alla salute del bambino, fintanto che il diritto fondamentale di quest'ultimo rispetto alla sua privacy non ne sia violato. L'ospedalizzazione può provocare nel bambino un trauma psichico che si manifesta con depressione e sfiducia verso la realtà che lo circonda. Robertson (1958) ha dimostrato, sulla base di verifiche sperimentali, che l'ospedalizzazione e l'allontanamento dai genitori costituiscono una grande sofferenza per i pazienti pediatrici.

La *Guida Europea di Etica Medica* (Parigi, 1982, modificata nel 1987) rappresenta una linea primaria a cui devono ispirarsi tutti i codici deontologici della comunità europea. Secondo quanto dichiarato nell'articolo 4, il medico deve illustrare al malato gli effetti e le conseguenze prevedibili della terapia e solo successivamente acquisirà il consenso del paziente, soprattutto quando i trattamenti proposti comportino un rischio serio: l'informazione deve riguardare sia gli effetti che le probabili conseguenze della terapia (Comitato Nazionale per la Bioetica, 1992).

Secondo l'art. 12 della *Convenzione dell'ONU sui Diritti del Fanciullo* (1989), i bambini hanno il diritto di esprimere liberamente la loro opinione su qualsiasi questione che li riguarda, tenendo conto dell'età e del grado di maturità, e di essere ascoltato in ogni procedura giudiziaria o amministrativa che lo concerne. Inoltre nessun bambino sia privato del diritto di accedere ai servizi sanitari, secondo quattro principi: la non discriminazione (art. 2), la priorità all'interesse del bambino (art. 3), il diritto alla vita alla sopravvivenza e allo sviluppo (art. 6), l'ascolto delle opinioni del minore (art. 12). Secondo *Convenzione europea di Strasburgo per l'esercizio dei Diritti dei minori*, adottata nel 1996, nei procedimenti che riguardano un minore, l'autorità giudiziaria,

prima di giungere a qualunque decisione, deve assicurarsi che il minore abbia ricevuto tutte le informazioni pertinenti, e, se il caso lo richiede, consultare il minore personalmente, se necessario in privato, con una forma adeguata alla sua maturità, a meno che ciò non sia manifestamente contrario agli interessi superiori del minore.

La *Convenzione di Oviedo* (1997), sui Diritti dell'Uomo e la Biomedicina, entrata in vigore in Spagna nel 1999 (legge 251/1999) e in Italia nel 2001 (legge 145/2001), garantisce la tutela della dignità dell'essere umano, senza alcuna discriminazione, e stabilisce che un intervento in ambito sanitario può essere effettuato dopo che la persona coinvolta sia stata adeguatamente informata e abbia dato il suo inequivocabile consenso. L'interesse e il bene dell'essere umano debbono prevalere sull'interesse della società e della scienza (art. 2). Quando un minore non ha la capacità di dare consenso ad un intervento, *“questo non può essere effettuato senza l'autorizzazione del suo rappresentante, di un'autorità o di una persona o di un organo designato dalla legge. Il parere di un minore è preso in considerazione come un fattore sempre più determinante, in funzione della sua età e del suo grado di maturità”* (art. 6).

In realtà, il consenso informato nasce come strumento di legittimazione della pratica medica, come elemento di sicurezza e garanzia per esercitare l'attività professionale con meno rischi. Esso costituisce una soluzione al fenomeno emergente dei processi giudiziari contro medici, a causa di errori eseguiti durante l'assistenza ai pazienti. Attraverso il consenso informato si forniscono al paziente, o, nel caso di un minore o adulto incompetente, al genitore o al rappresentante legale, le informazioni riguardanti le esigenze di diagnosi e di trattamento, di cui il paziente ha bisogno.

Dal punto di vista etico, il consenso emerge in una discussione interna alla professione medica, quale principio a rinnovare i canoni della relazione terapeutica: il principio del consenso emerge dalla profonda consapevolezza che interpreta la relazione medica come relazione capace di convocare il rapporto tra l'individuo ed il suo corpo e una dialettica necessariamente asimmetrica, tra paziente e medico (Marzocco, 2014).

Il consenso veramente informato può esistere solo quando al paziente vengono fornite le conoscenze necessarie per valutare tutti i pro e i contro del trattamento e il suo consenso è dato liberamente, senza coercizione, interessi personali o parzialità da parte di medici o terzi. Parlare di consenso/dissenso informato in pediatria assume un valore differente, rispetto alla medicina dell'adulto. Per il pediatra sono diversi il contegno nell'informare, l'attendere risposte, l'adattare parole e gesti alle risposte, il decidere con i bambini e con i genitori. La decisione di informare i piccoli pazienti per chiedere loro il consenso

o dissenso informato dipende naturalmente dal problema in causa. Per i problemi minori, il rispetto che si ha per il bambino induce a ricercare sempre il suo consenso o dissenso. L'informazione deve essere precisa, data con rispetto e pazienza, e non può ridursi a neutra presentazione di diverse opzioni considerate equivalenti, ma è finalizzata a consigliare e sostenere il paziente nelle scelte terapeutiche che sono in grado di offrire le migliori chance.

Nella dinamica comunicativa e relazionale, la comunicazione sulla cui qualità si fonda il consenso informato può essere simmetrica, complementare e reciproca. La comunicazione è simmetrica quando i singoli sono parimenti forti nell'interazione, al contrario, è complementare se un interlocutore è più forte (in posizione dominante) e l'altro è più debole. Entrambi gli interlocutori possono essere soddisfatti da quest'ultimo tipo di relazione, ma la persona subordinata può provare disagio e sofferenza. Reciproca è il tipo di comunicazione in cui la posizione di dominato e quella di dominante si alternano, con un reciproco rispetto. Quest'ultima è la comunicazione più sana, produttiva e gratificante. Quando ci si relaziona con minori, la tendenza dell'adulto, che sia medico, insegnante o genitore, è di essere complementare, senza accorgersi di quanto produttive possano essere le reciprocità e le simmetrie (Comitato Nazionale per la Bioetica, 1992, 2008).

Il pediatra, ancor di più di un medico generico, deve acquisire competenze necessarie per entrare in relazione con il piccolo paziente, per individuare i suoi bisogni; non somministrare semplicemente una "cura", ma "prendersi cura". Nella cultura medica sta riscuotendo sempre maggiore attenzione il concetto di "*medical humanities*", inteso come approfondimento per la migliore comprensione dei bisogni di una persona, in perenne crescita, già formulato in tempi non recentissimi dal Comitato Nazionale per la Bioetica (Comitato Nazionale per la Bioetica, 1994).

A livello internazionale risulta difficile individuare a che età il fanciullo può essere considerato "maturo e competente" per assumere le proprie decisioni in ambito sanitario. La società attribuisce ai bambini ed agli adolescenti la qualifica di minori e agli adulti quella di maturi. Età minore e maturità sono valori attribuibili e non corrispondono sempre ai valori reali dei singoli (Comitato Nazionale per la Bioetica, 1992).

Alcuni paesi membri dell'Unione Europea considerano semplicemente la maggiore età giuridica e legale, altri invece individuano fasce di età inferiori, come mostrato nei paragrafi successivi. Secondo Santos Morón (2011), al fine di rispettare la personalità e

quindi la dignità di un individuo, bisognerebbe appellarsi non ad una concezione formalista, che impone un'età fissa, ma ad una concezione realista, secondo la quale sarebbe consigliabile stabilire una fascia di età orientativa. Fissare rigidamente un'età risulta essere un esercizio arbitrario, al contrario, bisognerebbe attenersi alle circostanze materiali dell'individuo (De Lora, 2008). Secondo il Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos (2008), in nessun momento si deve dimenticare che sono i genitori del minore quelli che, in prima linea, sono più qualificati per valutare il grado di maturità del minore. Tuttavia, il concetto di minore maturo non implica l'eliminazione dell'intervento dei genitori, che dovrebbero essere informati sulla decisione presa dal minore, come garanti della sua salute.

Italia

La salute è tutelata in Italia dall'art. 32 della Costituzione, approvata il 27 dicembre 1948, che recita: *“la Repubblica tutela la salute come fondamentale diritto dell'individuo e interesse della collettività, e garantisce cure gratuite agli indigenti. Nessuno può essere obbligato a un determinato trattamento sanitario se non per disposizione di legge. La legge non può in nessun caso violare i limiti imposti dal rispetto della persona umana”*. Partendo dal diritto alla salute generale, seguono specificazioni relative alle modalità applicative di tale tutela. Infatti l'articolo 3 della Costituzione sancisce che *“tutti i cittadini hanno pari dignità sociale sono eguali davanti alla legge, senza distinzione di sesso, di razza, di lingua, di religione, di opinioni politiche, di condizioni personali e sociali”*, in tal modo prevedendo una generale tutela della dignità umana, che nell'ambito sanitario si concretizza nella tutela della dignità malato-paziente.

Il 6 di febbraio 2013 è stato approvato dal Ministero della Salute, il Codice del diritto del minore alla salute e ai servizi sanitari (2012), nel quale viene affermato che *“il minore ha diritto di essere preparato e informato costantemente sulle sue condizioni di salute e in merito a ogni procedura in cui verrà coinvolto”*. L'informazione deve avvenire usando un linguaggio comprensibile e adeguato all'età del minore, al suo sviluppo e alla sua maturità, utilizzando modalità (spazi, modi, tempi e strumenti) che rispondano alle sue condizioni. L'informazione deve riguardare sia i contenuti delle decisioni diagnostiche o terapeutiche, sia le conseguenze della loro mancata esecuzione in caso di rifiuto del consenso o di ritiro del consenso precedentemente dato (art. 11).

Inoltre l'articolo 13 sancisce che il minore ha diritto di esprimere liberamente il proprio consenso o dissenso in merito a ogni decisione relativa alle pratiche sanitarie che lo riguardano, in ragione della sua capacità di discernimento, ed è libero di revocare, in qualsiasi momento, il consenso precedentemente dato. È compito del medico e dell'operatore sanitario valutare la capacità di discernimento del minore tenendo in considerazione l'età, la situazione familiare, psicologica e culturale.

Secondo il Codice di Deontologia Medica (2014) il medico deve fornire al paziente tutte le informazioni in merito a diagnosi, prognosi, eventuali alternative diagnostico-terapeutiche e prevedibili conseguenze delle scelte operate; inoltre ogni ulteriore richiesta di informazione da parte del paziente deve essere soddisfatta (art. 33). Il consenso informato del paziente deve essere espresso in forma scritta, nei casi previsti dalla legge e in modo comprensibile, soprattutto se il paziente è un minore, garantendo tutti gli elementi di informazione utili affinché comprenda la sua condizione di salute e gli interventi diagnostico-terapeutici programmati, al fine di coinvolgerlo nel processo decisionale (art. 35). Se il minore si oppone ad un trattamento proposto, il medico segnala all'autorità competente, procedendo comunque tempestivamente alle cure ritenute indispensabili (art. 37). Inoltre la sperimentazione biomedica è ammessa solo per finalità preventive o terapeutiche, considerando la volontà del minore (art. 48).

Secondo l'Ente Nazionale di Previdenza ed Assistenza Medici (2015), prima dei 6-7 anni un bambino non può esprimere un consenso autonomo; tra i 7 e i 13 anni un bambino in qualche misura può essere coinvolto nel consenso, anche se è necessario e prevale il parere dei genitori; dopo i 14 anni il bambino dovrebbe essere prioritariamente coinvolto, anche se il consenso compete legalmente ai genitori. In caso di disaccordo su questioni di particolare importanza ciascuno dei genitori può ricorrere al giudice del Tribunale per i Minorenni, indicando i provvedimenti che ritiene più idonei. Nei casi in cui il paziente è esposto ad un grave rischio per la sua salute e vi sia discordanza tra la decisione del medico e la potestà del genitore o del tutore, il medico ha il dovere di informare il giudice competente perché adotti i provvedimenti di urgenza. Nel caso di impossibilità di un intervento del magistrato, il medico potrà e dovrà agire sulla base dello stato di necessità.

Attualmente la legge "Norme in materia di consenso informato e di disposizioni anticipate di trattamento" del 22 dicembre 2017, stabilisce che ogni persona ha il diritto di conoscere le proprie condizioni di salute e di essere informata in modo completo e comprensibile. La Legge sottolinea che *"il tempo della comunicazione tra medico e*

paziente costituisce tempo di cura”. Il paziente può tuttavia rifiutare, in tutto o in parte, di ricevere le informazioni e incaricare una persona di sua fiducia a riceverle e di esprimere il consenso in sua vece, se il paziente lo vuole. Il rifiuto o la rinuncia alle informazioni e l’eventuale indicazione di un incaricato sono registrati nella cartella clinica e nel fascicolo sanitario elettronico (art. 1). Il consenso informato dei minori di età e per gli incapaci di intendere è tutelato dall’articolo 3, secondo il quale il paziente deve ricevere informazioni sulle scelte relative alla propria salute, in modo consono alle proprie capacità, per essere messo nelle condizioni di esprimere la propria volontà. È compito dei genitori/tutori esprimere il consenso informato del minore ad un trattamento sanitario, tenendo conto della sua volontà, in relazione alla sua età e al suo grado di maturità, e avendo come scopo la tutela della salute psicofisica e della vita del minore, nel pieno rispetto della sua dignità (art. 3).

Le disposizioni anticipate di trattamento rappresentano un prolungamento del consenso informato, quando il paziente non sia in grado di prestare o negare il consenso: ogni persona maggiorenne, in previsione di un’eventuale futura incapacità di autodeterminarsi e dopo avere acquisito adeguate informazioni mediche sulle conseguenze delle sue scelte, può esprimere la propria volontà in materia di trattamenti sanitari, nonché il consenso o il rifiuto rispetto a scelte terapeutiche e a singoli trattamenti sanitari (art. 4). È tuttavia evidente che le disposizioni anticipate di trattamento possano rivelarsi non calibrate sulla situazione esistenziale reale nella quale l’interessato potrebbe venire a trovarsi, in quanto ci potrebbe essere una forte discrepanza, sia psicologica che temporale, tra la condizione in cui la dichiarazione viene redatta e la situazione reale di malattia in cui essa dovrebbe essere applicata (Cardaci, 2018).

Il Comitato Nazionale per la Bioetica riconosce ad ogni singolo medico la libertà di cura, ma tale libertà deve necessariamente esercitarsi nella prospettiva fondamentale della tutela della salute del malato. Se i trattamenti proposti mancassero di efficacia o comportassero contro-indicazioni vistose, o venissero comunque rifiutati espressamente dal paziente adeguatamente informato, potrebbe apparire lecito, col necessario consenso di questo, il passaggio verso altre terapie, purché però mai frutto di scelte soggettive e/o arbitrarie del terapeuta. Naturalmente, al dovere del medico di fornire al paziente tutte le informazioni indispensabili affinché egli possa assumere in piena autonomia le proprie decisioni, si affianca l’onere del paziente di fornire al medico tutte le informazioni

possibili in suo possesso per garantire una corretta diagnosi e un'adeguata indicazione terapeutica (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2005).

Il medico deve sempre tutelare il diritto alla vita del paziente, anche se questo significa non rispettare la sua volontà: la Corte di Cassazione italiana (2007) ha risolto un caso in cui un paziente testimone di Geova ha richiesto un'indennità al giudice in quanto, durante un'operazione chirurgica d'urgenza, il medico gli somministrò una trasfusione di sangue, necessaria per salvargli la vita, anche se contro le credenze religiose del paziente. Anche se la Costituzione dichiara che non è possibile obbligare il paziente a sottoporsi ad un dato trattamento (art. 32), i giudici della Corte Suprema rifiutarono il ricorso, in quanto la grave condizione del paziente durante l'intervento chirurgico costituiva una situazione clinica completamente differente rispetto al momento dell'internamento in ospedale: il paziente era in un imminente pericolo di vita e non c'era nessuna possibilità di consultarlo nuovamente. Secondo l'art. 54 del Codice Penale, *“non è punibile chi ha commesso il fatto per esservi stato costretto dalla necessità di salvare sé o altri dal pericolo attuale di un danno grave alla persona, pericolo da lui non volontariamente causato, né altrimenti evitabile”* (Crisci, 2015).

Spagna

Secondo il Codice civile spagnolo (1889), il minore non è una persona totalmente incapace e priva di ogni possibilità di compiere atti giuridici, ma in situazioni specifiche gli viene riconosciuta l'emancipazione, ovvero la decadenza della patria potestà. L'emancipazione viene riconosciuta, ad esempio, in seguito al matrimonio del minore di età superiore ai quattordici anni (art. 316); quando un genitore si risposa o convive coniugalmente con una persona diversa dall'altro genitore; quando esiste una causa che ostacola seriamente l'esercizio dell'autorità parentale (art. 318). Tuttavia, il minore emancipato non può prendere in prestito denaro, gravare o disporre di immobili o attività commerciali o industriali o oggetti di valore straordinario, senza il consenso dei genitori (art. 323).

La Costituzione spagnola (1978) riconosce il diritto alla protezione della salute all'interno dei principi guida della politica sociale ed economica, condividendo i diritti fondamentali nei trattati e accordi internazionali sulle stesse questioni.

Il codice deontologico spagnolo del 1978 (ultimo aggiornamento nel 2011) prescrive che il medico informi il paziente su ogni provvedimento terapeutico o diagnostico,

rispetti le sue decisioni e si astenga dall'imporre le proprie (art.9-12). Tuttavia, se il paziente si rifiuta di sottoporsi al trattamento proposto, il medico deve riferire in modo comprensibile e preciso le conseguenze che ne derivano. Inoltre, in accordo con l'articolo 14, i pazienti di età superiore a 16 anni sono considerati qualificati nel prendere decisioni in ambito sanitario; l'opinione del minore di 16 anni sarà più o meno decisiva in base all'età e al grado di maturità, valutato dal medico. La diagnosi deve essere comunicata al paziente; tuttavia può essere legittimo non riferire all'infermo una prognosi grave o fatale, ma renderla nota a persona indicata dal paziente, ritenuta idonea (art. 25).

Il primo Decreto Regio che fa riferimento ai diritti dei minori in ambito sanitario è di natura clinica e stabilisce i requisiti per lo svolgimento di studi clinici con farmaci (Real decreto 561/1993). In particolare, viene riconosciuto il diritto del minore, di età inferiore a dodici anni, ad essere informato sulla sperimentazione clinica e dare il consenso insieme al suo rappresentante legale (de Montalvo Jääskeläinen, 2016, 2019).

Nel 1999 viene ratificata la *Convenzione di Oviedo*, sui Diritti dell'Uomo e la Biomedicina, secondo la legge 251/1999 del 20 ottobre 1999 (Boletín Oficial del Estado núm. 251): l'articolo 6 ribadisce che l'opinione del bambino viene presa in considerazione come decisiva a seconda della sua età e del grado di maturità. Secondo la Legge Organica 1/1996 del 15 gennaio sulla protezione giuridica del minore, il minore ha il diritto di ricevere dall'Amministrazione Pubblica l'assistenza sanitaria nel rispetto dell'insieme dei suoi diritti e nello sviluppo della sua personalità. Il paziente minore è soggetto attivo, partecipativo e creativo, con capacità di cercare e soddisfare le sue necessità, riconoscendo i diritti esposti nei trattati internazionali. L'interesse superiore del minore prevale su qualsiasi altro interesse legittimo (art. 2.2) e il minore ha il diritto di essere ascoltato, non solo in famiglia, ma anche nei processi amministrativi e giudiziari, nei quali questi è direttamente coinvolto. Il diritto dei minori alla protezione pubblica è riconosciuto a tutti i minori del territorio spagnolo, di qualsiasi origine e condizione, senza alcun tipo di discriminazione (Barranco Vela, 2009).

La legge spagnola 41/2002 *Básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica* del 15 novembre, dichiara che tutti i pazienti hanno il diritto di rifiutare, per iscritto, un trattamento proposto (art. 2.4) e tutti coloro che sono coinvolti nell'assistenza al paziente sono obbligati non solo alla corretta prestazione delle loro competenze, ma

anche a rispettare le decisioni prese liberamente e volontariamente dal paziente (art. 2.6). L'informazione può essere fornita verbalmente, notificando però tutto sulla cartella clinica, e in caso di interventi chirurgici e procedimenti diagnostici invasivi, fornita per iscritto (art. 8.2). L'art. 9.2 dichiara però espressamente che è possibile prescindere dal consenso informato quando vi è un serio rischio per l'integrità psico-fisica del paziente e non è possibile ottenere la sua autorizzazione, consultando, quando le circostanze lo consentono, la sua famiglia. Questo è definito "privilegio terapeutico", ovvero quando fornire al paziente le informazioni riguardanti il suo stato di salute potrebbe pregiudicare l'esito della guarigione. In questo caso proteggere la salute del paziente (principio di beneficenza) è superiore al principio di autonomia. Il privilegio terapeutico è finalizzato ad assicurare l'efficienza del trattamento terapeutico e non deve essere una prerogativa personale del medico per decidere liberamente se e quando informare il paziente (Gómez Rivero, 2008).

La promozione dell'autonomia del paziente pediatrico si concretizza con l'art. 9 della legge 41/2002, secondo la quale i piccoli pazienti possono far prevalere le proprie decisioni, secondo l'età, il livello di maturità e la rilevanza dell'intervento clinico. Per i pazienti con età inferiore ai 12 anni e non in grado intellettualmente o emotivamente di comprendere la portata dell'intervento, è il rappresentante legale a fornire il consenso informato del paziente, coinvolgendo anche i genitori (art. 9.3). I pazienti con età tra 12 e 16 anni, possono far prevalere la propria volontà, nel caso in cui il medico responsabile ritenga che il bambino abbia una maturità sufficiente a prendere una decisione, in accordo con l'art. 162 del Codice Civile spagnolo. In questo contesto si utilizza l'espressione "minore maturo", ovvero una persona legalmente minore di età, in quanto minore di 18 anni (art. 12 della Costituzione spagnola), però con capacità sufficienti per essere coinvolto nel processo decisionale che gli riguarda (Beltrán Aguirre, 2013). Nel caso in cui il piccolo paziente debba essere esposto ad un grave rischio, può essere presa in considerazione l'opinione dei genitori, senza sopprimere la decisione del minore. Dall'età di sedici anni, l'adolescente è considerato autonomo a decidere. È la cosiddetta "maggioranza dell'età sanitaria", da cui però sono escluse la pratica per studi di ricerca clinica e le tecniche di riproduzione assistita, che richiedono un trattamento diverso (Jericó Ojer, 2013).

In ogni caso, il paziente deve avere a disposizione un tempo dedicato per prendere in autonomia le proprie decisioni, anche se, in realtà, la legislazione spagnola non quantifica il tempo di riflessione, si parla di tempo "sufficiente". Secondo la legge

3/2005 (8 luglio) della Comunità Autonoma di Extremadura, il malato ha la possibilità di decidere, liberamente e responsabilmente, almeno 24 ore prima di sottomettersi al trattamento proposto.

In ambito pediatrico potrebbero presentarsi anche le seguenti situazioni: il paziente minore rifiuta un trattamento vitale (come succede per esempio con i Testimoni di Geova, che rifiutano le trasfusioni di sangue); l'opinione del minore non coincide con quella del suo rappresentante legale; l'opinione del medico differisce da quella proposta dal rappresentante legale.

Nel primo caso, entrano in conflitto due interessi differenti: il potere di autodisposizione del minore del proprio corpo e il diritto alla vita. Il pieno esercizio di un qualsiasi diritto fondamentale deve essere compatibile con il mantenimento della vita stessa, infatti in questo caso sono autorizzati ad intervenire le forze pubbliche (art. 158.4 del Codice Civile spagnolo), ma una volta raggiunta la maggiore età, prevale la piena autonomia della persona interessata. Il medico ha la facoltà di sollecitare l'intervento giuridico e proteggere l'integrità fisica del minore, dimostrando al giudice che l'intervento è necessario nell'interesse del minore, in conformità con la legge organica 1/1996. Pertanto, non risulta valida né attendibile la posizione del minore contraria a sottomettersi a un trattamento medico necessario, senza il quale viene danneggiata la sua integrità fisica (Gascón Abellán *et al.*, 2011).

La legge 1/1998 della Comunità autonoma dell'Andalusia stabilisce che il diritto di ricevere assistenza sanitaria deve rispettare le credenze religiose dei pazienti, fintanto che esse non mettano in pericolo la loro vita. In tal caso, prevarranno le disposizioni dell'autorità e della legislazione attuale. Il tribunale costituzionale spagnolo si è espresso a tale proposito con la sentenza n. 154 del 18 luglio 2002, riguardante il conflitto di interessi conseguente al rifiuto di una trasfusione di sangue di un bambino di età inferiore a 13 anni che, a seguito di un incidente, presentava una grave emorragia cerebrale. I genitori e il bambino stesso, Testimoni di Geova, si erano opposti fortemente alla trasfusione. A seguito di decesso del minore i genitori erano stati condannati per "omicidio per omissione". Tale condanna è stata ritenuta dal tribunale come violazione del diritto alla libertà religiosa. Ad ogni modo, secondo la legge 41/2002, il medico ha il diritto di eseguire un intervento, solo se vitale per il paziente, senza la necessità di rivolgersi ad un giudice. Negli altri casi, sarà consigliabile sollevare il conflitto davanti al giudice, rispettando il principio di autonomia del minore.

Nel caso in cui c'è discordanza tra il parere del minore e la sua famiglia, la legge 41/2002 non fa riferimento a riguardo, ma l'art. 16 della legge 8/2008 del 20 giugno della Generalitat valenciana (l'insieme delle istituzioni di autogoverno della Comunità di Valencia) stabilisce che in caso di conflitto tra la volontà del paziente minore, avente capacità di giudizio e di discernimento, e la sua famiglia e il rappresentante legale, il medico deve coinvolgere un giudice imparziale (art. 163 e 299.1 del Codice Civile). L'art. 17 della legge 41/2002 sancisce che qualsiasi decisione dei genitori che possa danneggiare la salute del bambino (ledendo i diritti fondamentali quali il diritto alla vita, integrità fisica e morale) non obbligherà il medico responsabile a tali azioni o trattamenti sanitari. In questi casi, se il minore è maturo e possiede facoltà di decidere, il medico terrà conto della sua opinione, ma se non lo è, il medico responsabile accetterà le disposizioni della legislazione civile in materia. In questi casi, è necessaria l'autorizzazione di un giudice secondo quanto dichiarato dal Tribunale Europeo dei Diritti Umani (Galán Cortés, 2011). Secondo l'art. 154 del Codice Civile spagnolo, l'autorità genitoriale, in quanto responsabilità genitoriale, sarà sempre esercitata nell'interesse dei bambini, in base alla loro personalità e nel rispetto dei loro diritti, della loro integrità fisica e mentale.

La seconda disposizione finale della legge 26/2015, del 28 luglio, *modificación del sistema de protección a la infancia y a la adolescencia*, modifica la legge 41/2002: il consenso informato viene fornito dal minore solo se questi ha un'età compresa tra 16 e i 18 anni, e verrà coinvolto un rappresentante legale solo se, secondo il criterio del medico, il paziente deve sottoporsi ad un trattamento con grave rischio per la sua salute.

Germania

Già a partire dal 1984, il Reichsgericht (Tribunale Supremo dell'Impero tedesco) segnalò l'esigenza di formulare il consenso informato del paziente prima di un dato trattamento, in occasione di una specifica dichiarazione di un medico che affermava che era necessario amputare il piede di un bambino. Il tribunale sostenne che il trattamento implicava una lesione corporale illegale, che il medico doveva giustificare mostrando il consenso informato del paziente; il medico ha la facoltà di comprendere qual è il migliore trattamento per il benessere del paziente, ma questo non implica che possiede la facoltà giuridica di intervenire, in base alla sua discrezione e utilizzando il corpo del paziente come oggetto di una pratica clinica intenzionata (RG, 1894). A partire da quel momento il potere curativo del medico si vincolò al consenso informato del paziente,

che deve essere consapevole dei rischi e degli effetti secondari del trattamento (RG, 1940).

L'art. 1.1 della Costituzione tedesca (1949) afferma che la dignità dell'uomo è sacra e il suo rispetto e protezione costituisce un dovere di tutte le autorità di stato, tutelando il diritto allo sviluppo della personalità (art. 2.1), e nel 1957 il Tribunale Supremo rilevò che il paziente può rifiutare un trattamento proposto. Secondo la Corte di Cassazione Federale (BGH, 1980), la facoltà di decidere del paziente, se valutata poco razionale dal medico, può da quest'ultimo essere disattesa, considerando però tutti i rischi associati. Il paziente deve conoscere il significato e le implicazioni del trattamento, così come i pro e i contro, ma i rischi possono essere dichiarati in termini generali (*im großen und ganzen*). Inoltre il paziente deve poter avere a disposizione almeno un giorno per poter decidere se sottoporsi ad un intervento chirurgico.

In seguito agli esperimenti effettuati su innocenti nei campi di concentramento, durante la Seconda Guerra Mondiale e l'emanazione del successivo *Codice di Norimberga*, l'importanza del consenso informato del paziente ha assunto un ruolo decisivo. La volontà del paziente è attualmente salvaguardata dalla legge sul miglioramento dei diritti del paziente (2013), secondo la quale il sanitario è tenuto a spiegare in modo chiaro, all'inizio e, se necessario, anche durante il trattamento, le linee principali dello stesso e il presumibile mutamento dello stato di salute del paziente. Qualora il sanitario riconosca la sussistenza di circostanze che potrebbero causare un errore medico, è obbligato a informare il paziente. In via eccezionale, l'informazione non è obbligatoria, quando il trattamento è improrogabile o quando il malato ha espressamente rinunciato all'informazione stessa (Agón López, 2017). Ad ogni modo, il paziente può fornire il proprio consenso informato, per sottoporsi ad una pratica medica o a tests clinici solo al raggiungimento della maggiore età (Lepola *et al.*, 2016).

Inghilterra e Irlanda

In Inghilterra, lo studio del consenso informato inizia dalla sentenza della Camera dei Lord del 17 ottobre 1985, comunemente conosciuto come il caso Gillick: una madre di cinque figlie, minori di sedici anni, aveva contestato la prescrizione di contraccettivi a minori senza il consenso dei genitori, formulata sulla base della Family Law Reform Act del 1969, secondo la quale un minore di 16 anni può decidere di sottoporsi a qualsiasi trattamento senza alcun consenso da parte di un suo genitore o tutore. La

signora Gillick portò la questione in Camera dei Lord, dove fu riconosciuto agli adolescenti minori di 16 anni il diritto di ricevere tale trattamento, anche senza il consenso dei genitori. La sentenza si focalizzò sull'idea di "competenza e maturità" dell'adolescente e sulla natura della responsabilità genitoriale, relativa alla cura dei bambini. L'autorità genitoriale è riconosciuta fintanto che risulta necessaria per la protezione del bambino, fin quando questi non ha raggiunto un livello di comprensione sufficiente per decidere autonomamente. Attualmente, secondo la Gillick Competence, la volontà di pazienti minori di 16 anni, che mostrano sufficiente capacità e competenza, viene rispettata, senza il consenso della famiglia (Grootens-Wiegers *et al.*, 2017). Tuttavia, è ancora valida la dichiarazione della Corte d'Appello del 24 luglio 1991, secondo la quale se un minore di 16 anni si rifiuta di assumere un farmaco, deve essere coinvolto un giudice e valutata l'opinione dei genitori (Cadenas Osuna, 2018).

Il Dipartimento della Salute inglese adotta dal 2002 la *Good practice in consent implementation guide: consent to examination or treatment*, con l'obiettivo di assistere le organizzazioni sanitarie nella realizzazione di buone pratiche nell'acquisizione del consenso informato dei pazienti. In particolare, nella guida è indicato come ottenere il consenso informato: ad esempio, si distinguono casi in cui esso può essere acquisito come unico passaggio di un percorso terapeutico e ipotesi nelle quali sono necessari più passaggi, nonché il coinvolgimento di professionisti diversi. Particolare attenzione è dedicata anche alla necessità di prevedere un successivo controllo del consenso inizialmente acquisito, nel caso in cui insorgano esigenze non prevedibili all'inizio del percorso terapeutico.

In Irlanda, l'adolescente, tra i 16 e i 18 anni di età ha la capacità e competenza di autorizzare o rifiutare un trattamento medico. Il minore che ha un'età inferiore ai 16 anni può accettare o rifiutare il trattamento se il medico ritiene che egli è sufficientemente maturo per comprendere le informazioni rilevanti e prendere una decisione e apprezzare le possibili conseguenze. Nel caso in cui il minore considerato competente decide di rifiutare un trattamento vitale, si deve coinvolgere un giudice (National Consent Advisory Group, 2013; Grootens-Wiegers *et al.*, 2017).

Francia

Il consenso informato risulta disciplinato dalla legge n. 303 del 4 marzo 2002, *relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé*, la quale si sofferma sull'importanza della volontà del malato durante l'esecuzione di qualsiasi atto sanitario. La stessa normativa individua il contenuto delle informazioni che il medico deve fornire al paziente, affinché questi effettui una scelta consapevole in merito alla propria salute. L'articolo 16.3 del Codice Civile francese (2013) segnala che il consenso informato deve essere fornito prima di qualsiasi pratica medica, salvo nei casi di un intervento terapeutico urgente. Il Codice della Sanità Pubblica francese afferma che l'individuo ha il diritto di essere informato sul suo stato di salute (art. 1111-2) e nessun trattamento medico può essere effettuato senza il consenso libero della persona interessata, che può ritirarlo in qualunque momento (art. 1111-4). Se il paziente è minore, la legge segnala che il consenso deve essere dato da genitori o tutori, tenendo sempre conto della maturità del bambino, che ha il diritto di rifiutarsi di sottomettersi ad un dato trattamento proposto (art. 1111-6). Inoltre secondo l'art. R4127-35, il medico può nascondere le informazioni riguardanti lo stato di salute del malato, se quest'ultimo ha espresso questa volontà o nel caso in cui fornire l'informazione potrebbe aggravare la salute del paziente. Questa limitazione deve essere basata su motivi legittimi e nell'interesse del paziente, che devono essere valutati in base alla natura della patologia, alla sua evoluzione prevedibile e alla personalità del paziente (Corte di Cassazione, 23 maggio 2000).

Portogallo

L'articolo 64 della Costituzione portoghese dichiara che tutti hanno il diritto alla protezione della salute e il dovere di difendere e promuovere la salute. Il diritto alla protezione della salute deve essere soddisfatto creando condizioni economiche, sociali, culturali e ambientali che garantiscano in particolare la protezione dell'infanzia, della giovinezza e della vecchiaia e migliorando sistematicamente le condizioni di vita e di lavoro.

Nella *Lei de Basse de Saúde* del 1990 viene riconosciuto il diritto dei pazienti (*utentes*) di decidere se accettare o rifiutare una prestazione sanitaria e di essere informati in merito al proprio stato di salute e alle possibili alternative di trattamento. Il paziente ha

il diritto di rifiutare sia le informazioni sia il trattamento sanitario, anche se il rifiuto appaia irragionevole, al fine di assicurare il rispetto della sua libertà di coscienza e del suo diritto all'integrità fisica e morale (Callipari, 2012). Il Codice Penale portoghese precisa che il consenso è efficace solo se il paziente sia stato debitamente informato sulla diagnosi e la tipologia, la portata, l'invasività e le possibili conseguenze dell'intervento o del trattamento, salvo che questo implichi la comunicazione di circostanze che, ove conosciute dal paziente, mettano in pericolo la sua vita o siano suscettibili di causare gravi danni alla sua salute, fisica o psichica (art. 157). Secondo l'art. 38 del Codice Penale, il consenso può essere espresso con qualsiasi mezzo che rifletta la volontà seria, libera e informata del titolare e può essere liberamente revocato. Il consenso è valido solo se è fornito da persone di età superiore ai 16 anni, che hanno la capacità di valutarne il significato e la portata nel momento in cui viene fornito.

Altri paesi

In Olanda, i bambini con età superiore ai 16 anni possono autonomamente prendere decisioni in ambito sanitario e i minori di 12 anni possono dare il loro consenso riguardo alla partecipazione ad un trattamento o ad una sperimentazione clinica insieme ai loro genitori. Alcuni paesi europei hanno anticipato l'età della maggioranza sanitaria, come la Danimarca, a 15 anni (Legge della Salute, 2005). Al contrario, in altri stati come Cipro, Grecia e Slovacchia, si considera esclusivamente la maggiore età comune di 18 anni (de Montalvo Jääskeläinen, 2019).

Nel 1979 il Senato statunitense (The U.S. Senate Committee on Labor and Public Welfare) emanò il Rapporto di Belmont, che sviluppo i principi etici associati ai soggetti umani coinvolti nelle ricerche, ovvero giustizia, beneficenza e rispetto della persona. Ai bambini di età inferiore ai 7 anni dovrebbe essere fornita una semplice spiegazione verbale di ciò che comporta lo studio, che cosa accadrà loro e che cosa potrebbe essere chiesto loro di fare. È importante documentare questa conversazione sul modulo di autorizzazione dei genitori o nei registri di studio (Podany & Pharm, 2017). La maggior parte delle leggi statali degli Stati Uniti, riportano che all'età di 12 anni, si riconosce al minore la capacità di decidere in ambito sanitario. Tuttavia non esiste un modello comune. In alcuni Stati è permesso a tutti i minori che hanno raggiunto una certa età (15, 16 o 18 anni) possono acconsentire ad un dato trattamento; in altri stati invece si fa riferimento ai gradi di maturità del minore (Coleman & Rosoff, 2013).

Anche in Canada si diventa maggiorenni all'età di 18 anni, ma in ambito sanitario, si conferisce la piena capacità decisionale a 16 anni. Per i minori di 16 anni viene considerata la regola del “minore maturo”, considerando sempre il migliore interesse del paziente (de Montalvo Jääskeläinen, 2019).

1.5.2 Il rispetto dei dati personali

Già a partire dall'ecografia fetale, l'immagine del *nasciturus* diventa parte del database di un ospedale durante la gravidanza, e, quando il bambino andrà all'asilo, se è pubblico, avrà il suo primo rapporto con l'Amministrazione educativa, che sicuramente trasferirà i suoi dati, ad esempio, al servizio mensa. Diventando un adolescente, il giovane inizierà ad utilizzare il computer e si unirà ai social network, compilando anche sondaggi sulla sua famiglia, sulla situazione economica e personale, sui suoi gusti e preferenze e tutta la sua privacy. Un minore, prima di avere una maturità sufficiente, presenta durante la sua infanzia e adolescenza i suoi dati personali verso una moltitudine di entità e organizzazioni pubbliche e private. Nella stragrande maggioranza dei casi, il minore ignora completamente il suo diritto alla protezione dei dati e non si sente particolarmente preoccupato o sconvolto quando deve fornire i tuoi dati a terzi, come può succedere nel caso degli adulti. Il diritto fondamentale alla protezione dei dati è soggetto a continue violazioni, data la spinta del mercato e l'importanza che questi dati hanno in termini economici per le aziende. Nel caso dei minori, la minaccia cresce inversamente proporzionale alla diminuzione della percezione del rischio di non utilizzare il diritto all'autodeterminazione informativa in modo adeguato e responsabile (Durán Ruiz 2013; 2018).

Secondo quanto riportato nell'Osservazione Generale n.4 (*General observation n° 4, health and development of the adolescent*, 2003), in merito alla *Convenzione dei Diritti dei Bambini*, è doveroso rispettare rigorosamente il diritto alla privacy e alla riservatezza dei bambini, anche per quanto riguarda i pareri e le consulenze in materia di salute. Gli operatori sanitari sono obbligati a garantire la riservatezza delle informazioni, che possono essere divulgate solo con il consenso dell'adolescente. Gli adolescenti che sono considerati abbastanza maturi da ricevere consigli al di fuori della presenza dei genitori, hanno il diritto alla privacy e possono richiedere servizi e trattamenti riservati (de Montalvo Jääskeläinen, 2019).

Pertanto, i minori meritano una specifica protezione relativamente ai loro dati personali, in quanto possono non essere consapevoli dei rischi, delle conseguenze e delle misure di salvaguardia interessate nonché dei loro diritti in relazione al trattamento dei dati personali. In accordo con il Regolamento del Parlamento Europeo del 27 aprile 2016, in relazione ai servizi della società dell'informazione, il trattamento di dati personali del minore è lecito, ove il minore abbia almeno sedici anni. Se il minore ha un'età inferiore ai sedici anni, tale trattamento è lecito, soltanto se e nella misura in cui tale consenso è prestato o autorizzato dal titolare della responsabilità genitoriale. Gli Stati membri dell'Unione Europea possono stabilire un'età inferiore a tali fini, purché non inferiore ai 13 anni (art. 8).

In Italia, il decreto legislativo n.196 attesta che tutti hanno il diritto alla protezione dei dati personali che lo riguardano (art. 1) e vieta la pubblicazione e divulgazione di notizie o immagini che consentono l'identificazione di un minore (art. 50). Con il decreto legislativo 101/2018, la normativa italiana viene adeguata alle disposizioni del regolamento europeo 2016/679, attestando che il minore che ha compiuto i quattordici anni può esprimere il consenso al trattamento dei propri dati personali. Il trattamento dei dati del minore, di età al di sotto dei quattordici anni, è lecito a condizione che sia prestato dai genitori/tutori. Naturalmente, il titolare del trattamento redige con linguaggio chiaro, semplice e facilmente comprensibile dal minore, al fine di rendere significativo il consenso prestato da quest'ultimo (art.2).

L'art. 7.2 delle legge spagnola 41/2002 dichiara che bisogna rispettare il carattere confidenziale dei dati personali dei pazienti e nessuno può accedere senza autorizzazione. Il Decreto Regio 1720/2007 del 21 dicembre, che approva il Regolamento della Legge Organica 15/1999 del 13 dicembre, stabiliva che un minore, all'età di quattordici anni, ha la capacità e maturità di esercitare il diritto di accesso e rettifica dei dati personali, ad eccezione di quei casi in cui la legge richiede l'assistenza dei genitori o tutori (art. 13) (Aguirre, 2013). L'Agenzia Spagnola della Protezione dei Dati ha affrontato il dibattito circa l'accesso dei genitori alla storia clinica e ai dati dei propri figli: inizialmente, con l'informe 409/2004, l'Agenzia dichiarò che i maggiori di quattordici anni dispongono delle condizioni di maturità per esercitare per sé stessi il diritto di accesso ai suoi dati di carattere personale, senza dover fare riferimento ad un rappresentante legale. In questo modo i genitori non potrebbero accedere alla cartella clinica del figlio. La posizione dell'Agenzia mutò con l'informe 114/2008 secondo la quale i genitori devono essere informati sullo stato di salute del figlio per poter tutelare

adeguatamente la sua salute. Il minore potrà esercitare il diritto di accesso ai propri dati a partire dai quattordici anni senza però limitare questo diritto ai genitori.

L'Organizzazione Medica Collegiale spagnola ha sottolineato nel 2008 che il medico deve realizzare qualsiasi trattamento richiesto dal paziente, se questi ha compiuto i sedici anni, senza informare o ottenere il consenso della famiglia, rispettando il diritto di riservatezza del minore, violando tuttavia il diritto di responsabilità della patria potestà.

Si tratta di un conflitto etico e legale, nel quale si devono valutare le implicazioni e le conseguenze, ricordando che non sono pochi i casi in cui il minore decide di escludere i genitori dal conoscere il proprio stato di salute (Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos, 2008).

La legge attuale 3/2018 ribadisce che il trattamento dei dati personali di un minore di età sarà basato sul suo consenso solo quando avrà compiuto quattordici anni (art. 7). Prima dei quattordici anni i genitori o tutori di minori di tale età potranno esercitare i diritti di accesso ai dati personali (art. 12). Così come la legge sull'autonomia del paziente esige l'intervento della famiglia quando il paziente è esposto ad un grave rischio, anche se ha raggiunto i sedici anni ed è considerato maturo, l'accesso alla storia clinica seguirà lo stesso principio (De Montalvo-Jaaskelainenm, 2019).

Nella Comunità autonoma di Castiglia e Leon, la storia clinica del paziente minore quando ha sedici anni compiuti non sarà fornita al rappresentante legale di quest'ultimo, a meno che non abbia la sua espressa autorizzazione. I minori, che non hanno raggiunto l'età di sedici anni, con sufficiente maturità, a discrezione del medico responsabile dell'assistenza, possono registrare nella cartella clinica il divieto di accesso del suo rappresentante legale ai dati in esso contenuti. In questo caso, il rappresentante legale può accedere solo alle informazioni relative ai processi in cui è richiesto il suo contributo (decreto 101/2005).

1.5.3 Minori e ricerca biomedica

La necessità di tutelare il diritto al consenso informato del paziente pone le sue radici su episodi di sfruttamento di soggetti vulnerabili, contro la loro volontà. Esempio emblematico è rappresentato dagli esperimenti disumani condotti dal regime nazista sui prigionieri di guerra nei campi di concentramento, così come lo studio sulla sifilide non trattata sugli afroamericani, chiamato anche studio di Tuskegee (in Alabama) del 1932: durante questo studio, non veniva riferito l'effettivo stato di salute e non erano

somministrate le cure necessarie agli uomini afroamericani malati di sifilide, per studiare il corso naturale della malattia. Dopo quarant'anni, lo studio fu denunciato e interrotto.

Altri esperimenti eseguiti illegalmente furono quelli effettuati negli anni '50 presso il Walter E. Fernald Developmental Center di Waltham (Massachusetts): giovani adolescenti, di sesso maschile, ricoverati presso l'istituto per disabilità mentali, furono sfamati con alimenti a base di farina d'avena, contenente calcio e ferro radioattivi, per comprendere le disfunzioni dell'assorbimento minerale. Ai genitori non avevano riferito che i bambini coinvolti in tale studio sarebbero stati esposti a materiale radioattivo, mentre ai bambini era stato detto che stavano partecipando ad un'esercitazione di scienze (Podany & Pharm, 2017).

Gli episodi citati hanno sollevato questioni importanti su cosa è veramente un "consenso informato" e quali sono i limiti della libertà di ricerca. Essa costituisce non solo un diritto umano fondamentale, ma anche un requisito essenziale del progresso umano, e come tale, deve essere rispettato in tutti i suoi rami, includendo la ricerca biomedica. Sicuramente, non si può dichiarare che la libertà di ricerca sia un diritto umano illimitato, né che costituisca sempre un bene. I progressi della biomedicina, considerati dentro l'ampia cornice delle loro implicazioni sociali, esigono l'impegno verso la condivisione di principi, procedure, dialogo, responsabilità individuali e collettive (D'Antuono & Tagliatela, 2017).

La dignità intrinseca e la libertà della persona determinano il rifiuto della strumentalizzazione della persona, che deve essere riconosciuta come soggetto e non come oggetto (Gómez, 2018). La responsabilità nella ricerca scientifica implica una valutazione dei rischi che essa comporta: spesso si dà priorità alla "produzione di ricchezza", senza considerare la produzione di rischi. In caso di un generale stato di incertezza, si invoca il Principio di Precauzione, ovvero l'invito ad adottare una serie di misure di prevenzione prima ancora che il danno si manifesti. La precauzione occupa un ambito intermedio fra la prevenzione, quindi l'attivazione di misure volte a evitare o limitare le conseguenze di un agente di rischio, e le congetture che non giustificano la sospensione di uno sviluppo tecnologico utile, del quale i futuri possibili effetti avversi, in assenza di evidenze anche parziali, possano soltanto essere ipotizzati (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2004). Qualsiasi intervento medico dovrebbe sottostare a quel limite insuperabile rappresentato dalla salvaguardia dei beni fondamentali (vita, integrità psico/fisica, dignità umana, riservatezza) che non possono essere danneggiati

dall'atto medico, salvo a ridurre l'uomo a mero oggetto o comunque semplice mezzo per il perseguimento di finalità a lui estranee: ad esempio, durante la profilassi attiva di alcune malattie infettive, la salute del singolo non deve essere subordinata alla salute della comunità. Questi valori sono prioritari rispetto a qualsiasi altro, compresa la libertà di scienza; sarà quindi compito della ricerca scientifica, nel suo continuo e incessante divenire, indicare di volta in volta, in modo responsabile e trasparente, l'effettiva finalità del trattamento sanitario (Chieffi, 1997).

In ambito socio-sanitario, alcuni paesi sottosviluppati dell'America latina, sono chiamati in causa i “*Quatro Pês*” (letteralmente dal portoghese, “quattro piedi”), strumenti di supporto della bioetica d'intervento per l'esercizio di pratiche etiche pubbliche: prudenza, precauzione, protezione e prevenzione. Tutti questi sono già parte integrante della pratica sanitaria ma tali principi possono essere richiamati di fronte alla necessità di utilizzare nuove tecnologie, servizi e prodotti per la salute. Se, da un lato, la prudenza e la precauzione sono principi da considerare nella sperimentazione di un nuovo farmaco, ci si avvale del principio di protezione e di prevenzione per evitare possibili danni e iatrogenie derivanti dall'uso di questi prodotti (Garrafa *et al.*, 2017).

La *Dichiarazione di Helsinki* (risalente al 1964, ma l'ultimo emendamento è stato rilasciato nel 2013 a Fortaleza, Brasile), dichiara che è dovere del medico salvaguardare la salute, il benessere e i diritti dei pazienti, soprattutto quelli coinvolti nella ricerca biomedica, “*la scienza e coscienza del medico devono essere messe al servizio di questa missione*”. Infatti l'obiettivo primario della ricerca biomedica, ovvero superare i limiti della conoscenza, non deve prevalere sui diritti dei soggetti coinvolti nella ricerca, ovvero sulla tutela della vita, della salute, della dignità, dell'integrità, della privacy, della riservatezza dei dati personali (art. 6-7).

Oltretutto è dovere dei medici coinvolti nella ricerca medica proteggere la vita, la salute, la dignità, l'integrità, il diritto all'autodeterminazione, la privacy e la riservatezza delle informazioni personali dei soggetti umani coinvolti nella ricerca (art. 9). I medici dovrebbero coinvolgere i pazienti nella ricerca biomedica solo se intravedono un potenziale vantaggio preventivo, diagnostico e terapeutico (art. 14) e se i benefici sono maggiori dei rischi previsti per i soggetti coinvolti (art. 16). La partecipazione alla ricerca biomedica deve essere volontaria e autorizzata tramite consenso informato (art. 25), ovvero dopo che il paziente sia stato adeguatamente informato su obiettivi, metodi, fonti di finanziamento, conflitti di interesse, benefici attesi e potenziali rischi dello studio (art. 26). Nel caso in cui il partecipante alla ricerca non è in grado di fornire il

consenso informato, deve essere richiesto al rappresentante legale, ma nel caso in cui il potenziale partecipante, ritenuto incapace di fornire il consenso informato, è in realtà in grado di fornirlo (come nel caso dei minori di età), il medico deve acquisire il suo assenso in aggiunta al consenso del rappresentante legale (art. 28-29). Nel caso in cui il consenso è fornito “per rappresentazione”, il titolare di tale consenso è sempre il paziente, che può rifiutare o accettare, senza coercizioni, un intervento o un determinato trattamento. Risulta necessario limitare l’intervento di altri nel processo decisionale, per ovviare che una terza persona, contro la volontà del titolare, decida per quest’ultimo (Galán Cortés, 2016).

La *Convenzione dei Diritti Umani e Biomedicina (Convenzione di Oviedo, 1997)* dichiara che la ricerca scientifica nel campo della biologia e della medicina si esercita assicurando la protezione dell’essere umano (art.2) e che un intervento nel campo della salute non può essere effettuato se non dopo che la persona interessata abbia dato consenso libero e informato. Allo stesso modo, la *Dichiarazione di Ottawa sulla salute del bambino (1988)* dichiara che la ricerca sui bambini è essenziale per lo sviluppo di conoscenze scientifiche di salute pubblica e medica, al fine di garantire la promozione della salute e del benessere dei bambini in tutto il mondo. Prima di coinvolgere un bambino in una ricerca biomedica, occorre valutare se i risultati di tale ricerca non possano essere ottenuti utilizzando modelli di laboratorio, animali o persone adulte. I protocolli di studio devono essere specifici per i bambini e devono includere le stesse garanzie per i soggetti adulti e una giustificazione per la necessità di effettuare tale ricerca.

In accordo con l’articolo 3.2 della *Dichiarazione universale sulla Bioetica e i diritti umani (2005)*, gli interessi e il benessere dell’individuo sono prioritari rispetto all’esclusivo interesse della scienza o della società. Seguendo questa ideologia, esiste un dovere generale nell’evitare una pratica clinica che comporti un rischio per la salute degli esseri umani implicati. L’articolo 6.2 segnala a sua volta il concetto di autonomia e consenso informato del paziente: la ricerca scientifica deve essere realizzata con il consenso previo, libero, espresso e informato della persona coinvolta. Diventa però legittimo sottolineare che anche l’autonomia conosce limiti, soprattutto quando riguarda valori socialmente condivisi, come il rispetto della persona umana (De Miguel Beriain, 2012).

La partecipazione dei minori di età nei processi della ricerca scientifica o negli studi clinici pone rilevanti problemi etici, tali da schierare coloro che sono a favore e coloro che ne sono contrari.

Le posizioni favorevoli si appellano alla necessità di realizzare una ricerca scientifica su soggetti, che saranno successivamente i destinatari di quel trattamento, in modo da garantire e prevedere il possibile risultato su detti destinatari. La ricerca in pediatria dovrebbe essere vista come parte integrante e necessaria di un sistema sanitario. Non dovrebbe essere percepita come una minaccia per i bambini, né come qualcosa di insolito. Senza studi scientifici ben elaborati, non vi è alcuna prospettiva di migliorare l'assistenza sanitaria per i bambini, correndo il rischio che i piccoli pazienti vengano danneggiati da procedure e medicinali inadeguati per la loro fascia di età. Tale approccio non vuole prescrivere una "ricerca a tutti i costi", ma migliorare l'assistenza sanitaria in pediatria (Nuffield Council on Bioethics, 2015).

Le posizioni contrarie affermano che l'assenza della maturità necessaria per adottare decisioni proprie in quest'ambito rende i minori un gruppo particolarmente vulnerabile. La legislazione europea non attesta che i minori debbano essere esclusi totalmente nei processi di ricerca biomedica, ma la loro partecipazione va considerata esclusivamente se si genera beneficio diretto per quest'ultimi. Risulta indispensabile definire i diritti dei minori, che hanno un innegabile grado di vulnerabilità, ma anche un'autonomia che non può essere ignorata (Gómez, 2018).

Secondo la Direttiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo, può essere intrapresa una pratica clinica sui minori, solo se questi hanno ricevuto le informazioni sulla sperimentazione, i rischi e i benefici, in base alla loro capacità di comprensione, e dopo che è stato ottenuto il consenso informato dei genitori o del rappresentante legale, che deve rispecchiare la volontà presunta del minore. Tuttavia, Gracia Guillén sottolinea che le decisioni che coinvolgono la salute e la vita dei minori devono essere prese, considerando sempre il maggior beneficio per il paziente, anche andando contro la volontà di quest'ultimo. Pertanto, il conflitto tra il principio di beneficenza e quello di autonomia si risolve sempre a favore del primo (Gracia Guillén, 2010).

Il Regolamento (UE) 536/2014, sulla sperimentazione clinica di medicinali per uso umano, abroga la direttiva 2001/20/CE e dichiara che i minori, che sono in grado di formarsi un'opinione propria e di valutare le informazioni loro fornite, hanno il diritto di dare il proprio assenso a partecipare a una sperimentazione clinica, in aggiunta al consenso informato fornito dal rappresentante legale (art. 32). I membri del gruppo di

sperimentazione, qualificati nel trattare con minori, devono fornire a questi ultimi, in una forma comprensibile e adeguata alla loro età e maturità intellettuale, le seguenti informazioni: i) la natura, gli obiettivi, i benefici, le implicazioni, i rischi, la durata e gli inconvenienti della sperimentazione clinica; ii) i diritti e le garanzie riconosciuti al soggetto, come il diritto di rifiutarsi di partecipare e il diritto di ritirarsi dalla sperimentazione clinica in qualsiasi momento, senza alcuna conseguenza e senza dover fornire alcuna giustificazione. Inoltre, se il minore raggiunge la maggiore età nel corso di una sperimentazione clinica, ai sensi del diritto nazionale dello Stato membro interessato, è obbligatoria l'acquisizione dello specifico consenso informato. Nell'ambito della ricerca biomedica, sia i medici che i genitori, devono comprendere se il grado di rischio è inferiore al potenziale beneficio per il bambino (Grodin & Glantz, 1994).

La necessità di effettuare ricerca scientifica in ambito pediatrico è giustificata dall'esigenza di individuare la giusta posologia dei farmaci destinati ai bambini. Questi non sono semplicemente "piccoli adulti", ma presentano differenze non solo fisiologiche, ma anche relative al tipo di cancro, nelle prognosi e nei metodi di terapia. Molti farmaci studiati e approvati per gli adulti, venivano utilizzati anche in pediatria, senza però uno studio pregresso. Escludere la popolazione pediatrica dal programma di ricerca dei nuovi farmaci provoca la somministrazione di dosi non adatte per questi pazienti.

Proprio perché i tumori pediatrici sono più rari rispetto a quelli adulti, è indispensabile che questi bambini vengano reclutati negli studi clinici. Nei paesi sviluppati, oltre il 70% dei bambini sottoposti a trattamenti antitumorali è arruolato in uno studio clinico. Difatti la maggior parte degli oncologi pediatrici sono coinvolti sia nella ricerca che nelle cure cliniche. Come partecipanti alla ricerca, i bambini sono più vulnerabili, per la mancanza di un linguaggio comprensibile usato nel consenso informato, l'ignoranza dei loro bisogni e desideri, la poca autonomia e la dipendenza dal processo decisionale della famiglia (Alahmad, 2018).

Il Regolamento Europeo 1901/2006 ha l'obiettivo di facilitare lo sviluppo e la disponibilità dei farmaci adeguati per la popolazione pediatrica, al fine di rispondere alle esigenze terapeutiche specifiche di tale popolazione. Tali obiettivi dovrebbero essere realizzati senza dover sottoporre i pazienti pediatrici a sperimentazioni cliniche non necessarie, evitando però di ritardare l'autorizzazione di medicinali destinati agli adulti. Questo prevede l'istituzione di un tipo di autorizzazione all'immissione in

commercio specifica. Per la realizzazione di nuovi farmaci è necessario presentare un piano di indagine pediatrica e creare un comitato pediatrico, all'interno dell'European Medicines Agency, responsabile della valutazione scientifica, della supervisione e del monitoraggio della sicurezza dei medicinali nell'UE.

Il piano di indagine pediatrica consiste in un programma di ricerca e sviluppo, finalizzato a determinare le condizioni nelle quali un farmaco può essere autorizzato per la somministrazione in pediatria, includendo le misure proposte per dimostrare la qualità, la sicurezza e l'efficacia del medicinale per la popolazione pediatrica. I piani d'indagine pediatrica devono essere presentati nella fase iniziale dello sviluppo del prodotto, in modo da permettere, laddove opportuno, l'esecuzione di studi nella popolazione pediatrica prima della presentazione delle domande di autorizzazione all'immissione in commercio. Il comitato pediatrico è incaricato di approvare lo studio, valutando la qualità, l'efficacia di un farmaco e l'equilibrio rischio-beneficio. Stabilisce inoltre un inventario specifico delle necessità dei farmaci per uso pediatrico.

Determinare la posologia adeguata per i minori è uno dei maggiori problemi etici che si incontrano in pediatria. Il documento *"Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population"*, emesso dall'European Medicines Agency (2006) definisce le misure adeguate per la formulazione di un farmaco, per renderlo sicuro e efficace, valutando l'adeguata posologia compatibile, sia del principio attivo che degli eccipienti, le modalità di somministrazione per diversi sottogruppi della popolazione pediatrica.

Gli studi pre-clinici, sugli animali, forniscono le informazioni di sicurezza, riguardanti effetti sugli organi di un organismo in piena fase di crescita, a livello micro e macroscopico, come indicato dal *"Guideline on the need for non-clinical testing in juvenile animals of pharmaceuticals for paediatric indications"* (European Medicines Agency, 2008).

Lo studio clinico sui bambini include, nella maggior parte, la farmacocinetica, in funzione delle fasce di età e del tipo di patologia, ad esempio, la determinazione di un metodo analitico altamente sensibile per calcolare la concentrazione plasmatica del farmaco, in base alla quantità di volume di sangue da prelevare, considerando la maturazione del sistema enzimatico implicato nel metabolismo e nell'eliminazione (European Medicines Agency, 2006; Fernández Cortizo *et al.*, 2010).

L'articolo 32 comma 2 della Costituzione Italiana recita *"Nessuno può essere obbligato a un determinato trattamento sanitario se non per disposizione di legge. La legge non può in nessun caso violare i limiti imposti dal rispetto della persona umana"*. Questi

limiti diventano valicabili, nel condurre sperimentazioni di un farmaco non ancora testato su malati gravi. I pareri in proposito sono contrapposti: gli oppositori della sperimentazione sui pazienti affetti da patologie in fase avanzata sostengono che questa potrebbe essere moralmente illecita e lesiva, nonostante il consenso del paziente (forse corrotto dalla disperata speranza di trarre benefici dal farmaco sperimentale); d'altro canto, c'è chi sostiene che la dignità del paziente non viene rispettata se gli è sottratta la possibilità di rendersi soggetto di una sperimentazione, che gli potrebbe giovare (Pocar, 2012). Il Decreto Ministeriale del 15/7/1997 prevedeva che un soggetto incapace di dare il proprio consenso informato può essere coinvolto in una ricerca solo se tale consenso veniva espresso dal suo rappresentante legale, oltre al fatto che, se si fosse trattato di uno studio non terapeutico, ovvero senza benefici clinici diretti per il soggetto, dovevano essere indicati gli eventuali rischi prevedibili e l'impatto negativo sul benessere del soggetto. Questa legge è stata superata dal Decreto Legislativo n. 2011/2003, che attua la Direttiva 2001/20/CE e consente la sperimentazione clinica sui minori, dopo aver ottenuto il consenso informato dei genitori/tutori. Il consenso deve comunque rispecchiare la volontà del minore e deve poter essere ritirato in qualsiasi momento senza che ciò comprometta il proseguimento dell'assistenza necessaria. Si potrà prescindere dal consenso informato del rappresentante legale solo nell'ipotesi di un trattamento terapeutico in "stato di necessità" (art. 4).

La legge spagnola 14/2007, del 3 luglio 2007, sulla ricerca biomedica, dichiara, nel preambolo, che la ricerca e la scienza della salute sono uno strumento chiave per migliorare la qualità e le aspettative della vita dei cittadini. Tuttavia, questi progressi scientifici e le procedure e gli strumenti utilizzati per raggiungerli, generano importanti incertezze etiche e legali che devono essere opportunamente regolate. Per questo è necessario disporre di un adeguato quadro normativo che risponda alle nuove sfide scientifiche, garantendo al contempo la protezione dei diritti delle persone che potrebbero essere interessate dall'azione investigativa. I minori di età possono fornire il loro consenso informato per partecipare alla ricerca scientifica attraverso il rappresentante legale, a condizione che non vi siano alternative per l'indagine. La ricerca sarà condotta nel rispetto della dignità della persona e a beneficio della sua salute (art.4). Ancora, la ricerca scientifica su minori può essere svolta solo se i risultati dell'indagine possano produrre benefici reali o diretti per la salute e se i rappresentanti legali della persona che parteciperà all'inchiesta abbiano dato il loro consenso scritto,

dopo aver ricevuto tutte le informazioni a riguardo (art. 20) (de Montalvo Jääskeläinen, 2012).

Il Regolamento (UE) 536/2014 viene ratificato in Spagna con il Decreto Regio 1090/2015, specificando che il Comitato Etico responsabile della sperimentazione deve coinvolgere esperti pediatrici tra i suoi membri o aver cercato consulenza su questioni cliniche, etiche e psicosociali nel campo della pediatria. È necessario che sia stato ottenuto il consenso informato dai genitori del minore, la cui opinione deve essere presa in considerazione nel caso in cui abbia un'età inferiore ai dodici anni ma con giudizio sufficiente. Quando il minore ha dodici o più anni, deve anche dare il suo consenso per partecipare al processo (art.5).

Il Comitato Nazionale per la Bioetica ha espresso la prioritaria esigenza di tutelare i diritti, la sicurezza ed il benessere di un soggetto sottoposto a sperimentazione in situazioni di emergenza, quando il paziente sia incapace di prestare validamente il proprio consenso informato. Nell'assenza di un rappresentante legale, il comitato etico nazionale deve approvare il protocollo, basato su forti evidenze sperimentali, accertarsi che non ci sia un'eventuale volontà contraria precedentemente espressa dal paziente, effettuare la richiesta di un consenso differito da parte del paziente o dal rappresentante legale (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2012).

La partecipazione della ricerca deve avere come obiettivo il benessere immediato e a lungo termine del bambino, evitando ansie e preoccupazioni associati alla partecipazione stessa. Secondo il Nuffield Council on Bioethics (2015) bisogna rispettare la volontà dei piccoli pazienti, indipendentemente dalla loro età o capacità, prendendo in considerazione i loro desideri, sebbene non sempre individuabili, e il rispetto della loro integrità corporea.

Laddove i bambini e i giovani abbiano un sufficiente livello di comprensione, i medici hanno l'obbligo etico di cercare attivamente il loro consenso, che, una volta dato, dovrebbe essere registrato in modo appropriato e compatibile con le norme socio-legali locali. Il consenso informato scritto costituisce una possibile forma di documentazione, ma non è tuttavia l'unico (o necessariamente il migliore) modo per convalidare il coinvolgimento dei bambini: forme alternative di documentazione potrebbero includere tecnologie computerizzate interattive, anche come mezzo per condividere informazioni sulla ricerca e registrare il coinvolgimento dei bambini. Il formato del *record* scelto per documentare il coinvolgimento dei bambini deve anche, fondamentale, essere culturalmente appropriato.

Per sensibilizzare alla partecipazione alla ricerca, il *Council* raccomanda ai finanziatori di prestare attenzione alla modalità con la quale ci si approccia alla famiglia e si presenta la ricerca scientifica, che necessita e ha forte interesse della partecipazione del paziente.

I minori possono anche essere donatori di campioni biologici che si conserveranno in biobanche pediatriche: in questo caso, il materiale conservato non è di chi lo cede (ad esempio, i genitori), bensì di altro soggetto, che rientra in una categoria vulnerabile. Inoltre i minori non sono in grado, fintanto che non acquisiscono la capacità di discernimento, di dare un consenso informato in merito al destino presente e futuro del proprio materiale biologico, dunque il consenso dei genitori o del legale rappresentante deve perciò essere sempre dichiarato al momento della concessione del materiale biologico. Secondo il Comitato Nazionale per la Bioetica, i campioni dei pazienti pediatrici non devono essere anonimizzati in modo irreversibile e il consenso dai genitori o dal rappresentante legale non deve essere di tipo “ampio” ma “parzialmente ristretto”, ovvero il campione donato ai fini della ricerca può essere utilizzato non solo per specifiche ricerche attuali, ma anche per ricerche future, purché siano direttamente correlate alle prime, a seguito di un’informativa completa e dettagliata. Tuttavia si riconosce la difficoltà di fissare queste finalità in modo esaustivo, in quanto la durata della ricerca è generalmente lunga ed è difficile prevedere, all’atto del rilascio del consenso, gli eventuali studi che, a distanza di anni, potrebbero prevedere il loro reimpiego. Per una corretta gestione del materiale concesso ad una biobanca pediatrica, dovrebbe essere considerato, nel momento in cui il minore raggiunge la maggiore età, la perdita d’importanza del consenso rilasciato dai genitori e l’avvio di un processo mirato ad ottenere l’ascolto dell’adolescente. Quest’ultimo, una volta divenuto adulto, nell’ambito del suo consenso alla ricerca, dovrà avvalersi del diritto ad essere informato o del diritto a non sapere (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2014).

1.6 Il trapianto di cellule staminali in pediatria

Il trapianto di cellule staminali risulta essere una terapia valida per il trattamento di molte malattie che si verificano durante l'infanzia, tra cui leucemie, deficienze immunitarie, emoglobinopatie, insufficienza del midollo osseo, disturbi del metabolismo congenito, ma anche in caso di tumori solidi come il neuroblastoma ed il sarcoma di Ewing (Yeşilipek, 2014).

L'identificazione degli antigeni leucocitari umani (HLA) ha consentito la compatibilità dei tessuti tra il paziente e il donatore e questo ha rappresentato il passo più importante nel successo del trapianto. I primi trapianti di cellule staminali di successo nella storia iniziarono nel 1968 con soggetti a cui era stata diagnosticata una grave deficienza immunitaria combinata (SCID) (Buckley, 1968).

La possibilità di trovare donatori di cellule staminali è aumentata dallo sviluppo di biobanche. Una volta isolate, le cellule staminali possono essere utilizzate per due tipi di trapianti: trapianto autologo e allogenico. Nel trapianto autologo, le cellule staminali del sangue provengono dallo stesso paziente che riceverà il trapianto, mentre nel trapianto allogenico, le cellule staminali provengono da un donatore correlato o non correlato.

Il trapianto autologo trova il suo campo di applicazione principalmente nel trattamento di diversi tumori solidi dell'età pediatrica, come il neuroblastoma, retinoblastoma, sarcomi delle parti molli, tumori cerebrali, rappresentando in alcune condizioni lo standard di cura. Il trapianto allogenico rappresenta invece una valida terapia per il trattamento di neoplasie ematologiche con particolare aggressività all'esordio, malattie recidive e per patologie non neoplastiche. L'utilizzo delle attuali metodiche permette di identificare un donatore compatibile "convenzionale", come fratelli o sorelle compatibili, e donatori non familiari compatibili o parzialmente compatibili (aploidentici), rendendo possibile la realizzazione di una procedura trapiantologica per un numero sempre maggiore di pazienti (Guilcher, 2016).

In entrambi i casi, il paziente subisce un trattamento chemioterapico mieloablativo a dosi elevate (condizionamento), che dura 7-10 giorni, e, in alcuni casi, associato ad una radioterapia. Il fine di questa fase è quello di distruggere le cellule maligne e sopprimere il sistema immunitario per limitare il rigetto. Nausea, vomito, dolore e affaticamento sono effetti collaterali di questo trattamento. La fase successiva consiste nell'infusione delle staminali emopoietiche, in una vena principale, similmente alla trasfusione di sangue. Le cellule, precedentemente raccolte e crioconservate, proverranno dal paziente

nel caso di trapianto autologo, o da un donatore compatibile, nel caso di trapianto allogenico.

Un potenziale effetto collaterale primario che può verificarsi durante l'infusione è una reazione anafilattica, che richiede quindi un attento monitoraggio dei pazienti. Nelle 2–4 settimane che seguono l'infusione, il paziente non ha un sistema immunitario efficace ed è molto suscettibile alle infezioni. A seguito di un trapianto allogenico, può verificarsi, inoltre, una malattia acuta da trapianto contro ospite (graft-versus-host disease, GVHD), trattata generalmente con steroidi, che hanno effetti collaterali fisici ed emotivi.

I pazienti pediatrici, che hanno subito un trapianto, percepiscono spesso una forte angoscia e un decremento della qualità della vita, nelle fasi precedenti al trapianto, dovuti non solo al trattamento ma anche alla grave interruzione della normalità e dell'isolamento sociale. Piccoli miglioramenti iniziano solo 4 mesi dopo il trapianto (Tanzi, 2011; Bingen & Hoag, 2016).

Un più recente e promettente campo di applicazione dell'autotrapianto, ancora in fase sperimentale, prevede il suo impiego come piattaforma per consentire la reinfusione di cellule staminali emopoietiche geneticamente modificate in soggetti affetti da patologie determinate da un noto difetto genico, come nel caso della β -talassemia o di selezionate immunodeficienze (Naldini, 2019).

Negli Stati Uniti, sono stati effettuati circa 4408 trapianti allogenici di cellule staminali emopoietiche e 3076 trapianti autologhi in pazienti pediatrici, tra gli anni 2008 – 2014 (Khandelwal *et al.*, 2017).

1.7 Le cellule staminali ematopoietiche del cordone ombelicale

Le cellule staminali possono essere classificate in base al tessuto di provenienza: si distinguono in cellule staminali adulte, embrionali e cellule staminali da cordone ombelicale. Proprio su quest'ultimo la comunità scientifica ha posto l'attenzione abbastanza recentemente, un organo che un tempo era considerato uno scarto biologico che oggi viene sempre più considerato una valida alternativa al midollo osseo emopoietico quale fonte di cellule staminali per trapianto.

Il cordone o funicolo ombelicale, rappresenta l'organo di connessione e di scambio di nutrienti tra la madre e il feto. È costituito da due arterie e una vena associate tra loro, immersi in un tessuto mucoso, che lo protegge da urti e stress pressori. Al termine

raggiunge la lunghezza di circa 50 centimetri ed è collegato al feto a livello addominale, nel punto che diventerà poi l'ombelico. Il sangue cordonale contiene cellule staminali di diversa natura. Tra di esse sono state identificate cellule staminali emopoietiche, cellule staminali mesenchimali e cellule staminali multipotenti non emopoietiche (Ferguson & Dodson, 2009). Nel cordone sono anche presenti cellule staminali simil – embrionali pluripotenti. Tuttavia sono cellule che vengono probabilmente perse durante le fasi di separazione a causa della loro piccola dimensione (Bhartiya *et al.*, 2012). Un numero maggiore di cellule staminali è stato osservato in campioni di sangue ottenuti da gravidanze pre-termine (Basford *et al.*, 2009).

Solo alla fine degli anni '80 le cellule staminali da sangue cordonale sono state realmente usate a scopi terapeutici, per curare pazienti affetti da una grave forma di anemia di Fanconi, quale valida alternativa al trapianto di midollo (Gluckman *et al.* 1989).

Il trapianto delle cellule staminali provenienti dal sangue del cordone ombelicale presenta rilevanti vantaggi, rispetto al trapianto di staminali del midollo osseo. In primo luogo, l'unità di sangue cordonale, cioè il pool di sangue derivato da un cordone ombelicale e dalla placenta, è in genere più disponibile rispetto al midollo osseo e le cellule vengono raccolte, immagazzinate e congelate, senza rischi per il donatore.

I ricercatori riportano che il tasso di rigetto dei trapianti di cellule staminali del sangue cordonale è inferiore alla probabilità di rigetto per i trapianti di cellule staminali del midollo osseo. In effetti, le cellule staminali del sangue cordonale attivano un numero inferiore di cellule immunitarie del ricevente, rispetto alle staminali provenienti dal midollo osseo di un adulto, poiché i linfociti del sangue cordonale sono meno immunologicamente reattivi rispetto ai linfociti del midollo osseo. Inoltre, è possibile effettuare un trapianto di cellule staminali provenienti dal sangue cordonale anche quando non c'è una totale compatibilità degli antigeni leucocitari umani (HLA), mentre i trapianti di midollo osseo richiedono corrispondenze HLA del 100% (Ballen *et al.*, 2001).

Tuttavia, il numero di cellule contenute in un'unità di sangue cordonale è adatto per effettuare un trapianto in un bambino di 20-30 kg di peso corporeo, ma non è sufficiente per un adulto, per il quale sono necessarie più unità (Moise, 2005).

Il successo dei primi trapianti di sangue cordonale ha stimolato l'istituzione di banche del sangue cordonale e di leggi che regolano la raccolta, l'elaborazione e la conservazione delle unità donate di sangue cordonale.

1.7.1 Identificazione delle cellule staminali ematopoietiche

Le cellule staminali emopoietiche presenti nel sangue cordonale esprimono sulla superficie antigeni emopoietici, quali il CD34 e CD45 (Knudtzon *et al.*, 1974). Il CD34 è una glicoproteina integrale di membrana, identificata dapprima come marcatore fenotipico di cellule emopoietiche agli stadi primordiali. L'antigene CD34 è codificato da un gene localizzato sul cromosoma 1, vicino ad altri geni che codificano invece per fattori di crescita o molecole funzionali. La sequenza del CD34 è costituita da 354 aminoacidi, la cui funzione non è ancora stata del tutto definita. Sembra che essa sia implicata nei processi di adesione, in particolare nell'adesione delle cellule staminali progenitrici alle integrine, e nell'adesione dei linfociti all'endotelio (Lanza *et al.*, 1993). I progenitori di tutte le linee umane linfo-emopoietiche esprimono il marcatore CD34, comprese le cellule staminali in grado di ricostituire l'emopoiesi in seguito a trapianto di midollo. Quando queste cellule vanno incontro a differenziazione, si osserva una riduzione dei livelli di espressione dell'antigene CD34: infatti le più ancestrali cellule clonogeniche esprimono i più alti livelli di CD34, mentre le cellule più differenziate esprimono bassi livelli di CD34 (Carlo Stella *et al.*, 1994). Tale antigene di membrana è espresso anche da cellule staminali di altri tessuti, quali le cellule progenitrici dell'endotelio. Infatti è stato dimostrato in studi immunoistochimici che l'antigene CD34 è un marker di staminalità comune a tutte le filiere (Andrews *et al.*, 1986).

Il CD45, noto anche come antigene comune dei leucociti, appartiene alla famiglia delle glicoproteine trans membrana ad alto peso molecolare, che sono espresse in diverse isoforme su tutte le cellule nucleate della linea emopoietica. Il CD45 è codificato dal gene presente sul cromosoma 1 e presenta un dominio extracellulare di 400-550 amminoacidi, un singolo passaggio transmembrana di 22 aminoacidi e un dominio citoplasmatico di 705 amminoacidi. Il dominio extracellulare di CD45 contiene diversi siti per la glicosilazione, la quale permette una maggiore stabilità sulla membrana.

La cellula staminale ematopoietica presente nel sangue cordonale è caratterizzata dalla coespressione dei marcatori CD34 e CD45, i quali vengono marcati con gli anticorpi specifici per l'identificazione ed il prelievo delle stesse cellule (Hassanein *et al.*, 2010).

1.7.2 Normativa europea sulla conservazione delle staminali cordonali

L'applicazione attuale delle cellule staminali provenienti dal sangue di cordone ombelicale e le grandi aspettative riguardanti le capacità rigenerative e terapeutiche hanno convertito questo materiale biologico in una risorsa sanitaria di primo ordine. Questa valorizzazione ha reso necessario l'emanazione di un ordinamento giuridico riguardante la deposizione del materiale biologico, l'estrazione, la conservazione e l'applicazione terapeutica di queste cellule staminali.

Nel mondo sono circa cento le biobanche di sangue da cordone ombelicale, così distribuite: 40% in Europa, 30% negli Stati Uniti e Canada, 20% in Asia, 10% in Australia.

Circa il 75% delle banche di sangue di cordone nel mondo sono pubbliche, senza scopo di lucro e offrono un servizio per il beneficio pubblico. I campioni sono donati per i trapianti o per la ricerca. Il restante 25% sono banche private e di carattere commerciale, il cui fine è la conservazione delle cellule per il beneficio esclusivo per i clienti, per trapianti autologhi o allogenici nella stessa famiglia.

La prima banca di sangue pubblica nacque nel 1993 a New York, dopo la quale si svilupparono quelle di Milano, Düsseldorf e Barcellona. Nel 1998 nacque l'organizzazione internazionale NETCORD, che coinvolge anche le banche di Londra, Tokio, Parigi, con l'obiettivo di garantire la qualità dei prodotti e facilitare l'interazione con gli altri centri di trapianto così come i registri (Casado-Blanco & Ibáñez-Bernáldez, 2015).

Le direttive europee 2004/23/CE, 2006/17/CE, 2006/86/CE hanno stabilito i requisiti tecnici specifici, qualità e sicurezza dei campioni per la donazione e lo stoccaggio. Tutti gli stati membri dell'Unione Europea hanno recepito le tre direttive nella legislazione nazionale e le hanno integrate con leggi nazionali specifiche. In alcuni stati le banche commerciali sono autorizzate, sebbene l'articolo 12 della 2004/23/CE dichiara che *“gli Stati membri si adoperano per garantire che l'approvvigionamento di tessuti e cellule in quanto tali avvenga su base non lucrativa”*.

Nel 2009 mezzo milione di unità di sangue cordonale sono state conservate nelle banche pubbliche e risultavano quasi un milione conservate in banche private. I dati riportati dalle banche private americane, Cord Blood Registry e la Viacord, indicano che nel 2008, su 355.000 unità di sangue cordonale conservate, in totale nelle due banche, le

unità usate per trapianto autologo erano appena 7, con una probabilità di utilizzo pari a 0.00197% (Contu, 2011).

L'ordinanza del 30 dicembre 2002 vieta in Italia l'istituzione di banche per la conservazione di sangue cordonale presso strutture sanitarie private e accreditate. La validità di questo documento è stata rinnovata il 4 maggio 2007, dichiarando che la conservazione di sangue cordonale è ammessa presso le strutture trasfusionali pubbliche per uso allogenico a fini solidaristici oppure per uso dedicato al neonato o a consanguineo con patologia in atto al momento della raccolta, per la quale risulta scientificamente fondato e clinicamente appropriato l'utilizzo di cellule staminali da sangue cordonale, previa presentazione di motivata documentazione clinico sanitaria. Il Decreto legislativo 191 dello stesso anno definisce i requisiti minimi per le banche pubbliche, attuando la direttiva europea 2004/23/CE.

Il Decreto legge del 18 novembre 2009 non consente l'istituzione delle banche private commerciali, permettendo però l'esportazione e la conservazione dei campioni nelle banche private estere. Il campione può essere conservato per "uso diretto autologo" quando il paziente presenta una patologia specifica, la quale potrebbe essere trattata con trapianto di staminali, se è scientificamente fondato e clinicamente appropriato. L'elenco delle patologie trattabili viene regolarmente aggiornato dal Ministero della Salute: l'ultimo aggiornamento è stato effettuato nel 2014. Il decreto del 2009 ha inoltre ufficialmente istituito la Rete Italia del Sangue Cordonale costituito da 18 banche cordonali nazionali.

Il Decreto Legge del 2 novembre 2015 definisce gli aspetti legislativi e tecnici della donazione di sangue cordonale. Controlli accurati vengono effettuati sui genitori del neonato per verificare l'assenza di malattie infettive e genetiche. Tutte le procedure sono documentate per garantire la tracciabilità di un campione e la sua immediata disponibilità per un paziente compatibile attraverso la rete nazionale e internazionale di cordone. Se il campione contiene un numero insufficiente di cellule staminali per il trapianto, sarà donato per la ricerca, dopo un adeguato consenso informato della famiglia.

Dal punto di vista tecnico, l'Organizzazione Nazionale spagnola dei Trapianti stabilisce che l'estrazione del sangue cordonale si deve effettuare dopo la nascita del bambino e quando la placenta è ancora in utero, al fine di ottenere una frazione di cellule staminali quantitativamente e qualitativamente adeguata.

Le prime leggi spagnole che regolamentavano la donazione e il trapianto di organi e di tessuti umani risalgono alla seconda metà del secolo scorso (Ley 30/1979 del 27 ottobre e il Decreto Regio 2070/1999), secondo le quali tali manipolazioni di materiale biologico non dovevano prescindere dai principi di: volontarietà, solidarietà, gratuità, assenza di lucro, necessità di autorizzazione, consenso informato, proibizione di rivelare il donatore. La normativa spagnola più attuale (Decreto Regio 1301/2006, del 10 novembre, la legge 14/2007, del 3 luglio, e il Piano Nazionale del sangue di cordone ombelicale, 2008) riporta le Direttive del Parlamento Europeo 2004/23/CE e 2006/17/CE e risponde alla necessità di porre l'attenzione sulle nuove possibilità di trapianto di cellule e tessuti per il trattamento di malati. La legge impossibilita lo sviluppo di banche private, dichiara che la manipolazione di questo materiale biologico può essere effettuata solo con finalità terapeutiche ed espone la regolamentazione relativa al controllo qualità, sicurezza e compatibilità antigenica. Secondo l'art. 7.1 del Decreto Regio 1301/2006, la donazione non può essere effettuata da minori, infermi mentali o da coloro che, per un motivo o per un altro, non possono fornire il loro consenso. Se il campione (fornito da un minore) è particolarmente ricco di cellule staminali che possono essere vitali per il ricevente (donazione rigida), il consenso sarà concesso dal rappresentante legale. Una volta completati i requisiti d'informazione, consenso e idoneità della donante, l'estrazione potrà realizzarsi solo in centri o unità sanitarie accreditati (Decreto Regio 1277/2003).

In un primo momento, il Decreto Regio 65/2006 vietava l'esportazione di materiale biologico all'estero, escludendo la possibilità di conservare le cellule in banche private estere. Il successivo decreto 1301/2006 prevede che l'esportazione di cellule e tessuti all'estero richiede una specifica autorizzazione per il deposito. Questo requisito è applicato esclusivamente al momento dell'uscita del materiale biologico dai confini nazionali, permettendo quindi la conservazione in banche private estere. Dunque se da un lato il decreto non permette lo sviluppo di iniziative private nazionali, consente l'esportazione dei campioni e il deposito in banche private internazionali (Larios Risco, 2001).

Secondo la legge 14/2007 e il Decreto Regio 1716/2011, per conservare ai fini sperimentali campioni biologici provenienti da minori di età o persone incapaci, saranno necessarie le seguenti condizioni: i) bisognerà adottare le misure necessarie per garantire che il rischio a cui i soggetti sono esposti è minimo; ii) dalla ricerca si

potranno ottenere conoscenze rilevanti che non potrebbero essere ottenute in nessun altro modo; iii) ci sia l'autorizzazione del rappresentante legale.

Il 30 maggio 2014 la sentenza del Tribunale Supremo annullò il decreto 1301/2006 e fu sostituito dal Decreto 9/2014 del 4 luglio, regolamentando la donazione, l'approvvigionamento, la valutazione, l'elaborazione, la conservazione, la distribuzione, l'applicazione e la ricerca clinica di cellule e tessuti umani. In particolare dichiara che è permesso crioconservare le cellule al di fuori della Spagna se sono rispettate le seguenti condizioni: il centro dove nasce il bambino deve ricevere un'autorizzazione per il prelievo; la banca del sangue del cordone ombelicale in cui sarà conservato il campione deve essere autorizzata; deve essere firmato un accordo di collaborazione tra la madre del nascituro, l'ospedale in cui avviene la nascita e la banca in cui sarà conservato il campione.

In Francia, la raccolta del sangue del cordone ombelicale è regolata dal Codice della sanità pubblica francese (articoli da 1242 a 1245). Le cellule di midollo e di sangue placentare possono essere estratte solo a scopo scientifico-terapeutico, quando la madre, durante la gravidanza, fornisce il consenso scritto. Solo le banche pubbliche sono autorizzate, accettando donazioni anonime, volontarie, per futuro uso allogenico. In alcuni casi la conservazione del trapianto autologo o familiare è consentita in accordo con le indicazioni cliniche elencate dall'indicazione dell'Agence de la Biomédecine (ad es., quando un fratello ha disturbi ematologici che richiedono un trapianto di cellule staminali). Nel 2009, fu presentata in parlamento e immediatamente respinta l'autorizzazione per le banche commerciali per l'uso autologo delle cellule staminali. Il *Comité Consultatif National d'Éthique pour les Sciences de la Vie et de la Santé* (2012) ha ribadito l'opinione secondo cui l'istituzione di banche commerciali sarebbe contraria al principio di solidarietà e potrebbe incoraggiare lo sviluppo di rapporti commerciali in materia di nascite e raccolta del sangue cordonale, specialmente nei paesi sottosviluppati (Katz & Mills, 2010). Già nel 2002 il *Comité* aveva dichiarato che le banche private nutrono false speranze, mascherando un progetto con fini commerciali. La pubblicità fatta dalle banche private potrebbe giocare sui sentimenti dei genitori, incrementando il senso di colpa di quest'ultimi, anche se dovrebbe essere chiaro che ad oggi non esiste alcuna giustificazione scientifica della conservazione autologa.

L'Associazione medica federale tedesca ha stabilito le linee guida per il trapianto di cellule staminali del sangue del cordone ombelicale (Bundesärztekammer, 1999). La Germania ha sei banche pubbliche, senza scopo di lucro, per la conservazione

allogena, ed una privata, per la conservazione autologa. Quest'ultima viene utilizzata solo in caso di specifica richiesta da parte del medico e della famiglia. La distribuzione di sacche di sangue del cordone ombelicale è regolata dal Registro nazionale tedesco dei donatori di cellule staminali del sangue (Zentrales Knochenmarkspender Register Deutschland) (Petrini, 2012).

Nel Regno Unito, la raccolta delle unità di sangue del cordone ombelicale è regolata dalla Human Tissue Authority (2007) ed i campioni sono registrati nel British Bone Marrow Registry e nel Bone Marrow Donors Worldwide Registry. Ci sono tre banche pubbliche e una banca mista nel Regno Unito. Nella banca mista, la Virgin Health Bank, una parte del campione è conservata per uso autologo (80%) e l'altra (20%) è dedicata alla donazione allogenica. Questo tipo di conservazione naturalmente richiede un numero maggiore di cellule staminali, non sempre ottenibile.

In Olanda, così come nel Lussemburgo, la crioconservazione del sangue cordonale è consentita solo in biobanche pubbliche (Code for proper secondary use of human tissue in the Netherlands, 2002; Grand-Duché de Luxembourg, 2007).

In Austria, secondo il "*Gewebesicherheitsgesetz*" (Tissue Safety Act, 2008/49), le biobanche possono conservare i campioni solo dopo aver ricevuto l'autorizzazione del donatore ed il suo consenso informato. È vietato qualsiasi pagamento finanziario o altra forma di ricompensa per i donatori. Sono autorizzate alcune biobanche commerciali private per la conservazione delle cellule staminali per uso autologo, ma ne viene proibita la pubblicità aggressiva (Austrian Bioethics Commission, 2008).

In Belgio ci sono cinque banche pubbliche e una privata, la legge consente la conservazione del materiale biologico per uso autologo o allogenico per un destinatario specifico affetto da una patologia, per la quale l'utilità del trapianto è scientificamente provata (Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Sante, 2008). In Danimarca, la conservazione del sangue cordonale è attualmente effettuata esclusivamente in biobanche private per uso autologo, ma le autorità sanitarie promuovono la collaborazione tra gli ospedali e la banca pubblica finlandese, riconosciuta in tutti i paesi scandinavi.

La Direttiva europea 2004/23/CE è stata riconosciuta anche in Cipro nel 2007, in Croazia e nella Repubblica Ceca nel 2008. In questi paesi sono presenti biobanche pubbliche e private (Petrini, 2012).

1.7.3 Aspetti etici associati all'utilizzo del sangue cordonale

L'istituzione delle biobanche ha determinato la bio-oggettivazione del cordone ombelicale. Il processo di bio-oggettivazione comincia già prima del parto, quando alla madre viene chiesto di firmare il consenso informato che acconsente al taglio precoce del cordone ombelicale, alla conservazione dello stesso e alla registrazione delle informazioni riguardanti lo stato di salute della partoriente.

Il processo di bio-oggettivazione continua nelle biobanche, dove avvengono l'esecuzione dei test genetici e la tipizzazione di istocompatibilità. Nella biobanca il sangue cordonale ha due differenti "statuti ontologici": uno come tessuto, oggetto del processo di conservazione, e l'altro come voce di registro all'interno di una banca-dati internazionale (Beltrame, 2014). Il cordone viene scambiato su scala internazionale attraversando differenti contesti sociali, quali laboratori, ospedali, aziende biotecnologiche, e dopo la raccolta, è ridimensionato, da scarto a risorsa (Brown & Williams, 2015; Attademo, 2017).

Inizialmente il cordone veniva rescisso diversi minuti dopo il parto, nella convinzione che l'interruzione del flusso sanguigno neonato-placentare potesse costituire un elemento di rischio per la salute e il benessere del neonato stesso. Attualmente il cordone ombelicale viene tagliato immediatamente dopo il parto, nei primi trenta secondi, in modo da effettuare tutte le analisi necessarie sul neonato e permettere l'espulsione placentare.

I tempi differenti di "clampaggio" determinano la "qualità" del sangue cordonale: attendere un tempo eccessivamente prolungato prima del clampaggio produce un parziale svuotamento del sangue cordonale, che si ridurrebbe ad un volume non superiore a 15 millilitri, non più utilizzabile a scopo di trapianto. In condizioni normali, dopo un'attesa di circa 60 secondi prima del clampaggio, a placenta ancora inserita in utero, è possibile raccogliere una quantità di sangue cordonale fino a 100 millilitri (Mancuso & Perillo, 2007). Tuttavia è necessario considerare che il taglio precoce del cordone ombelicale, quando i vasi cordonali sono ancora pulsanti e ricolmi del sangue fetoplacentare, non tiene conto dell'interesse del neonato "donatore", ma della necessità di ottenere un campione di sangue cordonale idoneo ad un trapianto di cellule staminali (Diaz-Rossello, 2006). L'interruzione immediata del flusso di sangue riduce la trasfusione della placenta e potenzialmente priva il bambino di 20-30 mg/kg di ferro, sufficienti per le esigenze di un neonato per circa 3 mesi (Royal College of

Obstetricians and Gynaecologists, 2015). Secondo il Centro Nazionale Trapianti (2018), il cordone non dovrebbe essere clampato prima di un minuto e non oltre i due minuti dalla nascita. Queste tempistiche determinano una raccolta sufficiente e adeguata di cellule staminali per il trapianto, permettendo nello stesso tempo di mantenere al neonato donatore il beneficio di un'adeguata trasfusione placentare.

Sembra dunque opportuno fornire ai genitori del neonato donatore un'informazione completa, chiarendo che il personale medico e ostetrico non si affretterà ad interrompere il flusso placentare, nell'interesse della salute del neonato e che verrà registrato nella cartella clinica il tempo (in secondi) del clampaggio del cordone, non inferiore a 60 secondi. È raccomandabile sottoporre il neonato ad un controllo ematologico, per scongiurare il rischio di anemia e di una grave diminuzione delle sue riserve di ferro, al momento della nascita e dopo 4 mesi (Pontificia Accademia pro Vita, 2013). In Italia, secondo la proposta di legge del deputato Adriano Zaccagnini, Norme per la tutela dei diritti della partoriente e del neonato e per la promozione del parto fisiologico (2016), il neonato dovrebbe avere diritto a ricevere il sangue della placenta e del cordone ombelicale in quanto appartenenti al neonato stesso. Inoltre sarebbe vietato recidere il cordone ombelicale prima che abbia cessato di pulsare e in ogni caso prima di tre minuti dalla nascita.

A causa della vulnerabilità del neonato, i problemi di riservatezza diventano particolarmente delicati nelle biobanche del sangue cordonale, in cui il campione è sottoposto a numerosi esami. Tuttavia, ci si chiede se il test risulta positivo, ad esempio, ad una malattia infettiva, chi dovrebbe ricevere queste informazioni. La legislazione europea e americana richiede che vi sia tracciabilità dei campioni conservati nelle banche, così che, in caso di necessità, possono essere ricollegati ai donatori e alle famiglie. Quando il campione viene inviato all'unità di trapianto, è essenziale che venga ricevuto in forma anonima (Gunning, 2003).

Nonostante il nuovo nato sia il legittimo proprietario del cordone, sono i genitori a decidere del suo destino. Il padre e la madre del bambino devono dare il loro consenso per la conservazione delle cellule staminali. Il *Committee on Establishing a National Cord Blood Stem Cell Bank Program* degli Stati Uniti (2005) ha sottolineato alcune questioni etiche e legali riguardanti il consenso informato per la raccolta e lo stoccaggio delle unità di sangue cordonale. In particolare, è stata espressa la necessità di chiarire chi deve fornire il consenso per la raccolta del sangue cordonale. Secondo il comitato, se il sangue è prelevato quando il cordone è ancora nell'utero, è sufficiente il consenso

della madre, in quanto esso è considerato un'estensione del suo corpo; se il cordone è stato già rimosso dalla placenta è indispensabile anche il consenso del padre. Inoltre il consenso per la raccolta, la conservazione e l'uso del sangue cordonale, dovrebbe essere ottenuto prima del travaglio.

Secondo il *NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration* (2010), la conservazione del cordone ombelicale necessita del consenso informato solo della madre, documentato durante la gravidanza, che deve includere: una spiegazione della procedura di raccolta in termini che la madre può comprendere, i possibili rischi e benefici della raccolta del sangue cordonale, il diritto della madre di rifiutare la procedura senza pregiudizio.

Petrini e Farisco (2011) hanno analizzato la documentazione che viene presentata alle famiglie per l'acquisizione del relativo consenso informato di 18 biobanche italiane. L'analisi mostra che solo alcuni elementi del NetCord-FACT erano presenti nelle istituzioni italiane. Non viene chiarita la natura "surrogata" del consenso, in quanto il proprietario biologico del cordone è il bambino, non la madre; non vengono fornite informazioni riguardanti il bambino, quando avrà compiuto i 18 anni, e sul possibile uso del cordone, per scopi diversi da quelli dichiarati nel consenso informato, in particolare per la ricerca. Per questi motivi il Centro Nazionale Trapianti ha standardizzato il formato del consenso informato per la raccolta, la conservazione e l'uso allogenico del cordone ombelicale.

Per i campioni non idonei per uso terapeutico, il modulo include la possibilità di utilizzare il campione ai fini di ricerca. In particolare, per donare alla collettività il sangue del cordone ombelicale, che sarà conservato presso una delle 18 banche pubbliche presenti sul territorio, la coppia (madre/padre) dovrà sottoscrivere un consenso informato, sottoporsi ad una valutazione anamnestica e ad esami del sangue (gratuiti) al parto e dopo sei mesi per escludere la presenza di malattie infettive che possono essere trasmesse al paziente (Centro Nazionale Trapianti, 2018).

1.7.4 Considerazioni sulla conservazione: tra pubblico e privato

Il trapianto autologo di cellule staminali ha evidenti benefici salvavita, ma, da una prospettiva globale, presenta dei limiti da un punto di vista scientifico ed etico.

Da un punto di vista scientifico, un trapianto autologo dovrebbe essere condotto se il paziente (da cui derivano le cellule staminali) sviluppa una malattia degenerativa. Il periodo massimo di crioconservazione di queste cellule, secondo le attuali conoscenze, è di circa 15-20 anni e la probabilità di aver bisogno di un trapianto autologo ematopoietico prima dei 20 anni è molto bassa.

Inoltre l'uso delle proprie cellule staminali del sangue del cordone ombelicale è controindicato, in caso di malattia genetica, poiché l'alterazione esiste già nel materiale genetico delle cellule del sangue del cordone ombelicale (Percher, 2009). La famiglia dovrebbe essere informata sulle ipotetiche applicazioni terapeutiche dell'uso autologo delle cellule staminali del sangue cordonale (Contu, 2011).

L'art. 32 della *Dichiarazione di Helsinki* afferma che per la ricerca biomedica che utilizza campioni biologici di origine umana, depositati nelle biobanche, i medici devono acquisire il consenso informato per la loro raccolta, lo stoccaggio e utilizzo. Nel caso in cui è impossibile o impraticabile ottenere questo consenso, la ricerca può essere avviata solo l'approvazione del Comitato Etico.

L'articolo 21 della *Convenzione di Oviedo* sancisce che il corpo umano e ogni sua parte non devono essere fonte di profitto. Il Protocollo Addizionale (24 gennaio 2002) della stessa *Convenzione* dichiara che l'articolo deve essere applicato anche sui tessuti e le cellule staminali emopoietiche.

L'impiego di cellule staminali dovrebbe rispettare i principi della bioetica illustrati da Beauchamp e Childress (2001) e implementati dal *European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission* (2004): le banche del sangue cordonale devono rispettare la dignità umana, la non commercializzazione del corpo umano e l'autonomia dei pazienti, fornendo alle famiglie le informazioni complete e corrette sul reale utilizzo di queste cellule, richiedendo il consenso scritto, senza alcuna forma di coercizione. La donazione di sangue cordonale rappresenta un atto di giustizia, solidarietà e beneficenza e incompatibile con le biobanche private (Leanza *et al.*, 2012). Il rispetto di questi principi dovrebbe consentire a tutte le persone di accedere ai servizi sanitari, escludendo in tal modo il progresso delle banche private. Il principio di beneficenza è violato dalle banche private, che potrebbero offrire un

servizio, ad esempio, basato su false promesse, come l'uso delle cellule staminali, per le quali non esistono prove scientifiche (Serrano-Delgado *et al.*, 2009). Secondo altri, le attività delle banche private dovrebbero essere scoraggiate ma non completamente vietate, poiché questo rappresenterebbe una restrizione alla libertà di scelta delle persone e delle coppie (The European Group on Ethics, 2004).

Il Comitato Nazionale per la Bioetica (2000, 2007) riconosce che il sangue del cordone ombelicale è un'importante fonte di cellule staminali e sottolinea che l'uso delle cellule staminali cordonali deve rispettare il principio di non commercializzazione di parti del corpo umano. Dichiara inoltre che verranno prese misure adeguate per comunicare al pubblico non specialista le realistiche applicazioni terapeutiche delle cellule staminali cordonali.

Il Comitato di Bioetica della Spagna e il Consiglio Nazionale di Etica per le Scienze della vita del Portogallo (2012) promuovono la donazione gratuita e altruistica del sangue cordonale, da utilizzare nei trapianti allogenici di cellule staminali, implementando i servizi ostetrici pubblici con le attrezzature necessarie per tale raccolta. Lo stoccaggio nella banca pubblica si basa sui principi di altruismo, gratuità, riservatezza e sull'effettiva l'utilità del trapianto allogenico. Tutti possono quindi approfittare di donazioni altruistiche di cellule staminali allogeniche raccolte in tutto il mondo attraverso la rete internazionale.

La conservazione delle cellule staminali in banche private per uso autologo non è altro che un business. Le banche private promuovono aspettative incoerenti, come il possibile utilizzo di queste cellule quando il nascituro avrà raggiunto l'età adulta, sebbene l'attuale limite di conservazione cellulare è di 20-25 anni. Secondo Martin *et al.*, (2008), nelle banche pubbliche sussiste un "regime di verità", in quanto l'utilizzo delle cellule staminali è giustificato dai dati scientifici conclamati ed orientati verso un'applicazione quasi immediata; nelle banche private, invece, sussiste un "regime di speranza", poiché vengono pubblicizzate possibili applicazioni future delle cellule staminali, spesso su base speculativa.

Per di più, non è utile trapiantare le proprie cellule staminali per curare una patologia genetica, poiché queste cellule potrebbero presentare la stessa mutazione che causa la malattia. Inoltre, il trapianto autologo non può produrre l'effetto "graft-versus-cancer", ovvero una reazione di natura immunologica sostenuta dalle cellule immunocompetenti del donatore nei confronti delle cellule leucemiche o tumorali residue del ricevente.

Il bio-oggetto cordone è coinvolto in una serie di processi, appartenenti alla nuova bio-economia globale, dove assume anche valore economico, un “bio-valore” (Waldby, 2002). Si può sostenere che le banche del cordone ombelicale, così come la ricerca sulle cellule staminali e l’innovazione biotecnologica appartengono ad una realtà speculativa: c’è una relazione diretta tra le aziende biotecnologie legate alle cellule staminali e alle forme contemporanee d’investimenti finanziari speculativi. In queste forme di economia speculativa, la manipolazione del materiale biologico è direttamente correlata ad una strategia generatrice di valore economico e capitale (Muniesa, 2015). Il potenziale terapeutico delle cellule staminali e le aspettative più o meno fondate dell’utilizzo delle staminali cordonali per trapianto autologo comportano che le cellule stesse diventano oggetto di consumo e materiali che generano valore economico (bio-capitale). In quest’ambito, l’ipotetico potenziale delle staminali cordonali per il trapianto autologo distorce la realtà attuale verso una potenzialità immateriale, una pura aspettativa, come il capitalismo attribuisce un valore virtuale ai nuovi stili di vita, attraverso i mercati finanziari e altri meccanismi di capitalizzazione (Santoro, 2016).

1.7.5 La donazione per la ricerca: un gesto di solidarietà

Secondo il sociologo Marcel Mauss (2001), il carattere volontario e insieme obbligatorio della donazione si articola nel dare, ricevere e ricambiare. Per Mauss il punto principale è sicuramente il terzo: egli definisce il dono come un evento sociale e le attività sociali delle comunità da lui studiate si basavano su numerosi scambi, il cui scopo era la creazione ed il mantenimento di legami sociali.

Esistono tre tipologie di donazione: una forma “cerimoniale” (che richiede l’obbligo a ricambiare), una forma “gratuita” (dettata da una spontanea generosità) ed una forma di “mutuo soccorso” (che denota una dimensione sociale delle comunità) (Hénaff, 2002).

Titmuss, nel suo testo rivoluzionario del 1970 *The Gift Relationship: From Human Blood to Social Policy*, ha analizzato i sistemi di reclutamento e donazione del sangue in Inghilterra e Stati Uniti. Secondo Titmuss, il sistema inglese, fondato sulla donazione volontaria, era più efficiente rispetto a quello statunitense, fondato sulla remunerazione monetaria, sia quantitativamente sia qualitativamente. La donazione volontaria aveva l’effetto di migliorare i legami di solidarietà sociale e di fiducia tra i membri della comunità. Il dono crea una “catena libera”, poiché esso è contagioso, coinvolge e rinnova. Chi dona innesca un meccanismo di sensibilità, solidarietà, generosità che

difficilmente si arresta. Titmuss usò l'espressione "*gift relationship*" per descrivere un sistema di raccolta di campioni di sangue, basato sull'altruismo. In questo modo, i materiali corporei diventano i mezzi attraverso i quali viene stabilito un contratto sociale, una relazione attraverso il dono (Titmuss,1970). Tali relazioni non possono essere quantizzabili e permettono una condivisione diretta della sostanza corporea, evitando l'azione disumana e frammentaria della mercificazione del corpo.

Tuttavia dopo la pubblicazione del *the Gift Relationship* le tecnologie della trasfusione di sangue sono cambiate: dalla metà degli anni '70 ogni unità di sangue donata viene generalmente frazionata in un certo numero di componenti (plasma, globuli rossi, globuli bianchi, piastrine) e raramente trasfuse come sangue intero. Questa forma di circolazione naturalmente complica la relazione che intendeva Titmuss, disgregando il legame tra i soggetti (Waldby & Mitchell, 2006).

La donazione è un processo a più livelli, che coinvolge individui, istituzioni, fasi e procedure diversi. Ad esempio, una donazione può essere effettuata per la ricerca (interesse pubblico), per uno sconosciuto (interesse pubblico), per il trattamento di un amico o di un parente (interesse privato). Il dono crea una relazione tra donatore e ricevente: la beneficenza del donatore, l'essere riconoscente del ricevente e la possibilità di un ritorno reciproco svolgono un ruolo importante nel mantenimento di tali relazioni. Laddove il materiale viene donato in forma anonima e la reciprocità diretta è impossibile, ma i destinatari potrebbero voler diventare donatori stessi per dare a qualcun altro la stessa opportunità. Il dono racchiude l'atto del "dare" e un "atto sociale", risultato di sensibile preoccupazione verso gli altri. La donazione volontaria, che richiama il principio etico di autonomia, dà dignità al donatore e riconosce l'ineguale distribuzione della buona salute (principio etico di giustizia) (Nuffield Council on Bioethics, 2011).

Proprio in questa ottica che si inserisce la donazione del sangue di cordone ombelicale, che è destinato ad un "altro" senza volto, di cui si ignora la storia e da cui difficilmente si potrà mai ricevere un ringraziamento.

Le cellule e i tessuti sono sempre più utilizzati non solo a fini terapeutici, ma anche nella ricerca scientifica, in quanto, a differenza degli organi, possono essere conservati per lunghi periodi nelle biobanche. Le prime biobanche dei tessuti umani erano strutture per la conservazione senza scopo di lucro, situate principalmente negli ospedali. Oggi le dinamiche della donazione di materiale biologico umano sono diventate più complesse, in quanto i diversi tipi di cellule e tessuti possono essere trasferiti ad istituzioni

pubbliche o private. Per di più, i grandi centri di ricerca a carattere industriale richiedono l'accesso ad esse e, come alcuni autori hanno suggerito, determinando nel prossimo futuro uno scenario in cui le banche convenzionali europee di cellule e tessuti potrebbero diventare semplici "fornitori" (Pirnay *et al.*, 2012, 2015).

Cellule e tessuti di origine umana (organi esclusi) possono essere anche modificati, secondo specifici protocolli, diventando parte di medicinali per terapie avanzate, dunque, in questa forma, beni legalmente commercializzabili, riformando la concezione tradizionale di farmaco. La Direttiva Europea 1394/2007 ha lo scopo di garantire la libera circolazione di questi medicinali all'interno dell'Unione Europea ma la donazione, l'approvvigionamento e i controlli di tali cellule o tessuti, utilizzati per questi scopi, sono sempre regolati dalla direttiva 2004/23/CE. Tuttavia tale utilizzo va in conflitto con il principio di non commercializzazione delle parti dell'organismo umano della direttiva 2004/23/CE: nell'era della rivoluzione biotecnologica, le parti del corpo sono diventate "qualificate" come merci attraverso il processo di alterazione (Parry 2008).

È difficile considerare la donazione di materiale biologico umano per la ricerca e non per l'uso diretto sui pazienti. Tuttavia il materiale biologico assume un ruolo centrale nella ricerca scientifica, che denuncia chiare difficoltà a recepire i campioni necessari, i quali rappresentano un fattore limitante per i progressi nella ricerca. Stabilire entro quali limiti e con quali modalità sia lecito conservare materiale biologico di origine umana e se sia lecito utilizzare gli stessi campioni per scopi diversi da quelli inizialmente individuati resta uno dei problemi più rilevanti. Accade frequentemente che nei centri di ricerca si conservino campioni biologici che, con il progredire degli esperimenti, potrebbero risultare utili per nuovi studi. È essenziale registrare, al momento della donazione, il consenso libero ed informato del paziente non solo per la conservazione del proprio materiale biologico ai fini di sperimentazione, ma anche l'eventuale trasferimento dei campioni ad altra banca, o a gruppi di ricerca diversi dal proponente.

Il consenso informato deve coprire l'intero iter cui è soggetto il campione, e quindi includere le fasi di raccolta, conservazione, utilizzo e trasferimento ad altri ricercatori od istituzioni (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2014).

Le biobanche sono una risorsa per i ricercatori, per effettuare sperimentazioni che spesso non sono ben chiare al momento della raccolta. Pertanto, al momento della donazione, non è possibile riferire in dettaglio agli aspiranti partecipanti quali ricerche saranno effettivamente condotte. Molte biobanche adottano il modello del consenso

informato “ampio”, ovvero, ai partecipanti sono fornite informazioni su come è articolato il progetto di ricerca e quali dati saranno archiviati, ma la natura della ricerca futura viene definita solo in termini generali, come ricerca correlata alla salute nell’interesse pubblico. Un modo per incoraggiare e motivare i partecipanti è tenerli informati sugli sviluppi della ricerca di cui sono oggetto i loro campioni, attraverso newsletter e informazioni sul sito web (Nuffield Council on Bioethics, 2015). In effetti, in un contesto di ricerca, i risultati ottenuti su un campione devono di solito essere validati su altri campioni; non sarebbe dunque appropriato che, nel caso in cui il donatore sia un ammalato, il medico del paziente in cura utilizzi questi risultati nell’ambito di cure successive, fintanto che i risultati dello studio non siano confermati. Dovrà essere compito dei medici selezionare la rilevanza delle informazioni (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2014).

Il Nuffield Council on Bioethics (2011) sostiene che le difficoltà che sorgono non dipendono tanto dall’incoraggiare le persone a prendere in considerazione la donazione per la ricerca, quanto piuttosto dalla necessità di istituire sistemi efficaci per ottenere un consenso informato documentato in modo appropriato e di garantire che i campioni siano opportunamente condivisi. Nel Regno Unito sono attuati vari sistemi per facilitare la donazione di sangue, che cercano di minimizzare le barriere fisiche/burocratiche per coloro che sono propensi a donare.

L’istituzione di biobanche, che raccolgono i campioni per la ricerca scientifica, è in genere un progetto a lungo termine che richiede ingenti investimenti - finanziari e non - senza risultati immediati. I partecipanti donatori sono consapevoli che possono contribuire al conseguimento di risultati clinici, di cui essi stessi o gli altri partecipanti potrebbero beneficiare. Questo naturalmente non deve essere confuso con l’aspettativa di ottenere benefici personali. D’altro canto, la biobanca deve comunicare che tale partecipazione include dei rischi, e valutare se tali rischi sono accettabili per l’individuo (Nuffield Council on Bioethics, 2011).

Nella ricerca con campioni biologici può determinarsi una competizione tra il dovere di tutelare adeguatamente i soggetti, da usi impropri delle informazioni personali e da altri danni, e la necessità per i ricercatori di avere una flessibilità sufficiente da consentire l’esecuzione delle ricerche, pena l’impossibilità di progredire nelle conoscenze scientifiche. Bisogna soddisfare entrambe le esigenze: la tutela dei diritti individuali ed il beneficio pubblico. È indispensabile che tali soluzioni siano rispettose dei principi

etici e che tale rispetto sia percepito dal pubblico, la cui fiducia necessita di essere coltivata (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2014).

A volte il confine tra la raccolta dei campioni biologici per uso terapeutico e quella per scopi di ricerca può essere non ben definito. È il caso delle unità di sangue del cordone che, se non idonee per la conservazione e il trapianto, possono essere utilizzate, con il consenso informato del donatore, a fini di ricerca o per lo sviluppo di prodotti derivati dal sangue cordonale (Riva *et al.*, 2018).

L'utilizzo di cellule staminali derivate dal cordone ombelicale può andare al di fuori dei protocolli standard finalizzati al trapianto. Le banche pubbliche possono fornire effettivamente le unità di sangue cordonale scartate, perché non idonee per il trapianto, ad istituti di ricerca che spesso lavorano su nuove applicazioni sperimentali delle cellule staminali derivate dal sangue cordonale (Hauskeller *et al.*, 2016).

Il possibile utilizzo delle unità di sangue cordonale per la ricerca scientifica invita ancor di più alla donazione, dimostrando che le unità non idonee non sono rifiuti. Il Registro Italiano di Donatori del Midollo Osseo (2016) ha dichiarato che la donazione, se non corrisponde ai requisiti di qualità per il trapianto, può essere una risorsa importante ai fini della ricerca. Tuttavia quando il campione viene registrato per essere utilizzato per la ricerca, subisce una nuova serie di analisi, in quanto deve rispettare specifiche caratteristiche, quali buona cellularità, con una vitalità del 100%, e può essere utilizzato entro le 24 ore dalla raccolta.

In Italia, il modulo del consenso informato per la donazione di sangue cordonale, adottato nel 2006, conformemente al decreto ministeriale del 2 novembre 2015, afferma esplicitamente che il materiale donato non più idoneo alla conservazione per il trapianto può essere utilizzato a fini di ricerca, ma specifica anche che può essere trasferito solo tra strutture appartenenti al sistema sanitario nazionale (vale a dire il sistema pubblico) (Petrini *et al.*, 2011). Secondo quanto riportato dal Centro Nazionale Trapianti (2018), solo una piccola percentuale, circa il 7%, delle unità raccolte risulta valido per il possibile utilizzo a scopo di trapianto. Le unità di sangue cordonale giudicate non idonee alla conservazione possono essere utilizzate, ad esempio:

- a scopo di ricerca scientifica;
- per migliorare i processi di congelamento delle staminali emopoietiche;
- per ottenere globuli rossi concentrati ad uso trasfusionale per i neonati prematuri estremamente sottopeso, che necessitano di una trasfusione di sangue con emoglobina fetale;

- per ottenere plasma ricco di piastrine per la produzione di collirio o di gel piastrinico, che sembra avere maggiori capacità antinfiammatorie, rispetto al gel piastrinico adulto;
- uso dermatologico per il trattamento di ulcere cutanee in pazienti diabetici o affetti da epidermolisi bollosa, in ambito ortopedico per la riduzione del dolore osteo-articolare, nelle epicondiliti, nelle lesioni legamentose, in ambito odontostomatologico, mucositi, e per il trattamento di altre patologie (perforazioni timpaniche, fistole anali, ecc).

Nei moduli del consenso informato devono essere indicati i possibili utilizzi dell'unità del sangue cordonale, se essa non è adatta al trapianto (Bianchi *et al.*, 2015; Parazzi *et al.*, 2010). Inoltre, uno degli obiettivi della ricerca scientifica è quello di migliorare le applicazioni del sangue cordonale attraverso l'espansione cellulare, ovvero la possibilità di moltiplicare il numero di cellule staminali in modo da utilizzare anche unità di sangue cordonale con scarsa cellularità. Purtroppo le ricerche sono ancora in corso (Martin *et al.*, 2008).

Dunque non si può parlare di donazione del sangue cordonale esclusivamente per ricavare cellule staminali, ma di sangue cordonale in generale, poiché ogni sua parte può essere utile alla collettività. Se l'unità non è trapiantabile, la donazione è sempre importante in quanto nulla va sprecato. L'atto del dare diventa un vero atto di solidarietà etico e sociale (Beltrame, 2019). L'accordo che i donatori firmano quando acconsentono all'utilizzo del campione per la ricerca può essere qualificato come una dichiarazione di solidarietà da parte del partecipante, solidarietà verso la causa della biobanca, verso le persone che potrebbero usufruire di potenziali benefici. La solidarietà si esprime in tre livelli. In primo luogo, le persone devono essere disposte a impegnarsi nella donazione, firmando l'adeguato consenso informato, pur sapendo che i loro campioni e i loro dati possono essere utilizzati per scopi diversi da quelli inizialmente previsti (livello interpersonale). La solidarietà di livello II (livello di gruppo) si concretizza nel rapporto di fiducia che si viene a creare tra il donatore e la biobanca: il partecipante e la biobanca sono partners che lavorano insieme per l'interesse comune. La condivisione di dati e informazioni personali del donatore è il risultato di una solidarietà di livello III (livello legale), soprattutto quando i ricercatori hanno l'obbligo contrattuale di condividere i dati con terze parti, come quando ricevono finanziamenti pubblici (Nuffield Council on Bioethics, 2011).

La donazione esprime un atteggiamento di solidarietà verso altre persone e verso le generazioni future, attraverso la condivisione volontaria di campioni e d'informazioni, come sottolineato nel preambolo dalla stessa *Convenzione di Oviedo*. Condizione necessaria è l'istaurarsi di una relazione paziente/donatore e medico/ricercatore fondata sulla fiducia e sull'alleanza terapeutica. La fiducia si ottiene quando il donatore viene informato di tutte le condizioni che possono essere determinanti per la decisione di consentire o di rifiutare la donazione e della predisposizione di dispositivi adibiti al controllo della trasparenza dell'attività della biobanca. Le biobanche, utilizzate ai fini della ricerca, richiedono la sorveglianza di un Comitato etico locale, che assicuri il rispetto delle norme etiche e legali in vigore (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2014).

1.8 La riserva delle cellule staminali: un bene da tutelare nei pazienti oncologici

I trattamenti di cura oncologica, per quanto fondamentali per debellare certi tipi di tumori, distruggono le difese immunitarie e possono provocare danno alle cellule staminali di riserva, provocando effetti collaterali devastanti, soprattutto in oncologia pediatrica. Le cellule staminali sono cellule che hanno la capacità di compiere un numero illimitato di cicli replicativi, dunque risiedono per molto tempo all'interno dell'organismo: il danno al materiale genetico di queste cellule può essere riparato correttamente, ristabilendone la funzionalità, ma se il danno al DNA è esteso, le cellule possono accumulare danni irreversibili che innescano l'apoptosi o la senescenza (Squillaro *et al.*, 2018).

Le potenziali conseguenze dei trattamenti di cura oncologica comprendono sterilità o subfertilità nei pazienti sottoposti a tali trattamenti in età prepuberale, a seguito della rimozione delle gonadi oppure dell'insulto chemio-radioterapico sulle cellule germinali. La probabilità che il paziente possa andare incontro ad infertilità dipende dal tipo di agente chemio-radioterapico, dalla dose e dall'età del paziente. I farmaci che hanno maggiori probabilità di rappresentare un rischio per i gameti sono gli agenti alchilanti, quali citarabina, vinblastina, cisplatino e procarbazine. Pazienti affetti da morbo di Hodgkin e trattati con sei cicli di chemioterapia presentarono infertilità e azoospermia nel 90% dei casi (Heikens *et al.*, 1996).

La radioterapia *total body* provoca azoospermia (dosi > di 1.2 Gy), invece l'irradiazione dei testicoli (dosi superiori di 20 Gy) è associata a disfunzione delle cellule del Leydig (cellule presenti nei testicoli responsabili della produzione di testosterone) nella maggior parte dei pazienti prepuberali, mentre pazienti adulti esposti a dosi superiori a 30 Gy necessitano di somministrazione di androgeni per cercare di recuperare la funzionalità di queste cellule (Waring *et al.*, 2000).

Per quanto riguarda la funzionalità ovarica, generalmente le pazienti guarite da carcinoma infantile possono successivamente manifestare non solo infertilità ma anche menopausa precoce: tale rischio aumenta se il trattamento è stato effettuato dopo l'inizio della pubertà, utilizzando agenti alchilanti oppure esponendo il diaframma ad elevate dosi di radioterapia (1000 cGy). Wallace *et al.*, (1989) hanno dimostrato che la dose per uccidere il 50% degli ovociti è inferiore a 4 Gy. Riconoscendo i rischi associati sia alla radioterapia che alla chemioterapia, risulta necessario sviluppare meccanismi atti a proteggere i gameti oppure considerare la possibilità di conservare queste cellule (Fallat *et al.*, 2008).

I trattamenti chemioterapici danneggiano anche le cellule staminali neuronali, con conseguenti implicazioni sulle funzioni cognitive, tra cui disturbi della memoria e dell'attenzione, in pazienti affetti da tumori cerebrali o leucemia. Disfunzioni cognitive sono evidenti in alcuni pazienti anche 20 anni dopo il trattamento (Gibson *et al.*, 2012).

L'esposizione a radiazioni ionizzanti può danneggiare le cellule staminali del midollo osseo, riducendo il numero di cellule ematiche funzionali, con conseguente immunodepressione e anemia. Inoltre i pazienti sottoposti a radioterapia presentano un elevato rischio di andare in contro a fratture, a causa dell'alterazione dell'architettura ossea, dovuta dall'aumento del numero degli osteoclasti (cellule deputate all'assorbimento della matrice ossea) conseguente all'irradiazione (Green & Rubin, 2014). La somministrazione di particolari chemioterapici, quali agenti alchilanti e antracicline, danneggia le cellule staminali del midollo osseo, con conseguente decremento delle cellule ematiche nel sangue periferico dopo circa tre settimane (Mauch *et al.*, 1995).

Occorre dunque tutelare le cellule staminali dai possibili danni da trattamenti radioterapici nei pazienti oncologici: uno dei metodi possibili è l'uso di molecole ad azione radioprotettiva.

1.9 Nuove molecole antiossidanti con azione radioprotettiva

Le radiazioni ionizzanti sono ampiamente utilizzate non solo nella radioterapia ma anche nella diagnostica medica. La genesi delle specie reattive dell'ossigeno dovuta all'esposizione alle radiazioni, induce la cellula a rispondere generando antiossidanti endogeni, quali enzimi come superossido dismutasi, glutatione e catalasi, che possono minimizzare o eliminare il danno indotto dai radicali liberi sulle strutture cellulari. La glutatione perossidasi catalizza principalmente la conversione degli ioni idrossido in acqua. La superossido dismutasi converte l'anione superossido in perossido d'idrogeno (acqua ossigenata), che viene quindi convertito in ossigeno e acqua per azione delle catalasi. Se esposta a livelli crescenti di radiazioni ionizzanti, la cellula aumenta l'espressione degli enzimi antiossidanti (Holley *et al.*, 2014).

Quando, tuttavia, il livello di ROS travolge queste difese cellulari, la cellula subirà un danno (in modo dose-dipendente) che può portare a carcinogenesi, teratogenesi, necrosi o apoptosi. La somministrazione di agenti radioprotettivi è proposta come modalità per ridurre gli effetti deleteri legati alle radiazioni sulle cellule. Gli antiossidanti possono agire come “spazzini” dei radicali liberi e quindi ridurre alcuni danni al DNA causati dalle radiazioni ionizzanti. Teoricamente, questo intervento consentirebbe alle difese cellulari di “stare al passo” con l'incremento dei radicali liberi, generati dall'esposizione alle radiazioni (supponendo che il livello intracellulare di antiossidanti sia sufficiente al momento dell'esposizione alle radiazioni).

I composti radioprotettivi possono sopprimere la formazione di radicali liberi, rimuoverli, indurre la produzione di radioprotettori naturali, migliorare la riparazione del DNA, ridurre la risposta infiammatoria post-radiazione o persino ritardare la divisione cellulare consentendo alle cellule di riparare il danno o iniziare il processo di apoptosi (Pei H *et al.*, 2014).

Sebbene sia stato dimostrato che le sostanze radioprotettive sono efficaci nel ridurre gli effetti collaterali dell'esposizione alle radiazioni, attualmente non esistono radioprotettori usati nella radiologia diagnostica e nella radioterapia.

Brand *et al.* (2015) hanno dimostrato che diversi antiossidanti, come la N- acetil cisteina (NAC) e la vitamina C, se somministrati prima di esporre il sangue umano alle radiazioni, potrebbero ridurre l'incidenza del danno al DNA a doppio filamento nei linfociti. È interessante notare che, nonostante i singoli agenti mostrino risultati promettenti come radioprotettori, nessuna delle combinazioni testate dagli autori ha

mostrato un effetto additivo quando più agenti sono stati usati insieme. Questo studio supporta l'uso di antiossidanti, in particolare analoghi del NAC e della vitamina C, per prevenire danni al DNA associati alle radiazioni.

Prima di Brand *et al.* (2015), Kuefner *et al.* (2012) avevano studiato gli effetti di una miscela di antiossidanti, tra cui ascorbato di calcio, d-alfa tocoferil succinato, carotenoidi, NAC, acido R- α -lipoico, l-celenometionina, sui linfociti umani in vitro. Sono stati effettuati due esperimenti paralleli: in primo luogo, i linfociti in vitro sono stati trattati con il mix di antiossidanti, dopo l'irradiazione. In secondo luogo, sono stati ottenuti campioni di sangue a tempi differenti, dopo che ai pazienti era stata somministrata una pillola contenente gli antiossidanti oggetto di studio. Successivamente sono stati isolati e irradiati i linfociti. La somministrazione di antiossidanti dopo l'irradiazione non ha portato a una riduzione del danno al DNA a doppio filamento, invece, il pretrattamento con antiossidanti ha comportato riduzioni significative dei danni al DNA del 23% dopo 15 minuti dalla somministrazione degli antiossidanti e una riduzione del 58% se questi venivano somministrati 60 minuti prima dell'irradiazione.

Anche la curcumina, che, mostra proprietà anti-cancro, agisce regolando lo stress ossidativo nelle cellule: questa molecola interagisce con un gruppo di enzimi coinvolti nella regolazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS). In particolare, risulta che la curcumina incrementa l'espressione delle superossido dismutasi, endogene della cellula. Nelle cellule tumorali i livelli di ROS sono molto vicini al valore soglia, per l'alterato metabolismo, pertanto un ulteriore incremento dei livelli cellulari di ROS, provocato dall'azione della curcumina, tollerabile per le cellule sane, diventa letale per le cellule tumorali (Larasati *et al.*, 2018). Sembra che questa molecola abbia anche proprietà radioprotettive: Nguyen *et al.* (2017) hanno trattato linfociti umani, precedentemente esposti a radiazioni gamma, con liposomi incapsulati di curcumina, per facilitarne l'internalizzazione, e hanno rilevato un effetto radioprotettivo dose-dipendente.

Sembra chiaro che una vasta gamma di sostanze può essere utilizzata per ridurre i danni al DNA indotti dalle radiazioni. Sebbene molti di questi agenti possano in definitiva avere un valore clinico, non è stato definitivamente stabilito che la riduzione del danno al DNA porta benefici clinicamente significativi. Saranno necessarie ricerche future, in particolare studi a lungo termine, per dimostrare effetti positivi clinici relativi agli agenti radioprotettivi (Smith *et al.*, 2017).

1.10 La manganese superossido dismutasi ricombinante

La carcinogenesi si origina da alterazioni dello stress ossidativo a seguito di accumulo di radicali liberi, che giocano un duplice ruolo, sia di innescare l'evento neoplastico, che di contrastarlo. Per questo motivo, oggi la ricerca oncologica si orienta sull'uso di sostanze modulatrici dello stress ossidativo. Tra questi vi sono molte molecole di antiossidanti di varia natura, utilizzate da sole o in terapie combinate e molecole di recente scoperta come un'isoforma mutata, di una Manganese Superossido Dismutasi prodotta in forma ricombinante (rMnSOD), la cui azione oncotossica si basa sull'alterata produzione di antiossidanti da parte delle cellule tumorali stesse. Quest'ultima potrebbe, dopo opportune tappe sperimentali, consentire la formulazione di un nuovo farmaco, attivo sia per le neoplasie ematologiche che per i tumori solidi.

Come la forma originaria wild-type, presente nei mitocondri delle cellule di tutti gli organismi, questa forma mutata "dismuta" i radicali liberi inducendo la formazione di acqua ossigenata (tossica ad alte concentrazioni) che, a sua volta, viene convertita dall'enzima catalasi in ossigeno e acqua, entrambi necessari alla vita della cellula. Le cellule sane hanno livelli di catalasi adeguati per neutralizzare l'azione tossica dell'acqua ossigenata; al contrario, le cellule tumorali hanno livelli di catalasi da 20 a 40 volte più bassi rispetto alle cellule sane e quindi non riescono a contrastare l'accumulo di acqua ossigenata. Somministrando in modo esogeno la rMnSOD alle cellule tumorali, si può quindi causarne la morte per l'eccessivo sviluppo di acqua ossigenata. Le cellule sane, invece, ne saranno beneficate per la conversione in acqua ed ossigeno operata dalle catalasi.

La peculiarità della rMnSOD, rispetto alla forma nativa, consiste nel fatto che è stata prodotta con il suo peptide leader di 24 amminoacidi non clivato, che le conferisce la capacità di penetrare in tutte le cellule e localizzarsi nei mitocondri (Mancini *et al.*, 2006, 2008). Inoltre, la rMnSOD è in grado di stimolare l'espressione del gene pro-apoptotico Bax e inibire quella del gene anti-apoptotico Bcl-2, suggerendo che la proteina ricombinante può essere coinvolta nell'attivazione dell'apoptosi (Mancini *et al.*, 2008). Inoltre, visto che il mancato taglio del peptide leader della proteina porta alla formazione di una forma anomala, è stata investigata la funzione di tale sequenza tramite studi paralleli sia *in vivo* che *in vitro*. Si è partiti dall'ipotesi che il peptide leader rappresentasse il vettore molecolare capace di penetrare all'interno delle cellule attraverso il recettore degli estrogeni, grazie alla sua somiglianza con il carrier degli

estrogeni stesso. È stato rilevato che la proteina rMnSOD, marcata con fluorescenza, entrava in tutte le cellule, mentre nelle cellule pretrattate con estradiolo e poi incubate con la proteina, si poteva osservare la fluorescenza esclusivamente a livello periferico, indicando che la captazione della proteina è inibita in presenza di estrogeni e compete con quest'ultimi. Ciò ha confermato l'ipotesi che il sito d'ingresso nelle cellule tumorali sia rappresentato proprio dai recettori per gli estrogeni e che di conseguenza la proteina risulti efficace solo nelle forme tumorali estrogeno-positive (Mancini *et al.*, 2008).

Sono stati condotti anche studi *in vivo*, legando il ^{68}Ga (un radioisotopo) al peptide leader e inoculandolo per via ematica in un cane con tumore mammario spontaneo. Dopo circa 30 minuti, mediante tomografia a emissione di positroni (PET), è stata osservata una elevata concentrazione del peptide nelle cellule tumorali mammarie, mettendo in luce la notevole specificità di tale molecola nel concentrarsi nel tessuto neoplastico (Mancini *et al.*, 2008).

Esperimenti preliminari hanno dimostrato che la rMnSOD può proteggere le cellule sane dall'accumulo di radicali liberi prodotti dall'esposizione a raggi X e allo stesso tempo aumentare la sensibilità delle cellule tumorali che muoiono con dosi più ridotte di raggi X in presenza di rMnSOD, riducendo così gli effetti collaterali della radioterapia (Borrelli *et al.*, 2009).

SEZIONE SPERIMENTALE

2. SCOPO DELLA RICERCA

Migliorare la qualità della vita dei pazienti è uno degli obiettivi di primaria importanza nella lotta contro il cancro. Il peso fisico e quello emotivo di questa malattia possono avere una forte incidenza, e sono inoltre spesso accompagnati dagli effetti collaterali del trattamento. I risultati clinici possono essere influenzati dallo stato generale del benessere sia mentale che fisico del paziente, dunque il mantenimento della qualità della vita, compresi i meccanismi fisici, psicologici e sociali, dovrebbe costituire una priorità medica quanto umanitaria (Carta di Parigi, 2000).

La maggior parte delle terapie si basa su protocolli standardizzati di chemio- e radio-terapia, che, però, non rappresentano un trattamento selettivo per le cellule tumorali. Gli effetti collaterali di questi protocolli peggiorano la qualità della vita dei pazienti oncologici pediatrici: tali effetti si manifestano anche a lunga distanza con l'insorgenza di tumori secondari in età adulta.

È stato dimostrato che l'insulto chemioterapico riduce la vitalità cellulare ed induce la frammentazione del DNA nel midollo osseo, danni potenzialmente associati al meccanismo di stress ossidativo (Abd-Allah *et al.*, 2005; Das *et al.*, 2008). La ripresa funzionale di un midollo irradiato è possibile grazie all'attivazione di cellule staminali, di riserva, che entrano in gioco per ricostituire il tessuto danneggiato. Ne consegue la necessità di studiare meccanismi atti a proteggere le cellule staminali ematopoietiche di riserva dai danni dell'esposizione a radiazioni; ciò per consentire il ripristino funzionale successivo al trattamento di eliminazione delle cellule tumorali. Questo dovrebbe costituire il primo obiettivo nello sviluppo di nuove contromisure mediche contro le radiazioni. È proprio in questo contesto che si inserisce lo scopo del presente lavoro di ricerca, che è stato lo studio delle capacità radioprotettive di una molecola di recente scoperta, non tossica, nota per avere effetti oncotossici su linee cellulari di tumori solidi di adulti (Mancini *et al.*, 2006; 2008). Tale molecola, una manganese superossido dismutasi ricombinante, viene internalizzata dalle cellule, attraverso i recettori degli estrogeni, con cui interagisce nella sua porzione di peptide leader e veicolata all'interno di esse, producendo acqua ossigenata.

L'azione radioprotettiva di questa molecola è stata studiata utilizzando cellule staminali provenienti dal sangue di cordone ombelicale. La scelta di utilizzare queste cellule come

modello sperimentale è giustificata dal fatto che esse presentano un grado di immaturità comparabile alle cellule staminali dei pazienti pediatrici e possono essere utilizzate per trapianti allogenici in pazienti oncologici che possono andare incontro a recidive ed essere sottoposti a trattamenti radioterapici. Inoltre il prelievo di cellule dal sangue cordonale a scopo di ricerca non è associato a problematiche etiche particolarmente sensibili.

Le cellule estratte dalle sacche cordonali e separate, come di seguito descritto, sono state irradiate con intensità e frequenza pari a quelle somministrate a pazienti oncologici pediatrici quale terapia di riduzione del tumore. L'irradiazione è stata effettuata su campioni di cellule pretrattate con la rMnSOD e su campioni controllo senza alcun pretrattamento, secondo il protocollo di seguito riportato.

I risultati di questa sperimentazione potrebbero costituire il primo passo verso la messa a punto di un trattamento radioprotettivo da utilizzare sui pazienti oncologici.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Raccolta della legislazione e giurisprudenza

L'analisi della legislazione europea in materia di diritti dei minori è stata sviluppata presso la Facoltà di Giurisprudenza dell'Università di Granada, nonché nella Facoltà di Farmacia dell'Università di Madrid e nella Facoltà di Giurisprudenza dell'UNED. Sono stati consultati i database di Pubmed e Dialnet, nonché gli archivi dei pareri dei Comitati etici nazionali ed internazionali, per la ricerca di articoli scientifici e pubblicazioni affini all'argomento della presente tesi.

3.2 Raccolta dei campioni

Sono stati utilizzati, per il presente lavoro, campioni di sangue di cordone ombelicale proveniente dalla Banca di Sangue Cordonale (Ba.S.C.O.), avente sede presso l'Azienda Ospedaliera "Santobono Pausilipon" di Napoli. Tali campioni, ottenuti mediante consenso informato, non avevano i requisiti richiesti per essere bancati e utilizzati per il trapianto di cellule staminali, pertanto sono stati concessi ad uso sperimentale.

Alcuni campioni sono stati esclusi perché cellularmente insufficienti anche per essere utilizzati per la presente ricerca o perché le gestanti avevano assunto farmaci durante la gravidanza. Essi sono stati processati e le cellule sono state trattate nello stesso giorno, a distanza di 24h ore circa dalla raccolta.

3.3 Estrazione delle cellule mononucleate

Le cellule mononucleate, e quindi le cellule staminali ematopoietiche, da sangue di cordone ombelicale sono state ottenute da campioni di sangue fresco eparinato mediante centrifugazione su gradiente di *Ficoll/Hypaque*TM (F/H, GE Healthcare, Sigma, Italia). Tale metodica sfrutta la diversa densità delle cellule mononucleate rispetto agli altri elementi corpuscolati del sangue. Le cellule mononucleate e gli elementi a minore densità, si concentrano sopra lo strato di F/H; viceversa, i globuli rossi (RBC) e i granulociti (PMN) si raccolgono sul fondo della provetta.

Il sangue di cordone ombelicale è stato prima versato in tubi da 50 mL e sottoposto a centrifugazione per 2100 rpm per 10 minuti alla temperatura di 4°, per poter eliminare il siero.

Successivamente il sangue è stato diluito con PBS (*phosphate buffered saline* - tampone fosfato salino) freddo in rapporto 1:2 e, solo successivamente, stratificato lentamente sopra la soluzione di F/H (circa 35 mL di sangue in un gradiente di 13 mL di F/H). Dopo centrifugazione a 2100 rpm per 30 minuti a 20°C, l'anello di cellule mononucleate formatosi all'interfaccia F/H è stato aspirato e sottoposto a due successivi lavaggi con PBS a 2100 rpm per 10 minuti a 4° per eliminare gli elementi contaminanti (Figura 3).

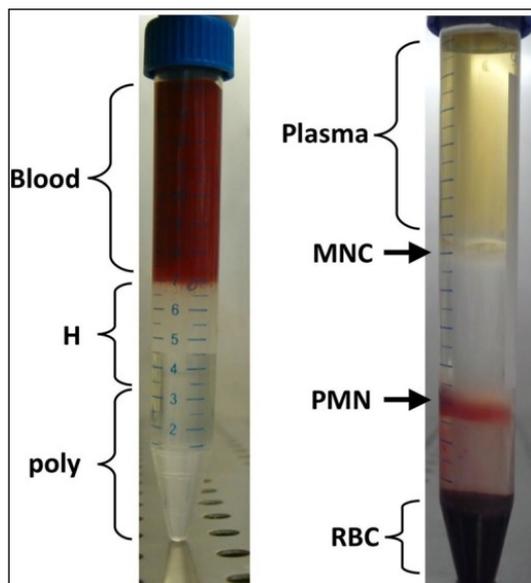


Figura 3. Separazione di sangue periferico tramite Ficoll/Hypaque™. Nel pannello di sinistra è indicato il sangue intero diluito con PBS. Nel pannello di destra si notano le diverse stratificazioni cellulari, ottenuti dopo la centrifugazione.

Il pellet cellulare è stato risospeso in terreno di coltura completo, ottenuto aggiungendo RPMI 1640 (Immunological Sciences, Società Italiana Chimici, Italia) a siero bovino fetale al 20% (Pan Biotec, Italia) e Pen Strep 1% (Società Italiana Chimici, Italia). Le cellule sono state poste in fiasche per coltura da 75cm² in un volume finale di 5mL e messe in incubatore a 37°, 5% CO₂.

3.4 Trattamento dei campioni con rMnSOD e irradiazione

Circa 500.000 cellule sono state piastrate in una piastra multiwell da 24 pozzetti in un volume finale di 500 µL. I campioni utilizzati sono schematizzati qui di seguito:

- controllo negativo, (CTRL, cellule non irradiate);
- cellule trattate con 0.5 µM di rMnSOD per 24h;
- cellule irradiate;

- cellule trattate con 0.5 μM di rMnSOD per 24h e irradiate.

Le cellule sono state trattate per 24h con rMnSOD alla concentrazione di 0.5 μM , in quanto risulta essere la concentrazione alla quale la molecola ha azione radioprotettiva, come riportato da Borrelli *et al.*, 2009.

Dopo il trattamento le cellule sono state irradiate presso il centro di radioterapia di “Villa del Sole” (Napoli) attraverso l’acceleratore lineare ELEKTA, alla dose di 2 Gy per tre giorni consecutivi (6 Gy totali), al fine di provare a riprodurre lo stesso trattamento al quale sono sottoposti i pazienti pediatrici (Figura 4).



Figura 4. Acceleratore lineare ELEKTA utilizzato per l’irradiazione alla dose di 2 Gy.

3.5 Valutazione dell'apoptosi tramite Annessina V

Le cellule apoptotiche sono state rilevate utilizzando il kit Nexin V: il kit contiene due fluorofori, Annessina V e 7AAD, per identificare un ampio spettro di cellule apoptotiche e non apoptotiche. L'annessina V (rosso) si lega alla fosfatidilserina sulla membrana esterna delle cellule apoptotiche, mentre il 7AAD (blu) permea e colora il DNA delle cellule morte e in apoptosi in fase avanzata. La colorazione consente l'identificazione di 3 popolazioni cellulari: cellule vive, non apoptotiche (negative all'annessina V e al 7AAD); cellule apoptotiche precoci (positive all'annessina V e negative al 7AAD); cellule in apoptosi tardiva o cellule morte (positive sia all'annessina V e al 7AAD). I campioni sono stati centrifugati e risospesi in 100 μ L di terreno, a cui sono stati aggiunti altri 100 μ L di reagente Nexin V. Successivamente i campioni sono stati incubati al buio per 20 minuti a temperatura ambiente e acquisiti al *Guava Easy Cyte Flow Cytometer*.

3.6 Valutazione della senescenza

Il dosaggio della β -galattosidasi è un dosaggio fluorescente altamente sensibile per determinare l'attività della β -galattosidasi, un enzima glicosidico che catalizza l'idrolisi dei β -galattosidi in monosaccaridi attraverso la rottura di un legame glicosidico. Nel 1995, Dimri *et al.* hanno individuato che un'isoforma della beta-galattosidasi è espressa specificamente durante la senescenza cellulare.

Viene utilizzato il 4-methylumbelliferyl- β -galactopyranoside (4-MUG, Sigma Aldrich, Italia) legato ad un fluoroforo, come substrato della β -galattosidasi. 4-MUG viene scisso dall'enzima per generare il prodotto fluorescente (4-metilumbelliferone).

Dopo l'irradiazione, le cellule sono state lavate 3 volte con PBS 1X e aggiunto 450 μ L di buffer di lisi pH 6.0 (5mM CHAPS, 3-[(3-Cloramidopropil)-dimetil ammonio]-propan- sulfonato; 40 mM acido citrico; 40 mM sodio fosfato; 0.5 mM benzamidina; 0.25 Mm PMSF, fenilmetilsolfonil fluoruro, inibitore delle proteasi). I campioni sono stati poi centrifugati a 12000g per 5 minuti a 4°C. È stato prelevato il supernatante (100 μ L), messo in ghiaccio per 5 minuti, e successivamente sono stati aggiunti 50 μ L di buffer di lisi e 150 μ L di buffer di reazione 2X pH 6.0 (40 mM acido citrico, 40 mM sodio fosfato, 300 mM NaCl, 10 mM β -mercaptoetanolo, 4 mM MgCl₂, 1,7 mM 4-MUG).

I campioni sono stati incubati per 2h a 37°C. Dopo l'incubazione è stato aggiunto 1 mL di sodio carbonato (400mM). 100 µL di quest'ultima soluzione sono stati caricati in un pozzetto di una piastra da 96 pozzetti. La produzione del fluoroforo è stata monitorata ad una lunghezza d'onda di emissione e eccitazione di 365 e 460 nm, rispettivamente.

3.7 Identificazione delle cellule staminali attraverso microscopia confocale

Le cellule staminali ematopoietiche, isolate da sangue cordonale, sono state sottoposte a cytospin. Il cytospin è una metodica di citocentrifugazione mediante la quale, cellule disperse sono poste su vetrini porta-oggetto e stratificate in un monostrato di cellule all'interno di una superficie circolare. Dopo citocentrifugazione a 8 rpm per 10 minuti, delimitato il contorno del pellet con una penna idrofoba, le cellule sono state fissate con paraformaldeide al 4% in PBS 1X. Le cellule hanno poi subito tre lavaggi con soluzione di PBS 1X +0,1% TRITON, su piastra rotante per 10 minuti ciascuno, seguito da un lavaggio con Glicina 0.1M in PBS per 10 minuti. Successivamente tali cellule sono state permeabilizzate con una soluzione di 0,4% TRITON + PBS 1X per 10 minuti e nuovamente lavate per 3 volte con soluzione PBS 1X +0,1% TRITON. Dopodiché è stata aggiunta alle cellule una soluzione di Blocking con 5% di NGS+ 0,1% TRITON + PBS 1X. È stata eseguita l'incubazione delle cellule con l'anticorpo primario anti - CD34+ (H-140, sc-9095, anti – rabbit, 200 µg/ml Santa Cruz Biothecnology) in soluzione di blocking (15% NGS in PBS1X+0,1%TRITON) overnight. Lavorando con luce rossa sono stati effettuati tre lavaggi con soluzione PBS 1X + 0,1%TRITON, al termine dei quali le cellule sono state incubate con l'anticorpo secondario (Alexa fluor 488A, Thermo Fischer, USA) in soluzione PBS1X+0,1%TRITON per 2h. Le cellule dopo esser state lavate con soluzione di PBS1X, sono state incubate per 1 h con Tricloroidrato (intercalante del DNA) in PBS 1X. Il vetrino con le cellule è stato lavato prima con soluzione di PBS 1X e poi con acqua distillata ed infine analizzato al microscopio confocale.

4. RISULTATI

4.1 Valutazione dell'apoptosi dopo irradiazione

L'analisi al citofluorimetro dell'annexina V è stata effettuata sulle cellule pre-trattate con 0.5 μ M di rMnSOD, e irradiate dopo 24 ore alla dose di 2 Gy.

L'analisi ha rivelato un incremento della vitalità cellulare, da 64.42% delle cellule irradiate a 72.58% delle cellule irradiate e pre-trattate con rMnSOD, associate ad un decremento dell'apoptosi precoce (Figura 5 e 6).

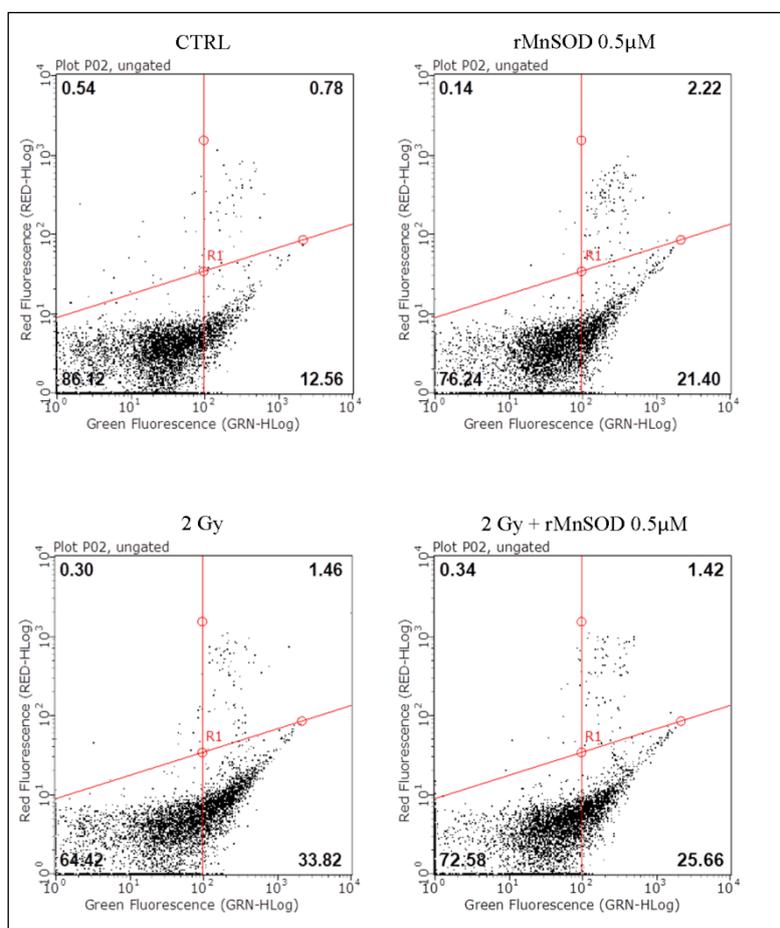


Figura 5. Analisi citofluorimetrica, tramite test dell'annexina V. Ciascun plot è così suddiviso: in basso a sinistra, la popolazione cellulare vitale; in basso a destra, la popolazione in fase di apoptosi precoce; in alto a destra, la popolazione cellulare in apoptosi tardiva; in alto a sinistra, la popolazione cellulare in fase di necrosi (CTRL: controllo negativo).

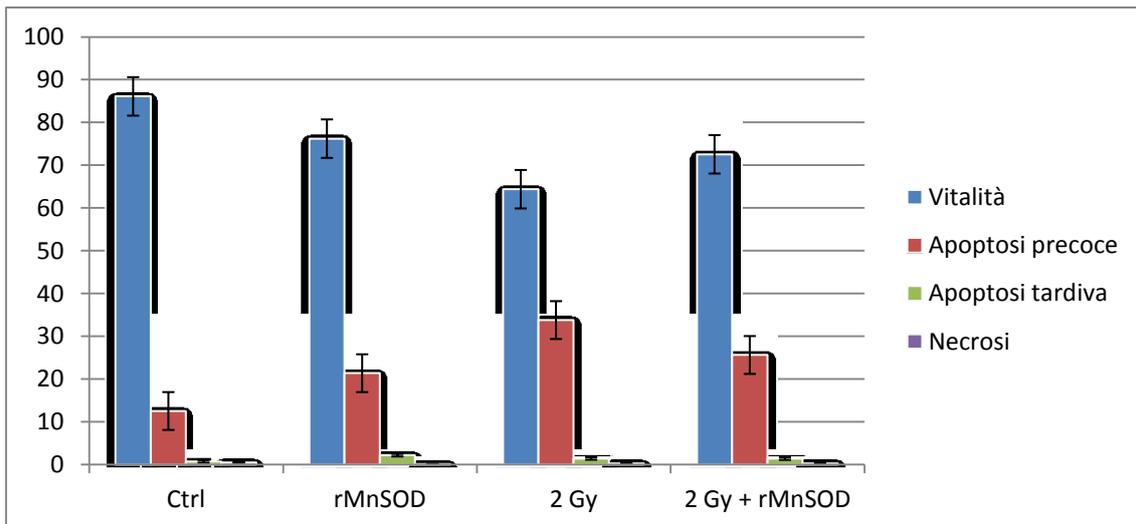


Figura 6. Percentuali di sopravvivenza dei campioni cellulari, tramite test dell'annexina V.

L'analisi dell'apoptosi è stata effettuata anche su campioni irradiati per tre volte alla dose di 2 Gy (6 Gy totali) e pre-trattati con rMnSOD alla concentrazione di 0.5 μ M, 24 ore prima di iniziare il ciclo di radioterapia. Risulta che la vitalità cellulare incrementa da 56.06% (cellule solo irradiate) a 67.28% (cellule irradiate e pre-trattate con rMnSOD), associate ad un decremento della fase di apoptosi precoce (Figura 7 e 8).

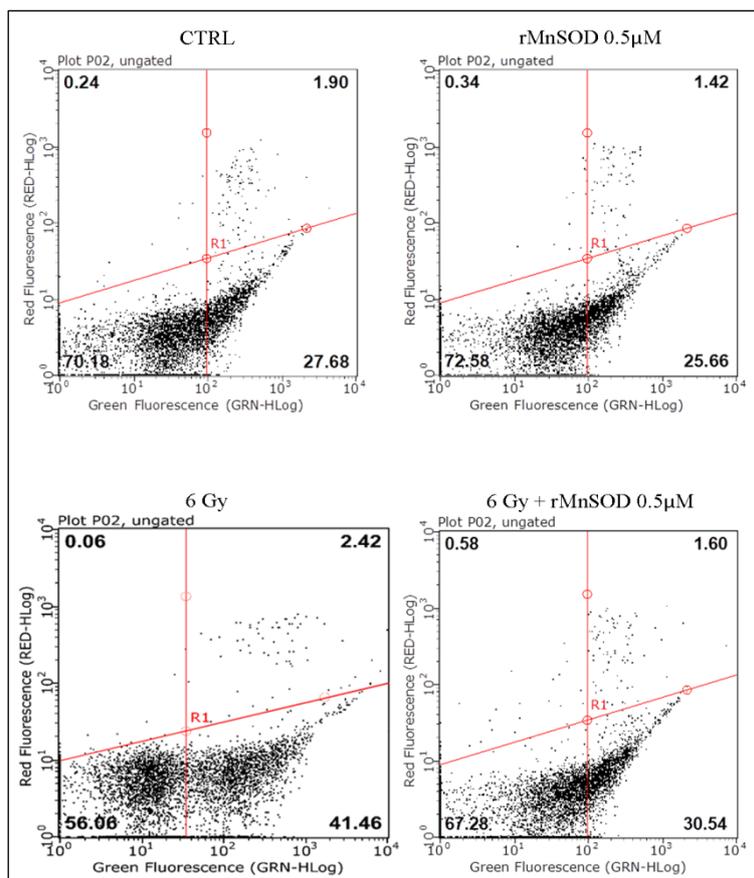


Figura 7. Analisi citofluorimetrica, tramite test all'Annessina V. Ciascun plot è così suddiviso: in basso a sinistra, la popolazione cellulare vitale; in basso a destra, la popolazione in fase di apoptosi precoce; in alto a destra, la popolazione cellulare in apoptosi tardiva; in alto a sinistra, la popolazione cellulare in fase di necrosi (CTRL: controllo negativo).

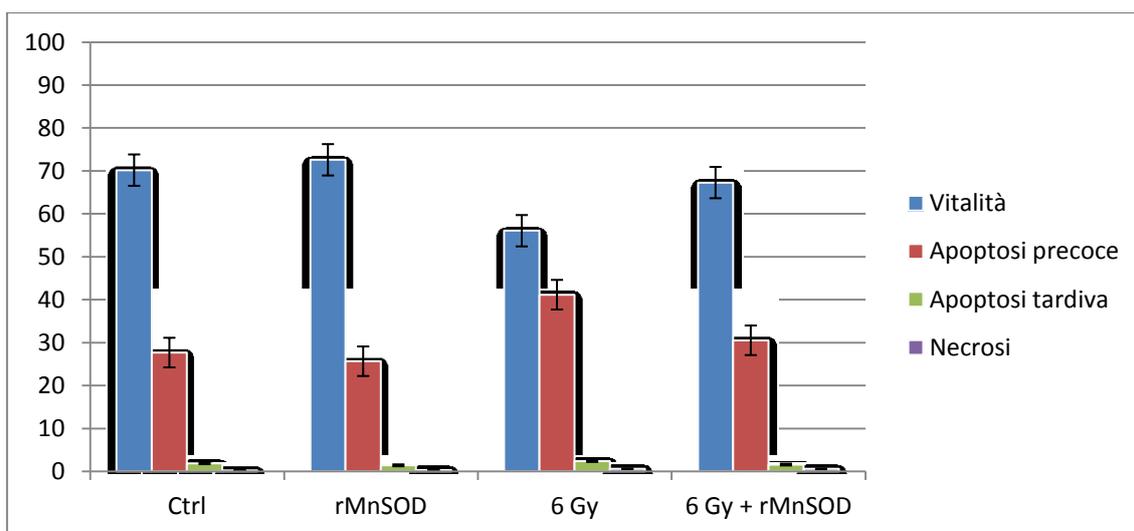


Figura 8. Percentuali di sopravvivenza dei campioni cellulari, tramite test dell'annessina V.

4.2 Valutazione della senescenza

È stato valutato l'effetto dell'irradiazione sulla senescenza cellulare. In particolare risulta che le cellule irradiate sono più senescenti rispetto alle cellule irradiate e pre-trattate con rMnSOD (Figura 9).

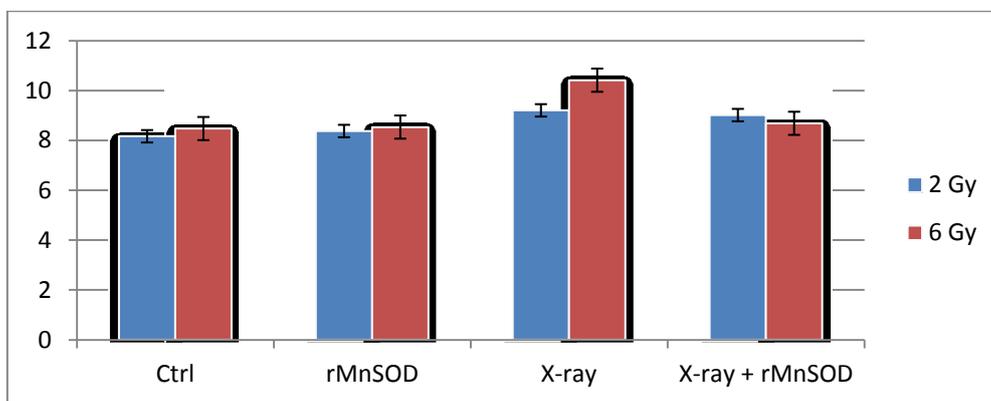


Figura 9. Variazione della senescenza cellulare, in risposta all'esposizione alle radiazioni.

4.3 Analisi morfologica delle cellule CD34+ al microscopio confocale

La morfologia cellulare è stata valutata attraverso microscopia confocale, al fine di osservare le eventuali alterazioni morfologiche, dovute all'esposizione alle irradiazioni. Sono evidenti frammentazioni citoplasmatiche e nucleari, alterazioni caratteristiche dell'apoptosi, in seguito all'irradiazione di 2 Gy, meno evidenti nelle cellule pre-trattate con rMnSOD.

È possibile osservare un numero maggiore di frammentazioni nucleari, corpi apoptotici ed evidente sofferenza cellulare nelle cellule irradiate con una dose totale di 6 Gy; nelle cellule sottoposte allo stesso tipo di radiazioni e pre-trattate con rMnSOD presentano solo piccole frammentazioni nucleari.

Inoltre le cellule sono state identificate con l'anticorpo anti-CD34 (marcatore identificativo delle cellule staminali, fluorescenza in verde) dimostrando la presenza di cellule staminali ematopoietiche nel sangue di cordone ombelicale.

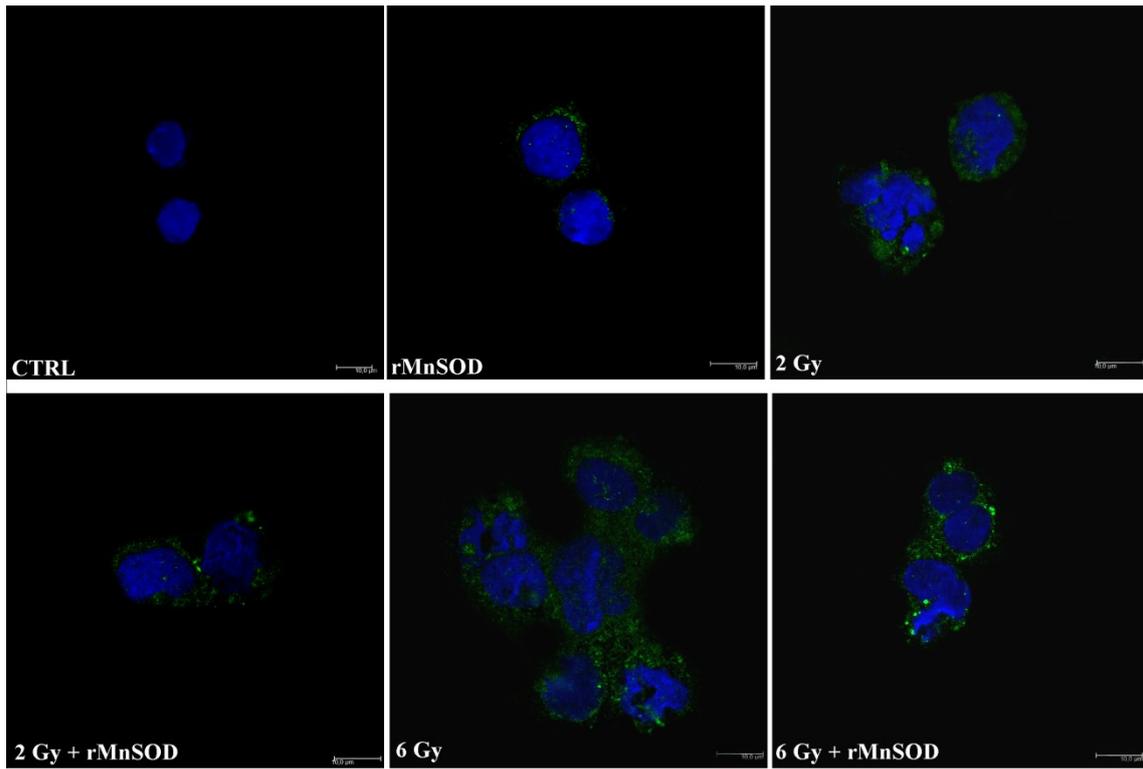


Figura 10. Morfologia delle cellule CD34+. Sono stati utilizzati fluorofori che marcano il nucleo, in blu, ed il citoplasma, in verde. Scale bar: 10 μ m

5. DISCUSSIONE SPERIMENTALE

Le terapie maggiormente utilizzate per il trattamento di tumori in età pediatrica si basano sull'utilizzo di protocolli che prevedono l'impiego di chemio- e radio-terapici con diversi cicli di consolidamento. I pazienti che rispondono alla terapia, sono considerati a basso rischio di recidiva, quelli, invece, che non rispondono alla terapia sono considerati ad alto rischio di recidiva, pertanto, sono trattati con protocolli più complessi e candidati, come ultima possibilità, al trapianto.

Per tale motivo la ricerca sta ponendo l'attenzione sullo studio di farmaci alternativi, detti spesso farmaci "bersaglio", contro specifiche molecole presenti nelle cellule cancerose. Tale approccio consentirebbe di ridurre gli effetti collaterali delle attuali terapie.

La radioterapia rappresenta un componente centrale dei trattamenti oncologici, anche in ambito pediatrico, provocando però effetti collaterali rilevanti sui tessuti sani, che possono anche manifestarsi solo in età adulta. L'approccio terapeutico al paziente pediatrico presenta peculiarità per il fatto che l'organismo del bambino è in evoluzione, attraverso graduali fasi di crescita e di sviluppo di tutte le sue funzioni. Pertanto, il bambino non può essere considerato "un piccolo adulto" ma un essere in continuo cambiamento, che attraversa fasi di crescita, ciascuna con specifiche caratteristiche, fino ad avvicinarsi alle condizioni adulte (Spotti *et al.*, 2006). La fragilità intrinseca dei pazienti pediatrici, maggiormente vulnerabili agli agenti teratogeni poiché organismi in fase di crescita, con tessuti in massiccia proliferazione cellulare, ha spinto la ricerca scientifica ad identificare agenti radioprotettivi, che possano proteggere i tessuti sani dal trattamento.

Alcuni ricercatori hanno studiato l'effetto di dosi molto più elevate di radiazioni, rispetto a quelle utilizzate, su modelli animali e cellulari, per consentire di identificare gli effetti radioprotettivi anche in forte stress cellulare. È stato dimostrato che anche basse dosi di radiazioni ionizzanti producono danni cellulari (rotture a doppio filamento, formazione di radicali liberi, perossidazione lipidica, apoptosi) che sono analoghi, sebbene di entità inferiore, agli effetti dell'esposizione a dosi di radiazioni maggiori. Gli agenti radioprotettivi agiscono aumentando le capacità antiossidanti endogene o agendo come *scavenger* di radicali liberi. Il pre-trattamento di pazienti con agenti radioprotettivi può ridurre il danno al materiale genetico della cellula provocato dalle radiazioni

ionizzanti, riducendo il rischio della cancerogenesi e regolando il ciclo cellulare (Smith *et al.*, 2017).

Gli organismi esposti alle radiazioni ionizzanti sono principalmente danneggiati dai radicali liberi, che sono generati dalla radiolisi dell'acqua contenuta nelle cellule. Borrelli *et al.* (2009) hanno identificato una nuova molecola, la manganese superossido dismutasi prodotta in forma ricombinante (rMnSOD), facilmente somministrabile *in vivo*, che non solo esercita un effetto radioprotettivo sulle cellule e organismi sani, ma è anche radiosensibilizzante per cellule tumorali. Inoltre, animali sani, esposti a dosi letali di radiazioni ionizzanti e sottoposti a iniezioni giornaliere di rMnSOD, erano protetti dai danni della radioterapia e ancora vivi dopo 30 giorni dall'irradiazione.

Con i metodi utilizzati è stato dimostrato che la rMnSOD ha un ruolo radioprotettivo anche sulle cellule staminali ematopoietiche, in particolare, su quelle isolate dal cordone ombelicale. Proteggere le cellule staminali ematopoietiche dall'insulto radioterapico è giustificato dal fatto che, soprattutto in pediatria, sono cellule altamente sensibili, e se danneggiate, possono alterare l'emopoiesi e la funzionalità del midollo osseo. È stato scelto di utilizzare le cellule staminali cordonali per le seguenti ragioni:

- i) la sperimentazione su queste cellule non è associata a problematiche etiche rilevanti;
- ii) sono cellule fenotipicamente simili alle cellule staminali dei pazienti pediatrici;
- iii) possono essere utilizzate per trapianti allogenici, soprattutto in pazienti oncologici pediatrici, che possono andare incontro a recidive ed essere sottoposti a trattamenti radioterapici.

Il possibile utilizzo delle unità di sangue cordonale per la ricerca scientifica invita ancor di più alla donazione di tali campioni in biobanche pubbliche. La donazione, se non corrisponde ai requisiti di qualità per il trapianto, può essere una risorsa importante a fini della ricerca. L'atto del donare diventa un vero atto di solidarietà etico e sociale verso la causa della biobanca e verso le persone che potrebbero usufruire di potenziali benefici.

La rMnSOD, alla concentrazione di 0.5 μM , è in grado di proteggere le cellule staminali cordonali dall'insulto radioterapico, alla dose di 6 Gy totali (frazionati in tre sedute da 2 Gy ciascuna). Tali risultati sono stati confermati dalle osservazioni in microscopia a fluorescenza, attraverso la quale, si evidenziano frammentazioni nucleari e citoplasmatiche evidenti nelle cellule irradiate, significativamente inferiori nelle cellule irradiate e pretrattate con rMnSOD. Inoltre, la capacità antiossidante di questa molecola,

che converte l'anione superossido in acqua ossigenata, inibisce l'accensione dei meccanismi di senescenza, fattore che può indurre la cancerogenesi.

Questi dati suggeriscono che rMnSOD merita di essere considerato uno strumento farmaceutico per aggirare gli effetti collaterali della radioterapia, specialmente in pazienti particolarmente sensibili, come quelli pediatrici.

6. CONCLUSIONI FINALI

La tutela della salute dei giovani dovrebbe essere una priorità per una nazione, ma nonostante i progressi della ricerca scientifica, l'incidenza del cancro in età pediatrica è ancora molto elevata. I dati epidemiologici mostrano che lo sviluppo del cancro infantile è elevato nei paesi industrializzati, nei quali l'alimentazione industriale ha preso il sopravvento nelle abitudini quotidiane. La qualità degli alimenti che vengono introdotti quotidianamente nel regime alimentare si riflette sullo stato di salute dell'organismo: la prevenzione inizia proprio dalle scelte alimentari. Ne consegue dunque l'attuale priorità di migliorare la qualità degli alimenti proposti nelle mense delle scuole e degli ospedali pediatrici, e non solo, che dovrebbero essere dotati di nutrizionisti specializzati.

È evidente, da quanto esposto nel presente lavoro, che la mancata risoluzione a lungo termine delle patologie oncologiche pediatriche sia attribuibile all'approccio terapeutico convenzionale, troppo riduttivo, che si adopera in oncologia: sottoporre i pazienti pediatrici a farmaci chemioterapici e/o radiazioni ionizzanti debella solo momentaneamente la patologia, che si manifesterà molto probabilmente in età adulta, associata agli effetti collaterali secondari, provocati dal trattamento stesso.

La medicina dovrebbe avere, *in primis*, lo scopo di ricercare le cause delle patologie e di fare prevenzione migliorando la qualità della vita del paziente, attraverso l'adozione di uno stile di vita sano. L'integrazione di terapie alternative con i trattamenti convenzionali (oncologia integrata) permette di fornire un'assistenza "multidisciplinare" per la cura del cancro infantile, ma anche adulto. Chiavi di volta dell'oncologia integrata sono appunto l'integrazione e l'uso calibrato e personalizzato di tutte le risorse a disposizione per combattere le malattie oncologiche. Non sarebbe sensato pensare di "mandare in pensione" i chemioterapici, i quali però devono essere integrati con elementi coadiuvanti, come l'ozonoterapia, che sfrutta l'alterato equilibrio ossidativo della massa tumorale, e con sane abitudini alimentari. Parallelamente i farmaci chemioterapici devono essere somministrati in dosi ridotte al fine di ridurre considerevolmente la tossicità. Da qui, il sempre più crescente successo della chemioterapia metronomica, ostacolata dagli interessi commerciali delle ditte farmaceutiche, dovrebbe essere considerato per rivedere i protocolli terapeutici convenzionali, che ancora oggi utilizzano "le bombe chemioterapiche" estremamente dannose. Tuttavia l'interesse per la salute pubblica viene posto in secondo piano rispetto

all'interesse economico delle industrie, legato alla commercializzazione di farmaci e alimenti scadenti e alla rincorsa di incrementi di fatturato. L'industria farmaceutica si ostina a credere che fornendo al paziente un farmaco, il punto difettoso della catena di montaggio (la funzionalità dell'intero organismo) può in teoria venire "riparato" e la salute ripristinata, ignorando, oppure semplicemente celando per interesse economico, la fisica olistica, che rivela l'imponente complessità dell'intercomunicazione tra gli elementi cellulari, che non interagiscono tra loro in maniera lineare, ma come una complessa ragnatela. Questo spiega i tanti effetti collaterali dell'assunzione di un farmaco, che interagisce non con una ma con tantissime molecole della cellula. Dunque le attuali cure oncologiche non costituiscono affatto la soluzione di tutti i problemi.

L'oncologia pediatrica è associata a rilevanti problematiche etiche in quanto raramente i pazienti pediatrici scelgono consapevolmente di sottoporsi ad una terapia, dipendono piuttosto dalle decisioni di un genitore o un tutore. Questi ultimi dovrebbero assicurare al fanciullo la protezione e le cure mediche necessarie al suo benessere, adottando tutti i provvedimenti legislativi ed amministrativi appropriati (*Dichiarazione Universale dei Diritti del Fanciullo*, 1959). La successiva *Convenzione sui diritti del fanciullo* (1989) dichiara che ai diritti degli adulti corrispondono quelli del bambino: i principi dichiarati sono la non discriminazione, la dedizione all'interesse superiore del bambino, il diritto alla vita, alla sopravvivenza e allo sviluppo integrale della sua persona. Ciò che giustifica la necessità di una speciale protezione e garanzia dei diritti dei bambini è proprio la loro assenza di maturità e, di conseguenza, il loro bisogno di aiuto, rendendoli vulnerabili innanzi a innumerevoli rischi o minacce contro la loro dignità. Al fine di tutelare i piccoli pazienti, gran parte degli ospedali pediatrici dell'Unione Europea si attiene alle linee guida indicate nella *Carta di Each* (1993), che pone le basi per un progetto depositato al Parlamento Europeo, con l'obiettivo di diventare una vera e propria Carta Europea dei diritti dei bambini ospedalizzati. La *Carta di Each* riassume gli interventi prioritari per il benessere del bambino, prima e durante il ricovero.

Ogni essere umano è esposto al rischio permanente di subire "ferite" per la propria integrità fisica e mentale. La vulnerabilità è una dimensione inevitabile della vita degli individui e del modellamento delle relazioni umane. Prendere in considerazione la vulnerabilità umana riconosce che l'individuo potrebbe mancare della capacità o dei mezzi di proteggere sé stesso, la propria salute e benessere. Alcuni gruppi di persone possono sempre essere considerati vulnerabili per la loro condizione, come i bambini.

La parola chemioterapia incute un certo disagio perché evoca sofferenze, nausea, paure, bruciori in bocca, allo stomaco, disturbi intestinali, depressione. *“Prima di tutto il cancro non può essere definito come malattia. Almeno non nel senso che generalmente si dà al termine “malattia”, che significa un processo patologico, rapido o lento, reversibile o irreversibile dell’organismo, e non prende in considerazione le cause. Il cancro è la ribellione di una cellula, che moltiplicandosi ne genera milioni, alle leggi che regolano lo sviluppo e la vitalità di un organismo”* (Levi-Montalcini, 2000).

In questa situazione patologica, la figura del medico è destinataria di un fondamentale dovere di garanzia nei confronti del paziente: fra i doveri etici, giuridici e professionali del medico rientra la necessità che la formale acquisizione del consenso non si risolva in uno sbrigativo adempimento, ma sia un’adeguata fase di comunicazione e interazione fra il soggetto in grado di fornire le informazioni necessarie (il medico) ed il soggetto chiamato a compiere la scelta (il paziente). Il rispetto dell’autonomia del paziente, palesato dal documento del consenso informato, è manifestazione chiara di un superamento della concezione paternalistica del rapporto medico-paziente.

Il consenso informato rappresenta *“un principio fondamentale in materia di tutela della salute”, “un diritto genuino della persona”*. Il diritto all’autodeterminazione ed il diritto alla salute rappresentano i diritti costituzionali fondamentali dell’individuo: è pur vero che l’individuo ha il diritto di essere guarito, ma ha anche il diritto di ricevere informazioni adeguate sulla natura e il possibile sviluppo del trattamento al quale sarà sottomesso, così come le possibili terapie alternative (Corte costituzionale, 2008).

Per quanto concerne il fondamento normativo del consenso informato, si è constatato che esso ha avuto origine giurisprudenziale, per poi trovare un riconoscimento normativo nel diritto nazionale e internazionale. A livello europeo, l’esigenza di tutelare i diritti dei pazienti in ambito biomedico ha trovato espressione nella *Convenzione di Oviedo*, che sancisce l’abbandono della concezione paternalistica della relazione terapeutica e stabilisce che un intervento nel campo della salute non può essere effettuato se non dopo che la persona interessata abbia prestato il proprio consenso *“libero e informato”* (art. 5).

Una volta abbandonata la visione unilaterale paternalistica della relazione paziente-medico, ci si è orientati verso giurisprudenza e commissioni costituzionali responsabili per lo sviluppo di scelte terapeutiche, come uno sviluppo di un processo dialettico tra il paziente e il medico (Chieffi, 2013).

La manifestazione del consenso a trattamenti terapeutici deve essere preceduta da una esaustiva e corretta informazione, trasmessa con un linguaggio comprensibile, riguardante lo stato della malattia (diagnosi), la previsione sul decorso e sull'esito di un determinato quadro clinico (prognosi), le alternative diagnostico-terapeutiche, le modalità di esecuzione e le prospettive dell'intervento proposto, i rischi prevedibili, le conseguenze sulla vita futura. Inoltre, il rifiuto consapevole del paziente al trattamento medico non iniziato non può mai essere acquisito passivamente; al contrario, considerata la gravità e spesso l'irreversibilità, delle conseguenze di un rifiuto alle cure, è necessaria un'attenta analisi circa l'attendibilità e consapevolezza della decisione del paziente. Da ciò deriva che il medico deve sempre elaborare una duplice consapevolezza: da una parte, quella per cui ogni forma di accanimento clinico si configura come illecita; dall'altra, quella per cui l'affermata "parità" fra medico e paziente può peccare di un eccesso di astrazione, ponendo in ombra le difficoltà, le incertezze, le fragilità di chi vive in prima persona l'esperienza della malattia. Ciò non significa tornare ad una posizione che enfatizza l'asimmetria di sapere fra medico e paziente: il medico ha il ruolo di far comprendere al paziente, anche in tempi differenti, le conseguenze della sua decisione (Comitato Nazionale per la Bioetica, 2008).

Nel panorama europeo, il tema del consenso informato appare variegato, soprattutto per quanto riguarda il concetto di "maggioranza dell'età sanitaria", età alla quale il minore può esprimere il suo consenso libero e informato indipendentemente dai genitori. Inoltre l'eterogeneità delle forme di tutela da presentare al paziente, riguardanti il diritto a ricevere un'informazione adeguata e a prestare consapevolmente la propria adesione al trattamento proposto, rivela la necessità di un intervento normativo di matrice europea, volto ad armonizzare e uniformare le singole discipline nazionali.

BIBLIOGRAFIA

- Abd-Allah AR, Al-Majed AA, Al-Yahya AA, Fouda SI, Al-Shabana OA. L-Carnitine halts apoptosis and myelosuppression induced by carboplatin in rat bone marrow cell cultures (BMC). *Arch Toxicol.* 2005;79(7):406-13
- Action Study Group. Catastrophic health expenditure and 12-month mortality associated with cancer in Southeast Asia: results from a longitudinal study in eight countries. *BMC Med.* 2015;13(1):190
- Agón López JG. Consentimiento informado y responsabilidad médica. La Ley, 2017
- Alahmad G. Informed Consent in Pediatric Oncology: A Systematic Review of Qualitative Literature. *Cancer Control.* 2018;25(1):1073274818773720
- Alemany M. El paternalismo médico. In: Gascón Abellán M, del Carmen González Carrasco M, Cantero Martínez J. Derecho sanitario y bioética cuestiones actuales. Editorial Tirant lo Blanch. 2011
- Alpha-Tocopherol, Beta Carotene Cancer Prevention Study Group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. *N Engl J Med.* 1994;330(15):1029-35
- Alzen G, Benz-Bohm G. Radiation protection in pediatric radiology. *Dtsch Arztebl Int.* 2011;108(24):407-14
- American Cancer Society. Late Effects of Childhood Cancer Treatment. 2017
- American Cancer Society. Chemotherapy Side Effects. 2019
- Amo Usanos R. Los bancos de sangre de cordón umbilical: aspectos biomédicos y bioéticos. *Cuad. Bioét.* 2009;20(2):231-40
- Amodio P. Il minore come soggetto e l'alleanza terapeutica. Alcune note di discussione. In: Bioetica e Cura. L'alleanza terapeutica oggi. A cura di Chieffi L, Postigliola A. Mimesis. 2014
- Anderson LM, Diwan BA, Fear NT, Roman E. Critical windows of exposure for children's health: cancer in human epidemiological studies and neoplasms in experimental animal models. *Environ Health Perspect.* 2000;108 Suppl 3:573-94
- Andrews RG, Singer JW, Bernstein ID. Monoclonal antibody 12.8 recognises a 115- kD molecule present on both unipotent and multipotent hematopoietic colony forming cells and their precursors. *Blood.* 1996;67:842-847

- Appelbaum PS, Grisso T. The MacArthur Competence Assessment Tool for Clinical Research (MacCAT-CR). Sarasota: Professional Resource Press. 2001
- Attademo G. Una fiducia che guarda al futuro. Le cellule staminali del cordone ombelicale tra scienza, bioetica e società. Lithos Editrice. 2017
- Attard-Montalto S. Ethical issues in paediatric practice - part I: general principles. *Images Paediatr Cardiol.* 2001;3(4):1-3
- Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale “Santobono-Pausilipon”. La Carta dei Servizi 2018-2020. Ufficio Relazioni con il Pubblico. 2018
- Babl FE, Oakley E, Seaman C, Barnett P, Sharwood LN. High-concentration nitrous oxide for procedural sedation in children: adverse events and depth of sedation. *Pediatrics.* 2008;121(3):e528-32
- Ballen K, Broxmeyer HE, McCullough J, Piaciabello W, Rebullia P, Verfaillie CM, Wagner JE. Current status of cord blood banking and transplantation in the United States and Europe. *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* 2001;7(12), 635–645
- Barranco Vela R. La protección y los derechos de los menores extranjeros e inmigrantes. Editorial Comares. 2009
- Basford C, Forraz N, Habibollah S, Hanger K, McGuckin CP. Umbilical cord blood processing using Prepacyte-CB increases haematopoietic progenitor cell availability over conventional Hetastarch separation. *Cell Prolif.* 2009;42(6):751-61
- Beauchamp TL, McCullough LB. Medical ethics: The moral responsibilities of physicians. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. 1984
- Beauchamp TL, Childress JF. Principles of Biomedical Ethics. Oxford University Press. 2001
- Beherend L, Henderson G, Zwacka RM. Reactive oxygen species in oncogenic transformation. *Biochem Soc Trans.* 2003;31(Pt 6):1441-4
- Beltrame L. The Bio-Objectification of Umbilical Cord Blood: Socio-Economic and Epistemic Implications of Biobanking. *Tecnoscienza Italian Journal of Science & Technology Studies.* 2014;5(1):67-90
- Beltrame L. Anchoring hopes in a regime of truth. The legitimizing use of cord blood-derived products in Italy. *New Genetics and Society.* 2019

- Beltrán Aguirre JL. Derechos de los menores de edad en el ámbito sanitario. In: Palomar Olmeda A., Cantero Martínez J. Tratado de Derecho Sanitario. Navarra: Thomson Reuters, Aranzadi. Editorial Aranzadi. 2013
- Benini S. Attimi di raggiungibilità: l'occasione di un incontro. La cura del corpo nella pratica assistenziale. In: Voci del Corpo. Prospettive pedagogiche e didattiche. La Nuova Italia. 2002
- Benini F. Presentazione delle Linee Guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per il controllo del cancro e cure palliative. Il dolore del bambino: si può e si deve combattere. Giornata di aggiornamento professionale 27 Maggio 2000 A cura di Pozella A, Pierucci I, Di Vita G. Presidio Ospedaliero dell'Immacolata di Sapri (SA) – A.S.L. SA/3
- Bhartiya D, Shaikh A, Nagvenkar P, Kasiviswanathan S, Pethe P, Pawani H, Mohanty S, Rao SG, Zaveri K, Hinduja I. Very small embryonic-like stem cells with maximum regenerative potential get discarded during cord blood banking and bone marrow processing for autologous stem cell therapy. *Stem Cells Dev.* 2012;21(1):1-6
- Bianchi M, Giannantonio C, Spartano S, Fioretti M, Landini A, Molisso A, Tesfagabir GM, Tornesello A, Barbagallo O, Valentini CG, Vento G, Zini G, Romagnoli C, Papacci P, Teofili L. Allogeneic umbilical cord blood red cell concentrates: an innovative blood product for transfusion therapy of preterm infants. *Neonatology.* 2015;107(2):81-6
- Bingen K, Hoag JA. Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Psychosocial Assessment and Care. In: Abrams AN and Muriel AC. *Pediatric Psychosocial Oncology: Textbook for Multidisciplinary Care.* Lori Wiener Editors. Springer International Publishing Switzerland. 2016
- Birnbaum LS, Fenton SE. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ Health Perspect.* 2003;111(4):389-94
- Borrego A, Zamora ZB, González R, Romay C, Menéndez S, Hernández F, Montero T, Rojas E. Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Mediators Inflamm.* 2004;13(1):13-9
- Borrelli A, Schiattarella A, Mancini R, Morrica B, Cerciello V, Mormile M, d'Alesio V, Bottalico L, Morelli F, D'Armiento M, D'Armiento FP, Mancini

- A. A recombinant MnSOD is radioprotective for normal cells and radiosensitizing for tumor cells. *Free Radic Biol Med.* 2009;46,110–116
- Bradman A, Barr DB, Claus Henn BG, Drumheller T, Curry C, Eskenazi B. Measurement of pesticides and other toxicants in amniotic fluid as a potential biomarker of prenatal exposure: a validation study. *Environ Health Perspect.* 2003;111(14):1779-82
 - Brand M, Sommer M, Ellmann S, Wuest W, May MS, Eller A, Vogt S, Lell MM, Kuefner MA, Uder M. Influence of Different Antioxidants on X-Ray Induced DNA Double-Strand Breaks (DSBs) Using γ -H2AX Immunofluorescence Microscopy in a Preliminary Study. *PLoS One.* 2015;10(5):e0127142
 - Brenner AV, Tronko MD, Hatch M, Bogdanova TI, Oliynik VA, Lubin JH, Zablotska LB, Tereschenko VP, McConnell RJ, Zamotaeva GA, O’Kane P, Bouville AC, Chaykovskaya LV, Greenebaum E, Paster IP, Shpak VM, Ron E. I-131 dose response, for incident thyroid cancers in Ukraine related to the Chernobyl accident. *Environ Health Perspect.* 2011;119(7):933-9
 - Brown N, Williams R. Cord blood banking - bio-objects on the borderlands between community and immunity. *Life Sci Soc Policy.* 2015;11:11
 - Buckley RH, Lucas ZJ, Hattler BG Jr, Zmijewski CM, Amos DB. Defective cellular immunity associated with chronic mucocutaneous moniliasis and recurrent staphylococcal botryomycosis: immunological reconstitution by allogeneic bone marrow. *Clin Exp Immunol.* 1968;3(2):153-69
 - Cadenas Osuna D. El consentimiento informado y la responsabilidad médica. *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado.* 2018.
 - Callahan R, Darzi A. Five policy levers to meet the value challenge in cancer care. *Health Aff.* 2015;34(9):1563–1568
 - Callipari N. Il consenso informato nel contratto di assistenza sanitaria. *Giuffrè.* 2012
 - Campbell CT, Campbell TM. *The China Study.* Macro Edizioni. 2011
 - Caporale M. Sui diritti dell’infanzia e la libertà che comincia. *Scienza e Filosofia.* 2014,11
 - Cardaci M. Spunti di riflessione in merito alla legge 22 dicembre 2017 n. 219. *Bioetica News Torino.* 2018;14

- Carlo Stella C, Mangoni L, Piovani G, Garau D, Almici C, Rizzoli V. Identification of Philadelphia-negative granulocyte-macrophage colony-forming units generated by stroma-adherent cells from chronic myelogenous leukemia patients. *Blood*. 1994;83:1373-1380
- Carpenter DO, Bushkin-Bedient S. Exposure to chemicals and radiation during childhood and risk for cancer later in life. *J Adolesc Health*. 2013;52 (5 Suppl): S21-9
- Casado-Blanco M, Ibáñez-Bernáldez M. Controversias legales y éticas respecto a la sangre del cordón umbilical. *MÉD UIS*. 2015;28(1):99-108
- Casonato C. Il consenso informato. *Profili di diritto comparato. Diritto Pubblico Comparato ed Europeo*. 2009;3:1052-1073
- Cattorini P, Mordacci R, Reichlin M. Introduzione allo studio della Bioetica, Europa Scienze Umane. Milano. 1996
- Cavicchio C, Benedusi M, Pambianchi E, Pecorelli A, Cervellati F, Savelli V, Calamandrei D, Maellaro E, Rispoli G, Maioli E, Valacchi G. Potassium Ascorbate with Ribose: Promising Therapeutic Approach for Melanoma Treatment. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:4256519
- Centro Nazionale Trapianti. Cellule Staminali Emopoietiche. Domande e risposte. 2018
- Ceylan C, Kantar M, Tuna A, Ertam I, Aksoylar S, Günaydın A, Çetingül N. Cutaneous side effects of chemotherapy in pediatric oncology patients. *Cutis*. 2015;95(1):11-6
- Chen JH, Hales CN, Ozanne SE. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: causal or correlative? *Nucleic Acids Res*. 2007;35(22):7417-28
- Chen QM. Replicative senescence and oxidant-induced premature senescence. Beyond the control of cell cycle checkpoints. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000;908:111-25
- Chieffi L. Trattamenti immunitari e rispetto della persona. *Politica del diritto*. Il Mulino – Rivisteweb. 1997;4:591-626
- Chieffi L. Areas of constitutional protection and development of interpretation of the right of the patient to the government of his own body. In: *Interuniversity*

Center for Bioethics Research. Bioethical issues by the Interuniversity Center for Bioethics Research C.I.R.B. Editoriale Scientifica. 2013

- Chieffi L. Libertà e cura e divieto di accanimento terapeutico. In: Bioetica e Cura. L'alleanza terapeutica oggi. A cura di Chieffi L., Postigliola A. Mimesis. 2014
- Clapham A, Marks S. Lessico dei diritti umani. Vita e Pensiero. 2009
- Clavo B, Santana-Rodríguez N, Llontop P, Gutiérrez D, Suárez G, López L, Rovira G, Martínez-Sánchez G, González E, Jorge IJ, Perera C, Blanco J, Rodríguez-Esparragón F. Ozone Therapy as Adjuvant for Cancer Treatment: Is Further Research Warranted? Evid Based Complement Alternat Med. 2018;2018:7931849
- Clemmons DR. Metabolic actions of insulin-like growth factor-I in normal physiology and diabetes. Endocrinol Metab Clin North Am. 2012;41(2):425-43,vii-viii
- Coleman DL, Rosoff PM. The legal authority of mature minors to consent to general medical treatment. Pediatrics. 2013;131(4):786-93
- Collins JJ, Byrnes ME, Dunkel IJ, Lapin J, Nadel T, Thaler HT, Polyak T, Rapkin B, Portenoy RK. The Memorial Symptom Assessment Scale (MSAS): validation study in children aged 10–18. J Pain Symptom Manage 2000;19:363-77
- Contiero P, Berrino F, Tagliabue G, Mastroianni A, Di Mauro MG, Fabiano S, Annulli M, Muti P. Fasting blood glucose and long-term prognosis of non-metastatic breast cancer: a cohort study. Breast Cancer Res Treat. 2013;138(3):951-9
- Contu L. Il Dibattito sul Sangue del Cordone Ombelicale: a chi e a che cosa serve la conservazione privata del sangue cordonale. Federazione Italiana ADOCES. 2011
- Corcoy Bidasolo M. Libertad de terapia versus consentimiento. In: Casado M. Bioética, Derecho y sociedad. Trotta. 1998
- Cowie F. Radiotherapy. In: Robert Carachi R, Grosfeld JL. The Surgery of Childhood Tumors. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2016

- Cramer DW, Harlow BL, Willett WC, Welch WR, Bell DA, Scully RE, Ng WG, Knapp RC. Galactose consumption and metabolism in relation to the risk of ovarian cancer. *Lancet*. 1989;2(8654):66-71
- Cricenti G. ¿Existe un derecho al suministro de medicamentos de eficacia no comprobada? In: Adorno R, Ivone V. *Casos De Bioética y Derecho*. G. Giappichelli editore. Tirant lo blanch. 2015
- Crisci A. Tratamiento médico en contra de la voluntad del paciente. In: Adorno R, Ivone V. *Casos De Bioética y Derecho*. Giappichelli editore. 2015
- D'Adda di Fagagna F, Reaper PM, Clay-Farrace L, Fiegler H, Carr P, Von Zglinicki T, Saretzki G, Carter NP, Jackson SP. A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature* 2003;426:194-8
- D'Antuono E, Tagliatela E. La trama filosofica della Dichiarazione universale sulla Bioetica e i diritti umani: autonomia, dignità, vulnerabilità. Laboratorio dell'ISPF. 2017, XIV (15)
- Das B, Antoon R, Tsuchida R, Lotfi S, Morozova O, Farhat W, Malkin D, Koren G, Yeger H, Baruchel S. Squalene selectively protects mouse bone marrow progenitors against cisplatin and carboplatin-induced cytotoxicity *in vivo* without protecting tumor growth. *Neoplasia*. 2008;10(10):1105-19
- Davies KJ, Lin SW, Pacifici RE. Protein damage and degradation by oxygen radicals. IV. Degradation of denatured protein. *J Biol Chem*. 1987;262(20):9914-20
- De Cózar A. Madrid y Andalucía quieren autorizar los bancos privados de cordón umbilical. *El País*. 2006
- De Lora P. Autonomía personal, intervención médica y sujetos incapaces. *Enrahonar*. 2008;40/41:123-140
- de los Reyes López M, Sánchez Jacob M. *Bioética y pediatría: proyectos de vida plena*. Ergón Creación. S.A. Sociedad de Pediatría de Madrid y castilla – La Mancha. 2010
- De Miguel Beriain I. El derecho a la investigación biomédica. Intereses en conflicto. In: Junquesra De Estéfani R, Javier De la Torre Díaz F. *Dilemas bioéticos actuales: investigación biomédica, principio y final de la vida*. UNED. 2012

- de Montalvo Jääskeläinen F. La ley de investigación biomédica: una aproximación crítica a algunos aspectos relacionados con la investigación. In: Junquesra De Estéfani R, Javier De la Torre Díaz F. Dilemas bioéticos actuales: investigación biomédica, principio y final de la vida. UNED. 2012
- de Montalvo Jääskeläinen F. La capacidad del menor en el ámbito del tratamiento médico: problemas de autonomía e intimidad. Revista Española Endocrinología Pediátrica. 2016;7, 6-11
- de Montalvo Jääskeläinen F. Menores de edad y consentimiento informado. Editorial Tirant lo Blanch. 2019
- Diaz-Rossello JL. Cord Clamping for Stem Cell Donation: Medical Facts and Ethics. NeoReviews. 2006;7(11), 557-63
- Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, Medrano EE, Linskens M, Rubelj I, Pereira-Smith O, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1995;92(20):9363-7
- Durán Ruiz FJ. La necesaria intervención de las administraciones públicas para la preservación del derecho fundamental a la protección de datos de los menores de edad. I Congreso sobre retos sociales y jurídicos para los menores y jóvenes del siglo XXI. 2013
- Durán Ruiz FJ. Desafíos de la protección de menores en la sociedad digital. Tirant lo Blanch. 2018
- Dworking G. Paternalism. In: Wasserstrom RA. Morality and the Law. Wadsworth Pub. Co. Belmont. 1971
- Ewald JA, Desotelle JA, Wilding G, Jarrard DF. Therapy-induced senescence in cancer. J Natl Cancer Inst. 2010;102(20):1536-46
- Fallat ME, Hutter J; American Academy of Pediatrics Committee on Bioethics; American Academy of Pediatrics Section on Hematology/Oncology; American Academy of Pediatrics Section on Surgery. Preservation of fertility in pediatric and adolescent patients with cancer. Pediatrics. 2008;121(5):e1461-9
- Felletti S. Cancro? Si guarisce ma solo così. Youcanprint. 2017
- Ferguson VL, Dodson RB. Bioengineering aspects of the umbilical cord. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2009;44(1):S108-13

- Fernández Cortizo MJ, Serrano Castro MA, de Andrés-Trelles F. El reglamento Europeo sobre medicamentos de uso pediátrico: una iniciativa para estimular la investigación útil en niños. In: de los Reyes López M, Sánchez Jacob M. Bioética y pediatría: proyectos de vida plena. Ergón Creación, S.A. Sociedad de Pediatría de Madrid y castilla – La Mancha. 2010
- Feudtner C, Carroll K, Hexam K, Silberman J, Kang T, Kazak A. Parental hopeful patterns of thinking, emotions, and palliative care decision-making. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*. 2010;164:831–839
- Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy (FACT), International Netcord Foundation. NetCord-FACT International Standards for Cord Blood Collection, Banking, and Release for Administration. 2010
- Galán Cortés JC. Consentimiento Informado. In: Gascón Abellán M, del Carmen González Carrasco M, Cantero Martínez J. Derecho sanitario y bioética cuestiones actuales. Editorial Tirant lo Blanch. 2011
- Galán Cortés JC. Responsabilidad Civil Medica. Civitas. 2016
- Garrafa V, Amorim K, Garcia T, Manchola C. Bioética e vigilância sanitária, Sanitary surveillance and bioethics. *R. Dir. sanit., São Paulo*. 2017;18(1):121-139
- Gascón Abellán M, del Carmen González Carrasco M, Cantero Martínez J. Derecho sanitario y bioética cuestiones actuales. Editorial Tirant lo Blanch. 2011
- Georgiou KR, Foster BK, Xian CJ. Damage and recovery of the bone marrow microenvironment induced by cancer chemotherapy - potential regulatory role of chemokine CXCL12/receptor CXCR4 signalling. *Curr Mol Med*. 2010;10(5):440-53
- Gewirtz DA. Autophagy, senescence and tumor dormancy in cancer therapy. *Autophagy*. 2009;5(8):1232-4
- Gibson E, Monje M. Effect of cancer therapy on neural stem cells: implications for cognitive function. *Curr Opin Oncol*. 2012;24(6):672-8
- Ginsberg GL. Assessing cancer risks from short-term exposures in children. *Risk Anal*. 2003;23(1):19-34
- Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, Esperou H, Thierry D, Socie G, Lehn P, Cooper S, English D,

- Kurtzberg J, Bard J and Boyse EA. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*, 1989; 321(17):1174-8
- Goldie JH, Coldman AJ. A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumours to their spontaneous mutation rate. *Cancer Treat Rep*. 1979;63:1727
 - Gómez Rivero C. La responsabilidad penal del médico. Tirant lo Blanch. 2008
 - Gómez Y. Menores e investigación biomedica. Dykinson. 2018
 - Gracia Guillén D. Bioética y Pediatría. In: de los Reyes López M, Sánchez Jacob M. Bioética y pediatría: proyectos de vida plena. Ergón Creación, S.A. Sociedad de Pediatría de Madrid y castilla – La Mancha. 2010
 - Green DE, Rubin CT. Consequences of irradiation on bone and marrow phenotypes, and its relation to disruption of hematopoietic precursors. *Bone*. 2014;63:87-94
 - Gregoriou Z, Papastephanou M. The utopianism of John Locke's natural learning. *Ethics and Education*. 2013;8:1,18-30
 - Grodin MA, Glantz LH. Children as Research Subjects. Science, Ethics & Law. Oxford University Press. 1994
 - Grootens-Wiegers P, Hein IM, van den Broek JM, de Vries MC. Medical decision-making in children and adolescents: developmental and neuroscientific aspects. *BMC Pediatr*. 2017;17(1):120
 - Guilcher GMT. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Children and Adolescents. *Pediatrics in Review* . 2016;37(4):135-145
 - Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74
 - Hassanein SM, Amer HA, Shehab AA, Hellal MM. Umbilical cord blood CD45(+)CD34(+) cells coexpression in preterm and full-term neonates: a pilot study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(2):229-33
 - Hauskeller C, Beltrame L. The Hybrid Bioeconomy of Umbilical Cord Blood Banking: Re-Examining the Narrative of Opposition Between Public and Private Services. *BioSocieties*. 2016;11(4):415–434
 - Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1965;37:614– 36

- Heikens J, Behrendt H, Adriaanse R, Berghout A. Irreversible gonadal damage in male survivors of pediatric Hodgkin's disease. *Cancer*. 1996;78(9):2020-4
- Hein IM, Troost PW, Lindeboom R. Accuracy of MacArthur Competence Assessment Tool for measuring children's competence to consent to clinical research. *JAMA Pediatr*. 2014;12(168):1147-53
- Hénaff M. *La prix de la Vérité. Le Don, l'Argent, la Philosophie*. Seuil. 2002
- Hernández L, Terradas M, Camps J, Martín M, Tusell L, Genescà A. Aging and radiation: bad companions. *Aging Cell*. 2015;14(2):153-61
- Hinds PS, Hockenberry-Eaton M, Gilger E, Kline N, Burleson C, Bottomley S, Quargnenti A. Comparing patient, parent, and staff descriptions of fatigue in pediatric oncology patients. *Cancer Nurs*. 1999;22(4):277-88
- Hoerni B, Bouscharain JP. Teyssier before the Supreme Court in January 28, 1942. *Hist Sci Med*. 2001;35(3):299-304
- Holcombe RF. The ethics of marketing cancer. *Journal of Cancer Policy*. 2015;3:1-2
- Holley AK, Miao L, St Clair DK, St Clair WH. Redox-modulated phenomena and radiation therapy: the central role of superoxide dismutases. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(10):1567-89
- Iannotta A, D'Angelo V, Pica A, Manca R, Di Massa L, Tirino V, Di Martino M, Pota E, Di Pinto D, Perrotta S, Rossi F, Indolfi P, Casale F. Studio morfologico in "time-lapse imaging" e molecolare della curcumina sul metabolismo dei ROS nelle leucemie linfoblastiche acute dell'età pediatrica. *Hematology Reports*. 2018, 10(1): 53-54
- Incorvati G. Due diritti di autodeterminazione in Bioetica. In: *Bioetica e Cura. L'alleanza terapeutica oggi*. A cura di Chieffi L, Postigliola A. Mimesis. 2014
- Ioannis P, Stephanou A, Yiallouris A. Graviola: A Systematic Review on Its Anticancer Properties. *American Journal of Cancer Prevention*. 2015;3(6),128-131
- Ishikawa K, Takenaga K, Akimoto M, Koshikawa N, Yamaguchi A, Imanishi H, Nakada K, Honma Y, Hayashi J. ROS-generating mitochondrial DNA mutations can regulate tumor cell metastasis. *Science*. 2008;320(5876):661-4
- Jacobson LO. Evidence for a humoral factor (or factors) concerned in recovery from radiation injury: a review. *Cancer Res*. 1952;12(5):315-25

- Jericó Ojer L. Consentimiento informado, actuación médica y derecho penal. In: Alenza García JF, Arcos Vieira ML. Nuevas perspectivas jurídico-éticas en Derecho sanitario. Editorial Aranzadi. 2013
- Kandula T, Park SB, Cohn RJ, Krishnan AV, Farrar MA. Pediatric chemotherapy induced peripheral neuropathy: A systematic review of current knowledge. *Cancer Treat Rev.* 2016;50:118-128
- Kanisza S, Dosso B. La paura del lupo cattivo. Quando un bambino è in ospedale. Meltemi. 1998
- Katz G, Mills A. Cord blood banking in France: reorganising the national network. *Transfus Apher Sci.* 2010;42(3):307-16
- Kazak AE, Noll RB. The integration of psychology in pediatric oncology research and practice: collaboration to improve care and outcomes for children and families. *Am Psychol.* 2015;70(2):146-58
- Khandelwal P, Millard HR, Thiel E, Abdel-Azim H, Abraham AA, Auletta JJ, Boulad F, Brown VI, Camitta BM, Chan KW, Chaudhury S, Cowan MJ, Angel-Diaz M, Gadalla SM, Gale RP, Hale G, Kasow KA, Keating AK, Kitko CL, MacMillan ML, Olsson RF, Page KM, Seber A, Smith AR, Warwick AB, Wirk B, Mehta PA. Hematopoietic Stem Cell Transplantation Activity in Pediatric Cancer between 2008 and 2014 in the United States: A Center for International Blood and Marrow Transplant Research Report. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2017;23(8):1342-1349
- Klaunig JE, Wang Z. Oxidative stress in carcinogenesis. *Current Opinion in Toxicology.* 2018;7, 116–121
- Knudtzon S. In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood.* 1974;43: 357-361
- Kodish E, Eder M, Noll RB, Ruccione K, Lange B, Angiolillo A, Drotar D. Communication of randomization in childhood leukemia trials. *JAMA: Journal of the American Medical Association.* 2004;291:470–475
- Kroenke CH, Kwan ML, Sweeney C, Castillo A, Caan BJ. High- and low-fat dairy intake, recurrence, and mortality after breast cancer diagnosis. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(9):616-23

- Kuefner MA, Brand M, Ehrlich J, Braga L, Uder M, Semelka RC. Effect of antioxidants on X-ray-induced γ -H2AX foci in human blood lymphocytes: preliminary observations. *Radiology*. 2012;264(1):59-67
- Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Peeper DS. The essence of senescence. *Genes & Development*. 2010;24:2463-79
- Lanza F, Bi S, Castoldi GL, Goldman JM. Abnormal expression of N-CAM (CD56) adhesion molecule on myeloid and progenitor cells from Chronic Myeloid leukemia. *Leukemia*. 1993;7:1570-5
- Larasati YA, Yoneda-Kato N, Nakamae I, Yokoyama T, Meiyanto E, Kato JY. Curcumin targets multiple enzymes involved in the ROS metabolic pathway to suppress tumor cell growth. *Sci Rep*. 2018;8(1):2039
- Larios Risco D. Régimen Jurídico de la utilización terapéutica de la sangre del cordón umbilical. In: Gascón Abellán M, del Carmen González Carrasco M, Cantero Martínez J. *Derecho sanitario y bioética cuestiones actuales*. Editorial Tirant lo Blanch. 2011
- Leanza V, Genovese F, Marilli I, Carbonaro A, Vizzini S, Leanza G, Pafumi C. Umbilical Cord Blood Collection: Ethical Aspects. *Gynecol Obstet*. 2012; 2:121
- Lepola P, Needham A, Mendum J, Sallabank P, Neubauer D, de Wildt S. Informed consent for paediatric clinical trials in Europe. *Arch Dis Child*. 2016;101(11):1017-1025
- Levi-Montalcini R. Lettera da S. Louis del 10 Marzo 1951. *Cantico di una vita*. Raffaello Cortina Ed., 2000
- Li M, You L, Xue J, Lu Y. Ionizing Radiation-Induced Cellular Senescence in Normal, Non-transformed Cells and the Involved DNA Damage Response: A Mini Review. *Front Pharmacol*. 2018;9:522
- Lipton B. *La biologia delle credenze*. Macro Edizioni. 2006
- Locke J. *Saggio sull'intelletto Umano – Classici della filosofia*. A cura di Abbagnano N. UTET. 2013
- Lösch S, Moghaddam N, Grossschmidt K, Risser DU, Kanz F. Stable isotope and trace element studies on gladiators and contemporary Romans from Ephesus (Turkey, 2nd and 3rd Ct. AD) implications for differences in diet. *PLoS One*. 2014;9(10):e110489

- Lu W, Chen H, Niu Y, Wu H, Xia D, Wu Y. Dairy products intake and cancer mortality risk: a meta-analysis of 11 population-based cohort studies. *Nutr J*. 2016;15(1):91
- Madden K, Moore JA, Zweidler-McKay P. Ethical Issues for Children With Cancer. In: *Ethical Challenges in Oncology. Patient Care, Research, Education, and Economics*. Edited by Gallagher C and Ewer M. 2017
- Malarkey DE, Hoenerhoffl M, Maronpot RR. Carcinogenesis: Mechanisms and Manifestations. In: *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. Elsevier. 2013
- Mancini A, Borrelli A, Schiattarella A, Aloj L, Aurilio M, Morelli F, Pica A, Occhiello A, Lorizio R, Mancini R, Sica A, Mazzeolla L, Sica F, Grieco P, Novellino E, Pagnozzi D, Pucci P, Rommelaere J. Biophysical and biochemical characterization of a liposarcoma-derived recombinant MnSOD protein acting as an anticancer agent. *Int J Cancer*. 2008;123(11):2684-95
- Mancini A, Borrelli A, Schiattarella A, Fasano S, Occhiello A, Pica A, Sehr P, Tommasino M, Nüesch JP, Rommelaere J. Tumor suppressive activity of a variant isoform of manganese superoxide dismutase released by a human liposarcoma cell line. *Int J Cancer*. 2006;119(4):932-43
- Mancuso S, Perillo A. *Cellule staminali: dalla biologia alle terapie cellulari*. Poletto Editore. 2007
- Martin P, Brown N, Turner A. Capitalizing Hope: The Commercial Development of Umbilical Cord Blood Stem Cell Banking. *New Genetics and Society*. 2008;27(2):127–143
- Marzocco V. Scienza medica e diritti individuali. La genesi del consenso alle cure the medical ethics e prassi giurisprudenziale. In: *Bioetica e Cura. L'alleanza terapeutica oggi*. A cura di Chieffi L, Postigliola A. Mimesis. 2014
- Mastrangelo D, Loré C, Grasso G. The Epigenetic Origin of Retinoblastoma *European Ophthalmic Review*. 2012;6(2):130–5
- Mauch P, Constine L, Greenberger J, Knospe W, Sullivan J, Liesveld JL, Deeg HJ. Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1995;31(5):1319-39
- Mauss M. *Essai sur le Don. Forme et Raison de l'Échange dans les Sociétés Archaïques*. Presses Universitaires de France. 2001

- Mayne ST, Playdon MC, Rock CL. Diet, nutrition, and cancer: past, present and future. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(8):504-15
- Meadows AT. Paediatric update: second tumours. *Eur J Cancer*. 2001;37:2074–81
- Mell LK, Movsas B. Pharmacologic normal tissue protection in clinical radiation oncology: focus on amifostine. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2008;4(10):1341-50
- Mills KL, Lalonde F, Clasen LS, Giedd JN, Blakemore SJ. Developmental changes in the structure of the social brain in late childhood and adolescence. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2014;9(1):123-31
- Moise KJ. Umbilical cord stem cells. *Obstetrics and Gynecology*. 2005;106(6), 1393–1407
- Monaco RF, Bottari F. Tutela della salute tra garanzie degli utenti ed esigenze di Bizancio. Maggioli Editore. 2012
- Muckaden M, Dighe M, Balaji P, Dhiliwal S, Tilve P, Jadhav S, Goswami S. Paediatric palliative care: theory to practice. *Indian J Palliat Care*. 2011;17(Suppl):S52-60
- Nakamura T, Nakai K, Matsumura T, Suzuki S, Saito Y, Satoh H. Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord blood from residents of Tohoku, Japan. *Sci Total Environ*. 2008;394(1):39-51
- Naldini L. Genetic engineering of hematopoiesis: current stage of clinical translation and future perspectives. *EMBO Mol Med*. 2019;11(3):e9958
- Nguyen MH, Pham ND, Dong B, Nguyen TH, Bui CB, Hadinoto K. Radioprotective activity of curcumin-encapsulated liposomes against genotoxicity caused by Gamma Cobalt-60 irradiation in human blood cells. *Int J Radiat Biol*. 2017; 93(11):1267-1273
- Ogilvy-Stuart AL, Shalet SM. Effect of radiation on the human reproductive system. *Environ Health Perspect*. 1993;101 Suppl 2:109-16
- Oliva Blázquez F. El menor maduro ante el derecho. *EIDON*. 2014;41:28-52
- Orgel E, Genkinger JM, Aggarwal D, Sung L, Nieder M, Ladas EJ. Association of body mass index and survival in pediatric leukemia: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2016;103(3):808-17

- Orjuela MA, Titievsky L, Liu X, Ramirez-Ortiz M, Ponce-Castaneda V, Lecona E, Molina E, Beaverson K, Abramson DH, Mueller NE. Fruit and vegetable intake during pregnancy and risk for development of sporadic retinoblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(6):1433-40
- Osler W. *Un Estilo de Vida y otros discursos, con comentarios y anotaciones.* Unión Editorial. 2007
- Parazzi V, Lazzari L, Rebullà P. Platelet gel from cord blood: a novel tool for tissue engineering. *Platelets.* 2010;21(7):549-54
- Parrinello S, Coppe JP, Krtolica A, Campisi J. Stromal-epithelial interactions in aging and cancer: senescent fibroblasts alter epithelial cell differentiation. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 3):485-96
- Parry B. Entangled exchange: Reconceptualising the characterisation and practice of bodily commodification. *Geoforum.* 2008;39:1133–1144
- Patrikios I, Stephanou A, Yiallouris A. Graviola: A Systematic Review on Its Anticancer Properties. *American Journal of Cancer Prevention.* 2015;3(6): 128-131
- Patterson DR, Jensen MP. Hypnosis and clinical pain. *Psychological Bulletin,* 2003;12:495–521
- Pei H, Chen W, Hu W, Zhu M, Liu T, Wang J, Zhou G. GANRA-5 protects both cultured cells and mice from various radiation types by functioning as a free radical scavenger. *Free Radic Res.* 2014;48(6):670-8
- Pelicano H, Carney D, Huang P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat.* 2004;7:97–110
- Percer B. Umbilical cord blood banking: Helping parents make informed choices. *Nursing for Women's Health.* 2009;13(3), 216–223
- Petrini C. European regulations on cord blood banking: an overview. *Transfusion.* 2012;52(3):668-79
- Petrini C, Farisco M. Informed consent for cord blood donation. A theoretical and empirical study. *Blood Transfus.* 2011;9(3):292-300.
- Petrini C, Lombardini L, Pupella S, Nanni Costa A, Grazzini G. Collection, storage, and allogeneic use of cord blood: informed consent form used by the italian biobank network. *Biopreserv Biobank.* 2011;9(3):273-8

- Pettersson A, Kasperzyk JL, Kenfield SA, Richman EL, Chan JM, Willett WC, Stampfer MJ, Mucci LA, Giovannucci EL. Milk and dairy consumption among men with prostate cancer and risk of metastases and prostate cancer death. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(3):428-36
- Piaget J. *La nascita dell'intelligenza nel bambino.* Giunti Editore. 1991
- Pimentel-Gutiérrez HJ, Bobadilla-Morales L, Barba-Barba CC, Ortega-De-La-Torre C, Sánchez-Zubieta FA, Corona-Rivera JR, González-Quezada BA, Armendáriz-Borunda JS, Silva-Cruz R, Corona-Rivera A. Curcumin potentiates the effect of chemotherapy against acute lymphoblastic leukemia cells via downregulation of NF-κB. *Oncol Lett.* 2016;12(5):4117-4124
- Pinkus R., Weiner L.M., Daniel V. Role of oxidants and antioxidants in the induction of AP-1, NF-kB, and glutathione S-transferase geneexpression. *J. Biol. Chem;* 1996;271:13422–13429
- Pirnay JP, Baudoux E, Cornu O, Delforge A, Delloye C, Guns J, Heinen E, Vanden Abbeel E, Vanderkelen A, Van Geyt C, van Riet I, Verbeken G, De Sutter P, Verlinden M, Huys I, Cockbain J, Chabannon C, Dierickx K, Schotsmans P, De Vos D, Rose T, Jennes S, Sterckx S. Access to human tissues for research and product development: From EU regulation to alarming legal developments in Belgium. *EMBO Rep.* 2015;16(5):557-62
- Pirnay JP, Vanderkelen A, Ectors N, Delloye C, Dufrane D, Baudoux E, Van Brussel M, Casaer MP, De Vos D, Draye JP, Rose T, Jennes S, Neirinckx P, Laire G, Zizi M, Verbeken G. Beware of the commercialization of human cells and tissues: situation in the European Union. *Cell Tissue Bank.* 2012;13(3):487-98
- Pocar V. *Dignità e non-dignità dell'uomo.* Ragon pratica. Il Mulino – Rivisteweb. 2012
- Podany AT, Pharm D. Ethical Considerations in Pediatric Research. *PedSAP 2017 Book 1. Research and Study Design in Pediatrics.* 2017;7-18
- Pontificia Academia pro Vita. *Le banche di cordone ombelicale.* Roma. 2013
- Prieto-Vila M, Takahashi RU, Usuba W, Kohama I, Ochiya T. Drug Resistance Driven by Cancer Stem Cells and Their Niche. *Int J Mol Sci.* 2017;18(12)
- Psihogios A, Ennis JK, Seely D. Naturopathic Oncology Care for Pediatric Cancers: A Practice Survey. *Integrative Cancer Therapies.* 2019;18:1–12

- Rapporto AIRTUM-AIEOP, I tumori Infantili, 2012
- Registro Italiano di Donatori di Midollo Osseo. La donazione del sangue da cordone ombelicale. 2016
- Riva L, Floridia G, Petrini C. Ethical and legal issues of cord blood stem cell banking. In: Stem cell drugs – a new generation of biopharmaceuticals. Pham PH ed. Springer International. 2018
- Riva L, Resta G, Gambino A, Petrini C. Donation of Human Biological Materials in the European Union: Commodifying Solidarity in the Era of the Biotechnological Revolution?. *The New Bioethics*. 2019;25(4):349-358
- Rivas Flores FJ, Rivas Gayo B. Bioética y asistencia sanitaria. *Revista Iberoamericana de Bioética*. 2016;2:01-15
- Robertson J. *Hospital an Children*, New York, 1958. Traduzione italiana “Bambini in Ospedale”. Feltrinelli. 1973
- Rodotà S. *Il diritto di avere diritti*. Editori Laterza. 2012
- Ronghe MD, Murphy D. Chemotherapy and Novel Cancer Targeted Therapies. In: Robert Carachi R, Grosfeld JL. *The Surgery of Childhood Tumors*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2016
- Rousseau JJ. Emilio. Edaf. 1982. In: Gómez Y. *Menores e investigacion biomedica*. Dykinson. 2018
- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Clamping of the Umbilical Cord and Placental Transfusion Scientific Impact Paper No. 14 February 2015
- Salvatore B. La relazione tra medico e paziente oggi: diritti e responsabilità. In: *Bioetica e Cura. L’alleanza terapeutica oggi*. A cura di Chieffi L., Postigliola A. Mimesis. 2014
- Santoro P. Objetos potenciales, futuros subjuntivos: las temporalidades inciertas de los bancos de sangre de cordón umbilical. *Federacion Española de Sociologia*. 2016
- Santos Morón MJ. Menores y derechos de la personalidad. La autonomía del menor. *Afdum*. 2011;15:64-65
- Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol*. 2014;24(10):R453-62

- Serrano-Delgado VM, Novello-Garza B, Valdez-Martinez E. Ethical issues relating the the banking of umbilical cord blood in Mexico. *BMC Med Ethics*. 2009;10:12
- Shao L, Luo Y, Zhou D. Hematopoietic stem cell injury induced by ionizing radiation. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(9):1447-62
- Shimura T, Sasatani M, Kamiya K, Kawai H, Inaba Y, Kunugita N. Mitochondrial reactive oxygen species perturb AKT/cyclin D1 cell cycle signaling via oxidative inactivation of PP2A in lowdose irradiated human fibroblasts. *Oncotarget*. 2016;7(3):3559-70
- Siegel RL, Miller KD, and Jemal A. Cancer statistics. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*. 2018;68(1),7–30
- Simsek C, Esin E, Yalcin S. Metronomic Chemotherapy: A Systematic Review of the Literature and Clinical Experience. *J Oncol*. 2019; 2019:5483791
- Smith TA, Kirkpatrick DR, Smith S, Smith TK, Pearson T, Kailasam A, Herrmann KZ, Schubert J, Agrawal DK. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation. *J Transl Med*. 2017;15(1):232
- Società Europea di Oncologia Pediatrica. Standard Europei per la Cura di Bambini affetti da Tumore. *SIOPEe*. 2009
- Soto AM, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: Endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol*. 2010;6:363-370
- Spirito A, Kazak A. Effective and emerging treatments in pediatric psychology. Oxford University Press. 2006
- Spotti A, Clarizia S, Sonzogni V. Approccio Generale al paziente pediatrico. *Anestesia Pediatrica e Neonatale*. Italian Internet Journal of Pediatric and Neonatal Anesthesia. 2006;4(4)
- Squillaro T, Galano G, De Rosa R, Peluso G, Galderisi U. Concise Review: The Effect of Low-Dose Ionizing Radiation on Stem Cell Biology: A Contribution to Radiation Risk. *Stem Cells*. 2018;36(8):1146-1153
- Stoll BA. Breast cancer: further metabolic-endocrine risk markers? *Br J Cancer*. 1997;76(12):1652-4
- Stratmann G. Neurotoxicity of anesthetic drugs in the developing brain. *Anesthesia and Analgesia*, 2011;113:1170–1179

- Sweeney C, Neuenschwander H, Bruera E. Fatigue and asthenia. In: Doyle D, Hanks G, Cherny NI, Calman K. Oxford Textbook of Palliative Medicine. Oxford University Press. 2004
- Sikora E, Mosieniak G, Silwinska MA. Morphological and Functional Characteristic of Senescent Cancer Cells. *Curr Drug Targets*. 2016;17:377-87
- Takahashi T, Schoemaker MJ, Trott KR, Simon SL, Fujimori K, Nakashima N, Fukao A, Saito H. The relationship of thyroid cancer with radiation exposure from nuclear weapon testing in the Marshall Islands. *J Epidemiol*. 2003;13(2):99-107
- Tanzi EM. Health-related quality of life of hematopoietic stem cell transplant childhood survivors: state of the science. *J Pediatr Oncol Nur*. 2011;28(4):191–202
- The American Marketing Association. Codes of Conduct. 2019
- Titmuss RM. The gift relationship: from human blood to social policy. London: Allen and Unwin. 1970
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International J of Biochem Cell Biol*. 2007;39(1):44-84
- Vassal G, Blanc P, Pearson A. Need for change in implementation of paediatric regulation. *Lancet Oncol*. 2013;14(12):1156e7
- Vater LB, Donohue JM, Arnold R, White DB, Chu E, Schenker Y. What are cancercenters advertising to the public? *Annals Int Med*. 2014;160(12):813-820
- Vives M, Ginestà MM, Gracova K, Graupera M, Casanovas O, Capellà G, Serrano T, Laquente B, Viñals F. Metronomic chemotherapy following the maximum tolerated dose is an effective anti-tumour therapy affecting angiogenesis, tumour dissemination and cancer stem cells. *Int J Cancer*. 2013;133(10):2464-72
- Waldby C. Stem Cells, Tissue Cultures, and the Production of Biovalue, Health. *An Interdisciplinary Journal for the Social Study of Health, Illness, and Medicine*. 2002;6(3):305-23
- Waldby C, Mitchell R. Tissue Economies: Blood, Organs, and Cell Lines in Late Capitalism. Durham. 2006. In: Attademo G. Una fiducia che guarda al

futuro. Le cellule staminali del cordone ombelicale tra scienza, bioetica e società. Lithos Editrice. 2017

- Wallace WH, Shalet SM, Hendry JH, Morris Jones PH, Gattamaneni HR. Ovarian failure following abdominal irradiation in childhood: the radiosensitivity of the human oocyte. *Br J Radiol.* 1989;62:995–8
- Wang Y, Boerma M, Zhou D. Ionizing Radiation-Induced Endothelial Cell Senescence and Cardiovascular Diseases. *Radiat Res.* 2016;186(2):153-61
- Waring AB, Wallace WH. Subfertility following treatment for childhood cancer. *Hosp Med.* 2000;61(8):550-7
- Waterland RA, Jirtle RL. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol.* 2003;23(15):5293-300
- Weithorn LA, Campbell SB. The competency of children and adolescents to make informed treatment decisions. *Child Dev.* 1982;53:1589–98
- Wedekind MF, Denton NL, Chen CY, Cripe TP. Pediatric Cancer Immunotherapy: Opportunities and Challenges. *Paediatr Drugs.* 2018;20(5):395-408
- Wise P. Cancer drugs, survival, and ethics. *BMJ.* 2016;355:i5792
- Yang H, Villani RM, Wang H, Simpson MJ, Roberts MS, Tang M, Liang X. The role of cellular reactive oxygen species in cancer chemotherapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):266
- Yeşilipek MA. Hematopoietic stem cell transplantation in children. *Turk Pediatri Ars.* 2014;49(2):91-8
- Zeng S, Shen WH, Liu L. Senescence and Cancer. *Cancer Transl Med.* 2018;4(3):70-74
- Zhao G, Xu Y, Li W, Han G, Ling B. Prenatal exposures to persistent organic pollutants as measured in cord blood and meconium from three localities of Zhejiang, China. *Sci Total Environ.* 2007;377(2-3):179-91
- Zink A, Rohrbach H, Szeimies U, Hagedorn HG, Haas CJ, Weyss C, Bachmeier B, Nerlich AG. Malignant tumors in an ancient Egyptian population. *Anticancer Res.* 1999;19(5B):4273-7

INDICE NORMATIVO

Riferimenti internazionali

- Convention on the Rights of the Child. UN. 1989
- Declaration of Helsinki. World Medical Association. 2013
- Declaration of Ottawa on Child Health, Adopted by the 50th World Medical Assembly, Ottawa, Canada, October 1998 and amended by the 60th World Medical Association General Assembly, New Delhi, India, October 2009
- Declaration of the Rights of the Child. UN. 1959
- European Convention on the Exercise of Children's Rights. Council of Europe. European Treaty Series - No. 160. Strasbourg, 25.I.1996
- General Comment No. 4 Adolescent health and development in the context of the Convention on the Rights of the Child. Committee on the Rights of the child, 33rd session, 19 May – 6 June 2003. UN. 2003
- Nuremberg Code. American military tribunal. 1947
- Recommendation Rec (2003) 24 of the Committee of Ministers to member states on the organization of palliative care (Adopted by the Committee of Ministers on 12 November 2003 at the 860th meeting of the Ministers' Deputies) Council of Europe. European Health Committee. 860th meeting – 12 November 2003
- Universal Declaration of Human Rights. UN. 1948
- Universal Declaration on Bioethics and Human Rights. UNESCO. Records of the General Conference. 2005
- The EACH Charter. European Association for Children in Hospital. 1993
- The Human Tissue (Quality and Safety for Human Application) Regulations. Statutory Instruments 2007. No.1523. 2007
- The Oviedo Convention. Convention for the Protection of Human Rights and Dignity of the Human Being with regard to the Application of Biology and Medicine: Convention on Human Rights and Biomedicine. Council of Europe. European Treaty Series - No. 164 . Oviedo, 4.IV.1997
- World Health Organization. Environmental Health Criteria 237. Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. 2006
- World Summit Against Cancer for the New Millennium Charter of Paris: 4 February 2000

Riferimenti giuridici dell'Unione Europea

- Directive 2001/20/EC of European Parliament and of the council of 4 April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. Official Journal of the European Communities. L 121/34. May, 1 2001
- Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. L 102/48. April, 7 2004
- Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. L 38/40. February, 2 2006
- Directive 2006/86/EC of 24 October 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. Official Journal of the European Union. L 294/32. October, 25 2006
- Guideline on the need for non-clinical testing in juvenile animals of pharmaceuticals for paediatric indications. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for human use. London, 24 January 2008.
- Guideline on the role of Pharmacokinetics in the development of medicinal products in the paediatric population. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for human use. London, 28 June 2006
- Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for human use. London, 28 July 2006
- Resolution on a European charter for children in hospital (Doc. A2-25/86). Official Journal of the European Communities. 1986; C 148; 29

- Regulation (EC) No 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medicinal products for paediatric use and amending Regulation (EEC) No 1768/92, Directive 2001/20/EC, Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. Official Journal of the European Union. L 378/1. December, 27 2006
- Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the Council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004. Official Journal of the European Union. L 324/121. December, 10 2007
- Regulation (EU) No 536/2014 of the European Parliament and of the Council of 16 April 2014 on clinical trials on medicinal products for human use, and repealing Directive 2001/20/EC. Official Journal of the European Union. L 158/1. May, 27 2014
- Regulation (EU) 2016/679 of the European Parliament and of the Council of 27 April 2016 on the protection of natural persons with regard to the processing of personal data and on the free movement of such data, and repealing Directive 95/46/EC (General Data Protection Regulation). Official Journal of the European Union. L 119/1. May, 4, 2016

Riferimenti giuridici nazionali

Francia

- Cour de Cassation, Chambre civile 1, du 23 mai 2000, 98-18.513, Publié au bulletin
- Code Civil. France (en su redacción vigente a 1 de julio 2013)
- Code de la santé publique. France. Version consolidée au 18 février 2019
- Loi n. 2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé. Version consolidée au 29 octobre 2019

Germania

- Costituzione Tedesca (GRUNDGESETZ FÜR DIE BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND). 23 maggio 1949
- Corte di Cassazione Federale tedesca (BGH), 24 giugno 1980, NJW 1980, 2751

- Gesetz zur Verbesserung der Rechte von Patientinnen und Patienten Vom 20. Februar 2013
- RG, 31 March, 31 1894, RSt 25, 375. Berlin
- RG, March ,8 1940, RZ 163, 129. Berlin

Italia

- Codice del diritto del minore alla salute e ai servizi sanitari. Roma, 18 aprile 2012
- Codice di Deontologia Medica. Federazione Nazionale degli Ordini dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri. 2014
- Commissione parlamentare per l'infanzia. Legge 27 maggio 1991, n. 176. Ratifica ed esecuzione della convenzione sui diritti del fanciullo, fatta a New York il 20 novembre 1989
- Corte Assise Firenze del 18 ottobre 1990, n.13. Foro italiano. 1991; 114
- Corte Costituzionale del 9 ottobre 1990, n.471. Gazzetta Ufficiale n.43. 31 ottobre 1990
- Corte Costituzionale del 15 dicembre 2008, n.438. Gazzetta Ufficiale n.54. 31 dicembre 2008
- Costituzione della Repubblica Italiana. Gazzetta Ufficiale n.298. 27 dicembre 1947
- Decreto Ministeriale 15 luglio 1997. Recepimento delle linee guida dell'Unione europea di buona pratica clinica per la esecuzione delle sperimentazioni cliniche dei medicinali. Gazzetta Ufficiale n.191. 18 agosto 1997
- Decreto Legislativo n. 211. Attuazione della direttiva 2001/20/CE 24 giugno 2003 relativa all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione delle sperimentazioni cliniche di medicinali per uso clinico. Gazzetta Ufficiale n.184. 9 agosto 2003
- Decreto Legislativo n. 196, 30 giugno 2003. Codice in materia di protezione dei dati personali. Gazzetta Ufficiale n. 174. 29 luglio 2003
- Decreto Legislativo n. 191, 6 novembre 2007. Attuazione della direttiva 2004/23/CE sulla definizione delle norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione,

lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani. Gazzetta Ufficiale n. 261. 9 novembre 2007 - Suppl. Ordinario n.228

- Decreto Ministeriale 22 aprile 2014. Modifiche e integrazioni al decreto del Ministro del lavoro, della salute e delle politiche sociali 18 novembre 2009, recante: «Disposizioni in materia di conservazione di cellule staminali da sangue del cordone ombelicale per uso autologo-dedicato». Gazzetta Ufficiale n.137. 16 giugno 2014
- Decreto legislativo n. 101, 10 agosto 2018. Disposizioni per l'adeguamento della normativa nazionale alle disposizioni del regolamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 aprile 2016, relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché alla libera circolazione di tali dati e che abroga la direttiva 95/46/CE (regolamento generale sulla protezione dei dati). Gazzetta Ufficiale n.205. 4 settembre 2018
- Decreto Ministeriale 2 novembre 2015. Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti. Gazzetta ufficiale n. 300. 28 dicembre Suppl. ordinario n. 69
- Ente Nazionale di Previdenza ed Assistenza Medici (ENPAM). Consenso informato in medicina. Titolarità in caso di minori. 2015
- Legge 28 marzo 2001, n. 145. Ratifica ed esecuzione della Convenzione del Consiglio d'Europa per la protezione dei diritti dell'uomo e della dignità dell'essere umano riguardo all'applicazione della biologia e della medicina: Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina, fatta a Oviedo il 4 aprile 1997, nonché del Protocollo addizionale del 12 gennaio 1998, n. 168, sul divieto di clonazione di esseri umani. Gazzetta Ufficiale n. 95. 24 aprile 2001
- Legge 15 marzo 2010, n. 38. Disposizioni per garantire l'accesso alle cure palliative e alla terapia del dolore. Gazzetta Ufficiale n. 65. 19 marzo 2010
- Legge 22 dicembre 2017, n. 219. Norme in materia di consenso informato e di disposizioni anticipate di trattamento. Gazzetta Ufficiale n.12. 16 gennaio 2018
- Ministero del Lavoro del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali. Decreto 18 novembre 2009. Istituzione di una rete nazionale di banche per la conservazione di sangue da cordone ombelicale. Gazzetta Ufficiale n. 303, 31 dicembre 2009

- Ministero della Salute Decreto Legge del 2 novembre 2015. Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti. Gazzetta ufficiale n. 300. 28 dicembre 2015
- Ordinanza 30 dicembre 2002. Misure urgenti in materia di cellule staminali da cordone ombelicale. Proroga dell'ordinanza 11 gennaio 2002. Gazzetta Ufficiale n. 27. 3 febbraio 2003
- Ordinanza 4 maggio 2007. Misure urgenti in materia di cellule staminali da cordone ombelicale. Gazzetta Ufficiale n.110. 14 maggio 2007
- Presidenza del Consiglio dei Ministri. Mozione del Comitato Nazionale per la Bioetica sulla raccolta, conservazione e utilizzo di cellule staminali derivate da cordone. Approvata nella seduta plenaria del 13 luglio 2007
- Proposta di Legge, d'iniziativa del deputato Zaccagnini, Norme per la tutela dei diritti della partoriente e del neonato e per la promozione del parto fisiologico, presentata l'11 marzo 2016. Atti Parlamentari, Camera dei Deputati n.3670

Lussemburgo

- Grand-Duché de Luxembourg. Loi du 1er Août 2007 relative aux tissus et cellules humains destinés à des applications humaines (art. 12). Memorial Journal Officiel du Grand-Duché de Luxembourg, 20 Août 2007, 150

Regno Unito

- Court of Appeal, 24 July 1991. 4 All ER 177
- Family Law Reform Act 1969 (c. 46)
- HOUSE OF LORDS. Gillick v West Norfolk and Wisbech Area Health Authority and another [1986] 1 AC 112, [1985] 3 All ER 402, [1985] 3 WLR 830, [1986] 1 FLR 224, [1986] Crim LR 113, 2 BMLR 11 HEARING-DATES: 24, 25, 26, 27 JUNE, 1, 2, 3, 4 JULY, 17 OCTOBER 1985
- National Consent Advisory Group. National Consent Policy. 2013
- Welsh Assembly Government. Good Practice in consent implementation guide. consent to examination or treatment. April, 2002

Spagna e Portogallo

- Código Civil Español. 1889

- Código de deontología médica. Conselho general de colegios oficiales de medicos. 2011
- Código Penal Português, Lei 59/2007, de 4 de Setembro, Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos
- Constituição da República Portuguesa. VII Revisão Costutucional 2005
- Decreto-Lei n.º 48/95. Diário da República n.º 63/1995, Série I-A de 1995-03-15. Alterado pelo/a Artigo 1.º do/a Lei n.º 59/2007 - Diário da República n.º 170/2007, Série I de 2007-09-04, em vigor a partir de 15 setembro 2007. Diário da República Portuguesa
- Decreto 101/2005, de 22 DE diciembre, por el que se regula la historia clínica. Comunidad Autónoma De Castilla u León Constitución Española. BOCyL nº 249 de 28-12-2005
- Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos. Organización Medica Colegial. Declaración de la Comisión Central de Deontología sobre la ética médica en la atención del menor maduro. Mayo 2008
- Informe 409/2004. Acceso por el titular de la patria potestad a las historias clínicas de menores. Agencia de Protección de Datos
- Informe 114/2008. Comunicacion de los informes medicos de los menores a los padres. Gabinete Jurídico. Agencia de Protección de Dato
- Ley 30/1979, de 27 de octubre, sobre extracción y trasplante de órganos. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 266 de 06/11/1979. BOE-A-1979-26445
- Ley Orgánica 1/1996, de 15 de enero, de Protección Jurídica del Menor, de modificación parcial del Código Civil y de la Ley de Enjuiciamiento Civil. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 15, de 17/01/1996. BOE-A-1996-1069
- Ley 1/1998, de 20 de abril, de los derechos y la atención al menor. Comunidad Autónoma de Andalucía. Boletín Oficial del Estado núm. 53, de 12/5/1998. BOE-A-1998-14944
- Ley 251/1999, de 20 ottobre, Instrumento Ratificación del Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la Biología y la Medicina (Convenio relativo a los derechos humanos y la biomedicina), hecho en Oviedo el 4 de abril de 1997.

Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 251, de 20 octubre 1999. BOE-A-1999-20638

- Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 274, de 15 de noviembre de 2002. BOE-A-2002-22188
- Ley 3/2005, de 8 de julio, de información sanitaria y autonomía del paciente. Comunidad Autónoma de Extremadura. Boletín Oficial del Estado núm. 186 de 05 de Agosto de 2005. BOE-A-2005-13470
- Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica. Jefatura del Estado Boletín Oficial del Estado núm. 159, de 4 de julio de 2007. BOE-A-2007-12945
- Ley 8/2008, de 20 de junio, de la Generalitat, de los derechos de salud de niños y adolescentes. Comunitat Valenciana. Boletín Oficial del Estado núm. 171, de 16 de julio de 2008. BOE-A-2008-12147
- Ley 26/2015, de 28 de julio, de modificación del sistema de protección a la infancia y a la adolescencia. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 180, de 29 julio de 2015. BOE-A-2015-8470
- Ley 4/2017, de 9 de marzo, de Derechos y Garantías de las Personas en el Proceso de Morir. Comunidad de Madrid. Boletín Oficial del Estado núm. 149 de 23 de junio de 2017. BOE-A-2017-7178
- Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 294, de diciembre de 2018. BOE-A-2018-16673
- Plan Nacional de Sangre de Cordón Umbilical, 2008
- Pleno. Sentencia 154/2002, de 18 de julio de 2002. Recurso de amparo avocado 3.468/97. Promovido por don Pedro Alegre Tomás y doña Lina Vallés Rausa frente a la Sentencia de la Sala de lo Penal del Tribunal Supremo, que les condenó por un delito de homicidio. Vulneración del derecho a la libertad religiosa: condena penal a unos Testigos de Jehová, padres de un menor que murió tras negarse a recibir transfusiones de sangre autorizadas por el Juzgado de guardia, por no haberle convencido para deponer su actitud ni haber autorizado dicha intervención médica. Tribunal Constitucional. Boletín Oficial del Estado núm. 188, de 7 de agosto de 2002. BOE-T-2002-15992

- Real Decreto 561/1993, de 16 de abril, por el que se establecen los requisitos para la realización de ensayos clínicos con medicamentos. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado núm. 114, de 13 de mayo de 1993. BOE-A-1993-12483
- Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos. Ministerio de la Presidencia. Boletín Oficial del Estado núm. 3, de 04 de enero de 2000. BOE-A-2000-79
- Real Decreto 1277/2003, de 10 de octubre, por el que se establecen las bases generales sobre autorización de centros, servicios y establecimientos sanitarios. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado núm. 254, de 23/10/2003. BOE-A-2003-19572
- Real Decreto 65/2006, de 30 de enero, por el que se establecen requisitos para la importación y exportación de muestras biológicas. Ministerio de Sanidad y Consumo Boletín Oficial del Estado núm. 32, de 7 de febrero de 2006. BOE-A-2006-1916
- Real decreto1301/2006, 10 noviembre por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. Ministerio de Sanidad y Consumo. Boletín Oficial del Estado núm. 270, de 11 de noviembre de 2006. BOE-A-2006-19625
- Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica. Ministerio de Ciencia e Innovación. Boletín Oficial del Estado núm. 290, de 2 de diciembre de 2011. BOE-A-2011-18919
- Real decreto 9/2014, 4 julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos

y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos. Jefatura del Estado. Boletín Oficial del Estado núm. 163, de 5 de julio de 2014. BOE-A-2014-7065

- Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Boletín Oficial del Estado núm. 307, de 24 de diciembre de 2015. BOE-A-2015-14082
- Sentencia de 30 de mayo de 2014, de la Sala Tercera del Tribunal Supremo, por la que se declara nulo el Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre. Tribunal Supremo. Boletín Oficial del Estado núm. 162, de 4 de julio de 2014. BOE-A-2014-7017

PARERI DI COMITATI NAZIONALI DI BIOETICA

Unione Europea

- Gunning J. A worldwide study of umbilical cord cell banking. 2003. In: The European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission. Opinion on the ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion N. 19; 2004
- The European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission. Opinion on the ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion N. 19; 2004

Austria

- Gewebesicherheitsgesetz. Austrian Bioethics Commission. Ruling of the Bioethics Commission at the Federal Chancellery 19th May 2008 Report of the Bioethics Commission regarding Umbilical Cord Blood Banking. Federal Law Gazette I 2008/49

Belgio

- Agence Fédérale des Médicaments et des Produits de Sante. Loi relative à l'obtention et à l'utilisation de matériel corporel humain destiné à des

applications médicales humaines ou à des fins de recherche scientifique.
Moniteur Belge 2008; 68774-87

Francia

- Comité consultatif national d'Éthique pour les Sciences de la Vie et de la Santé. Utilisation des cellules souches issues du sang de cordon ombilical, du cordon lui-même et du placenta et leur conservation en biobanques. Questionnement éthique. 23/02/12. Avis N. 117
- Comité consultatif national d'Éthique pour les Sciences de la Vie et de la Santé. Les banques de sang de cordon ombilical en vue d'une utilisation autologue ou en recherche. 12/12/02. Avis N.74

Germania

- Bundesärztekammer (Federal Medical Association) Richtlinien zur Transplantation von Stammzellen aus Nabelschnurblut ("Guidelines for the transplantation of cord blood"). Deutsches Ärzteblatt 1999;96:69-76
- Deutscher Ethikrat. Medical benefits and costs in healthcare: The normative role of their evaluation. 2011

Italia

- Comitato Nazionale per la Bioetica. Informazione e consenso all'atto medico. 20 giugno 1992
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Bioetica con l'infanzia. 22 gennaio 1994
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Impiego terapeutico delle cellule staminali. 27 settembre 2000
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Il principio di Precauzione: profili bioetici, filosofici, giuridici. 18 giugno 2004
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Le medicine alternative e il problema del consenso informato. 18 marzo 2005
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Rifiuto e rinuncia consapevole al trattamento sanitario nella relazione paziente-medico. 24 ottobre 2008
- Comitato Nazionale per la Bioetica e Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze della Vita. Raccolta di campioni biologici a fini di ricerca: consenso informato. 16 febbraio 2009

- Comitato Nazionale per la Bioetica. La sperimentazione clinica in paziente adulti o minori che non sono in grado di dare il consenso informato in situazioni di urgenza. 28 settembre 2012
- Comitato Nazionale per la Bioetica. Biobanche pediatriche. 11 aprile 2014

Olanda

- Code for proper secondary use of human tissue in the Netherlands (Federatie van MedischWetenschappelijke Vernigingen—Dutch Federation of Biomedical Scientific Societies, Commissie Regelgeving en Onderzoek—COREON), 2002

Regno Unito

- Nuffield Council on Bioethics. Human bodies: donation for medicine and research. 10 October 2011
- Nuffield Council on Bioethics. Children and clinical research: ethical issues. 14 May 2015
- Nuffield Council on Bioethics. The collection, linking and use of data in biomedical research and health care: ethical issues. 03 February 2015

Spagna e Portogallo

- Comité de Bioética de España y del Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida de Portugal. Los bancos de sangre y tejido del cordón umbilical y placenta. Lisboa, 31 octubre 2012

Stati Uniti

- American Hospital Association. Patient's Bill of Rights. 1992
- Committee on Bioethics. Informed Consent in Decision-Making in Pediatric Practice. *Pediatrics*. 2016; 138(2):e20161484
- Institute of Medicine, Board on Health Sciences Policy, Committee on Establishing a National Cord Blood Stem Cell Bank Program. A cura di Gebbie K, Hanna K, Meyer EA. *Cord Blood: Establishing a National Cord Blood Stem Cell Bank Program*. Washington D.C. The National Academy Press. 2005