

DOSSIER

SPECIALE CELLULE STAMINALI

I CONTENUTI DEL DOSSIER

■ **1. Cosa sono le cellule staminali**

Isolate per la prima volta dal dottor James Thomson in un laboratorio statunitense nel 1998, le cellule staminali possono fare cose straordinarie che le altre cellule non riescono a fare.

■ **2. La legislazione sulle staminali in Italia e all'estero**

I pareri sulla legittimità degli esperimenti che prevedono l'utilizzo di embrioni umani come fonte di cellule staminali si suddividono in base alle diverse tradizioni etiche, filosofiche e religiose.

■ **3. La ricerca sulle cellule staminali e SM**

Nella ricerca sui possibili usi terapeutici del trapianto di cellule staminali nella SM, i ricercatori italiani non hanno nulla da invidiare al resto al resto del mondo. E' proprio grazie a un'avanguardia di medici e biologi, impegnati in vari centri di ricerca sparsi un po' in tutta Italia, che le cellule staminali stanno per diventare una concreta speranza terapeutica per le persone con SM, non solo nel nostro Paese.

1.

Cosa sono le cellule staminali

Isolate per la prima volta dal dottor James Thomson in un laboratorio statunitense nel 1998, le cellule staminali possono fare cose straordinarie che le altre cellule non riescono a fare. L'eccezionalità deriva dalla loro capacità di rigenerarsi praticamente all'infinito fino a quando l'organismo è in vita e di dare origine, se opportunamente stimolate, a tutti i diversi tipi di elementi che compongono i vari tessuti: dalla pelle al sangue, dal cuore al fegato, dal cervello ai muscoli e così via.

Da qui si è ipotizzato di utilizzare il trapianto di cellule staminali per riparare organi o tessuti danneggiati da una malattia degenerativa (SM, morbo di Parkinson, Alzheimer, infarto eccetera) o da una lesione del midollo spinale che ha causato una paralisi.

In base alla loro origine e alle loro capacità di differenziarsi, le cellule staminali si classificano in:

- **embrionali;**
- **germinali embrionali;**
- **del cordone ombelicale o della placenta;**
- **adulte.**

- Le **cellule staminali embrionali** derivano da embrioni umani di circa cinque giorni di vita (creati con la fecondazione artificiale o derivati da aborti) e si definiscono totipotenti perché possono dare origine, in presenza di un idoneo "microambiente" a qualsiasi tipo di cellula, senza limitazioni.

- Le **germinali embrionali**, prelevate da embrioni di circa sei settimane, sono invece definite pluripotenti poiché da esse derivano solo alcuni tipi di cellule e tessuti.

- Fonti alternative di staminali pluripotenti sono il **cordone ombelicale** e la **placenta**; in questo caso l'estrazione può essere fatta dopo il parto, senza pericolo per il nascituro e per la madre, tanto che la donazione del cordone ombelicale è diventata una realtà in molti ospedali.

Una potenziale sorgente di cellule staminali di recente identificazione è il **liquido amniotico**. Uno studio pubblicato nel 2007 ha dimostrato che le cellule staminali ottenute dal liquido amniotico, opportunamente coltivate in vitro, sono in grado di ridurre la gravità della malattia modello animale della SM negli animali da esperimento (*Nature Biotechnology* 2007; 25: 100-106).

Dossier disponibile sul sito www.aism.it

Aggiornato al 16 marzo 2009

Molta eco ha suscitato la notizia della possibilità di ottenere cellule staminali coltivando cellule adulte del **tessuto connettivo** (Cell Prolif. 2008 Feb;41 Suppl 1:51-6). Si tratta di un campo di ricerca molto vasto che potrebbe riservare grandi sviluppi, ma sono necessari ulteriori studi.

■ Infine ci sono le **cellule staminali adulte**, anch'esse pluripotenti, la cui presenza rimane circoscritta ad alcuni distretti come, per esempio, il midollo osseo, le gonadi, il cervello, l'epitelio, la retina. Per vagliare le prospettive terapeutiche dell'uso delle cellule staminali adulte nella cura della SM sono stati aperti tre filoni di indagine: il primo investiga le potenzialità del tipo **neurale** (derivate dal sistema nervoso centrale), il secondo delle **staminali mesenchimali** (estratte dal midollo osseo e destinate a dare origine a muscoli, ossa, cartilagini e tessuto connettivo), il terzo delle **staminali ematopoietiche**, precursori del sangue (derivate anch'esse dal midollo osseo).

Grazie alla loro versatilità, una volta prelevate dai tessuti che le contengono, le staminali possono essere stimolate in laboratorio (in vitro) a crescere, proliferare e a differenziarsi.

Raggiunta una massa giudicata sufficiente per il successo della procedura, possono essere trapiantate nel paziente con un'iniezione endovena o attraverso procedure più complesse e mirate a concentrare le cellule in un particolare organo. Attraverso il sangue, le staminali raggiungono l'organo bersaglio dove dovrebbero insediarsi e moltiplicarsi.

Nonostante se ne senta parlare spesso, le cellule staminali non rappresentano, almeno per ora, una terapia diffusa sul larga scala. I risultati ottenuti sugli animali non hanno ancora una ricaduta immediata e gli ostacoli da superare sono tuttora parecchi. Proprio a causa della loro polivalenza, per esempio, le cellule staminali embrionali non possono essere trapiantate appena estratte ma vanno indirizzate in vitro, con opportuni fattori di crescita, verso il tipo desiderato.

La difficoltà è riuscire a mettere a punto con precisione la composizione del mezzo di coltura che varia a seconda del risultato che si vuole ottenere. Le cellule staminali adulte sono più maneggevoli delle embrionali (anche dal punto di vista bioetico e legislativo), ma hanno il difetto di non perdere mai del tutto le caratteristiche del tessuto di provenienza, di essere in numero più piccolo e non facilmente isolabili.

2. La legislazione sulle staminali in Italia e all'estero

I pareri sulla legittimità degli esperimenti che prevedono l'utilizzo di embrioni umani come fonte di cellule staminali si suddividono in base alle diverse tradizioni etiche, filosofiche e religiose.

Esiste una forte spaccatura ideologica tra la componente religiosa e quella laica della popolazione. La posizione dei credenti si esprime contro la sperimentazione sugli embrioni umani, sia rispetto all'ipotesi di crearne di nuovi per scopi di studio, sia all'impiego di quelli prodotti in eccesso nel corso dei cicli di fecondazione assistita e crioconservati.

Chi invece si batte per la libertà di ricerca scientifica vorrebbe poter condurre sperimentazioni sugli embrioni che giacciono inutilizzati nelle cliniche e che sarebbero comunque eliminati.

Non c'è accordo nella comunità scientifica nel stabilire se le cellule staminali adulte posseggano le stesse potenzialità delle cellule staminali embrionali rispetto al raggiungimento di risultati promettenti per la cura delle malattie.

In Italia

La nuova legge sulla fecondazione assistita (**Legge del 19 febbraio 2004, n. 40**) e il fallimento del referendum abrogativo, ha stabilito il divieto di qualsiasi esperimento sugli embrioni umani, la produzione di embrioni a scopo di ricerca, la crioconservazione e qualunque forma di soppressione degli embrioni, anche di quelli congelati nelle cliniche dell'infertilità.

Esiste però la possibilità acquistare linee cellulari all'estero senza infrangere la legge.

All'estero

I sistemi normativi sull'uso delle staminali variano sensibilmente da Paese a Paese.

In **Danimarca** e in **Finlandia** non è permesso creare embrioni ai soli fini della ricerca. E' possibile effettuare ricerche con quelli creati per una fecondazione artificiale e non utilizzati.

In **Francia**, la legge sulla Bioetica del luglio del 1994 vieta in maniera categorica la sperimentazione su embrioni umani. Quelli in soprannumero

Dossier disponibile sul sito www.aism.it

Aggiornato al 16 marzo 2009

vengono congelati per cinque anni per un'eventuale successivo trasferimento nell'utero materno.

In **Germania**, da gennaio 1991, la legge autorizza solo la diagnosi dell'embrione con l'obiettivo di impiantarli ai fini di gravidanza. Pertanto, l'uso di embrioni nella ricerca medica è illegale.

La **Spagna** ha approvato il 29 ottobre 2004 un decreto che autorizza progetti di ricerca sulle cellule staminali embrionali e consente l'uso di embrioni congelati in eccedenza con il consenso dei donatori. In **Svizzera**, la ricerca con le cellule staminali embrionali è legalizzata dal primo marzo 2005.

Nel **Regno Unito**, dal 1990, la legge permette la creazione di embrioni ai fini della ricerca e l'utilizzo di quelli disponibili.

In **Portogallo** è vietato creare embrioni per la ricerca ma è accettato l'uso di quelli soprannumerari.

Negli **Stati Uniti**, nell'agosto 2001 l'ex Presidente G.W.Bush impose restrizioni al finanziamento federale a favore della ricerca nel campo delle cellule staminali embrionali, consentendo di sovvenzionare soltanto studi su linee di cellule staminali create prima di quella data. Successivamente il governatore della California Schwarzenegger ha stanziato una ingente somma del bilancio del suo stato per finanziare le ricerche sulle cellule staminali.

Uno delle prime decisioni annunciate dal nuovo presidente Obama è stata l'abolizione del divieto ai finanziamenti federali per la ricerca nel campo delle cellule staminali embrionali, che è pertanto ipotizzabile andrà incontro ad una notevole espansione.

3.

La ricerca sulle cellule staminali e SM

Nella ricerca sui possibili usi terapeutici del trapianto di cellule staminali nella SM, i ricercatori italiani non hanno nulla da invidiare al resto del mondo. E' proprio grazie a un'avanguardia di medici e biologi, impegnati in vari centri di ricerca sparsi un po' in tutta Italia, che le cellule staminali stanno per diventare una concreta speranza terapeutica per le persone con SM, non solo nel nostro Paese.

Diversi sono i motivi per essere finalmente fiduciosi e per testimoniare, pur senza eccedere in facili entusiasmi, una semplificazione del cammino verso la loro applicazione terapeutica, anche al di fuori dei laboratori, in un futuro non troppo lontano.

Nel 2005, non a caso definito l'anno d'oro della ricerca, sono infatti stati portati a termine con successo una serie di esperimenti - per ora solo su animali in cui era stata indotta la SM - con tre tipi di cellule staminali adulte: le staminali neurali, le staminali mesenchimali e le staminali ematopoietiche (vedi articolo precedente).

I due filoni di ricerca su cui stanno concentrando i maggiori sforzi sono:

- la **neuroprotezione**: utilizzare le cellule staminali come fonte di nuova mielina per rallentare, o addirittura bloccare, la perdita negli assoni;
- l'**immunosoppressione**: sfruttare la loro attività antinfiammatoria e immunomodulante per proteggere il tessuto nervoso.

Nonostante l'enorme speranza suscitata dalla loro scoperta, la storia delle staminali sta avendo un andamento altalenante. Un giorno sembra che il successo sia dietro l'angolo, il giorno successivo arriva la doccia fredda. La realtà sta nel mezzo: per quanto riguarda la SM, i risultati raggiunti finora sono incoraggianti perché le cellule staminali trapiantate negli animali si sono dimostrate in grado di attecchire, e si sono differenziate nel modo corretto, favorendo il recupero dal danno neuronale provocato dalla malattia. In più hanno mostrato un'azione immunomodulante che non era stata prevista ma che protegge la mielina da nuovi attacchi del sistema immunitario. Ci sono però ancora alcuni ostacoli da superare.

Allargando lo sguardo, il panorama fa ben sperare anche per la SM. Gli studi pubblicati finora sulle riviste scientifiche riferiscono che, nell'uomo, le staminali

adulte sono già state usate con successo per curare le malattie del sangue (leucemia, linfomi eccetera), le ustioni, la cecità in caso di lesioni alla cornea e per ricostruire parti di tessuto cardiaco danneggiate da un infarto.

Due eminenti ricercatori in questo campo, il professor **Gianluigi Mancardi**, direttore della seconda Clinica Neurologica dell'Università di Genova, e il professor **Antonio Uccelli**, dell'Unità di Neuroimmunologia del Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia e Genetica dell'Università di Genova, hanno firmato recentemente una revisione sull'uso delle staminali nella SM. Approfittiamo del loro lavoro per proporre un breve excursus sugli studi più recenti.

Gli studi sulle staminali ematopoietiche

Già utilizzate con successo nella cura delle malattie del sangue, le cellule staminali ematopoietiche possono essere ottenute dal midollo osseo e dal cordone ombelicale.

Nel 2005 sulla rivista *Blood* (2005; 105: 2601-7), è stata pubblicata una ricerca che ha riportato gli esiti positivi di uno studio con questo tipo di staminali. Nel lavoro, coordinato da **Gian Luigi Mancardi** e **Riccardo Saccardi** dell'Unità di Ematologia dell'ospedale Careggi di Firenze, i ricercatori hanno sperimentato un autotrapianto di cellule staminali ematopoietiche autologhe (ottenute dal paziente stesso) e una terapia immunosoppressiva ad alto dosaggio, ottenendo un miglioramento dei sintomi in 19 persone con forme gravi di SM. Una ricerca analoga era stata pubblicata da ricercatori svizzeri, dell'Università di Basilea, sulla rivista *Bone Marrow Transplant* (*Gratwohl A et al. 2005; 35: 869-879*). Numerosi studi successivi, hanno confermato l'utilità di questo approccio terapeutico in casi selezionati di forme maligne di SM, rapidamente evolutive, che non hanno valide alternative terapeutiche. L'Italia è all'avanguardia nello studio del trapianto di midollo osseo come trattamento per la SM.

Gli studi sulle staminali mesenchimali

Il midollo osseo contiene anche cellule staminali, definite mesenchimali, destinate a dare origine a muscoli, ossa, cartilagini e tessuto connettivo. In laboratorio è possibile indurre queste cellule a differenziare in cellule neuronali come fu dimostrato da un gruppo di ricercatori dell'Università del Minnesota, negli Stati Uniti (*Jiang Y et al. Nature 2002; 418: 41-49*) e da altri trial precedenti. Più di recente si è riusciti anche a modificare geneticamente le staminali mesenchimali per trasformarle in cellule neuronali (*Dezawa et al. J Clin Invest 2004; 113: 1701-1710*).

Dossier disponibile sul sito www.aism.it

Aggiornato al 16 marzo 2009

Nel 2005 sulla rivista *Blood* (2005; 106: 1755-61) è stato pubblicato un lavoro sulle possibili applicazioni delle cellule staminali mesenchimali nella SM, coordinato da **Antonio Uccelli**. Per la prima volta sono state messe in luce le capacità delle cellule staminali mesenchimali d'interferire con i meccanismi coinvolti nelle patologie autoimmuni. Il trapianto di staminali ha infatti inattivato i linfociti T che, nella SM, attaccano la guaina mielinica. Nel 2007 è stata pubblicata la seconda parte di questo studio che dimostra **l'utilità del trapianto di staminali nei modelli animali**.

Nel febbraio 2009 è stato pubblicato uno studio in cui le cellule mesenchimali umane erano somministrate ad animali nei quali era stata indotta l'encefalite autoimmune, modello della SM. La terapia con queste cellule si è dimostrata in grado di determinare una riduzione della produzione di citochine pro infiammatorie ed è stata anche rilevata una maggiore concentrazione di oligodendrociti nei cervelli degli animali trattati. (*Glia*. 2009 Feb 3)

Sono in corso di preparazione studi clinici su piccoli gruppi di pazienti che saranno trattati con cellule staminali di derivazione midollare. Lo scopo di questi studi sarà evidenziare una possibile azione riparativa o protettiva di questa terapia e indagarne i possibili effetti collaterali.

Questi studi richiederanno alcuni anni per essere completati e solo allora sapremo se l'utilizzo di questo tipo di cellule può essere d'aiuto nei pazienti con SM.

Gli studi sulle staminali neurali

Grande eco ha avuto, nel luglio 2005, la pubblicazione su *Nature* (2005; 436: 266-71) di uno studio sulle potenzialità delle cellule staminali neurali prelevate dal cervello. Il lavoro è opera del gruppo di **Gianvito Martino** del Dipartimento di Neuroscienze dell'Istituto Scientifico San Raffaele di Milano e di **Gabriella Costantin** dell'Università di Verona. Condotta su topi affetti da EAE (encefalomielite sperimentale autoimmune), il modello animale di SM, lo studio ha dimostrato che le cellule staminali neurali trapiantate con un'iniezione endovenosa, e giunte al cervello attraverso una migrazione selettiva, provocano la morte delle cellule infiammatorie e non delle cellule sane presenti. Una volta arrivate nelle aree colpite dall'infiammazione, le staminali non si sono trasformate in cellule adulte preservando il tessuto nervoso dal danno e attenuando i sintomi della malattia.

Recentemente è stato pubblicato uno studio sull'utilizzo di cellule neurali derivate da embrioni umani, somministrate per mezzo di iniezioni nei ventricoli cerebrali ad animali cui era stata indotta la EAE, modello della SM. Questa

terapia ha ridotto l'infiammazione e la gravità della malattia, per mezzo di un meccanismo che sembra essere di tipo immunosoppressivo. (*PLoS ONE*. 2008 Sep 5;3(9):e3145)

I dati più recenti nel complesso orientano verso l'idea che le cellule neurali, come anche quelle mesenchimali agiscano modificando la risposta autoimmune, più che riparando il tessuto danneggiato.

A piccoli passi

La lentezza che caratterizza il passaggio della sperimentazione dall'animale all'uomo non è frutto di un "dispetto" dei ricercatori, ma dipende da due cose. Innanzitutto la preoccupazione di rendere il trapianto di staminali sicuro e di proteggere i pazienti dagli effetti non prevedibili di una nuova terapia. La seconda è una ragione essenzialmente tecnica: è ancora molto difficile riuscire isolare le staminali all'interno di un organo, farle crescere in laboratorio, fornire loro il nutrimento appropriato per proliferare e indirizzarle, dopo il trapianto, nella zona dove devono agire. La multifocalità della SM (il fatto che la malattia colpisce più aree cerebrali contemporaneamente) è uno degli ostacoli principali perché, tuttora, non è stato verificato se sia possibile attuare un multi-trapianto. Inoltre, non è chiaro se le cellule che vengono trapiantate nelle zone danneggiate subiranno lo stesso trattamento delle cellule originali e quindi se verranno anch'esse eliminate dalle cellule immunitarie che nella SM attaccano la **mielina**.

Le sperimentazioni non ufficiali

Olanda, Scozia, Russia, Cina, Corea... I "viaggi della speranza" per fare un trapianto di staminali al di fuori di uno studio clinico controllato si somigliano un po' tutti, come unica variazione sul tema la destinazione. Quanto c'è di vero in queste storie?

In ordine di tempo, l'ultimo caso raccontato dai giornali è quello di Sue Robinson, una donna britannica con SM di 42 anni, di cui dieci passati sulla sedia a rotelle, che ha ripreso a camminare dopo un trapianto di cellule staminali realizzato in una clinica specializzata di Rotterdam, in Olanda. Prima di lei, Mark Westfall, 45 anni con diagnosi di SM dal 1987, che fatto un'operazione simile in Scozia pagando 12.500 sterline e ottenendo in pochissime ore "risultati straordinari. Da allora" ha detto il signor Westfall "non sento più alcun dolore...".

Dossier disponibile sul sito www.aism.it

Aggiornato al 16 marzo 2009

Olanda, Scozia, Russia, Cina, Corea... Questi viaggi della speranza si somigliano un po' tutti, come unica variazione sul tema il Paese di destinazione: raccolto il denaro sufficiente a sottoporsi all'operazione si parte, si fa il trapianto di staminali e nel giro di qualche ora si spera di coronare il sogno di tornare a una vita normale.

Quanto c'è di vero in queste storie? Difficile dirlo. Come minimo dovrebbe insospettire il fatto che le procedure non siano mai eseguite nei centri clinici di riferimento per la SM, ma in cliniche private o su navi galleggianti in acque internazionali, e dietro l'esborso di consistenti cifre di denaro.

Anche negli Stati Uniti, considerata la patria della ricerca medica all'avanguardia, la situazione non pare essere più rosea: oltre mille statunitensi (persone con SM, Parkinson, diabete, lesioni al midollo spinale eccetera) sono in lista di attesa per andare all'estero a fare il trapianto.

La cronaca giornalistica è per natura avida di notizie urlate e di titoloni: nel caso delle staminali, la miscela di questioni etiche (derivate dall'utilizzo degli embrioni sovranumerari) e le giuste aspirazioni di chi vuole trovare una cura per una malattia inguaribile rende la notizia da prima pagina.

Senza nulla togliere alla buona fede di chi testimonia la propria guarigione, un conto è parlare di scienza, un conto basarsi sulle testimonianze individuali o sugli aneddoti.

Ostacolare la libertà di cura non è nell'interesse degli scienziati però la medicina, il cui fine è salvaguardare la salute delle persone e non metterla in pericolo, deve rispettare un metodo rigoroso.

Proporre una terapia innovativa e sperimentale è una questione molto seria e gli scienziati non possono procedere per tentativi sommari e non controllati. Il fatto che i risultati di queste sperimentazioni con le cellule staminali non siano pubblicati dalle riviste scientifiche ufficiali ma trovino spazio solo sui giornali destinati al grande pubblico non depone a favore della loro serietà e sicurezza. Senza contare che, talvolta, prendere la scorciatoia può avere l'effetto paradossale di ritardare l'applicazione di una terapia innovativa.