



MATTIOLI 1885

PEDIATRIA PREVENTIVA & SOCIALE

ORGANO DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI PEDIATRIA PREVENTIVA E SOCIALE



PEDIATRIA PREVENTIVA & SOCIALE

ATTI DEL XX CONGRESSO SIPPS - REGGIA DI CASERTA, 30 MAGGIO - 2 GIUGNO

ANNO III - NUMERO 1/2008



POSTE ITALIANE S.p.A. - SPED. IN A. P. - D.L. 353/2003 (CONV. IN L. 27/02/2004 N. 46) ART. 1, COMMA 1, DCB PARMA

ATTI DEL XX CONGRESSO SIPPS

REGGIA DI CASERTA,
30 MAGGIO - 2 GIUGNO 2008

**PRENDERSI CURA DEL BAMBINO:
PREVENIRE, COMUNICARE,
ASCOLTARE LA FAMIGLIA**

Cellule staminali: attualità e prospettive terapeutiche

G. Caramia

Primario Emerito di Pediatria e Neonatologia
Azienda Ospedaliera Specializzata Materno – Infantile “G. Salesi”, Ancona

*L'intelligenza apre tutte le porte
l'ignoranza le chiude*
Anonimo

Evoluzione delle conoscenze

La ricerca sulle cellule staminali, dal latino “stamina” che significa fili, e quindi fili della vita, termine utilizzato da biologi e medici per esprimere le proprietà della cellula progenitrice di tutte le cellule, rappresenta, nel campo delle scienze della vita, un argomento medico moderno, affascinante, di forte potenzialità, di attenzione internazionale e, per i risvolti etici, di contrastanti dibattiti anche da parte dei cittadini. Sono cellule il cui destino non è ancora “deciso” che, attraverso un processo denominato “differenziazione” possono dare origine a vari tipi di cellule.

Nelle fasi iniziali dello sviluppo umano, dopo l'unione dell'uovo con lo spermatozoo, cioè allo stadio di zigote e fino al quinto giorno, cioè fino allo stadio di sviluppo chiamato blastocisti, le cellule staminali embrionali sono diverse da tutte le altre cellule dell'organismo. Hanno infatti la singolare capacità di differenziarsi nei 271 tipi di tessuto del corpo umano e formare gli oltre centomila miliardi di cellule del corpo umano nel corso dello sviluppo e a seconda della diversa funzione, in

piastrine, globuli rossi e bianchi del sangue, miociti, osteociti, neuroni, pneumociti ecc. Per tale motivo vengono denominate cellule staminali **embrionali totipotenti** (1) (Figg. 1 e 2).

Con l'evolvere del processo di differenziazione e la formazione della blastocisti, cioè dal quinto al 14° giorno e all'attacco all'utero, le cellule perdono alcune caratteristiche in quanto quelle esterne che compongono la blastocisti formano il trofoblasto e danno origine al cordone ombelicale e alla placenta mentre quelle interne formano l'embrioblasto, non sono in grado di dare origine ad un embrione ma danno origine a tutti i tipi di cellule derivati dai tre foglietti embrionali per formare un organismo completo: per questo motivo oggi si parla di pluripotenza della blastocisti e di cellule staminali **embrionali pluripotenti**.

Man mano che il processo di differenziazione progredisce, le cellule staminali sono in grado di dar origine unicamente ad alcuni tipi di cellule e vengono denominate staminali **adulte o somatiche multipotenti** mentre quelle che possono generare solamente un tipo di cellula vengono chiamate staminali **adulte o somatiche unipotenti**. La differenza tra queste cellule risiede pertanto nel grado di specializzazione e, prima che una cellula diventi adulta, con

una specifica funzione, deve passare attraverso fasi diverse di specializzazione. Conservano però tutte le due caratteristiche fondamentali delle cellule staminali: la capacità di rinnovarsi e di differenziarsi (1) (Figg. 1 e 2).

Le cellule staminali entrano in gioco durante lo sviluppo e l'accrescimento, producendo le cellule che costituiranno l'individuo adulto, in seguito a segnali chimici prodotti dalle cellule vicine e non, e, nel corso della vita, quando le cellule dei vari tessuti sono usurate o danneggiate, in seguito al rilascio di particolari sostanze, danno luogo alla loro sostituzione.

Importanti conoscenze biologiche si sono inserite nel vasto capitolo della Medicina negli anni '60 quando Altman J. e Das G. (2, 3), contraddicendo quanto fino a quel tempo noto, hanno evidenziato, nel cervello, la possibilità di una neurogenesi da parte di cellule staminali e quindi della formazione di nuovi neuroni. Successivamente McCulloch E. e Till J. (4) (Fig. 3) hanno rivelato la presenza di cellule staminali autorinnovanti nel midollo osseo di topo responsabili del rinnovamento degli elementi figurati del sangue.

Queste prime ricerche hanno aperto la strada a numerose altre indagini sulle cellule staminali emopoietiche, in grado di svilupparsi in globuli rossi, globuli bianchi e piastrine e di

replicarsi all'infinito anche dopo un trapianto. È emerso quindi che nell'individuo adulto sono presenti delle cellule indifferenziate, a quel tempo considerate unipotenti, che, per le caratteristiche delle cellule staminali, sono in grado di sostituirsi alle cellule del ricevente, alterate per patologie congenite o non più idonee per malattia, lesioni ecc. (5, 6).

Si è così giunti nel 1968 alla realizzazione, con successo, del primo trapianto di midollo osseo tra due fratelli per curare, nel ricevente, una forma congenita grave di immunodeficienza combinata (Severe Combined Immunodeficiency- SCID), prassi terapeutica poi migliorata nel corso degli anni (7-10).

Le numerosissime ricerche che sono seguite hanno portato alla scoperta di cellule staminali ematopoietiche nel cordone ombelicale umano (1978), alla coltivazione in vitro di cellule staminali neurali (1992) (11), alla dimostrazione che la leucemia origina da cellule staminali ematopoietiche, prima prova diretta dell'esistenza di un nesso tra cellule staminali e cancro (1997), all'isolamento e mantenimento in vita di cellule staminali embrionali da embrioni umani, con non più di una settimana di età (1998), fenomeno peraltro già evidenziato nel topo nel 1981, evento che ha fatto sorgere prospettive esaltanti perché la cellula staminale ha nel suo DNA i programmi genetici di qualsiasi tipo di tessuto per cui può differenziarsi nel tipo di tessuto in cui viene impiantata (12), alla scoperta della plasticità delle cellule staminali adulte (2000), all'evidenza che, se, in un'area colpita da infarto, si trapiantano cellule staminali ben selezionate dal midollo osseo, queste sono in grado di ripristinare in breve tempo il 70% del miocardio lesa (2001) (13), alla dimostrazione

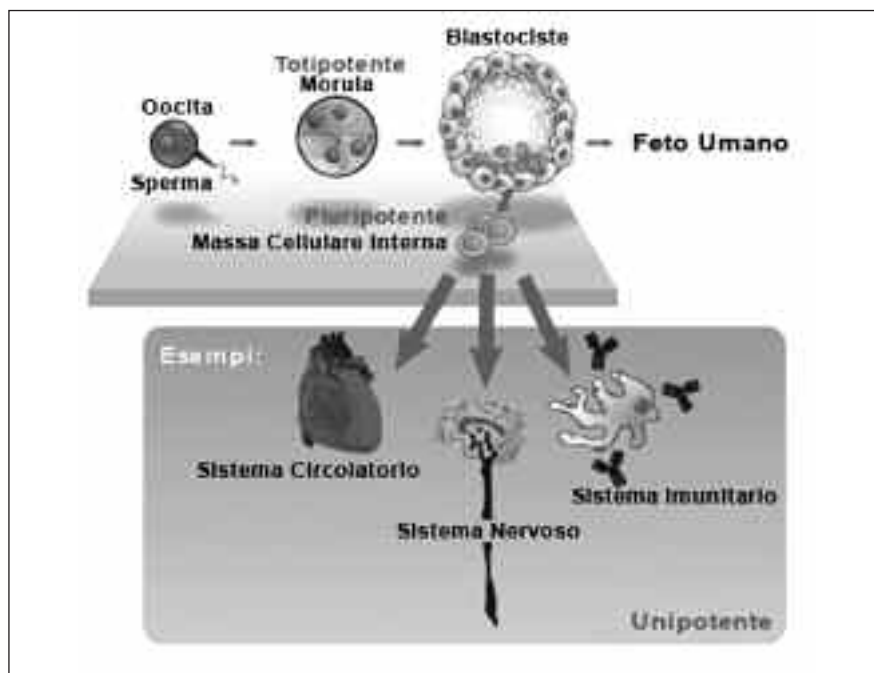


Fig. 1

che cellule staminali prelevate dal midollo osseo e iniettate attraverso un catetere nell'arteria coronaria più vicina all'area del cuore danneggiata portano ad un netto miglioramento della capacità del cuore di contrarsi: viene anche dimostrato che il cuore è dotato di cellule staminali proprie cosa che da luogo ad una nuova linea di ricerca (14, 15), alla scoperta di cellule staminali nel liquido amniotico (16), evento che permette il loro utilizzo senza incorrere nelle limitazioni e nelle controversie etiche riguardanti le staminali embrionali, in quanto si isolano facilmente si moltiplicano in fretta e sarebbero versatili come quelle embrionali, e, del tutto recentemente, viene evidenziato che i fibroblasti si trasformano in cellule staminali pluripotenti, in grado di curare nei topi di laboratorio il morbo di Parkinson (2008) (17-20).

Da quanto ora riportato appare evidente che le cellule staminali entrano in gioco durante lo sviluppo e

l'accrescimento, dando origine alle cellule che costituiranno l'individuo adulto e a quelle che, nel corso della vita rinvoveranno e sostituiranno i vari tessuti usurati o danneggiati. Non hanno un'attività specifica all'interno dell'organismo, se non quella di costituirne una riserva in grado di riprodursi molte volte dando origine a cellule identiche a se stesse e, in presenza di appositi stimoli si trasformano in cellule con specifiche funzioni

Cellule staminali embrionali

Le cellule staminali "per eccellenza" sono quelle embrionali. Nel 1998 James Thomson ha per primo coltivato e moltiplicato in vitro cellule staminali embrionali e fetali umane da embrioni ottenuti con tecniche di fecondazione in vitro, non più utilizzabili all'impianto in utero per cui la loro sorte era comunque la distruzione: nella breve storia delle cellule staminali questo ha rappresentato

una pietra miliare. Infatti, le cellule staminali embrionali contenendo nel loro DNA i programmi genetici di qualsiasi tipo di tessuto, sono totipotenti e una volta impiantate hanno la potenzialità di differenziarsi in quel tipo di tessuto sede del trapianto e “rinnovarlo”. Lo studio di queste caratteristiche permetterebbe pertanto di capire i meccanismi che determinano le malformazioni, la risposta ai farmaci, i meccanismi epigenetici che regolano l’espressione dei geni e quelli utili, in vitro e in vivo, per fermare la corsa delle cellule staminali verso il loro destino, e successivamente di indirizzarle verso la specializzazione voluta, inducendole a differenziarsi in cellule di tutti i tessuti specifici per i trapianti. Si potrebbe inoltre indagare la formazione dei tumori in quanto le cellule tumorali come quelle staminali si riproducono molte volte senza differenziarsi, ma mentre è possibile interrompere la riproduzione di queste ultime, inducendole a differenziarsi, questo non avviene con le cellule tumorali che hanno anche tempi di riproduzione molto più rapidi (21-24). Emerge quindi chiaramente la spettacolare potenzialità delle cellule staminali embrionali per lo studio eziopatogenetico e la cura di molte patologie e l’entusiasmo che questo solleva negli studiosi. Secondo alcuni infatti oggi, per il 15% dei pazienti, non esiste una prospettiva terapeutica valida, per cui è necessario ricercare terapie alternative per trattare patologie scarsamente aggredibili, o che non rispondono adeguatamente alle terapie tradizionali, e per curare danni considerati irreversibili (25).

Le cellule staminali embrionali vengono però ricavate dalle blastocisti, cioè da formazioni sferiche di poche cellule di embrioni e quindi di potenziali esseri umani, che, una volta



Fig. 2

ottenute ed utilizzate determinano la distruzione dell’embrione stesso, atto che equivarrebbe ad una loro uccisione (26, 27) (Figg. 1 e 2). Per tale motivo le ricerche sulle cellule staminali embrionali totipotenti sono diffusamente dibattute, anche sui media. I numerosi interventi di ricercatori e di commentatori hanno alimentato e alimentano intensi dibattiti come sempre accade quando le interazioni fra ricerca scientifica medico-biologica, etica, religione, economia e politica si rivelano in tutta la loro complessità. In tale ambito si trovano infatti contrapposti coloro i quali considerano il concepimento l’inizio della vita dell’“essere umano”, e quindi contrari all’utilizzo degli embrioni umani per fini di ricerca e cura, e coloro che sostengono la necessità di ricerche sulle cellule embrionali umane, pur implicando questa la distruzione dell’embrione, per le enormi implicazioni terapeutiche che ne possono derivare. Gli atteggiamenti verso l’uso di tali cellule staminali a fini di ricerca e/o di cure mediche variano da un paese all’altro. In Italia l’utilizzo per ricerche degli embrioni congelati non più utili per impianti in utero, destinati

quindi alla distruzione, sono vietati dalla legge 40 che regola la disciplina: in pratica è la posizione più restrittiva. In alcuni stati sono permesse ricerche solo su quelle cellule staminali già messe in coltura precedentemente e quelle importate dall’estero (28). Negli Usa ed in particolare in Germania e in Austria, con piccole differenze fra le tre nazioni, l’estrazione di cellule staminali da un embrione umano è considerata illegale (29-32). In Gran Bretagna, Spagna, Francia, Singapore, Israele,

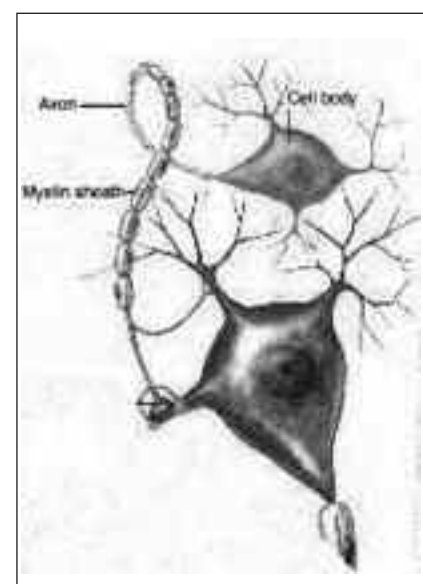


Fig. 3

Corea del Sud è perfettamente legale anche se gli scienziati britannici possono utilizzare embrioni umani solo fino a quattordici giorni dopo la fecondazione dell'ovulo momento in cui l'embrione è un insieme di cellule, grande circa 0,2 mm (33, 34). Infine in molti altri paesi non esistono ancora leggi precise atte a disciplinare la ricerca sulle cellule staminali embrionali umane (35).

La grande controversia sui notevoli aspetti etici e le barriere etiche e politiche determinate dall'utilizzo degli embrioni ha pertanto stimolato gli scienziati di tutto il mondo a cercare altre fonti di cellule staminali totipotenti e/o pluripotenti (36).

Cellule staminali ombelicali

Una importante fonte di cellule staminali **adulte o somatiche multipotenti** è il sangue proveniente dal **cordone ombelicale** e dalla placenta, normalmente eliminato durante il parto.

La particolarità di queste cellule staminali è rappresentata dal fatto che sono cellule simili alle altre staminali adulte che, come è noto da tempo, si trovano ad esempio nel midollo osseo, dalle quali hanno origine i globuli rossi, i globuli bianchi e le piastrine di un organismo adulto, con la differenza che mentre in quest'ultimo sono estremamente poche e difficili da individuare e prelevare, nel sangue del cordone ombelicale sono abbondanti e la loro raccolta avviene senza toccare né la madre né il bambino e, quindi, senza sollevare problemi di natura etica (37). Sono inoltre compatibili con il neonato nel caso in cui sviluppi particolari malattie o abbia bisogno di cellule staminali, e, secondo alcuni, anche per ricostruire organi malati rappresentando così dei veri e propri "pez-

zi di ricambio" per il corpo umano (38, 39). Potrebbero inoltre essere utili come fonte di cellule staminali anche per i familiari (fratelli, sorelle, genitori e nonni) per il vantaggio di una minore potenzialità di rigetto anche se le infezioni sembrano essere più frequenti e gravi (38, 40).

I progressi avvenuti nella ricerca sulle cellule staminali provenienti dal cordone ombelicale, negli ultimi cinque anni, ha destano nel mondo scientifico un interesse crescente in quanto si è scoperto che oltre al **sangue anche l'epitelio e il connettivo del cordone ombelicale**, rappresentano una fonte di cellule staminali multipotenti utilizzabili per generare tipi cellulari diversi quali ad esempio epatociti, mioblasti, cheratinociti, dendriti, cellule dell'endotelio, cellule del pancreas ecc. Anche le cellule mesenchimali del cordone ombelicale, in particolare del neonato pretermine, possono essere considerate una valida fonte di staminali multipotenti, che si spera di poter usare in futuro per l'applicazione clinica e per la medicina rigenerativa sia per il loro potenziale di differenziazione che le colloca in una posizione intermedia fra le cellule staminali embrionali e le staminali adulte, sia per il loro alto tasso di proliferazione e la buona capacità di autorinnovamento (41-43).

Sotto questo aspetto, la conservazione del sangue proveniente dal cordone ombelicale e dalla placenta a scopo autologo, cioè conservato per essere utilizzato, qualora ne dovesse aver bisogno a scopo di autotrapianto, solamente dalla stessa persona che lo ha donato, rappresenta per il neonato una "assicurazione sulla vita" per almeno 25 anni e quindi un vero e proprio, anche se particolare, "regalo".

In Italia, tuttavia, questo tipo di "regalo" non poteva essere fatto in

quanto la legge consentiva la conservazione esclusivamente in strutture statali, non a pagamento, e al solo scopo eterologo oppure utilizzate a scopi di ricerca fatta eccezione, come sentenziato dal Tar del Lazio nel 2002, il caso in cui il trapianto di cellule staminali sia indispensabile per un fratellino o una sorellina ammalati (o consanguinei e parenti di quest'ultimo, donazione dedicata o allogenica correlata). Con l'entrata in vigore del decreto legge 31 Dicembre 2007 n. 248, è autorizzata anche in Italia la raccolta autologa, a pagamento, presso strutture private che però devono essere autorizzate dalle Regioni competenti.

La legge sulla conservazione eterologa impone una donazione "forzata" ma, la conservazione autologa, se ha il vantaggio della totale assenza di rigetti negli autotrapianti d'organi e tessuti, del rischio zero di contrarre nuove malattie che invece esiste, nonostante i controlli, per i trapianti da donatore diverso e compatibile, e della sicura disponibilità in caso di necessità con tempi di attesa nulli, rappresenta un enorme fattore di spreco. Infatti, se si considera che una minima parte dei donatori si ammalerà e avrà realmente bisogno, nonostante l'ampiezza di impieghi possibili delle proprie staminali cordonali, oltre ai costi di ibernazione decennale, molto del prezioso materiale biologico non potrà mai essere utilizzato e, alla fine, finirà nei rifiuti ospedalieri (44,45).

Fra parecchi anni se la conservazione autologa, comprese le staminali cordonali fetali in caso di aborto, fosse estesa a tutte le gravidanze, il problema dello spreco delle staminali non trapiantate nel periodo utile, potrebbe passare in secondo piano poiché parecchie famiglie avrebbero un donatore almeno parzialmente compatibile in caso di necessità e

potrebbero destinarne almeno una parte alla donazione.

La procedura consiste nel prelevare dalla vena ombelicale il sangue rimasto nel cordone e nella placenta che contiene cellule staminali sufficienti per un trapianto in bambini e adulti fino a un peso di circa 50 Kg. Il sangue viene inviato in una sacca sterile alla banca dove le cellule staminali vengono separate dal plasma, congelate e conservate in celle di azoto liquido a -190°C. La conservazione delle cellule di un singolo individuo ha un costo di circa 2.000 euro, per cui la conservazione delle staminali di tutti i neonati è un onere notevole per il Sistema Sanitario Nazionale.

Cellule staminali adulte o somatiche multipotenti e unipotenti

Le cellule del nostro corpo si usano, “muoiono” velocemente e vengono regolarmente sostituite, con una frequenza differente nei vari organi: i globuli rossi del sangue per esempio sono sostituiti ogni 120 giorni, mentre alcuni globuli bianchi durano pochissime ore.

Fino a qualche decennio fa si pensava che le cellule continuassero a dividersi per soddisfare il fabbisogno di nuove cellule, ma dopo la scoperta delle cellule staminali è emerso che alla base dei processi di divisione cellulare ci sono cellule diverse da quelle dei singoli organi: le cellule staminali adulte multipotenti e unipotenti. Le cellule staminali, presenti nei vari tessuti, sono quindi alla base sia dello sviluppo dell'organismo, prima della nascita e dopo, e del mantenimento in vita dopo la nascita.

Sono presenti nei vari tessuti e costituiscono una riserva in grado di riprodursi molte volte dando origine a

cellule identiche a se stesse e di differenziarsi per sostituire quelle perdute: sono pertanto deputate al rinnovamento dei vari parenchimi e “producono” le cellule che servono a mantenerne le funzioni. Queste particolari cellule hanno una maggiore o minore capacità “produttiva” nei vari organi ed apparati, sono in numero limitato e con il passare degli anni o per varie forme di patologie non riescono a sopperire ai bisogni dell'organismo per cui vi è un progressivo deterioramento dei tessuti e conseguentemente dei vari organi.

È possibile isolarle dai vari organi, e opportunamente coltivate, farle crescere di numero e indurle a diventare cellule del tessuto da cui provengono e, con particolari tecniche, cellule di altri tessuti (1) (Fig. 1). Per tale motivo alcuni parlano di “plasticità delle cellule staminali adulte” che è maggiore rispetto all'attesa.

Dai primi trapianti di midollo effettuati nel 1968 ad oggi, la tecnica ha compiuto progressi notevoli e le cellule staminali di origine adulta sono utilizzate per la cura di gravi malattie ematologiche, sia neoplastiche quali leucemie, linfomi, mieloma multiplo, ecc., sia non neoplastiche quali sindromi da immunodeficienza combinata, talassemie, aplasie midollari ecc. e rare patologie sia di natura congenita che acquisita.

A tutt'oggi però le possibilità di guarigione non sono ancora quelle desiderate e sono legate anche a numerosi fattori come la malattia di base, lo stato di salute del paziente, la fonte delle cellule staminali trapiantate, l'età del donatore e del ricevente, il tipo di terapia, di preparazione, la difficoltà di reperire un donatore compatibile nel Registro internazionale dei donatori di midollo osseo e le complicità del trapianto stesso. Si stima che circa il 40-50 per cento dei pazienti per i quali è indicato il

trapianto di cellule staminali ematopoietiche non dispone di un donatore compatibile nell'ambito familiare o nei registri internazionali dei donatori volontari di midollo osseo.

I numerosi studi condotti sulle cellule staminali adulte, hanno evidenziato che in particolare nel midollo osseo ma anche nel liquido amniotico, sono contenute oltre alle cellule staminali emopoietiche (HSCs), cellule staminali non emopoietiche multipotenti di tipo mesenchimale (46-48). Queste sono dotate di capacità di automantenimento e di differenziarsi in senso osteoblastico, condrocitario, adipocitario, mioblastico, epiteliale, neuronale e fibroblastico ma soprattutto producono dei fattori solubili proteici, fattori di crescita e citochine regolatrici, che intervengono nella angiogenesi, nella riparazione delle ferite, nell'attività dei neuroni, nei meccanismi del sistema immunitario ecc. (46, 49). In particolare nell'evenienza di un trapianto di midollo, le cellule mesenchimali e i fattori solubili proteici sono determinanti per favorire la proliferazione e differenziazione delle cellule staminali endogene e quindi l'attecchimento, la guarigione dei tessuti lesi, la riduzione dei processi infiammatori e delle reazioni immunitarie e forse il trasferimento di mitocondri (47).

Del tutto recentemente un altro importante passo è stato compiuto nel mondo delle cellule staminali umane, in continuo rapido sviluppo. Alcuni scienziati, infatti, sono riusciti in vari laboratori a “riprogrammare” cellule umane prelevate da donatori adulti per produrre cellule staminali pluripotenti, che assomigliano nelle loro caratteristiche principali alle cellule staminali embrionali. Se questa procedura potesse entrare nella routine, cellule staminali potrebbero essere estratte dal proprio midollo

osseo, anche dello stesso soggetto, e, dopo opportuni trattamenti in laboratorio, fatte diventare cellule utili per l'impiego terapeutico nella medicina rigenerativa migliorando la vita di molti pazienti e superando gran parte dei problemi etici (18, 19, 50-55)

Cellule staminali e prospettive terapeutiche

Patologia cardiovascolare

Il notevole aumento della frequenza della patologia cardiovascolare e della mortalità da infarto acuto del miocardio verificatasi negli ultimi decenni nel mondo occidentale economicamente più sviluppato, ha stimolato molti studiosi a tentare nuove ipotesi terapeutiche.

Dopo il riscontro di Donald Orlic, in una ricerca su topi colpiti da infarto, che il trapianto di cellule staminali ben selezionate dal midollo osseo era in grado di ripristinare in breve tempo il 70% del miocardio leso, la possibilità di utilizzare lo spettacolare potere delle cellule staminali, ha entusiasmato moltissimi studiosi in ambito cardiologico (14, 56). La spinta alla ricerca è stata ancora maggiore quando è stato evidenziato che il cuore è dotato di cellule staminali proprie (57-59). È stata così verificata, dopo approfonditi studi sperimentali negli animali, la possibilità, di rigenerare e riparare il muscolo cardiaco danneggiato, con cellule staminali cardiache del paziente o cellule staminali autologhe del midollo osseo differenziate in cellule cardiache, arricchite o meno con citochine (60, 61). Questo è stato realizzato con somministrazioni o nella coronaria più vicina all'area del cuore danneggiata (somministrazione intracoronarica) o nel ventricolo

(somministrazione transendocardica) o direttamente nel muscolo cardiaco durante la realizzazione di un bypass (somministrazione intramiocardica) della zona infartuata. Nell'animale da esperimento e nell'uomo, indagini istologiche, immunostologiche, di biologia molecolare e controlli clinici, hanno confermato la prevenzione della morte per apoptosi delle cellule, l'aumento della concentrazione delle cellule staminali endogene nella zona infartuata, il miglioramento della perfusione e della funzionalità cardiaca globale e della capacità di rigenerazione delle cellule e dei vasi del miocardio ad opera delle cellule staminali.

Tutti i metodi di applicazione del materiale biologico inseguono lo stesso obiettivo: rigenerare il miocardio danneggiato, sia attraverso il trans-differenziamento di cellule staminali derivate dal midollo osseo del paziente in cellule del miocardio, sia attraverso l'arricchimento di cellule staminali cardiache del paziente, sia attraverso la riparazione del muscolo cardiaco in degenerazione con citochine (62, 63).

Le cellule staminali derivate dal midollo osseo hanno dimostrato di essere in grado di trasformarsi in cellule cardiache endoteliali, cellule muscolari lisce dei vasi e cellule muscolari cardiache quando vengono introdotte nel cuore. Anche se alcuni dati indicano che questo avviene in maniera alquanto limitata in quanto dei miliardi di cellule iniettate in una coronaria, solo pochi milioni riuscirebbero veramente ad impiantarsi nel muscolo cardiaco, la loro presenza permette di avere un'elevata concentrazione delle stesse nella zona infartuata e, con il rilascio delle loro citochine intracellulari cardiotropiche, di fattori chemioattraenti e dei fattori di crescita, favorirebbero la migrazione delle cellule staminali

endogene dalle nicchie del cuore (es. atrio ed apice del ventricolo sinistro) alle aree danneggiate (64). Tutto ciò stimola la biogenesi e l'angiogenesi, modula la risposta immunitaria e previene la morte per apoptosi delle cellule site al confine con la zona infartuata. In uno studio controllato in doppio cieco è stato osservato un miglioramento significativo della funzionalità cardiaca sia a livello regionale che globale, dopo il trattamento con cellule staminali, rispetto al gruppo di controllo non trattato (65).

Il prelievo dalle nicchie nel tessuto cardiaco, la riattivazione, il differenziamento e l'arricchimento delle cellule cardiache endogene o di precursori cellulari di nuove cellule cardiache e la loro somministrazione in loco, rappresenta un'alternativa attraente al trapianto delle cellule staminali autologhe derivate dal midollo osseo. Questo approccio avrebbe il vantaggio di essere meno invasivo e potrebbe utilizzare solo le cellule staminali residenti del paziente e appare interessante in quanto il cuore nell'adulto ha la capacità di riparare se stesso (66).

Ultima sfida per la miogenesi terapeutica (ri-generazione muscolare) è l'aumento del processo di mobilitazione delle cellule staminali dal midollo osseo con l'aiuto di chemioattrattori quali G-CSF o GM-CSF e il passaggio nel sangue periferico delle cellule staminali emopoietiche, delle cellule staminali mesenchimali e dei precursori cardiaci dal midollo osseo e la loro migrazione nelle aree danneggiate del cuore.

Alcuni studi hanno dimostrato che il trapianto di cellule staminali derivanti dal midollo osseo sarebbe indicato per il trattamento dell'infarto acuto del miocardio e per le malattie croniche delle coronarie mentre le cellule staminali derivate dal mio-

cardio e le cellule endoteliali riducono i sintomi clinici come l'angina pectoris (67).

Fra le numerose variabili che possono dar luogo a risultati discordanti e che vanno tenute presenti, bisogna ricordare il recente riscontro che la continua riparazione e rigenerazione delle cellule, importanti per la omeostasi cardiovascolare, tende ad esaurirsi con la senescenza e può essere evidenziato dalla minore lunghezza dei telomeri, cioè dei terminali dei cromosomi eucarioti, in particolare di quelli dei granulociti rispetto ai linfociti. Questi markers predittivi dell'età biologica, in quanto i telomeri più corti stanno ad indicare cellule provenienti da un midollo più vecchio e da più tempo in circolo, si associano a vari tipi di malattie cardiovascolari quali aterosclerosi delle coronarie ed insufficienza cardiaca. In tali soggetti l'accorciamento dei telomeri delle cellule del midollo osseo, che sembra peraltro migliorare in corso di terapia con statine, esprime una funzionalità non adeguata del midollo, è in rapporto con l'estensione della patologia cardiaca ed è l'indice più sensibile di un midollo osseo in difficoltà. Pertanto le cellule del midollo osseo del soggetto colpito da infarto cardiaco, potrebbero risultare non ottimali a ottenere un adeguato successo terapeutico (68-71). Se tale indagine potesse entrare nella routine, oltre ad assumere un aspetto prognostico potrebbe stimolare la messa in opera di presidi terapeutici e quindi il controllo dei risultati con questi ottenuti.

Da quanto sopra, emerge chiaramente che sono necessarie numerose altre indagini per chiarire e definire quale tipo di malati può trarre i maggiori vantaggi dal trapianto di cellule staminali, quale è la migliore fra le opzioni terapeutiche su ripor-

tate, quali i dosaggi terapeutici di cellule staminali, il ruolo delle citochine del midollo osseo nelle varie condizioni patologiche e i reali risultati a distanza dall'intervento terapeutico. Vi sono però fondati motivi per affermare che, in base agli studi più recenti, la terapia con cellule staminali autologhe può essere considerata utile ed eticamente giustificata di fronte a una grave compromissione del muscolo cardiaco o a malattie croniche delle coronarie con diminuita vascolarizzazione ed ossigenazione dei tessuti. (57, 64, 66, 72).

Ulteriori studi clinici controllati e possibilmente randomizzati contro placebo, sono quindi indispensabili perché il trapianto delle cellule staminali, nuova frontiera della medicina rigenerativa cardiaca, diventi una brillante realtà.

Patologia Endotelio-vascolare

Durante l'embriogenesi i vasi sanguigni sono formati dagli angioblasti e, dopo la nascita, le strutture vascolari prendono origine dalle cellule denominate "endothelial progenitor cells" (EPCs), scoperte nel 1997 (73).

L'integrità delle cellule endoteliali, rivestimento interno delle pareti vascolari, è mantenuta da tali precursori cellulari endoteliali circolanti, responsabili della ri-endotelializzazione e della neo-vascolarizzazione che si verifica in seguito a lesioni di varia natura. Questo processo avviene in due tappe successive rappresentate dalla mobilitazione di tali cellule dal midollo osseo e da altri tessuti, e dal loro impianto, proliferazione e differenziazione per formare nuovi vasi e ricostituire i tessuti lesi (74).

È stato così osservato che tali precursori cellulari endoteliali circolan-

ti, giocano un ruolo di primo piano nel recupero delle lesioni vascolari cerebrali post traumatiche per cui, nel caso del trauma cranico, dopo un calo nei primi due giorni, che risulta tanto più spiccato quanto più grave è il trauma e il Glasgow Coma Scale, vi è un aumento che raggiunge il massimo livello dopo sette giorni dal trauma ed è sempre proporzionato alla sua gravità (75). Ugualmente, nella guarigione dei tessuti ustionati, il loro livello sembra essere proporzionato al danno parenchimale e ai livelli di citochine angiogeniche che, secondo alcuni, potrebbero essere usate in futuro per stimolare la produzione di precursori cellulari endoteliali (76). Tali precursori sono anche importanti nella prevenzione ed evoluzione delle lesioni aterosclerotiche, limitandone la formazione e l'estensione (77, 78).

Le EPCs provengono da cellule progenitrici endoteliali del midollo osseo, da cellule staminali mesenchimali, cardiache, neurali e, molto verosimilmente, già in epoca neonatale, anche dall'intestino e dal fegato (74, 79, 80). Hanno un'attività antiaterogena significativamente ridotta in pazienti con malattie croniche delle coronarie e con fattori di rischio quali l'età avanzata, il diabete, l'ipertensione, l'iperlipemia ecc. In tali soggetti, questo potrebbe essere imputato anche ad una capacità di rigenerazione, da parte dei precursori endoteliali circolanti, non adeguata ai bisogni dell'organismo e potrebbe rappresentare un indice di laboratorio prognostico e, qualora disponibili, di intervento terapeutico di notevole interesse in soggetti con malattie croniche delle coronarie (78).

Studi sperimentali hanno evidenziato che i precursori endoteliali circolanti, ridotti in corrispondenza di lesioni acute vascolari post aterosclerotiche con occlusione dei vasi,

ischemia e ipossia, una volta affluiti in tali sedi contribuiscono alla neoangiogenesi, facilitando l'apporto di sangue nei tessuti e la rigenerazione tissutale. Per tale motivo, l'introduzione di precursori cellulari da fonti diverse, sangue periferico, midollo osseo, tessuto cardiaco, vengono utilizzati per migliorare il recupero dopo l'ischemia tissutale. Secondo alcuni però l'effetto terapeutico della terapia cellulare delle malattie ischemiche potrebbe non dipendere solo dall'incorporazione fisica delle cellule nel rivestimento endoteliale. Potrebbe essere dovuto anche a fattori di crescita rilasciati dagli stessi precursori che, a loro volta, potrebbero promuovere la formazione di nuovi vasi sanguigni e/o la riparazione dei tessuti

L'aumentata formazione di nuovi vasi sanguigni, aspetto importante per i pazienti con ischemia acuta o cronica, si rivela però dannosa in presenza di tumori. Studi nei topi in cui le cellule staminali ed emopoietiche endoteliali non possono essere mobilitate, hanno evidenziato una riduzione della crescita tumorale, confermando che i EPCs facilitano la formazione dei vasi sanguigni nei tumori e quindi la crescita tumorale. Il contributo dei precursori endoteliali nella formazione dei vasi sanguigni dipende dal tipo di tumore e la loro determinazione potrebbe rivelarsi utile anche per monitorare la risposta alla terapia anti-tumorale. Ulteriori studi con tecnologie adeguate e standardizzate permetteranno importanti progressi terapeutici (81).

Patologia della cute e degli occhi

Dopo il trapianto di midollo osseo, primo importante successo nella medicina rigenerativa, un'altra grande conquista è stata ottenuta nel 1981

quando è stato dimostrato che il trapianto autologo di epidermide umana, prelevata, coltivata in laboratorio e trapiantata in soggetti ustionati, ha permesso di ricostituire una normale funzione della cute (82).

Successivamente cheratociti autologhi situati nella membrana basale dell'epitelio derivati dall'epidermide, sono stati usati per molti anni per produrre tessuto epidermico da trapiantare in lesioni a tutto spessore della cute secondarie a ustioni di terzo grado. Purtroppo però tale prassi terapeutica non sempre ha avuto successo per la mancanza di corrette metodologie di coltura delle cellule, per un numero non adeguato di cellule staminali, per la preparazione non ottimale del tessuto da trapiantare e delle modalità del trapianto (83).

Oggi, dopo i notevoli progressi compiuti nella conoscenza dei meccanismi che determinano la trasformazione delle cellule staminali in tessuti come la pelle, è noto che alcune cellule staminali dell'epidermide, strato protettivo esterno della pelle privo di vasi sanguigni che si rinnova ogni mese, denominate cheratinociti staminali, sono multipotenti. Possono rigenerare tutti i tipi cellulari dei tessuti da cui sono derivate e non vanno incontro ad un accorciamento dei cromosomi evento che, nelle cellule normali, è espressione del loro invecchiamento. I cheratinociti staminali coltivati in laboratorio danno origine all'epitelio stratificato che rappresenta la parte esterna della pelle e possono raddoppiarsi tante volte da produrre la superficie epidermica di un essere umano (8×10^{10} cellule). Possono pertanto essere trapiantate, come autotrapianto, in pazienti con danni o difetti epiteliali anche molto estesi (83).

In soggetti con ampie zone di depigmentazione o vitiligine, l'autotrapianto delle cellule che producono i

pigmenti della pelle, i melanociti, se sono cresciuti insieme ai cheratinociti si riproducono in numero sufficiente per produrre lembi di cute per coprire vaste aree interessate dalla vitiligine con cute pigmentata evidenziando l'importante ruolo dei cheratinociti.

Una recente indagine sul trattamento delle ulcere venose croniche delle gambe, patologia che interessa l'1% delle persone adulte, con trapianto di pelle autologa, seguendo metodologie semplici, attuabili anche in ambulatorio, senza interventi chirurgici complessi e costosi, ha permesso di ottenere risultati positivi in un numero elevato di soggetti (84).

Un interessante impiego delle cellule staminali è stato recentemente realizzato anche nell'epidermiolisi bollosa, condizione patologica, generalmente distinta in tre principali forme, nella quale le indagini genetiche hanno permesso di individuare almeno 10 diversi geni espressi nella membrana basale, che spiegano ampiamente lo spettro di gravità osservato nelle diverse forme di malattia. Tale condizione patologica è caratterizzata dall'incapacità dei cheratinociti, cioè della parte superficiale della pelle (epidermide) di aderire a quella profonda (derma) per cui ne derivano scollamenti, frequenti infezioni con dolore e cicatrici anche al semplice strofinamento sulla cute. Le cellule staminali provenienti dall'epidermide del paziente, prelevate con una biopsia cutanea, sono state corrette geneticamente mediante l'inserimento, con un vettore retrovirale, del gene sano, e fatte crescere in laboratorio. La crescita è stata seguita fino a ottenere lembi di epidermide sufficientemente grandi da poter essere trapiantati con successo su due zone delle gambe del malato cioè quelle più a rischio e più suscettibili di andare incontro a lesioni e

ad infezioni (85). Bisognerà però valutare nel tempo la sicurezza generale del trattamento, la sopravvivenza a lungo termine delle cellule modificate geneticamente nei lembi di cute trapiantati, la risposta immunitaria contro il nuovo gene utilizzato per la "riparazione" e la persistenza dell'espressione del nuovo gene.

I tentativi di migliorare gli esiti delle ustioni chimiche agli occhi, ed in particolare alla cornea, che per un anomalo processo di cicatrizzazione inducono la formazione di nuovi vasi sanguigni, infiammazione cronica e formazioni di cicatrici con notevole compromissione delle capacità visive dell'occhio interessato, ottengono oggi molto spesso un buon risultato. Questo è stato favorito dal facile accesso alle strutture oculari, dalla omogeneità delle cellule che formano i differenti strati dell'epitelio della cornea, dalle nuove conoscenze sulle cellule staminali dei cheratinociti contenuti in tale epitelio e nei tessuti adiacenti e dal miglioramento nelle tecniche di coltura delle cellule da trapiantare. La cornea a differenza degli altri epitelii, non contiene cellule staminali per cui i trapianti di cornea hanno oggi buon esito in quanto, invece di ricorrere alla chirurgia convenzionale, si trapiantano contemporaneamente anche le cellule del limbus cioè la zona di transizione della cornea che fornisce le cellule staminali indispensabili al rinnovo della cornea (86).

Le cellule staminali cheratinocitiche potrebbero essere usate per riparare o rigenerare altri epitelii pluristratificati come l'uretra, in caso di gravi ipospadie, o la vescica nelle estroflexioni vescicali in cui le cellule epiteliali prese e cresciute in laboratorio possono essere utilizzate per ricostruire la parte mancante.

Da quanto ora riportato emerge chiaramente che le ustioni, le ulcere

cutanee, le ulcere oculari rappresentano un problema di notevole impatto clinico, sociale ed economico per il servizio sanitario nazionale. Sono patologie molto diffuse, in gran parte prive di terapie adeguate e risolutive che, dopo circa trent'anni dalla scoperta di far crescere da un piccolo frammento bioptico un grande numero di cheratinociti dell'epidermide umana trovano una valida risposta nella medicina rigenerativa.

Patologia Neurologica

Per alcuni decenni, la scoperta di Altman e Das, dell'inizio degli anni '60, che anche nell'uomo, i neuroni adulti erano in grado di proliferare cellule neuronali "nuove" in due particolari aree del cervello, il giro dentato della formazione ippocampale e i bulbi olfattori, è stata sottovalutata probabilmente perché si scontrava con il vecchio concetto che non esistesse un'attività di neurogenesi da parte di cellule staminali nel cervello. Verso la fine degli anni '90, alcuni studiosi, con tecniche più evolute, sono riusciti a confermare il riscontro della neurogenesi anche nell'uomo nella zona subventricolare e nel giro dentato dell'ippocampo (87). Come per altri tessuti la funzione della neurogenesi, è di contribuire al mantenimento dell'omeostasi tissutale, generando una progenie di cellule differenziate che sostituisce quelle andate perse a causa di rinnovamento fisiologico o di lesioni. La produzione di nuovi neuroni, peraltro notevolmente ridotta rispetto ad altri tessuti come l'epidermide, l'epitelio intestinale, il sistema emopoietico, ecc., sarebbe, secondo le attuali conoscenze, una prerogativa della zona subventricolare dei ventricoli e il giro dentato dell'ippocampo (87-89).

Successivamente alla conferma dell'esistenza di un processo di neurogenesi nel cervello dell'adulto è emerso che le cellule staminali neuronali sono cellule immature con le potenzialità di generare non solo i tipi principali di cellule del sistema nervoso centrale, neuroni, astrociti e oligodendrociti, elementi che possono essere trapiantati anche nell'uomo, ma, paradossalmente, possono essere moltiplicate in coltura più facilmente di quelle di tessuti molto più attivi mitoticamente e, per una maggior plasticità, possono dare origine a cellule ematopoietiche, epatiche, polmonari, renali ecc.

Si è inoltre cercato di isolare le cellule staminali neuronali, di capirne le caratteristiche e le proprietà biologiche fondamentali, di mettere in atto meccanismi di rigenerazione e di indagare l'importanza funzionale del processo di neurogenesi nel giro dentato dell'ippocampo.

La strada da percorrere è ancora molto lunga ma è emerso che la neurogenesi che si ha nell'ippocampo avrebbe come funzione principale quella di consolidare la memoria, elaborare le informazioni per permetterne l'immagazzinamento nelle aree corticali e nell'adulto permettere di elaborare le nuove e complesse informazioni che l'individuo riceve nel corso della vita per una buona attività intellettuale.

Inoltre il beneficio delle terapie a base di cellule staminali neuronali sarebbe dovuto o alla sostituzione dei neuroni persi o a fattori neurotrofici che promuovono la sopravvivenza dei neuroni del ricevente o ad effetti immunomodulatori. Alcuni fattori di crescita quali quello dell'epidermide (EGF, epidermal growth factor) e dei fibroblasti (FGF, fibroblast growth factor) possono inoltre stimolare la neurogenesi dei precursori/cellule staminali dalla zona sub-

ventricolare dei ventricoli laterali, con la conseguente sostituzione dei neuroni e il recupero funzionale. Per verificare l'efficacia terapeutica delle cellule staminali neurali sono state condotte indagini in topi con encefalomyelitis autoimmune sperimentale (EAS). Questo è un modello animale di sclerosi multipla dell'uomo, malattia infiammatoria cronica demielinizzante del sistema nervoso caratterizzata dalla presenza nel SNC di infiltrati infiammatori composti da una minoranza di cellule T autoreattive e da una moltitudine di linfociti patogenici che causano la tipica demielinizzazione multifocale progressiva e mortale alle strutture nervose. È così emerso che somministrando per via intratecale o endovenosa vanno a localizzarsi selettivamente all'interno di aree di demielinizzazione nel SNC, completano in vivo il processo di differenziazione e permettono la trasmissione degli impulsi nervosi eliminando quasi del tutto i deficit neurologici clinici e funzionali provocati dall'EAS. Le cellule staminali neurali aderiscono alle cellule infiammatorie e determinano la morte e possono pertanto promuovere, nel modello sperimentale di sclerosi multipla, la rimielinizzazione multifocale e il recupero funzionale o la stabilizzazione. Verrebbe pertanto messo in atto un meccanismo di neuro protezione producendo nuova mielina per rallentarne, o addirittura bloccarne, la perdita negli assoni, e uno di immunosoppressione sfruttando la loro attività antinfiammatoria e immunomodulante, all'inizio non prevista, per proteggere il tessuto nervoso (90). Il passaggio della sperimentazione dall'animale all'uomo è però ancora lontana da venire. Questo sia perché bisogna rendere il trapianto di staminali sicuro proteggendo i pazienti dagli effetti non prevedibili di una nuova terapia,

sia per non incorrere negli effetti collaterali dei trapianti di cellule staminali emopoietiche autologhe da alcuni sospettati, sia perché è molto difficile riuscire a isolare delle staminali ottimali, farle crescere e indirizzarle, dopo il trapianto, nella zona bersaglio (91). La multifocalità della sclerosi multipla, interessando più aree cerebrali contemporaneamente, è uno degli ostacoli principali. Inoltre, non è chiaro se le cellule trapiantate verranno distrutte dalle stesse cellule che attaccano la mielina. Qualora fosse confermato che è possibile avere delle cellule embrionali pluripotenti indotte dalle cellule somatiche del paziente, senza ricorrere a fattori di trascrizione (Oct3/4, Sox2, Klf4 and c-Myc), sarebbero superati i problemi del rigetto, il rischio di tumori e i problemi etici (92-94).

Le cellule staminali sono state prospettate anche per la terapia del Parkinson malattia evolutiva del sistema nervoso centrale caratterizzata da tremori, rigidità dei muscoli, alterato controllo dei movimenti, ipocinesia fino alla paralisi, che si stima colpisca circa l'1-2% delle persone oltre i settant'anni, ma può insorgere già dai quarant'anni d'età. È dovuta alla degenerazione di alcune strutture del sistema nervoso centrale, la substantia nigra, con perdita selettiva di neuroni che producono il neurotrasmettitore dopamina.

Dopo numerosi studi negli animali da esperimento, anche nell'uomo è stato evidenziato che i neuroni di tessuto embrionale mesencefalico umano trapianti, possono riattivare la liberazione di dopamina con evidente miglioramento clinico (95). Tale risultato terapeutico è stato però molto variabile e in rapporto allo stadio di reversibilità della malattia, alla sopravvivenza e allo sviluppo dei neuroni dopaminergici trapiantati, che dovrebbero essere in numero su-

periore a 100.000, al fatto che il materiale sia stato trapiantato nella sede della lesione e ad altre variabili (96-98).

Attualmente, dopo successi che si possono definire stimolanti, per ottenere risultati migliori i ricercatori stanno seguendo due direttive: coltivare cellule staminali ottimali in vitro e definirne il migliore grado di differenziazione per il trapianto; evidenziare gli elementi che possono stimolare le cellule staminali dei pazienti e i meccanismi di rigenerazione nel morbo di Parkinson, nelle lesioni dei neuroni motori e del midollo spinale.

Da quanto ora riportato, si prospettano vari approcci per la cura delle malattie neurologiche: una terapia cellulare somministrabile direttamente nel cervello o infusa per via venosa o arteriosa; la stimolazione delle cellule staminali endogene da parte di citochine, come i fattori stimolanti la crescita granulocita (GCSF), o da chemochine, o da fattori trofici e di crescita come i fattori neurotrofici cerebrali (BDNF), o da fattori neurotrofici gliali, terapie che possono essere usate anche associate (99).

Il possibile impiego delle cellule staminali sembra interessante per la terapia di varie patologie neurologiche quali l'ictus o emorragia cerebrale e la trombosi che determina la morte del tessuto cerebrale non più irrorato. In tali casi le cellule staminali potrebbero dare origine a cellule nervose per sostituire quelle distrutte.

Il loro impiego sembra essere molto promettente in particolare per il morbo di Parkinson mentre per molte altre dalla sclerosi multipla, alla sclerosi laterale amiotrofica, all'Alzheimer e ad altre patologie neurodegenerative il traguardo è ancora molto lontano (100). Va infine rilevato che mentre nelle fasi iniziali si

riteneva molto importante l'apporto cellulare, oggi si ritiene che questo agisca anche fornendo supporti trofici al tessuto cerebrale danneggiato utili per l'angiogenesi e la neurogenesi. Sono però necessarie molte altre ricerche perché le acquisizioni ottenute da studi sperimentali possano essere trasferiti nella pratica clinica routinaria (99, 101, 102).

Considerazioni conclusive

L'evoluzione, nel corso di molti millenni, ha plasmato e perfezionato il corpo umano e, oggi, l'uomo con l'uso delle cellule staminali e la medicina rigenerativa cerca di mettere riparo ai danni dovuti a malattie, a lesioni di vario genere e ai molti processi degenerativi dell'invecchiamento.

La possibilità di controllare lo spettacolare potere delle cellule staminali, sia embrionali che adulte, allo scopo di curare vari tipi di malattie, entusiasma e stimola a continue ed affannose ricerche gli studiosi di tutto il mondo i quali, in una gara quotidiana, cercano di carpire alla natura i segreti biochimici che riguardano la pluripotenza o multipotenza cellulare, la evoluzione e la differenziazione e i meccanismi vitali dei vari tipi di cellule: le origini della vita stessa.

In ambito clinico-terapeutico, la storia delle cellule staminali è iniziata negli anni '60 quando i ricercatori hanno scoperto la loro presenza nel midollo e sono iniziati i trapianti di staminali emopoietiche da midollo osseo. Da allora, in poco più di 40 anni, che sono un nulla nella lunga storia della medicina occidentale iniziata con Ippocrate nel V secolo a.C., ma che sono tanti per chi ha intensamente vissuto i progressi, dovuti all'ingegno dell'uomo, sono sta-

ti veramente travolgenti. Basti pensare che oggi in Italia ogni regione ha almeno un centro in grado di eseguire un trapianto di staminali ematopoietiche da midollo che permette di ottenere la guarigione clinica di oltre il 70% dei malati di leucemia acuta, nel 100% delle persone affette da aplasia midollare e di circa il 90% dei bambini con talassemia o altre patologie ematologiche o metaboliche congenite (103).

Importanti studi su riportati hanno inoltre evidenziato che, nell'uomo, le staminali sono oggi usate con successo anche per curare le ustioni, la cecità in caso di lesioni alla cornea, per ricostruire parti di tessuto cardiaco danneggiate da un infarto e per riattivare la produzione di dopamina dalle cellule della "sostanza nigra" nel morbo di Parkinson (104). Inoltre l'interesse sulle cellule staminali è tale che le novità sono quasi quotidiane come la possibilità dell'ingegneria tissutale di riparare ossa, cartilagini, muscoli, tendini e legamenti o di generare delle valvole cardiache umane a partire da cellule staminali presenti nel liquido amniotico o di produrre cellule beta per produrre insulina e vincere il diabete o di usarle per lo studio di tossicità di nuovi farmaci o come veicolo con il quale far arrivare i farmaci alle cellule dell'organo bersaglio ecc. (105-108).

In tutti questi anni, come spesso succede quando la ricerca scientifica medico-biologica solleva aspetti di bioetica coinvolgendo religione, economia e politica, cioè la società tutta, non pochi sono stati i dibattiti anche appassionati sull'uso delle cellule staminali embrionali che derivano dalla soppressione di embrioni, sia pure nella loro fase primordiale. In tale dibattito anche le tre religioni mono-teistiche sono intervenute assumendo posizioni diverse. Infatti mentre

la religione cattolica ritiene che la vita abbia inizio dall'incontro dell'uovo con lo spermatozoo e quindi interrompere la normale evoluzione significa mettere fine alla vita di un essere umano, per l'Ebraismo e per l'Islam l'embrione diventa essere umano al momento della nascita. Pur essendo concordi nel divieto di produrre deliberatamente embrioni in vitro al solo fine della ricerca, Ebraismo e Islam non considerano l'embrione in vitro una vita potenziale a tutti gli effetti, per cui la ricerca scientifica è permessa. L'Ebraismo ritiene che l'uovo fertilizzato non sia ancora una persona e, quindi, non abbia diritto alle stesse tutele. Pone solo tre condizioni alla ricerca su tali cellule: l'embrione deve essere in vitro, cioè extracorporeo alla donna; deve avere meno di 40 giorni e la ricerca deve avere il fine ultimo di salvare altre vite umane. La religione Islamica invece si spinge anche oltre affermando che la ricerca sulle cellule staminali è doverosa ed addirittura obbligatoria, al fine di acquisire nuove conoscenze utili a salvare vite umane per cui studi sono in corso in Iran, Egitto, Singapore, Turchia ed anche Arabia Saudita per un uso responsabile degli embrioni.

Tali accesi dibattiti sugli aspetti etici suscitati dall'uso delle staminali embrionali sarebbero superati se venisse realizzata la possibilità, come recentemente riportato, di ottenere cellule staminali embrionali umane partendo da fibroblasti del derma (92-94).

Una tale scoperta sarebbe veramente epocale per l'opportunità di avere una sorgente illimitata di cellule staminali embrionali autologhe, senza sacrificare embrioni, sviluppare una tecnologia di ringiovanimento facilmente applicabile ed efficace in termini di resa, eliminare il rischio di rigetto, ridurre la possibilità che le

cellule “tornate bambine” inducano tumori, aumentare l’efficienza del metodo che si basa sull’ingegneria genetica, potenzialmente pericolosa.

Quando sulle cellule staminali delle ipotesi lusinghiere vengono avanzate, immediatamente partono nuove ricerche per verificarne la fondatezza, sfruttarne i vantaggi e per progredire nelle conoscenze. Le prospettive che si aprono sono pertanto affascinanti, le applicazioni future non si contano e gli scienziati non nascondono le immense possibilità che sembrano dischiudersi.

Nonostante l’enorme speranza suscitata dalle tante scoperte, amplificate dai mezzi di comunicazione attuali, la storia delle cellule staminali come tutte le conquiste scientifiche ha un andamento altalenante e prima che i pazienti possano davvero beneficiare di queste tecniche nella routine clinica passerà molto tempo (109). Forse sulle cellule staminali e sulla loro potenzialità terapeutica “si sono spese troppe parole” mentre non è il caso di alimentare speranze premature.

Ai trionfi eccezionali registrati in campo diagnostico non sempre seguono analoghi successi in campo clinico: si devono prima imparare ancora tante cose.

Bibliografia

- Weiner LP. Definitions and criteria for stem cells. *Methods Mol Biol* 2008; 438: 3-8.
- Altman J. Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science*. 1962; 135: 1127-8.
- Altman J, Das GD. Autoradiographic examination of the effects of enriched environment on the rate of glial multiplication in the adult rat brain. *Nature* 1964; 204: 1161-3.
- McCulloch EA, Till JE. Proliferation of hemopoietic colony-forming cells transplanted into irradiated mice. *Radiat Res* 1964; 22: 383-97.
- Congdon CC. Bone marrow transplantation. *Science* 1971; 171: 1116-24.
- Biggar WD, Park BH, Good RA. Compatible bone marrow transplantation and immunologic reconstitution of combined immunodeficiency disease. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1975; 11: 385-90.
- Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, Hong R. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1968; 2: 1366-9.
- Kenny AB, Hitzig WH. Bone marrow transplantation for severe combined immunodeficiency disease. Reported from 1968 to 1977. *Eur J Pediatr* 1979; 131: 155-77.
- Antoine C, Müller S, Cant A, Cavazzana-Calvo M, et al. Long-term survival and transplantation of haemopoietic stem cells for immunodeficiencies: report of the European experience 1968-99. *Lancet* 2003; 361: 553-60.
- Chinen J, Davis J, De Ravin SS, Hay BN, et al. Gene therapy improves immune function in preadolescents with X-linked severe combined immunodeficiency. *Blood* 2007; 110: 67-73
- Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, McBurney MW, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* 1994; 13: 1071-82.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
- Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Transplanted adult bone marrow cells repair myocardial infarcts in mice. *Ann NY Acad Sci* 2001; 938: 221-9.
- Urbanek K, Quaini F, Tasca G, Torella D, Intense myocyte formation from cardiac stem cells in human cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 10440-5.
- De Coppi P, Bartsch G Jr, Siddiqui MM, Xu T, et al. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat Biotechnol* 2007; 25: 100-6.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126 (4): 663-76.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007; 131: 861-72.
- Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, et al. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 2008; 451: 141-6.
- Lowry WE, Richter L, Yachechko R, Pyle AD, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 2883-8.
- Pera MF, Reubinoff B, Trounson A. Human embryonic stem cells. *J Cell Sci* 2000; 113: 5-10.
- Prelle K, Zink N, Wolf E. Pluripotent stem cells—model of embryonic development, tool for gene targeting, and basis of cell therapy. *Anat Histol Embryol* 2002; 31: 169-86.
- Wobus AM, Boheler KR. Embryonic Stem Cells: Prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev* 2005; 85: 635-8.
- Li X, Zhao X. Epigenetic regulation of mammalian stem cells. *Stem Cells Dev* 2008 Mar 17 [Epub ahead of print]
- Newman MB, Bakay RA. Therapeutic potentials of human embryonic stem cells in Parkinson’s disease. *Neurotherapeutics* 2008; 5 (2): 237-51.
- Roccio M, Goumans MJ, Sluijter JP, Doevendans PA. Stem cell sources for cardiac regeneration. *Panminerva Med* 2008; 50: 19-30.
- Solomon LM, Brockman-Lee SA. Embryonic stem cells in science and medicine, part II: Law, ethics, and the continuing need for dialogue. *Gend Med* 2008; 5: 3-9.
- Pasotti J, Stafford N. It’s legal: Italian researchers defend their work with embryonic stem cells. *Nature* 2006; 442: 229.
- Gottweis H. Stem cell policies in the United States and in Germany. *Policy Stud J* 2002; 30: 444-69.
- Takala T, Häyry M. Benefiting from past wrongdoing, human embryonic stem cell lines, and the fragility of the German legal position. *Bioethics* 2007; 21: 150-9.
- Krones T, Neuwohner E, Bock K, Manolopoulos K, et al. Attitudes of patients, healthcare professionals and ethicists towards embryonic stem cell research and donation of gametes and embryos in Germany. *Reprod Biomed Online* 2006; 13: 607-17.
- Stafford N. Germany liberalises law on stem cell research. *BMJ* 2008; 336: 851.
- Towns CR, Jones DG. Stem cells: public policy and ethics. *NZ Bioeth J* 2004; 5: 22-8.
- Holm S. ‘New Embryos’ - New Challenges for the ethics of stem cell research. *Cells Tissues Organs* 2008 Feb 12 [Epub ahead of print]
- Denker HW. Human Embryonic Stem Cells: The real challenge for research as well as for bioethics is still ahead of us cells tissues organs. 2008 Feb 12; [Epub ahead of print]

36. Kiatpongsan S. Science and society: a stem cell technology model. *J Med Assoc Thai* 2008; 91: 268-71.
37. Bron D, De Bruyn C, Balasse H, Ley P, De Hemptinne D, et al. Le sang de cordon: du laboratoire au lit du malade. *Bull Cancer* 2008; 95: 314-9.
38. Song S, Sanchez-Ramos J. Preparation of neural progenitors from bone marrow and umbilical cord blood. *Methods Mol Biol* 2008; 438: 123-34.
39. Haller MJ, Viener HL, Wasserfall C, Brusko T, et al. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes. *Exp Hematol*. 2008 Mar 19; [Epub ahead of print]
40. Brown JA, Boussiotis VA. Umbilical cord blood transplantation: Basic biology and clinical challenges to immune reconstitution. *Clin Immunol*. 2008 Apr 3; [Epub ahead of print]
41. Javed MJ, Mead LE, Prater D, Bessler WK, et al. Endothelial colony forming cells and mesenchymal stem cells are enriched at different gestational ages in human umbilical cord blood. *Pediatr Res*. 2008 Mar 19 [Epub ahead of print]
42. Kermani AJ, Fathi F, Mowla SJ. Characterization and genetic manipulation of human umbilical cord vein mesenchymal stem cells: potential application in cell-based gene therapy. *Rejuvenation Res* 2008 Apr 9; [Epub ahead of print]
43. Kestendjieva S, Kyurkchiev D, Tsvetkova G, Mehandjiev T, et al. Characterization of mesenchymal stem cells isolated from the human umbilical cord. *Cell Biol Int* 2008 Mar 4; [Epub ahead of print]
44. Gunning J. Umbilical cord cell banking: an issue of self-interest versus altruism. *Med Law* 2007; 26: 769-80.
45. Howard DH, Meltzer D, Kollman C, Maiers M, et al. Use of cost-effectiveness analysis to determine inventory size for a national cord blood bank. *Med Decis Making* 2008; 28: 243-53.
46. Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, Cho H, Matsumoto N, et al. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest*. 2004; 113: 1701-10.
47. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair - current views. *Stem Cells* 2007; 25: 2896-902.
48. Sessarego N, Parodi A, Podestà M, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *Haematologica* 2008; 93: 339-46.
49. Pasquinelli G, Tazzari P, Ricci F, Vaselli C et al. Ultrastructural characteristics of human mesenchymal stromal (stem) cells derived from bone marrow and term placenta. *Ultrastructural Pathology* 2007; 31: 23-31.
50. Wilmut I. An astonishing experiment. *Cloning Stem Cells* 2006; 8: 235-6
51. Rossant J. Stem cells: the magic brew. *Nature*. 2007 Jul 19;448(7151):260-2.
52. Qi H, Pei D. The magic of four: induction of pluripotent stem cells from somatic cells by Oct4, Sox2, Myc and Klf4. *Cell Res* 2007; 17: 578-80.
53. Chang HY, Cotsarelis G. Turning skin into embryonic stem cells. *Nat Med* 2007; 13: 783-4.
54. Pera MF. Stem cells. A new year and a new era. *Nature* 2008; 451 (7175): 135-6.
55. Trosko JE. Commentary: "Re-Programming or selecting adult stem cells?" *Stem Cell Rev*. 2008 Apr 19; [Epub ahead of print]
56. Orlic D. Adult bone marrow stem cells regenerate myocardium in ischemic heart disease. *Ann NY Acad Sci* 2003; 996: 152-7.
57. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, et al. Myocardial regeneration after intracoronary transplantation of human autologous stem cells following acute myocardial infarction. *Dtsch med Wschr* 2001; 126: 932-8.
58. Patel AN, Geffner L, Vina RF, Saslavsky J, et al. Surgical treatment for congestive heart failure with autologous adult stem cell transplantation: a prospective randomized study. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005; 130: 1631-8.
59. Nadal-Ginard B, Anversa P, Kajstura J, Leri A. Cardiac stem cells and myocardial regeneration. *Novartis Found Symp* 2005; 265: 142-54.
60. Canepa M, Chiarella F. Italian clinical trials on cardiac cell therapy: where we are and where are we going? *G Ital Cardiol (Rome)* 2007; 8: 182-92.
61. Jolicoeur EM, Granger CB, Fakunding JL, Mockrin SC, et al. Bringing cardiovascular cell-based therapy to clinical application: perspectives based on a National Heart, Lung, and Blood Institute Cell Therapy Working Group meeting. *Am Heart J* 2007; 153: 732-42.
62. Christoforou N, Gearhart JD. Stem cells and their potential in cell-based cardiac therapies. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 49: 396-413.
63. Liao R, Pfister O, Jain M, Mouquet F. The bone marrow - cardiac axis of myocardial regeneration. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 50: 18-30.
64. Mazhari R, Hare JM. Advances in cell-based therapy for structural heart disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 49: 387-95.
65. Assmus B, Honold J, Schächinger V, Britten MB, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1222-32.
66. Leri A, Kajstura J, Anversa P, Frishman WH. Myocardial regeneration and stem cell repair. *Curr Probl Cardiol* 2008; 33: 91-153.
67. Erbs S, Linke A, Schächinger V, Assmus B, et al. Restoration of microvascular function in the infarct-related artery by intracoronary transplantation of bone marrow progenitor cells in patients with acute myocardial infarction: the Doppler Substudy of the Reinfusion of Enriched Progenitor Cells and Infarct Remodeling in Acute Myocardial Infarction (REPAIR-AMI) trial. *Circulation* 2007; 116: 366-74.
68. Assmus B, Fischer-Rasokat U, Honold J, Seeger FH, et al. Transcoronary transplantation of functionally competent BMCs is associated with a decrease in natriuretic peptide serum levels and improved survival of patients with chronic postinfarction heart failure: results of the TOPCARE-CHD Registry. *Circ Res* 2007; 100: 1234-41.
69. Brouillette SW, Moore JS, McMahan AD, Thompson JR, et al. Telomere length, risk of coronary heart disease, and statin treatment in the West of Scotland Primary Prevention Study: a nested case-control study. *Lancet* 2007; 369: 107-14.
70. Spyridopoulos I, Erben Y, Brummendorf TH, Haendeler J, et al. Telomere gap between granulocytes and lymphocytes is a determinant for haematopoietic progenitor cell impairment in patients with previous myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 968-74.
71. van der Harst P, van Veldhuisen DJ, Samani NJ. Expanding the Concept of telomere dysfunction in cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 807-8.
72. Strauer BE, Brehm M, Schannwell CM. The therapeutic potential of stem cells in heart disease. *Cell Prolif* 2008; 41Suppl 1: 126-45.
73. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275: 964-7.
74. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells functional characterization. *Trends Cardiovasc Med* 2004; 14: 318-22.
75. Liu L, Liu H, Jiao J, Liu H, et al. Changes in circulating human endothelial progenitor cells after brain injury. *J Neurotrauma* 2007; 24 (6): 936-43.
76. Fox A, Smythe J, Fisher N, Tyler MP, et al. Mobilization of endothelial progenitor

- cells into the circulation in burned patients. *Br J Surg* 2008; 95: 244-51.
77. Fadini GP, Agostini C, Sartore S, Avogaro A. Endothelial progenitor cells in the natural history of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2007; 194: 46-54.
 78. Dong C, Goldschmidt-Clermont PJ. Endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for cardiovascular disease. *J Interv Cardiol* 2007; 20: 93-9.
 79. Lo Cicero V, Montelatici E, Cantarella G, Mazzola R, et al. Do mesenchymal stem cells play a role in vocal fold fat graft survival? *Cell Prolif* 2008 Apr 24 [Epub ahead of print]
 80. Aicher A, Rentsch M, Sasaki K, Ellwart JW, et al. Nonbone marrow-derived circulating progenitor cells contribute to postnatal neovascularization following tissue ischemia. *Circ Res* 2007; 100: 581-9.
 81. Medina MA, Muñoz-Chápuli R, Quesada AR. Challenges of antiangiogenic cancer therapy: trials and errors, and renewed hope. *J Cell Mol Med* 2007; 11 (3): 374-82.
 82. No authors listed: Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells. *Lancet* 1981; 1: 75-8.
 83. De Luca M, Pellegrini G, Green H. Regeneration of squamous epithelia from stem cells of cultured grafts. *Regen Med* 2006; 1: 45-57.
 84. Boggio P, Tiberio R, Gattoni M, Colombo E, et al. Is there an easier way to autograft skin in nelle chronic leg ulcers? 'Minced micrografts', a new technique. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008 Apr 9 [Epub ahead of print]
 85. Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, Di Nunzio F, et al. Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med* 2006; 12: 1397-402.
 86. Barrandon Y. Crossing boundaries: stem cells, holoclones, and the fundamentals of squamous epithelial renewal. *Cornea* 2007; 26 (9 Suppl 1): S10-2.
 87. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4: 1313-7.
 88. Vescovi AL, Feroni C, Ferrari D, et al. Le cellule staminali neurali e la loro capacità di trans differenziamento. *Prospettive in Pediatria* 2001; 31: 329-33.
 89. Pluchino S, Martino G. The therapeutic plasticity of neural stem/precursor cells in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2008; 265: 105-10.
 90. Pluchino S, Martino G. Neural stem cell-mediated immunomodulation: repairing the haemorrhagic brain. *Brain* 2008; 131: 604-5.
 91. Rocca MA, Mondria T, Valsasina P, et al. A three-year study of brain atrophy after autologous hematopoietic stem cell transplantation in rapidly evolving secondary progressive multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007; 28: 1659-61.
 92. Yamanaka S. Pluripotency and nuclear reprogramming. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008 Mar 28 [Epub ahead of print]
 93. Jaenisch R, Young R. Stem cells, the molecular circuitry of pluripotency and nuclear reprogramming. *Cell* 2008; 132: 567-82.
 94. Nakagawa M, Koyanagi M, Tanabe K, et al. Generation of induced pluripotent stem cells without Myc from mouse and human fibroblasts. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 101-6.
 95. Lindvall O, Brundin P, Widner H, et al. Grafts of fetal dopamine neurons survive and improve motor function in Parkinson's disease. *Science* 1990; 247: 574-7.
 96. Piccini P, Pavese N, Hagell P, et al. Factors affecting the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 2005; 128: 2977-86.
 97. Linazasoro G. Rate of progression determines the clinical outcome after neural transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 2006; 129(Pt 7): E48.
 98. Trzaska KA, Rameshwar P. Current advances in the treatment of Parkinson's disease with stem cells. *Curr Neurovasc Res* 2007; 4: 99-109.
 99. Hess DC, Borlongan CV. Stem cells and neurological diseases. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 94-114.
 100. Mazzini L, Mareschi K, Ferrero I, et al. Autologous mesenchymal stem cells: clinical applications in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res* 2006; 28: 523-6.
 101. Chi L, Gan L, Luo C, et al. Temporal response of neural progenitor cells to disease onset and progression in amyotrophic lateral sclerosis-like transgenic mice. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 579-88.
 102. Gan L, Qiao S, Lan X, et al. Neurogenic responses to amyloid-beta plaques in the brain of Alzheimer's disease-like transgenic (pPDGF-APP^{Sw,Ind}) mice. *Neurobiol Dis* 2008; 29: 71-80.
 103. Pession A, Dama E, Rondelli R, et al. Survival of children with cancer in Italy, 1989-98. A report from the hospital based registry of the Italian Association of Paediatric Haematology and Oncology (AIEOP). *Eur J Cancer*. 2008 Apr 18. [Epub ahead of print]
 104. Bacigaluppi M, Pluchino S, Martino G, et al. Neural stem/precursor cells for the treatment of ischemic stroke. *J Neurol Sci* 2008; 265 (1-2): 73-7.
 105. Imitola J, Houry SJ. Neural stem cells and the future treatment of neurological diseases: raising the standard. *Methods Mol Biol* 2008; 438: 9-16.
 106. Glaser T, Schmandt T, Brüstle O. Generation and potential biomedical applications of embryonic stem cell-derived glial precursors. *J Neurol Sci* 2008; 265: 47-58.
 107. Seissler J, Schott M. Generation of insulin-producing beta cells from stem cells - perspectives for cell therapy in type 1 diabetes. *Horm Metab Res* 2008; 40: 155-61.
 108. Joannides AJ, Chandran S. Human embryonic stem cells: an experimental and therapeutic resource for neurological disease. *J Neurol Sci* 2008; 265: 84-8.
 109. Conti L, Cattaneo E, Papadimou E. Novel neural stem cell systems. *Expert Opin Biol Ther* 2008; 8: 153-60.