

# Il punto sulle staminali

Lo studio di queste cellule ha portato ad alcune terapie e a una conoscenza più profonda sulla formazione dei tessuti del nostro organismo, ma anche a false promesse pericolose per i pazienti e a un acceso dibattito etico

di Luciano Conti ed Elena Cattaneo

**N**ell'uomo, come in tutte le forme di vita multicellulare, la rigenerazione dei tessuti è un processo fisiologico di rinnovamento cellulare necessario per la sopravvivenza dell'organismo. Per tessuti come sangue e pelle si tratta di un ricambio quotidiano con cellule giovani che sostituiscono quelle vecchie.

In altri tessuti, come cervello e cuore, questo ricambio è assai più ridotto. Alla base di questi processi rigenerativi ci sono popolazioni di cellule di riserva localizzate nei diversi tessuti, tanto più abbondanti quanto maggiore è la capacità e la necessità rigenerativa di quel tessuto. Si tratta delle staminali, cellule immature in grado di automantenersi, cioè di moltiplicarsi all'infinito generando cellule identiche a se stesse. Pur replicandosi, le cellule staminali mantengono anche la capacità di specializzarsi nelle diverse tipologie cellulari mature dei tessuti e degli organi in cui si trovano. Ed è proprio grazie a questa doppia attività che le cellule staminali del nostro corpo si replicano e si specializzano ogni giorno per sostituire le cellule usurate e permettere all'organismo di sopravvivere.

È stato lo scienziato russo Alexander Maximov nel 1906 a introdurre per la prima volta il termine *stammzelle* (da *stamm*, stipite, e *zelle*, cellula) per riferirsi a singole cellule capostipiti di una discendenza cellulare. Ed è degli anni cinquanta la prima prova sperimentale dell'esistenza di staminali nel nostro organismo. Tuttavia, i riflettori si sono accesi su queste cellule solo dal 1998, quando una staminale speciale è stata isolata dalla blastocisti umana (uno dei primi stadi di sviluppo dell'embrione): la cellula staminale embrionale. Oggi, sia le staminali dei nostri tessuti adulti sia le staminali embrionali della blastocisti rappresentano uno straordinario strumento con cui capire come si formano e si ammalano i nostri organi, alimentando la speranza, in alcuni casi già diventata realtà, che in futuro si possano impiegare in strategie di trapianto per sostituire cellule perdute a causa di lesioni o di malattia.

## Pluripotenti, speciali, controverse

Normalmente lo sviluppo dei mammiferi procede a senso unico, con cellule prima immature che successivamente si specializzano (differenziano) e diventano meno versatili. Le primissime fasi dello sviluppo umano sono caratterizzate dalla comparsa di cellule speciali, presenti esclusivamente nella blastocisti: le cellule staminali embrionali (indicate come «cellule ES») umane. Sono

### IN BREVE

**La prima prova** sperimentale dell'esistenza delle staminali nel nostro organismo risale agli anni cinquanta. Da allora sono stati fatti considerevoli progressi nello studio di queste cellule, in grado di differenziarsi nelle cellule che compongono i vari tessuti del corpo, sia nella ricerca di base sia in ambito clinico.

**Attualmente però le staminali** sono uno valido strumento di cura solo in ambito ematologico e nel trattamento di alcuni epiteli. In altri casi di malattie caratterizzate da perdita di tessuto e di cellule si è ancora in fase di sperimentazione. Eppure sempre più pazienti scelgono trattamenti con staminali costosi, non sicuri, non verificabili e potenzialmente pericolosi.

**Viste da vicino.** In primo piano, due cellule staminali embrionali umane circondate da fibroblasti coltivate in laboratorio.

circa un centinaio, e si possono isolare da blastocisti generate durante le tecniche di fecondazione *in vitro* e donate alla ricerca perché in sovrannumero o difettive (nei numerosi paesi dove la legge lo permette). In questo caso si preleva dalla blastocisti la massa cellulare interna che viene messa in coltura. Da essa, dopo alcuni giorni le cellule ES cominceranno a proliferare e a creare una linea di cellule uguali tra loro, capaci di dividersi in modo illimitato pur conservando un elevato potenziale differenziativo. Queste cellule, infatti, sono in grado di produrre tutti i derivati cellulari specializzati dei tre foglietti germinativi, e quindi di generare tutte le successive staminali specifiche per i diversi tessuti dell'organismo e tutte le tipologie di cellule funzionalmente mature (circa 220) che da esse derivano e che troviamo nell'organismo adulto (si veda l'illustrazione nella pagina a fronte). Per questa ragione le staminali embrionali sono definite pluripotenti. Le cellule ES però non possono generare cellule dei tessuti extra-embionali, quindi non saranno mai in grado di generare un organismo.

L'isolamento stabile delle staminali embrionali è stato descritto per la prima volta nel 1981, anno in cui Martin Evans e Matthew Kaufman hanno derivato in laboratorio cellule ES da blastocisti di topo. Queste cellule superano i tre test cruciali che definiscono la pluripotenza cellulare (si veda il box nella pagina a fronte). Ma sono stati necessari altri 17 anni per arrivare allo stesso risultato nell'uomo. Era il 1998 quando James Thomson e colleghi hanno pubblicato su «Science» la derivazione di linee cellulari ES a partire da blastocisti umane, innescando un dibattito, anche normativo, ancora in corso (si veda il box a p. 48). In laboratorio le staminali embrionali umane si propagano in gruppi (o colonie) compatti e bidimensionali di cellule tutte uguali. Quando raggiungono una dimensione critica, queste colonie vengono disgregate e poi rimesse in coltura dove le singole cellule, dividendosi, ricreano nuove colonie, aumentando la numerosità cellulare. Sulla carta d'identità delle cellule staminali embrionali si trovano segni particolari e unici: nucleo cellulare di grosse dimensioni, citoplasma ridotto e soprattutto proteine, come Oct4 e Nanog (e molte altre), che ne definiscono (e istruiscono) la pluripotenza. Una stima indica che attualmente nel mondo ci siano circa 200 linee di staminali embrionali umane «validate», molte delle quali sono condivise nell'ambito di progetti di ricerca.

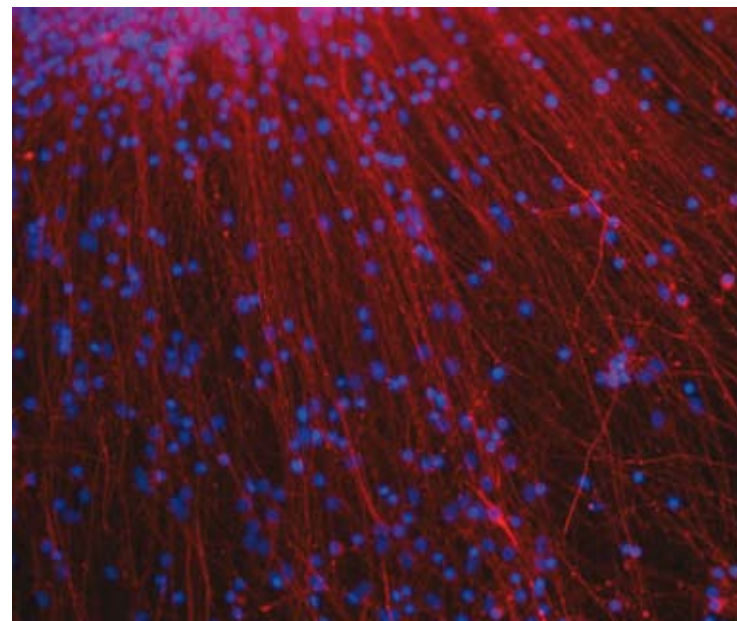
Una volta in laboratorio, la straordinarietà delle cellule ES ci mette poco a svelarsi, ed è tutta nell'incredibile e molteplice capacità differenziativa di queste cellule. Possono essere convertite in cellule della pelle, dei vasi sanguigni, dell'osso, del muscolo, del cuore, del pancreas e del fegato, anche se l'efficienza di queste conversioni non è totale e molti gruppi di ricerca lavorano per renderla tale. È anche noto il differenziamento di staminali embrionali umane in cardiomiociti e in neuroni funzionali da un punto di vista della stimolabilità elettrica, paragonabili con quelli presenti normalmente *in vivo* e con efficienza e qualità non raggiungibili da nessuna staminale adulta. Di recente il gruppo di Yoshiki Sasai in Giappone è addirittura riuscito a ricreare in laboratorio una retina completa di topo, usando cellule ES.

Diversi studi hanno inoltre dimostrato che il trapianto di cellule derivate da staminali embrionali umane può migliorare, in modelli animali, alcune malattie congenite, incluse malattie cardiovascolari e diabete, e traumi del midollo spinale. Tuttavia, il rischio dell'insorgenza di teratomi non è da sottovalutare, ed è uno degli aspetti ancora studiati. Va comunque sottolineato che nell'applicazione clinica la ricerca su queste cellule mira a differenziare parzialmente le cellule ES prima del trapianto nel paziente proprio

**Luciano Conti** è ricercatore al Dipartimento di scienze farmacologiche della Facoltà di farmacia dell'Università degli Studi di Milano. Il suo campo di ricerca riguarda la biologia e le prospettive terapeutiche delle cellule staminali.

**Elena Cattaneo** è professore ordinario di farmacologia alla Facoltà di farmacia dell'Università degli Studi di Milano. Il suo laboratorio studia la corea di Huntington per identificare terapie.

Alcuni anni fa, Enrico Bellone mi chiese di scrivere questo articolo per «Le Scienze». Ogni anno riportavo questo impegno in agenda. Amavo l'idea, anche se, gli avevo subito detto, non sapevo quando ci sarei riuscito. L'ho richiamato lo scorso febbraio. Ero felice di comunicargli che ci stavo finalmente lavorando. «Ma che bella notizia, lo dico subito a Marco [Cattaneo, attuale direttore]». Abbiamo scherzato, e poi parlato dei continui maltrattamenti alla scienza italiana. Inarrestabile. Con lui ho conosciuto un grande professionista della scienza e della comunicazione scientifica, profonda, immensa, dettagliata, ricca, acuta. Quante volte ho visto il coraggio della sua voce pacata resa forte solo dagli argomenti. Un uomo di grande cultura e amore per essa, al quale dedico con affetto e riconoscenza quel testo che lui mi aveva chiesto. (ec)

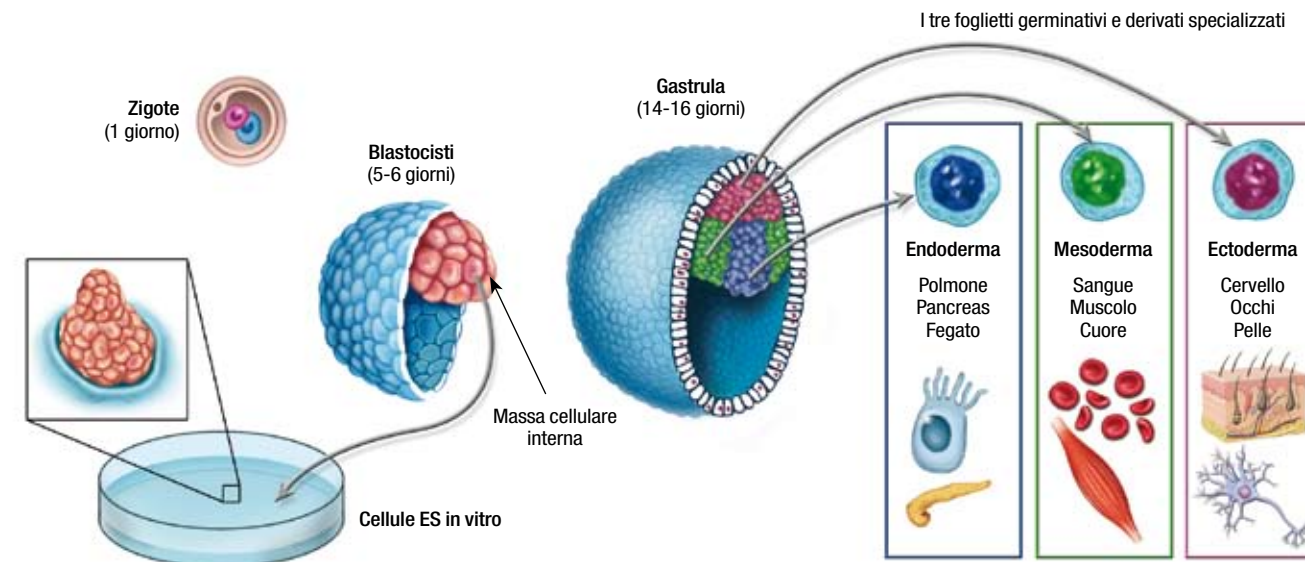


**Conversioni cellulari.** Neuroni ottenuti in laboratorio dalla differenziazione di cellule staminali embrionali umane.

per favorire la loro trasformazione *in vivo* nel tessuto desiderato e annullare il rischio di formazione di teratomi. Le cellule ES umane inoltre hanno una serie ancora più vasta di ambiti applicativi, dall'impiego per studiare meccanismi della formazione di tessuti e alla base delle malattie umane, agli studi farmacologici e tossicologici (si veda il box a p. 49).

### Le staminali adulte

Fino agli anni cinquanta era accettata la classificazione dei tessuti umani in labili, stabili e perenni proposta dal medico e istologo dell'Ottocento Giulio Bizzozero, maestro di Golgi e autore del primo trattato italiano di istologia. In base a questa classificazione, il sangue è un tessuto labile e la sua estrema capacità rigenerativa è garantita da una consistente riserva di cellule staminali ematopoietiche «professioniste» che si trovano nel midollo osseo.



### TEST DI LABORATORIO

## Verificare la pluripotenza

In laboratorio la pluripotenza è confermata con test che valutano la capacità delle cellule di produrre diverse tipologie di cellule mature:

- **formazione di chimere:** è il test d'elezione. Quando introdotte in una blastocisti in seguito reimpiantata nell'utero di un topo, le staminali, se pluripotenti, devono integrarsi e contribuire a formare tutti i tessuti del corpo del feto. Ovviamente, questo saggio non può essere applicato a cellule ed embrioni umani;
- **formazione di teratomi:** se iniettate sottocute in un topo immunodepresso, le cellule pluripotenti generano un teratoma. Si tratta di un tumore dei tessuti embrionali, generalmente benigno, che è indice della potenza differenziativa (la pluripotenza) delle cellule che lo generano. Infatti è composto da tessuti derivanti da tutti e tre i foglietti embrionali: ectoderma, endoderma e mesoderma. Di qui la sua composizione morfologica che include tessuto nervoso, peli, tessuto tiroideo, tessuto osseo, cartilagineo, muscolare e così via;
- **differenziamento *in vitro*:** in particolari condizioni di coltura le cellule perdono l'espressione dei marcatori di pluripotenza e si differenziano generando popolazioni di cellule specializzate appartenenti ai tre foglietti germinativi.

Ogni giorno queste cellule sono capaci di produrre 2,5 miliardi di eritrociti, 2,5 miliardi di piastrine e 1 miliardo di leucociti per chilogrammo di peso corporeo in modo da sostituire le cellule «usurate». Un altro tessuto labile e ricco in staminali è l'epidermide, che ogni minuto perde (e quindi rigenera) 30.000 cellule del suo strato più superficiale. Posizione intermedia hanno i tessuti stabili (o potenzialmente rinnovabili), le cui cellule esprimono una capacità rigenerativa solo in seguito a lesione. Ne è un esempio il fegato, la cui attività rigenerante è nota da moltissimo tempo, tanto da vivere nel mito greco di Prometeo, il quale, avendo rubato il segreto del fuoco, fu condannato ad avere ogni giorno il fegato divorato da un'aquila. Il fegato si rigenerava durante la notte e garantiva il nutrimento per l'aquila, perpetuando la tortura per Prometeo.

Al polo opposto troviamo il cervello, tessuto perenne per eccellenza che, a fronte degli ipotetici 100 miliardi di neuroni di un cer-

vello adulto, perde circa 85.000 neuroni sottocorticali al giorno che non sono più sostituiti (si tratta, in fondo, «solo» di un paio di miliardi di neuroni persi nell'arco di sessant'anni). Ma nel 1965 Joseph Altman e Gopal Das hanno descritto la genesi di nuovi neuroni nell'ippocampo adulto, l'area cerebrale deputata alla memoria e all'apprendimento, e quindi hanno posto l'attenzione sulla possibilità che alcune aree circoscritte del cervello maturo potessero rigenerarsi, sebbene in modo parziale. Queste scoperte hanno però dovuto attendere tempi migliori per essere accettate. È infatti degli anni novanta, a opera di Samuel Weiss e Brent Reynolds, l'esperimento in cui è stato confermato che anche il cervello adulto ha una sua riserva di staminali, le cellule staminali neurali. Si tratta di un numero esiguo di cellule poco attive, che sostengono la produzione di un numero limitato di nuovi neuroni ogni giorno e solo in due aree specifiche del cervello: l'ippocampo e la zona sottoventricolare.

### Portare le staminali adulte in laboratorio

Lo studio dei fattori e dei processi che governano la rigenerazione dei tessuti *in vivo* è senza dubbio una parte importante della ricerca sulle staminali tessutali. Ma ancora maggiore è l'attenzione allo sviluppo di strategie con cui isolare e propagare le staminali tessutali dell'adulto per poterle espandere in laboratorio in modo illimitato e quindi sfruttare la capacità rigenerativa dopo un trapianto. Le staminali adulte infatti sono di più facile accesso, e per alcune di esse, le cui applicazioni non richiedono una forte espansione *in vitro*, la capacità differenziativa resta notevole. Un esempio rappresentativo è costituito dalle cellule staminali ematopoietiche, che si possono isolare, arricchire per la tipologia staminale desiderata e usare in trapianti sia di tipo autologo sia di tipo allogenico per il trattamento di pazienti con immunodeficienze ereditarie, malattie autoimmuni o altre malattie a carico del sistema ematopoietico. A oggi, però, l'espansione di queste cellule in laboratorio risulta difficile.

L'esempio più straordinario, per ora l'unico, di staminale adulta prelevata, espansa in laboratorio e poi usata per scopi curativi è quella dell'epitelio. Un tipo di cellula staminale dell'epidermide (lo strato protettivo esterno della nostra pelle, che non ha vasi sanguigni) noto come oloclone, scoperto e studiato da ricercatori dell'Università di Modena e Reggio Emilia, è in grado di (ri)generare tutti i tipi cellulari dei tessuti epiteliali d'origine e di curare lesio-

## La legge e la ricerca sulle embrionali

È il 1998, James Thomson descrive su «Science» un risultato che rivoluziona la scienza ed espone la società a nuovi e importanti interrogativi su cosa sia una blastocisti (sovranumeraria), da cui il ricercatore isola per la prima volta le staminali embrionali umane. Un procedimento che implica la disgregazione e la distruzione della blastocisti. Un omicidio, per chi considera la blastocisti una persona. Un atto eticamente legittimo per coloro, come chi scrive, che nelle blastocisti sovranumerarie non vedono individui, ma strutture più piccole di un millimetro formate da 200 cellule, che degenererebbero se conservate, ma da cui si possono ottenere importanti informazioni. È un dibattito aperto, una possibilità di interrogarsi sugli obiettivi della ricerca e sul futuro delle blastocisti sovranumerarie (anche di quelle conservate in Italia e destinate al congelamento distruttivo). Ma anche sulle conseguenze morali del «fare» e del «non fare». Al riguardo sono molte le riflessioni etiche, religiose, sociali e filosofiche che, insieme alla scienza, animano i diversi paesi e i pensieri dei cittadini, e che cercano modi condivisibili per attuare ricerche con cui ridurre le sofferenze umane. Anche dal punto di vista legislativo, il panorama mondiale riflette questa varietà di posizioni. In paesi come Regno Unito o Svizzera si possono deriva-

re linee di ES umane da blastocisti sovranumerarie. In altri, come la Germania, si possono impiegare solo linee prodotte entro una data prestabilita. Una terza posizione è quella degli Stati Uniti che per anni, durante l'Amministrazione Bush, hanno proibito il finanziamento pubblico a ricerche su cellule prodotte dopo il 9 agosto 2001. Ma la ricerca non era impedita, e ha così potuto procedere grazie al finanziamento privato di fondazioni e cittadini, permettendo a tutto il mondo di beneficiare di importanti scoperte, come quella sui numerosi protocolli oggi usati per generare neuroni in sperimentazione in modelli animali di Parkinson. Di recente negli Stati Uniti il veto al finanziamento pubblico di ricerche sulle embrionali umane è stato rimosso. Una quarta posizione riguarda paesi come l'Italia, che impediscono la derivazione di nuove linee ma non l'impiego di linee già derivate (senza restrizioni temporali) che si possono scambiare tra laboratori e importare nell'ambito di collaborazioni scientifiche. Ma anche a fronte di una legge parzialmente permissiva è negato il finanziamento per la ricerca su queste cellule. Nel 2009 il Ministero della Salute ha emanato un bando sulle staminali escludendo le staminali embrionali umane. Uno degli autori dell'articolo ha presentato ricorso contro il governo trovando questa decisione immotivata.

ni estese. Un singolo oloclone epidermico può infatti raddoppiarsi un numero sufficiente di volte per produrre la superficie epidermica di un essere umano ( $8 \times 10^{10}$  cellule). Anche l'epitelio della cornea degli occhi, in una zona nota come *limbus*, cioè il confine tra cornea (parte trasparente) e sclera (parte bianca) dell'occhio, contiene staminali. Queste cellule rigenerano continuamente l'epitelio corneale, mantenendone la caratteristica trasparenza, essenziale per una corretta visione. È possibile prelevarle ed espanderle con cura e in modo illimitato e simmetrico in laboratorio senza che perdano la capacità differenziativa.

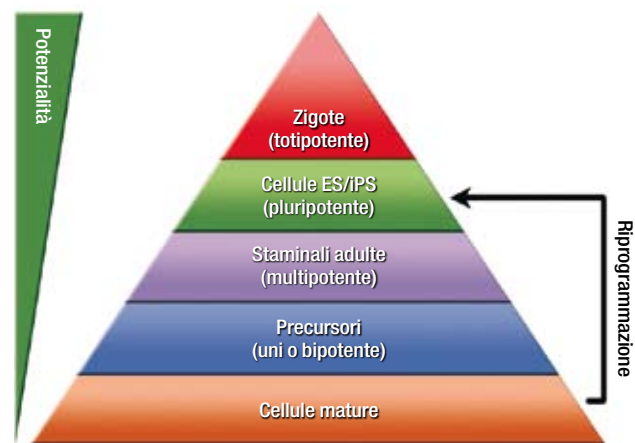
Negli ultimi anni anche le cellule staminali del cervello hanno beneficiato di continui miglioramenti nelle modalità di estrazione dal tessuto cerebrale e nella crescita stabile *in vitro*. Grazie alle numerose informazioni accumulate dai protocolli di conversione neurale delle cellule embrionali staminali, oggi è infatti possibile crescere le staminali del cervello in assoluto stato di purezza per numerose divisioni senza alterarne irrimediabilmente il loro potenziale differenziativo.

Il muscolo scheletrico è un altro tessuto adulto che contiene una riserva di cellule staminali, le «cellule satellite». Queste cellule costituiscono una fonte stabile e autorinnovabile di cellule muscolari adulte che svolgono un ruolo importante sia per la crescita sia per la riparazione muscolare. Al contrario di altri tipi di staminali adulte, le cellule satellite sono unipotenti, dato che normalmente generano un solo tipo di cellula differenziata, il miocito del muscolo scheletrico. A differenza del muscolo scheletrico, la presenza di staminali a livello del muscolo cardiaco è un fatto ancora controverso.

Tra le fonti di staminali adulte, il sangue da cordone ombelicale attira interesse come sito alternativo di cellule multipotenti da impiegarsi nella medicina rigenerativa. Solitamente gettato alla nascita, il cordone è ricco di sangue contenente una quantità rilevante (0,3-0,5 per cento del totale) di staminali ematopoietiche simili a quelle del midollo osseo. A riguardo, in Italia una legge impedisce il deposito e la conservazione del cordone a uso autologo in apposite banche mentre ciò è consentito nelle banche pubbliche mondiali per

### Gerarchia della potenzialità differenziativa.

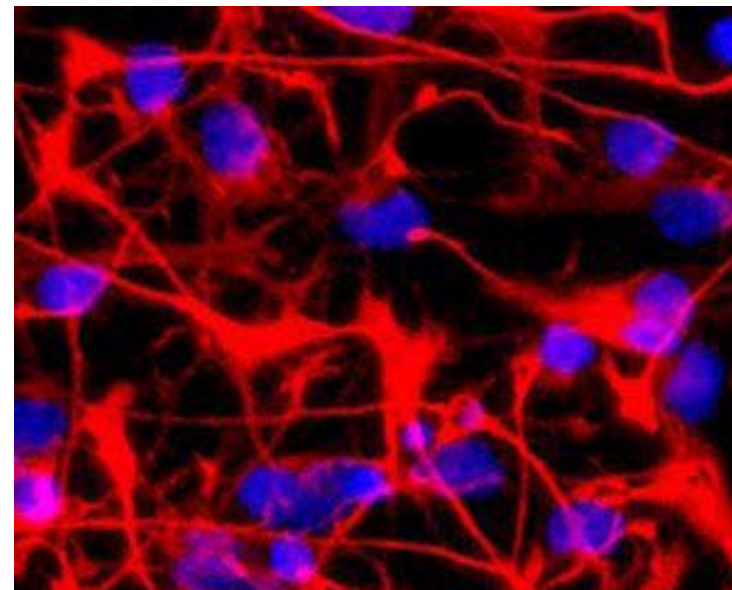
In cima alla piramide si trova lo zigote, in grado di generare un individuo completo, inclusi gli annessi embrionali. Staminali embrionali e iPS sono pluripotenti, potendo generare i derivati dei tre foglietti germinativi. A seguire si trovano le staminali adulte, caratterizzate da uno stadio di multipotenza, potendo originare solo i derivati funzionali del tessuto in cui si trovano. Infine ci sono le cellule mature che, nei casi in cui possono dividersi, lo fanno solo per generare altre cellule mature uguali a quelle di partenza.



trapianti allogenici, per i quali ci sono prove di efficacia. Anche la placenta, coinvolta nel processo di mediazione della tolleranza fetale, contiene cellule che regolano il sistema immunitario. Un discorso simile è applicabile alle cellule staminali mesenchimali (estratte anch'esse dal midollo osseo) sebbene in molti casi il loro impiego, come nel morbo di Parkinson, non è supportato da prove certe.

È importante sottolineare che cellule con caratteristiche di staminali si possono trovare anche nei tumori, la cui genesi potrebbe essere associata a eventi anomali che avvengono in staminali tessutali locali o per de-differenziamento di cellule mature.

Elisa Botton



**Per la neurogenesi.** Staminali neurali, la fonte delle nuove cellule cerebrali, cresciute in laboratorio e con il nucleo colorato in blu.

### ALTRE APPLICAZIONI

## Dalle malattie ai farmaci

Gli obiettivi della ricerca sulle cellule staminali, e in particolare sulle cellule iPS, si estendono anche ad altri ambiti quali la tossicologia e lo studio di farmaci, oltre alla possibilità di usare queste nuove staminali per studiare *in vitro* le malattie umane in modo specifico per ciascun paziente. Per esempio, con la riprogrammazione è possibile ottenere cellule iPS da ogni individuo.

In caso di malattie genetiche, queste cellule avranno non solo il gene responsabile della malattia ma anche il resto del corredo genico, consentendo di studiarne *in vitro* le anomalie molecolari che si sviluppano nel corso della patologia. Le cellule iPS sono già state derivate da pazienti con atrofia muscolare spinale, sclerosi amiotrofica laterale, morbo di Parkinson, corea di Huntington, persone con malformazioni cardiache congenite, diabete giovanile o altre patologie ancora.

Le cellule ES e iPS possono anche essere utili per sperimentare nuovi farmaci: per esempio, nello studio dell'effetto terapeutico su uno specifico tipo cellulare, nell'identificazione di effetti collaterali prevedibili con l'analisi *in vitro* e per lo studio del metabolismo epatico. In teoria, le cellule staminali derivate da una persona potrebbero essere usate per tracciare il profilo specifico della risposta biologica di un paziente a un farmaco (farmacogenetica).

### Un percorso all'indietro

Il 2006 ha segnato un altro anno rivoluzionario per la scienza. Shinya Yamanaka in Giappone ha riprogrammato cellule adulte facendole regredire allo stadio di pluripotenza simile a quella alle staminali embrionali, denominando queste nuove cellule con l'acronimo iPS (da *induced pluripotent stem cell*, cellule staminali pluripotenti indotte). Un risultato ottenuto grazie all'inserimento in fibroblasti adulti di soli quattro geni codificanti per i fattori di trascrizione associati allo stadio di pluripotenza (*Oct4*, *Sox2*, *Klf4* e *c-myc*).

Oggi non c'è scienziato al mondo che non consideri la scoperta

della riprogrammazione come tra le più rivoluzionarie degli ultimi decenni. La prova che il DNA delle cellule specializzate mantiene la straordinaria capacità di parlare alfabeti diversi (e più giovani), se sollecitato con segnali appropriati, stravolge molti dogmi della biologia. Soprattutto, queste cellule sembrano mantenere molte caratteristiche delle staminali embrionali vere, inclusa la potenzialità differenziativa, anche se sembra ormai chiaro che le cellule iPS non siano proprio identiche alle cellule ES (si veda l'illustrazione in basso nella pagina a fronte).

Infatti una serie di studi, alcuni pubblicati nel febbraio 2011, indicano che le cellule adulte di partenza mantengono una memoria epigenetica, dunque se riprogrammate a iPS sono predisposte a differenziarsi in modo preferenziale in alcuni elementi cellulari. Certo è che queste caratteristiche potranno essere studiate e capite nelle differenze e nelle somiglianze, quindi per le loro potenzialità, solo attraverso un continuo confronto diretto con le staminali embrionali umane «vere».

### Pratica clinica e sperimentazione

Le staminali devono gran parte della loro fama alle capacità terapeutiche prospettate, in molti casi ancora da verificare, nel migliorare oppure risolvere gli stati di malattia cronica degenerativa (come il morbo di Parkinson, la distrofia muscolare, il diabete) o acuta caratterizzati da perdita di tessuto e cellule e non trattabili con approcci classici. L'idea di riparare un tessuto lesionato con un trapianto cellulare nasce alla fine degli anni cinquanta ed è associata al trapianto di midollo osseo. Negli anni seguenti, la tecnica del trapianto di midollo è stata affinata grazie agli studi di Edward Donnall Thomas, il quale ha dimostrato che le cellule del midollo osseo, una volta infuse per via endovenosa, sono in grado di ripopolare il midollo dell'ospite e produrre nuove cellule del sangue. Nel 1990, per questi studi Donnall Thomas (in condivisione con Joseph Murray, autore del primo trapianto di rene nel 1954) ha ricevuto il premio Nobel per la medicina. Oggi le cellule staminali ematopoietiche isolate da midollo osseo, sangue periferico e cordone ombelicale offrono una possibilità di cura, spesso l'unica, per pazienti con gravi malattie del sangue (tra tutte le leucemie, in particolare quelle infantili), varie forme di tumori e talassemia.

Ma le staminali costituiscono una realtà clinica anche per il trattamento delle lesioni di alcuni epitelii. Il nuovo tessuto cutaneo da trapiantare è generato in laboratorio da staminali epiteliali derivanti da piccole biopsie della cute sana del paziente. Pioniere di questo filone di ricerca è stato Howard Green che nel 1983, a Boston, ha eseguito il primo trapianto di pelle su tre bambini ustionati gravi. Da allora centinaia di pazienti hanno beneficiato di questo trattamento salvavita. Tuttavia, i costi elevati (sono necessari più di 150.000 euro per trattare un adulto con ustioni sull'80 per cento del corpo) e i diversi mesi necessari per ricostruire lembi di pelle estesi ne limitano la piena diffusione in clinica. In aggiunta, sebbene questo trattamento oggi salvi la vita dei pazienti, spesso i trapiantati chiedono un trattamento migliore. La pelle così prodotta, infatti, non è ottimale perché priva di ghiandole sudorifere e bulbi piliferi, provocando anomalie nella fisiologia di questo importante tessuto. La recente scoperta di un nuovo tipo di staminale della pelle in grado di rigenerare una pelle con ghiandole sudorifere e peli può essere un importante passo in avanti.

Un altro epitelio che è possibile rigenerare completamente è l'epitelio corneale. È infatti possibile ricostruire una cornea funzionante partendo da staminali del *limbus*. Una volta in coltura, in circa 3-4 settimane queste cellule ricostruiscono un lembo di epi-

## Il turismo delle staminali

Nel mondo sono oltre 500 le strutture in cui è possibile sottoporsi a trattamenti con staminali, che però non sono stati validati da nessuna sperimentazione clinica. Si tratta del «turismo delle staminali», un business veicolato attraverso siti web e strategie pubblicitarie spesso ingannevoli e che in alcune nazioni è finito sotto indagine della magistratura.

Non disponendo di alcuna effettiva alternativa medica, ogni anno migliaia i malati si sottopongono a trattamenti costosi (benché le terapie sperimentali non dovrebbero mai essere a carico del paziente), sebbene privi di prove di efficacia. A volte le conseguenze possono essere tragiche. Come nel caso di un bambino con una rara malattia del cervello trattato con (presunte) staminali fetali in una clinica russa o di una donna di 46 anni che si era sottoposta a un trattamento in Thailandia per combattere il lupus da cui era affetta. Più recentemente in Germania si è verificato il decesso di un bambino di 18 mesi, in seguito a un trapianto cerebrale di cellule staminali.

È fondamentale che medici di base, associazioni dei malati, clinici e ricercatori si mettano a disposizione dei pazienti per illustrare la natura di questi trattamenti, cioè per aiutarli a reperire e usare, se vogliono, informazioni affidabili quando si trovano a decidere in merito. A questo scopo, l'ISSCR ha redatto linee guida per i pazienti (disponibili anche in italiano alla pagina web [http://www.isscr.org/clinical\\_trans/patient\\_handbook.html](http://www.isscr.org/clinical_trans/patient_handbook.html)) e un sito web (<http://www.closerlookatstemcells.org//AM/Template.cfm?Section=Home>). È grave che governi e autorità istituzionali nazionali competenti, comprese quelle italiane, siano assenti per quanto riguarda l'assistenza ai cittadini e la vigilanza finalizzate a evitare che le forti aspettative di trattamenti basati sulle staminali sia sfruttata in modi eticamente censurabili.



**Donazioni per la ricerca.** Campioni di staminali donati dagli Stati Uniti all'Hôpital Saint-Louis, ospedale pubblico parigino.

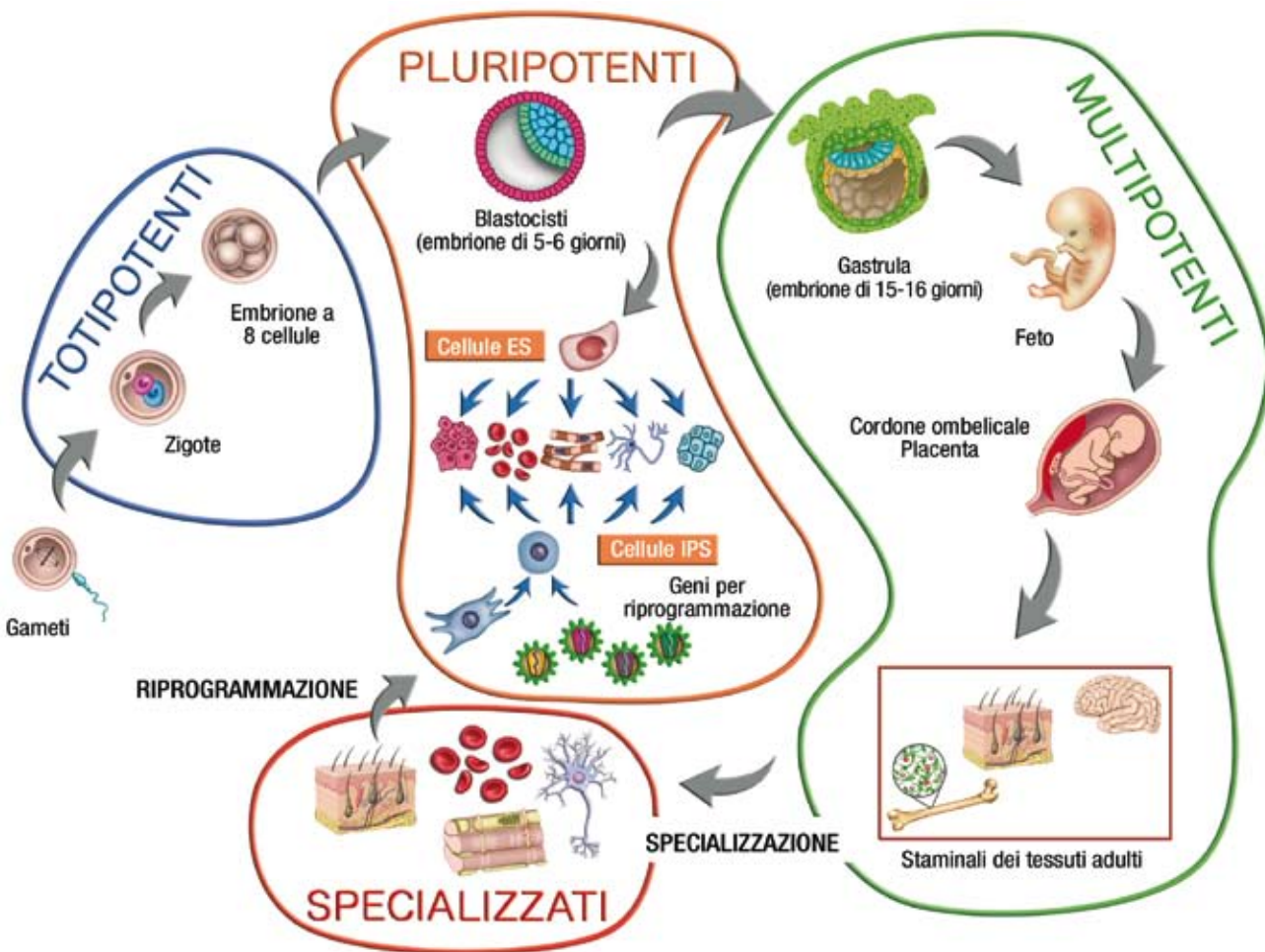
tori protettivi o di molecole antinfiammatorie, come osservato dal gruppo di Gianvito Martino a Milano in modelli animali di sclerosi multipla. Negli ultimi anni, grazie alla possibilità di isolare ed espandere *in vitro* cellule staminali neurali umane ottenute da cervello fetale o da cellule pluripotenti (ES ed iPS), le speranze di raggiungere risultati più soddisfacenti si sono moltiplicate.

In conclusione, nonostante il loro immenso potenziale oggi le staminali sono un valido strumento di cura in pochi, limitati ambiti: quello ematologico, grazie all'esperienza di mezzo secolo di trapianti di midollo osseo, e quello relativo al trattamento di alcuni epitelii. Negli altri casi si tratta di protocolli sperimentali in studio o di lavori a livello preclinico, nell'animale. Per passare alla sperimentazione sull'uomo sono necessarie la prova dell'efficacia del trapianto di una specifica tipologia cellulare, la replicabilità in almeno due modelli animali diversi, con risultati possibilmente verificati in più laboratori, la dimostrazione del meccanismo d'azione con cui le cellule trapiantate possono produrre i benefici osservati.

L'International Society for Stem Cell Research (ISSCR) raccomanda che le sperimentazioni sull'uomo siano avviate solo alle condizioni appena descritte e su un numero limitato di pazienti, prevedendo misure di valutazione della sicurezza del trapianto, che non deve mettere a rischio la vita del paziente. Per contro, sono sempre più numerose le strutture nel mondo che offrono trattamenti non controllati, basati su staminali soprattutto adulte, per diverse malattie, tra cui quelle del cervello. Sono anche molti i pazienti che si sottopongono a trattamenti costosi, non sicuri, non verificabili e potenzialmente pericolosi (*si veda il box in questa pagina*).

Owen Franken/Corbis

Elisa Botton



telio corneale che è impiantato al posto di quello compromesso (accuratamente rimosso). Tra i pionieri di questa tecnologia ci sono Graziella Pellegrini e Michele De Luca, ora all'Università di Modena, che nel 1997 hanno pubblicato il primo studio sulla coltivazione della cornea a partire da staminali. Più di recente, Pellegrini e De Luca, insieme con Paolo Rama dell'Ospedale San Raffaele di Milano, hanno completato uno studio su 112 pazienti ai quali sono stati trapiantate staminali limbari autologhe, ottenendo il recupero totale della vista nel 75 per cento dei casi e con un tempo di osservazione fino a sei anni dopo il trapianto.

Importanti progressi sono stati ottenuti per la distrofia muscolare di Duchenne, malattia in cui i muscoli scheletrici subiscono una degenerazione progressiva perdendo ogni capacità rigenerativa intrinseca. In questo caso, un'effettiva e consistente capacità di rigenerare nuove fibre muscolari in seguito a trapianto è stata mostrata solo per cellule satellite e mesoangioblasti. Tuttavia, le cellule satellite sono dotate di una ridotta sopravvivenza, migrazione e colonizzazione del tessuto muscolare bersaglio dopo trapianto. I mesoangioblasti, invece, isolati per la prima volta nel 2003 dal gruppo di Giulio Cossu a Milano, producono sia tessuto muscolare scheletrico sia nuovi vasi sanguigni e il loro trapianto, per via endovenosa, produce un miglioramento in topi e cani distrofici. Questi risultati preclinici hanno permesso di recente l'avvio di un trial clinico su un ristretto numero di pazienti distrofici.

Per il tessuto cardiaco, le uniche fonti da cui è stato possibile ottenere un buon numero di cardiomiociti funzionali sono i miocardiociti fetali e le cellule pluripotenti (cellule ES e iPS). Per i mio-

cardiociociti fetali, il loro uso nella pratica clinica è difficilmente immaginabile a causa della natura eterologa e della scarsità di materiale reperibile, mentre al momento l'uso di miocardiociti derivati da cellule ES e iPS è limitato a studi preclinici su animali, visto che si devono ancora risolvere problemi legati alla sicurezza. Anche in assenza di forti prove precliniche, l'ambito cardiaco ha visto comunque il maggior numero di trial clinici effettuati con differenti tipologie di staminali adulte, quali mioblasti del muscolo scheletrico, cellule staminali ematopoietiche autologhe (del midollo osseo o del sangue periferico) o cellule staminali mesenchimali, in pazienti con infarto acuto del miocardio. Nessun trial ha però mostrato recuperi funzionali consistenti oppure duraturi o ancora la produzione di nuovi miocardiociti a partire dalle cellule trapiantate.

Nonostante in alcuni casi sia stato osservato un miglioramento limitato, spesso non attribuibile all'innesto cellulare, questi studi hanno dimostrato che l'approccio non è pericoloso per il paziente. Inoltre questa tipologia di trapianto potrebbe facilitare il rimodellamento del tessuto infartuato, probabilmente grazie al rilascio di sostanze protettive, e un aumento, sebbene limitato, dei processi di rivascolarizzazione. Ma servono prove sperimentali chiare prima di passare ad applicazioni su larga scala.

Per le malattie degenerative del sistema nervoso il cammino è ancora più difficile. Alle cellule trapiantate, infatti, si chiede non solo di sopravvivere e differenziarsi nella corretta tipologia neuronale ma anche di integrarsi e ricostituire circuiti complessi danneggiati. Anche in questo caso, però, è probabile che le cellule trapiantate possano dare benefici per un effetto di rilascio di fat-