

Anfuso Andrea, Bartolini Dario, Fedele Fabio,
Matucci Francesco, Mignani Matteo, Parra Indio

Le cellule staminali

indice

	<i>Pag.</i>
<i>Introduzione</i>	2
1. Definizione di cellula staminale, caratteristiche e proprietà	
2. Classificazione, cellule staminali embrionali, fattori di trascrizione	
3. Nicchia, cellule staminali tumorali	
<i>Terapie con le staminali</i>	9
1. La terapia cellulare, cellule staminali pluripotenti indotte	
2. Staminali emopoietiche, donazione di staminali emopoietiche	
3. Trapianto di midollo osseo, prelievo da sangue periferico	
4. Dalla placenta e dal cordone ombelicale, risorsa di staminali	
<i>L'importanza del dono</i>	14

Come facilmente deducibile, le *cellule staminali* sono prima di tutto delle cellule. La cellula è l'unità morfologica e funzionale di tutti gli organismi viventi, i quali possono essere formati da un'unica cellula (organismi unicellulari) o da un numero vario, per lo più molto elevato, di cellule (organismi pluricellulari, come l'uomo stesso), tra loro riunite a formare tessuti. Una cellula animale o vegetale è formata da un nucleo, nel quale sono contenuti i cromosomi -DNA condensati- portatori dei caratteri ereditari e dell'informazione necessaria per la sintesi di proteine o molecole biologiche di cui la cellula stessa ha bisogno per continuare il suo ciclo vitale, e da un circostante citoplasma, delimitato dalla membrana plasmatica, nel quale sono immersi vari tipi di organuli specializzati (reticolo endoplasmatico, vacuoli, mitocondri, cloroplasti, ecc.), ai quali sono devolute fondamentali funzioni metaboliche. Le cellule batteriche non sono completamente diverse: generalmente il nucleo è assente e il DNA si avvolge seguendo una forma circolare all'interno del citoplasma, alcuni organuli sono presenti altri invece no; in linea di principio le cellule di organismi unicellulari come ad esempio i batteri sono strutturalmente più semplici delle controparti che compongono invece gli organismi pluricellulari.

Negli eucarioti (organismo pluricellulare composto di cellule eucariotiche, che presentano il nucleo), l'espressione dei geni deve soddisfare le esigenze di un metabolismo più complesso rispetto a quello procariotico. Nel corpo umano, per esempio, sono presenti almeno duecento tipi di cellule differenti organizzate in tessuti, organi e apparati¹. Ciò che accomuna tutte le cellule di un organismo è la derivazione, l'origine delle cellule stesse che lo compongono, infatti, tutte le cellule di uno stesso organismo possiedono un identico corredo genetico, derivato dal DNA dello zigote; ognuna di esse però, nel corso della vita, impiega solo le informazioni genetiche necessarie alle proprie funzioni. Dallo zigote, l'antenato comune di tutte le cellule, evolvono e vanno incontro al processo di differenziamento le cellule che per prime da esse derivano, arrivando così ad uno stadio finale in cui l'organismo umano è composto da almeno 200 tipi differenti di cellule.

Come verrà approfondito in seguito nel testo, lo zigote è anche la cellula staminale per eccellenza, è quindi fondamentale conoscere a livello biologico il funzionamento delle cosiddette "cellule staminali".

Passando ad analizzare l'aggettivo "staminale", è opportuno iniziare all'etimologia della parola stessa.

L'etimologia della parola "staminali" affonda le proprie radici nell'antichità, precisamente all'interno della cultura greca, dove il termine *stamis* veniva usato in ambito navale per indicare il montante della nave; per i latini invece il termine *stamen* definiva il filo del

¹livelli di organizzazione biologica

tracciato che compone il tessuto. Successivamente, il termine *stem* passò nella lingua inglese con il significato di ceppo, stelo o radice.

È evidente che alla base di queste tre differenti parole sta l'idea di un qualcosa che costituisce la spina dorsale di una struttura.

Difatti, il termine cellula staminale fu coniato alla fine dell'Ottocento, dove l'aggettivo viene concepito forse nella sua accezione più astratta, quella secondo cui il termine *stamen* indica il filo tessuto dalle parche², indicando così una cellula che fosse "predestinata" a divenire qualcos'altro, nello specifico a differenziarsi. Precisamente, è nel 1868 che ha origine grazie al biologo tedesco prof. Ernst Haeckel il termine "staminali" (stammzelle) da lui utilizzato per la prima volta nel suo lavoro "Storia Naturale della Creazione" per definire l'organismo unicellulare ancestrale da cui si sono generati tutti gli organismi multicellulari evoluti. Oggi l'espressione "staminali" (SCs) designa le protagoniste di una nuova era scientifica, le cellule che hanno la capacità di auto-rinnovarsi e di dare origine a cellule differenziate (Haeckel E., 1868).

In biologia la definizione classica di cellula staminale richiede che una cellula possieda due proprietà fondamentali: l'*autorinnovamento* e la *potenza*, e che sono le caratteristiche che rendono queste cellule fondamentali per la vita.

L'*autorinnovamento* (in figura) rappresenta l'abilità di una cellula di perpetuare se stessa attraverso diversi cicli di divisione, pur mantenendo uno stato indifferenziato. I due meccanismi che assicurano il mantenimento del pool delle cellule staminali sono:

- la *divisione asimmetrica*, in cui la cellula staminale si divide generando una cellula identica a se stessa ed una cellula progenitrice (PG) o transient-amplifying cell (TAC) destinata a differenziare;
- la *divisione simmetrica*, in cui una cellula staminale normale si divide dando vita a due cellule figlie identiche a se stessa. La cellula staminale normale predilige la divisione asimmetrica. Alterazioni genetiche ed epigenetiche possono trasformare una cellula staminale normale (CSN) in una cellula staminale tumorale (CST) che, dividendosi sia simmetricamente che asimmetricamente, darà origine a cellule non tumorigeniche/non metastatiche (PG/TAC) e tumorigeniche con potenziale metastatico (CST).

Basandosi sul numero delle divisioni cellulari, il pool delle cellule staminali può essere diviso in due gruppi :

² il filo della vita nelle mani delle parche

- *high-cycling cells*, rappresentano cellule che si dividono con frequenza e assicurano la normale omeostasi di un tessuto;
- *slow-cycling cells*, cellule staminali con un basso tasso di proliferazione che dividendosi asimmetricamente danno origine ad una nuova cellula staminale e ad una progenitrice, mantenendo così il pool di cellule staminali nei vari tessuti dell'organismo adulto.

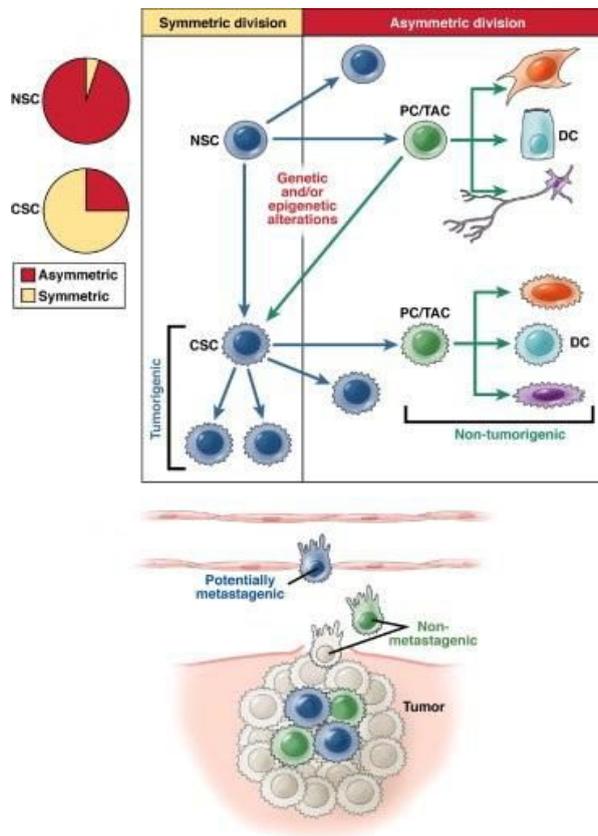


Figura. Divisione cellulare di cellule staminali normali (CS) e cellule staminali tumorali (CST).

La seconda caratteristica fondamentale che contraddistingue le cellule staminali è la loro capacità di differenziare in tipi cellulari specifici con funzioni particolari, detta *potenza* (Figura 2).

Sulla base di questa proprietà, le cellule staminali sono classificate in:

- *totipotent*: presenti solo nelle prime fasi di formazione dell'embrione, sono in grado di generare un intero organismo e i tessuti extraembrionali;
- *pluripotent*: cellule staminali che originano dalle totipotent e che daranno origine ai tre foglietti embrionali; possono formare qualunque tipo di cellule ma non possono formare un organismo intero, così come non possono generare i tessuti extraembrionali;

- *multipotenti*: conservano una certa capacità di specializzarsi, ma inferiore alle pluripotenti, sono in grado di differenziare in tipi cellulari specifici di un tessuto;
- *unipotenti*: cellule staminali che producono un solo tipo cellulare specifico e che conservano la capacità di autorinnovamento, possono replicarsi all'infinito per rinnovare un tessuto.

La potenza è proprio definita come la capacità delle staminali di auto-differenziarsi in cellule specifiche.

Entrando più nel dettaglio, nel momento in cui la cellula sessuale maschile (spermatozoo) incontra la cellula sessuale femminile (cellula uovo), tra le due avviene una fusione in un'unica cellula, detta zigote. Lo zigote è la prima cellula di un nuovo organismo e come accennato in precedenza è anche la cellula staminale per eccellenza, quella totipotente, in grado di dare origine ad un organismo completo. La totipotenza dello zigote si conserva fino alla terza divisione cellulare, cioè fino a $8 (2^n)$, dove n è il numero di divisioni, in questo caso tre) cellule chiamate blastomeri. In altre parole, se fosse possibile separare queste 8 cellule, potrebbero generarsi 8 individui identici. Dopo una settimana dalla fecondazione, l'embrione si trova in uno stadio detto blastocisti: questo stadio è caratterizzato dalla presenza delle cellule staminali pluripotenti, che come detto possono dare origine a tutti i vari tipi di cellule specializzate dell'organismo, ma non di formare un nuovo organismo. Sempre seguendo la "linea temporale" delle prime fasi dell'organismo, al termine della seconda settimana di fecondazione, a partire dalle pluripotenti, nell'embrione iniziano a formarsi i foglietti embrionali, vale a dire tre strati di cellule distinte, ognuna delle quali ha un destino già segnato. Lo strato superficiale, chiamato ectoderma, è formato dalle cellule che andranno a formare il sistema nervoso, la pelle e gli occhi; il foglietto interno, chiamato endoderma, è formato dalle cellule che si specializzeranno per formare il rivestimento interno del tubo digerente e di molti organi come polmoni, fegato, vescica e uretra; il mesoderma è invece il foglietto intermedio tra i due e dà origine ai muscoli, alle ossa, al tessuto connettivo, al sangue, agli organi dell'apparato riproduttivo e dell'apparato escretore. A questo stadio le cellule staminali hanno acquisito tratti di specificità, e di conseguenza la capacità di scegliere in che tipo di cellula trasformarsi è più limitata rispetto alle cellule staminali dei blastocisti. Queste cellule staminali sono definite multipotenti. Un classico esempio di cellula multipotenti è la *cellula staminale emopoietica* situata nel *midollo osseo*: da queste cellule si generano ogni giorno milioni di cellule del sangue come globuli rossi, globuli bianchi, piastrine, macrofagi e linfociti. Infine ci sono le cellule staminali che possono trasformarsi unicamente in un unico tipo di cellula e perciò vengono dette unipotenti. Queste si trovano solo nell'organismo adulto e sono numerose nei tessuti che necessitano di un ritmo elevato di ricambio cellulare, come ad esempio pelle e intestino.

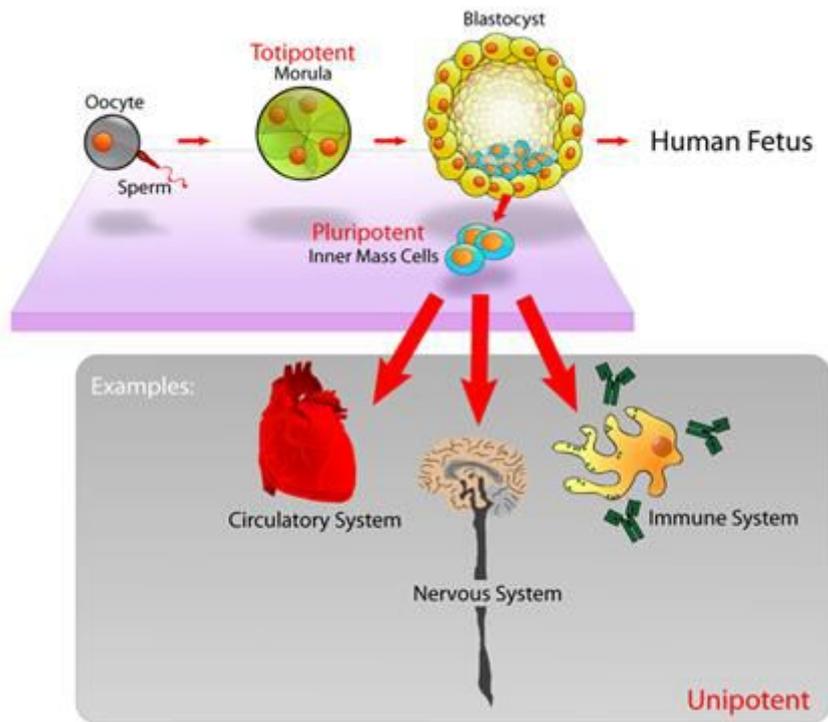


Figura. La potenza di una cellula specifica il suo potenziale di differenziamento.

Quindi, le cellule staminali si distinguono, inoltre, anche per il tessuto d'origine in: staminali embrionali ESCs (Embryonic Stem Cells), le cellule pluripotenti collocate nella inner cell mass della blastocisti, e staminali adulte presenti in tutti i tessuti già formati che sono prevalentemente multipotenti e unipotenti, che hanno il compito di mantenere costante il numero di cellule dell'organismo e che comprendono le staminali fetali o FCs (Fetal Stem Cell) presenti negli abbozzi degli organi fetali e le staminali neonatali o NSCs (Neonatal Stem Cell) isolate dal cordone ombelicale e dal liquido amniotico. Le ESCs sono state isolate per la prima volta nel 1981 dall'epiblasto pre-impianto della Inner Cell Mass della blastocisti di un embrione di topo, da due diversi gruppi di ricerca: Evans e Kaufman a Cambridge e Martin in California. Nel 1995 la ricerca di tali cellule è stata fatta anche nei primati non umani ed infine nel 1998 sono state isolate da blastocisti umane.

Le colture di ESC umane vengono ottenute da blastocisti, originate in seguito a pratiche di fecondazione assistita, inutilizzate e congelate, oppure da cellule germinali primordiali provenienti da embrioni di 5-9 settimane donati secondo il protocollo FIVET (Fertilizzazione In Vitro con Embryo Transfer, una tecnica di procreazione assistita con fecondazione in vitro dell'ovulo e successivo trasferimento dell'embrione così formato nell'utero della donna).

In vivo, le ESCs rigorosamente dette, esistono solo per un breve periodo di tempo durante lo sviluppo preimpianto dell'embrione: in parallelo con il procedere delle divisioni mitotiche, le cellule dell'embrione diventano poi specializzate perdono la loro pluripotenza. Già nella transizione da morula a blastula si evidenzia che i livelli di alcune proteine cambiano in relazione alla posizione occupata dalle cellule nella morula stessa; in quelle esposte verso l'esterno, che hanno meno contatti reciproci e quindi esprimono meno proteine di giunzione, come la Caderina E e la β -Catenina fondamentali per l'attivazione di fattori di trascrizione, i livelli di Oct4, SOX2 e NANOG (ossia fattori di trascrizione) calano con conseguente perdita della pluripotenza. Esse andranno a formare il trofoblasto con la caratteristica di cellule staminali unipotenti, mentre in quelle più interne il livello di Oct4, SOX2, e NANOG monoalleliche rimane invariato con il mantenimento della pluripotenza fondamentale per la formazione della ICM. Durante lo sviluppo preimpianto l'ICM della blastula precoce è costituita da un gruppo eterogeneo di cellule pluripotenti divisibile in due sotto-popolazioni: le cellule Progenitrici dell'Epiblasto (P-EPI) e le cellule Progenitrici dell'Endoderma Extraembrionale (P-EnEx). Le P-EPI e le P-EnEx sono morfologicamente indistinguibili, ma esprimono marcatori molecolari diversi: in particolare, nelle P-EPI prevale l'espressione di OCT4, SOX2 NANOG fondamentali per lo sviluppo dell'embrione, mentre nelle cellule P-EnEx prevalgono SOX7, GATA4 e GATA6, poiché hanno il compito di dare origine a cellule di tessuti extraembrionali. Allo stadio di blastocisti tardiva, le P-EnEx migrano verso la cavità interna, o Blastocoele, dando inizio al processo di differenziamento in Endoderma Primitivo (EPr). Col passare dei giorni aumenta la specificazione e differenziazione delle cellule, si passa così dall'Endoderma Primitivo alla formazione degli altri tessuti embrionali, alla formazione del feto e poi sempre più in là col tempo del neonato e del futuro adulto. Riassunto molto grossolanamente l'ultimo passaggio evolutivo, ciò che interessava sottolineare era che SOX2, Nanog, OCT4 e poi Sall 4 sono i principali fattori di trascrizione che regolano e mantengono la staminalità delle cellule pluripotenti, e mantenere la staminalità è per una cellula staminale un passaggio fondamentale per rimanere tale e svolgere le proprie funzioni.

Fondamentale per le staminali è l'ambiente in cui essa si trova a vivere ed è nominato nicchia. La nicchia è il microambiente in cui una determinata cellula staminale vive, è fondamentale sia per il suo mantenimento che per il suo differenziamento. Un esempio è rappresentato dalle cellule mesenchimali che possono essere influenzate dalla nicchia in cui si trovano differenziandosi in cellule muscolari striate o cardiache.

Come visto all'inizio, le cellule staminali normali possono trasformarsi in cellule staminali tumorali. Questo tipo di cellule staminali rappresentano quella piccola popolazione di cellule che sta alla base del tumore e lo fanno sopravvivere. Infatti massa tumorale sarebbe composta da un gran numero di cellule capaci di proliferare solo in maniera limitata e da cellule staminali tumorali in grado di proliferare a lungo e mantenere il tumore.

Il processo di trasformazione maligna che porta una cellula staminale o progenitrice a diventare tumorale consiste in una serie di *mutazioni genetiche* a carico di oncogeni e oncosoppressori che stravolgono i normali cicli di divisione o il differenziamento cellulare. È più facile che tale processo avvenga in una cellula staminale, in quanto vive più a lungo ed è più facile che accumuli nel tempo mutazioni genetiche multiple tale da diventare tumorale. Le cellule staminali tumorali (CST) possiedono la capacità di generare tumori attraverso i processi tipici delle cellule staminali normali di autorinnovamento e differenziazione in tipi cellulari differenti. Come accennato un istante fa queste cellule sono preposte a persistere nel tumore come popolazione distinta e a causare la comparsa di metastasi e recidive. Le prime CST sono state scoperte nelle leucemie e sono state riconosciute per la caratteristica di ricreare la leucemia umana nei topi da laboratorio. Le cellule staminali leucemiche si sono rivelate somiglianti alle cellule staminali del sangue presenti nelle persone sane. La somiglianza tra cellule staminali tumorali e cellule staminali normali è stata osservata anche in altri tumori, come quelli dell'intestino e cervello. Da questa osservazione è nata l'ipotesi sull'origine delle cellule staminali tumorali: le staminali tumorali derivano dalle staminali del tessuto stesso in cui il tumore si è sviluppato. In seguito è stato visto che le cellule staminali tumorali possono derivare anche da una sottopopolazione di cellule chiamate progenitori. Queste sono i primi discendenti della cellula staminale, hanno una grande capacità di dividersi ma dopo un determinato numero di divisioni muoiono. Se una cellula progenitrice va incontro a trasformazione maligna può acquisire l'immortalità e diventare una cellula staminale tumorale.

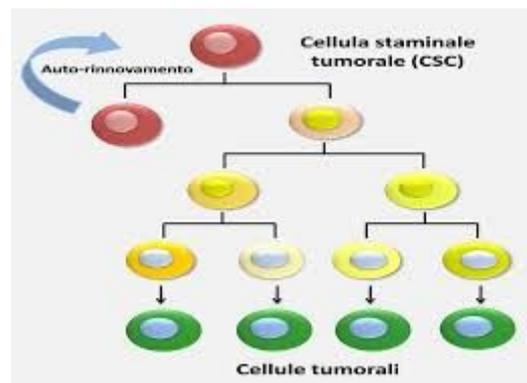


Figura. meccanismo di formazione di cellule staminali tumorali

L'utilizzo delle staminali in medicina.

Le cellule staminali vengono adoperate molto nella terapia cellulare. La terapia cellulare fa parte di quella nuova branca della medicina chiamata medicina rigenerativa, che si pone l'obiettivo di sostituire organi e tessuti danneggiati. La conoscenza sempre più approfondita della biologia delle cellule staminali ha permesso, in questi ultimi venti anni, lo sviluppo di tecniche sempre più innovative e mirate che vedono l'utilizzo di queste cellule per curare o prevenire tutta una serie di malattie.

È conosciuto ormai che le cellule staminali vengono classificate principalmente in due categorie: quelle embrionali che hanno la capacità di moltiplicarsi indefinitamente e di dare origine a tutti i tipi cellulari (per questo dette anche pluripotenti), e quelle adulte o somatiche (contenute nel nostro corpo) che non hanno le complete potenzialità delle staminali embrionali poiché si sono già un po' specializzate. Dal 2006 è stata poi messa a punto una tecnica per ottenere le cosiddette cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) a partire da cellule completamente differenziate, come quelle della pelle, che vengono "geneticamente riprogrammate" per tornare indietro nel tempo. L'ideatore di tale tecnica è il giapponese Shinya Yamanaka, scoperta grazie alla quale ha ricevuto il Nobel nel 2012. La peculiarità di queste cellule è di avere le stesse potenzialità delle staminali embrionali ma senza le problematiche etiche. Le iPSC si stanno rivelando inoltre molto utili per studiare i meccanismi alla base di molte malattie e per analizzare il possibile effetto terapeutico di un gran numero di farmaci.

Nell'ambito della terapia cellulare le staminali possono agire in due diversi modi: colonizzare fisicamente il tessuto danneggiato con il successivo differenziamento nel tipo cellulare specializzato per sostenere la struttura e funzionalità del tessuto, o rilasciare molecole che innescano meccanismi molecolari e cellulari che si traducono in "effetto terapeutico" sul tessuto danneggiato.

Ad oggi, sono ancora poche le terapie cellulari e tessutali autorizzate in Europa ma si stanno facendo grandi progressi per la messa a punto di innovativi trattamenti per le gravi ustioni, alcune malattie rare e i tumori.

Negli ultimi decenni, si è mostrato più evidente quante persone al mondo riscontrino durante l'arco della vita problemi di salute legati a malattie del sangue. Le cellule del sangue, prodotte nel midollo osseo ed immesse in circolo, originano da cellule progenitrici, le cellule staminali emopoietiche, che hanno la caratteristica di essere totipotenti, cioè di riprodursi a un ritmo estremamente intenso e a differenziarsi nelle varie linee cellulari.

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) si è affermato come una delle strategie terapeutiche più utili nella cura di emopatie maligne (es: leucemie acute o croniche, mieloidi o linfoidi) o ereditarie (Thalassemia Major) per le quali le terapie convenzionali non offrono che scarse o nulle possibilità di guarigione.

Per trapianto si intende la sostituzione di un midollo osseo malato o non funzionante, con cellule staminali sane in grado di rigenerare tutte le cellule del sangue, ricostituendo le normali funzioni ematologiche e immunologiche.

Il trapianto può essere autologo (trapianto di CSE dello stesso paziente dopo opportuno trattamento) o allogenico (trapianto di CSE da un donatore sano). In quest'ultimo caso è indispensabile reperire un donatore con caratteristiche genetiche simili (compatibilità tissutale) a quelle del ricevente.

Il trapianto di CSE allogenico consiste principalmente in due fasi:

- la prima è mirata alla distruzione delle cellule midollari del paziente con farmaci particolari e/o radiazioni;
- la seconda consiste nella ricostituzione del patrimonio midollare del paziente, tramite l'infusione, per via endovenosa (in maniera del tutto simile ad una normale trasfusione), delle cellule staminali prelevate dal donatore HLA compatibile. Queste cellule riescono, infatti, a trovare da sole la strada per colonizzare la sede ossea di loro competenza e iniziare a produrre i normali elementi cellulari del sangue.

Inizialmente (oltre 30 anni fa) i trapianti di CSE venivano eseguiti esclusivamente tra fratelli compatibili HLA identici.

Tuttavia, la constatazione che il 70% dei malati affetti da emopatie letali non poteva giovare di una terapia tanto valida (in Italia, ogni anno, circa 1600 pazienti eleggibili al trapianto non dispongono di un donatore all'interno della fratria) ha spinto gli ematologi a cercare il donatore al di fuori dell'ambito familiare.

I risultati soddisfacenti ottenuti ricorrendo a donatori non familiari hanno portato, nonostante la difficoltà nel reperire soggetti con caratteristiche genetiche simili, al fiorire in tutto il mondo di Registri Nazionali di potenziali donatori di midollo osseo.

Tali organizzazioni costituiscono delle vere e proprie banche dati che, collegate tra di loro in una rete internazionale, rendono accessibile ad un singolo paziente un pool di donatori estremamente ampio. La strategia è necessaria per aumentare la probabilità di reperire un donatore compatibile che, stante l'elevato numero di combinazioni possibili (polimorfismo) del sistema HLA, oscilla, in rapporto alla frequenza delle caratteristiche (fenotipo) considerate, da 1 su 1.000 a 1 su 100.000.

Anche in Italia è stato avviato, nel 1989, sulla spinta di diverse Società Scientifiche interessate alla materia (Società Italiana di Ematologia, Associazione Italiana di

Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica, Società Italiana di Immunoematologia e Trasfusione del Sangue), un programma denominato “Donazione di Midollo Osseo”. E’ stato, quindi, istituito il Registro nazionale Italiano Donatori di Midollo Osseo, internazionalmente noto come IBMDR (Italian Bone Marrow Donor Registry), con sede a Genova presso il Laboratorio di Istocompatibilità dell’E.O. “Ospedali Galliera”, la cui attività è stata istituzionalmente riconosciuta con la Legge n.52 del marzo 2001. Esso ha lo scopo di procurare ai pazienti ematologici in attesa di trapianto, ma privi del donatore ideale (il fratello HLA-identico), un volontario, estraneo alla famiglia, con caratteristiche immunogenetiche tali da consentire l’atto terapeutico con elevate probabilità di successo.

Come avviene il trapianto per il donatore



Le cellule staminali midollari da donatore non consanguineo vengono prelevate dal midollo osseo mediante ripetute punture delle creste iliache (ossa del bacino).

Trattandosi di punture ossee, è necessario che il prelievo venga eseguito in anestesia, risultando altrimenti doloroso.

In genere l'anestesia è totale, ma può essere effettuata anche quella di tipo epidurale, mediante puntura lombare.

Quella generale è comunque l'anestesia di elezione. Il prelievo dura, di norma, 30-45 minuti e non comporta danno o menomazioni al donatore, come dimostra l’esperienza di oltre 150 mila prelievi di sangue midollare effettuati nel mondo.

Esistono comunque dei rischi minimi (vedasi allegato H), legati alla procedura stessa, che possono essere così suddivisi:

- rischio anestesilogico (correlato al tipo di procedura impiegata e all’anestetico somministrato);
- rischio infettivologico (i siti di prelievo del sangue midollare o quelli di infusione sono suscettibili di infezione);
- rischio di lesioni (durante la raccolta del sangue midollare è possibile provocare danni in loco ai tessuti causando, per esempio, sciatalgia).

Per far fronte alle possibili complicanze da essi derivanti è quindi necessario che il donatore non presenti gravi alterazioni cardiocircolatorie e renali.

Il prelievo dura, di norma, meno di un'ora. All'uscita dalla sala operatoria, il donatore viene tenuto spedalizzato per un periodo di 48 ore. Al risveglio, e per un paio di giorni, egli avvertirà del dolore, in genere contenuto, nelle sedi di prelievo. Dopo tre giorni al massimo, la dolorabilità è praticamente nulla. La quantità di sangue midollare che viene prelevata varia in rapporto al volume corporeo del ricevente, ma è usualmente compresa fra i 700 e i 1000

mL. L'organismo non avverte nessun sintomo di carenza e il midollo prelevato si ricostituisce spontaneamente in 7-10 giorni; è opportuno, comunque, che, una settimana prima della data fissata per il prelievo, il donatore si sottoponga all'autodonazione di una o più unità di sangue che gli verranno reinfuse, in sala operatoria, per bilanciare il volume di sangue circolante. Non è, di norma, necessaria l'assunzione di farmaci né prima, né dopo la donazione.

Da quanto sopra, appare ragionevole prevedere che un donatore debba restare assente non più di una settimana dalle sue abituali occupazioni.

Le cellule staminali possono essere prelevate pure da sangue periferico



Poiché il sangue periferico, di norma, non contiene sufficienti quantità di cellule staminali emopoietiche per un trapianto, è necessario, prima del prelievo, incrementare il loro numero.

A tal fine si somministra un fattore di crescita chiamato G-CSF (Growth-Colony Stimulating Factor- fattore stimolante la crescita cellulare), normalmente prodotto dall'organismo, e da qualche anno disponibile anche in commercio come formulazione farmaceutica, che ha la proprietà di rendere più rapida la crescita delle cellule staminali e di facilitarne il passaggio nel sangue periferico. Le prime sperimentazioni con il G-CSF risalgono al 1988: sono, quindi, passato quasi 30 anni e sono stati eseguiti numerosi studi, che hanno indagato sui possibili effetti secondari dovuti all'uso del farmaco.

A causa della stimolazione che induce nel midollo osseo, il G-CSF può provocare alcuni disturbi, solitamente di lieve o moderata entità, ben controllabili con comuni antidolorifici.

I disturbi che più comunemente si possono avvertire sono: febbre o febbre (anche 38 °C), cefalea, dolori ossei di diversa entità (soprattutto al bacino, alla schiena, agli arti), senso di affaticamento e talora perdita di appetito. Tali disturbi scompaiono rapidamente alla sospensione del trattamento e non lasciano sequele.

Il rischio di mortalità associato alla mobilizzazione di PBSC e alla loro raccolta (incidenti cerebro-vascolari, rotture di milza e ischemia miocardica) in soggetti sani e non in età avanzata è molto basso, seppur non nullo. Non vi sono ad oggi evidenze tali da far considerare questo rischio superiore a quello inerente la raccolta di cellule staminali midollari.

Nel 2006, sono stati pubblicati due lavori, che hanno riportato un aumentato rischio di possibili proliferazioni di cellule leucemiche indotte dal G-CSF, collegandolo alle caratteristiche genetiche del donatore. Infatti, i casi segnalati sono legati all'uso del farmaco in donatori familiari, che, ovviamente, presentano un'eredità oncoematologica, predisponente a questo tipo di effetto avverso. Di contro uno studio del marzo 2007, condotto su oltre 23.000 donatori familiari sottoposti a mobilizzazione mediante G-CSF, non ha evidenziato un'incidenza diversa dal normale di queste malattie. Sulla base dei dati ad oggi disponibili

non vi è nessuna evidenza che l'uso di tale farmaco aumenti il rischio di manifestare tali patologie in soggetti sani.

La somministrazione di G-CSF è peraltro indispensabile per poter raccogliere le cellule staminali dal sangue periferico invece che dal midollo osseo. In un soggetto sano l'effetto di questi farmaci diventa visibile dopo 4-5 giorni di trattamento: è questo il momento previsto per la raccolta.

Si tratta di procedure generalmente molto ben tollerate, che non richiedono nessun tipo di anestesia.

I moderni separatori cellulari utilizzati prevedono circuiti e materiali rigorosamente sterili e monouso e possono richiedere due accessi vascolari (dalle due braccia): il sangue viene prelevato da un braccio, attraverso il circuito entra in una centrifuga dove la componente cellulare che interessa viene isolata e poi raccolta in una sacca apposita, mentre il resto del sangue viene reinfuso dal braccio opposto. In caso di unico accesso vascolare, le fasi di prelievo e di reinfusione avvengono alternativamente dallo stesso braccio.

Per tutta la procedura, che ha una durata di circa 3-4 ore, il sangue che entra nel separatore non deve coagulare e per questo viene continuamente miscelato con una soluzione anticoagulante-conservante (ACD, cioè acido citrico, citrato di sodio, destrosio). La presenza di citrato di sodio nella soluzione può indurre ipocalcemia, con eventuale comparsa di formicolii periorali, al naso, alle dita: si tratta di una sintomatologia di lieve entità, che scompare rapidamente con la somministrazione endovena di preparati che contengono Ca⁺.

Per raccogliere la quantità desiderata di progenitori emopoietici circolanti possono essere necessarie da 1 a 2 procedure, che si effettuano in giorni consecutivi.

La riserva dalla placenta e dal cordone ombelicale

La difficoltà di reperire un donatore compatibile per alcuni pazienti o la necessità di un intervento terapeutico rapido hanno portato alla ricerca di fonti di cellule staminali emopoietiche alternative al midollo.

L'osservazione che il sangue placentare contiene cellule staminali emopoietiche ha indotto studi e sperimentazioni, che hanno confermato la possibilità di utilizzare il sangue prelevato dal cordone ombelicale come fonte alternativa di staminali emopoietiche a scopo di trapianto.

Le cellule staminali cordonali sono perfettamente in grado di ricostituire un midollo osseo dopo la sua distruzione in seguito a trattamento radio-chemioterapico.

Il sangue cordonale raccolto subito dopo il parto contiene cellule staminali con relativa immaturità immunologica, il cui utilizzo spesso permette di superare, le tradizionali barriere di compatibilità consentendo di effettuare il trapianto anche tra persone non perfettamente compatibili, come invece è necessario per le staminali emopoietiche da adulto.

La forza di un dono

Per molte persone la vita stessa è un dono: un dono senza pari che molti non sanno a chi attribuire con certezza totale - un Dio onnipotente, il bisogno biologico e il sentimento dei genitori, il destino imperscrutabile. Fatto sta che la vita va vissuta e non va sprecata: forse il modo migliore per essere sicuri che non stiamo gettando la nostra vita è fare esperienza di un dono, dare a chi a bisogno una parte di se stessi, e vedere proliferare nella persona la gioia di aver ricevuto un nuovo dono. Doniamo, perché donare è importante; Doniamo, perché donare non ci costa nulla; Doniamo, perché ogni vita è vuota e insensata se presa separatamente alle altre vite; Doniamo, perché la vita degli altri è anch'essa un dono prezioso e va preservata.

“Niente si dà tanto come quando si danno delle speranze.”

ANATOLE FRANCE