



Le cellule staminali emopoietiche: caratteristiche, funzioni, potenzialità terapeutiche, donazioni da adulto.



Vincenzo Saturni

Ascoli Piceno, 29 settembre 2012

Cellule staminali

Cellule non specializzate, cioè in fase embrionale, che possono dare origine a qualsiasi tipo di cellula.



da *stamen*, filo della vita

sono cellule il cui destino non è ancora deciso

indifferenziate, in grado di automantenersi illimitatamente

di originare tutti i tipi di cellule diverse e mature



in grado di comparire sui media prima che
su riviste scientifiche

Tutte le cure che aspettiamo dalle cellule

Dalla «riparazione» degli organi alle terapie delle degenerazioni, ecco quali benefici potrebbe portare la ricerca.

LE STAMINALI

EMBRIONALI

Le cellule staminali embrionali sono totipotenti, capaci cioè di dar luogo a tutti i tessuti dell'organismo adulto. E sono immortali. Questa ultima capacità si perde nel processo di maturazione, che indirizza certe linee cellulari a diventare l'abbazia di un certo organo.

ADULTE

Le cellule staminali adulte sono presenti nel midollo osseo, nella pelle, nel tessuto adiposo, nell'intestino, nel cervello, nel cordone ombelicale. Il loro impiego ha il vantaggio di aprire la strada all'autolograft, che non richiede una terapia antibiotica.

CERVELLO.

I tessuti cerebrali di ricambio possono essere coltivati da cellule staminali in funzione di un trapianto.

CUORE.

Organi di ricambio possono essere sviluppati dalle stesse cellule staminali del paziente. I tessuti del cuore danneggiati possono essere riparati.

FEGATO.

Le cellule del fegato possono essere create dalle cellule staminali che si trovano nel sangue e usate per combattere l'epatite.

FELLE.

Cellule staminali possono essere usate per coltivare una pelle geneticamente compatibile che rimpiazza il cuoio di rigetto.

GLI ORGANI...

OCCHI.

Pure il tessuto di retina e cornea può essere sviluppato partendo dalle cellule staminali.

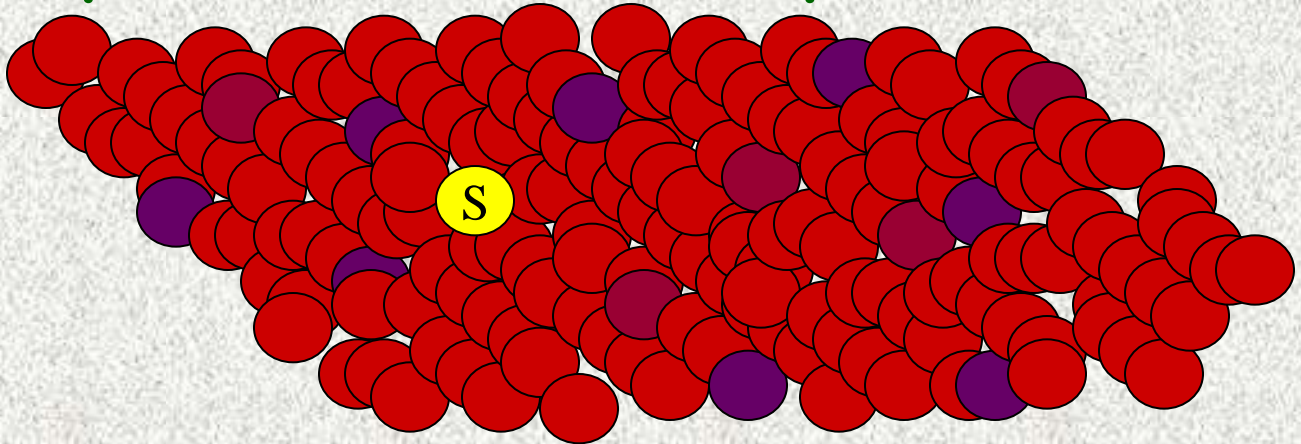


• Cellule
• Tessuti
• Organi



Problema

Le cellule staminali sono difficili da identificare, purificare, manipolare...



Per cellula staminale si intende una cellula non differenziata che può:

Riprodursi



Dare origine a cellule diverse

CELLULE STAMINALI totipotenti



Fino a 3 - 4 GIORNI DOPO FECONDAZIONE
(zigote e blastomeri della morula)

può dare origine ad un individuo completo:
CAPACITÀ MORFOGENETICA

illimitata capacità moltiplicativa e proliferativa:
IMMORTALITÀ CELLULARE

può differenziarsi in tutti i tipi cellulari:
CAPACITÀ DIFFERENZIATIVA



CELLULE STAMINALI pluripotenti

da 4 a 6 GIORNI DALLA FECONDAZIONE
(cellule staminali embrionali: blastocisti)

NON PIU' CAPACE di dare origine ad un individuo
completo: capacità morfogenetica PERDUTA

illimitata capacità moltiplicativa e proliferativa:
immortalità cellulare MANTENUTA

può differenziarsi in tutti i tipi cellulari:
capacità differenziativa MANTENUTA



CELLULE STAMINALI multipotenti (adulte o somatiche)



da ~10 a 16 GIORNI DALLA FECONDAZIONE
(cellule staminali fetali, neonatali, del cordone, adulte)

NON PIU' CAPACE di dare origine ad un individuo
completo: capacità morfogenetica PERDUTA

NON PIU' CAPACE di illimitata capacità moltiplicativa e
proliferativa: immortalità cellulare PERDUTA

può differenziarsi in diversi i tipi cellulari:
capacità differenziativa MANTENUTA

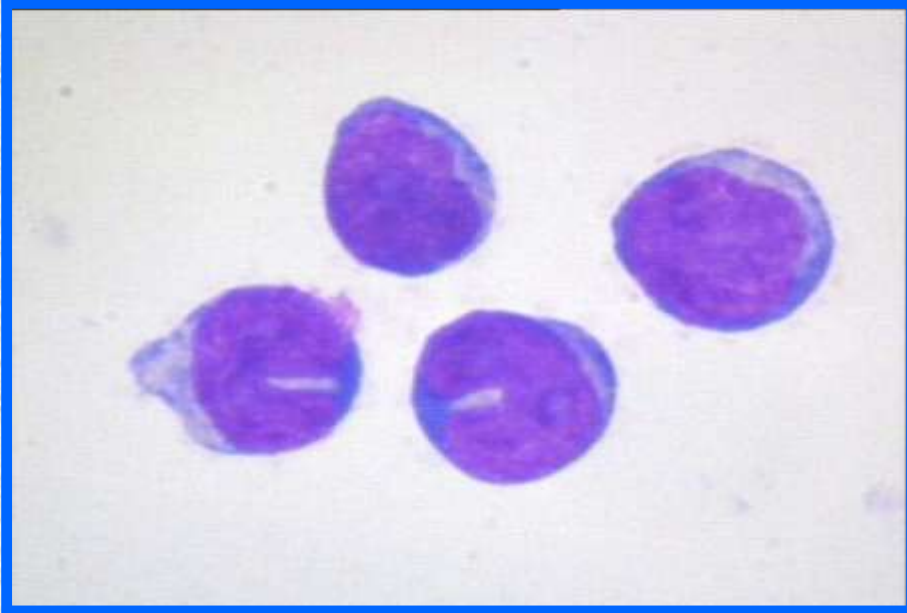


In un giorno miliardi di cellule del sangue devono essere prodotte per rimpiazzare quelle distrutte. Questo enorme processo di rinnovamento cellulare è assicurato da una piccola popolazione di cellule, calcolata fra lo 0.005% e lo 0.1% di tutta la popolazione midollare, chiamate cellule staminali emopoietiche.

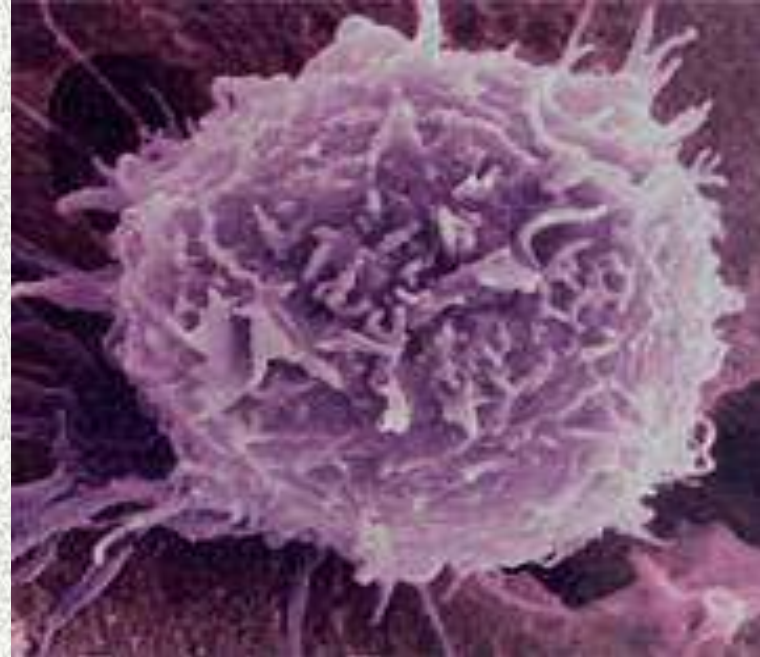
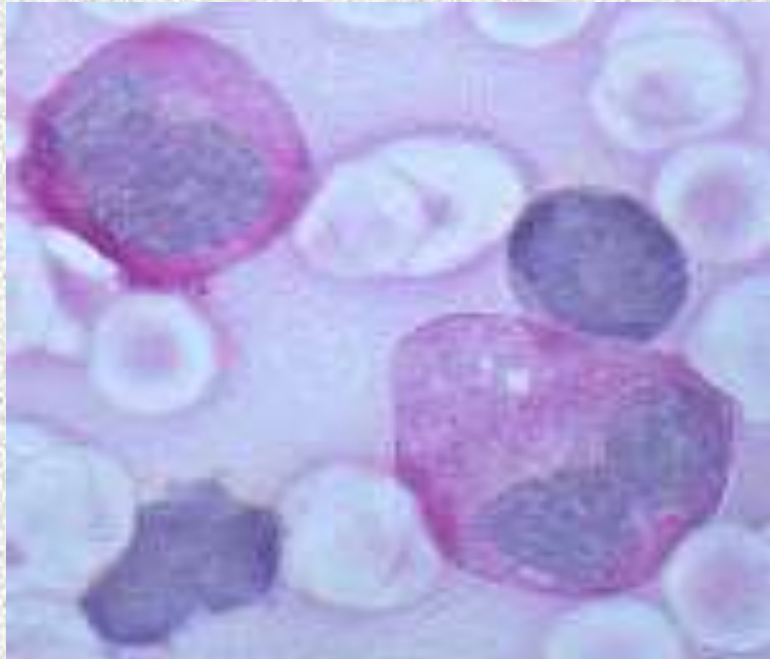
Il maggior ostacolo alla identificazione della presunta cellula staminale emopoietica è stato per lungo tempo la mancanza di mezzi idonei per separare tale popolazione cellulare dalle cellule più mature, superati mediante l'uso della citometria a flusso e di altre metodiche di separazione cellulare, associate all'utilizzo di anticorpi monoclonali in grado di evidenziare la presenza o la mancanza di particolari antigeni nella superficie di tali cellule.



identificazione della cellula staminale ematopoietica umana marcata come CD34+ (1984)



Microscopio ottico



Microscopio elettronico

I meccanismi che inducono una cellula staminale totipotente ad autoreplicarsi o a differenziarsi verso linee emopoietiche ben definite e successivamente a maturare non sono stati ancora definitivamente chiariti, ma sicuramente sono favoriti da citochine, quali ad esempio il fattore di crescita dei fibroblasti, il fattore di stimolazione delle colonie emopoietiche (CSFs).



Quando parliamo di cellula staminale ematopoietica o emopoietica (CSE)

intendiamo
una cellula che genera
gli elementi corpuscolati del sangue



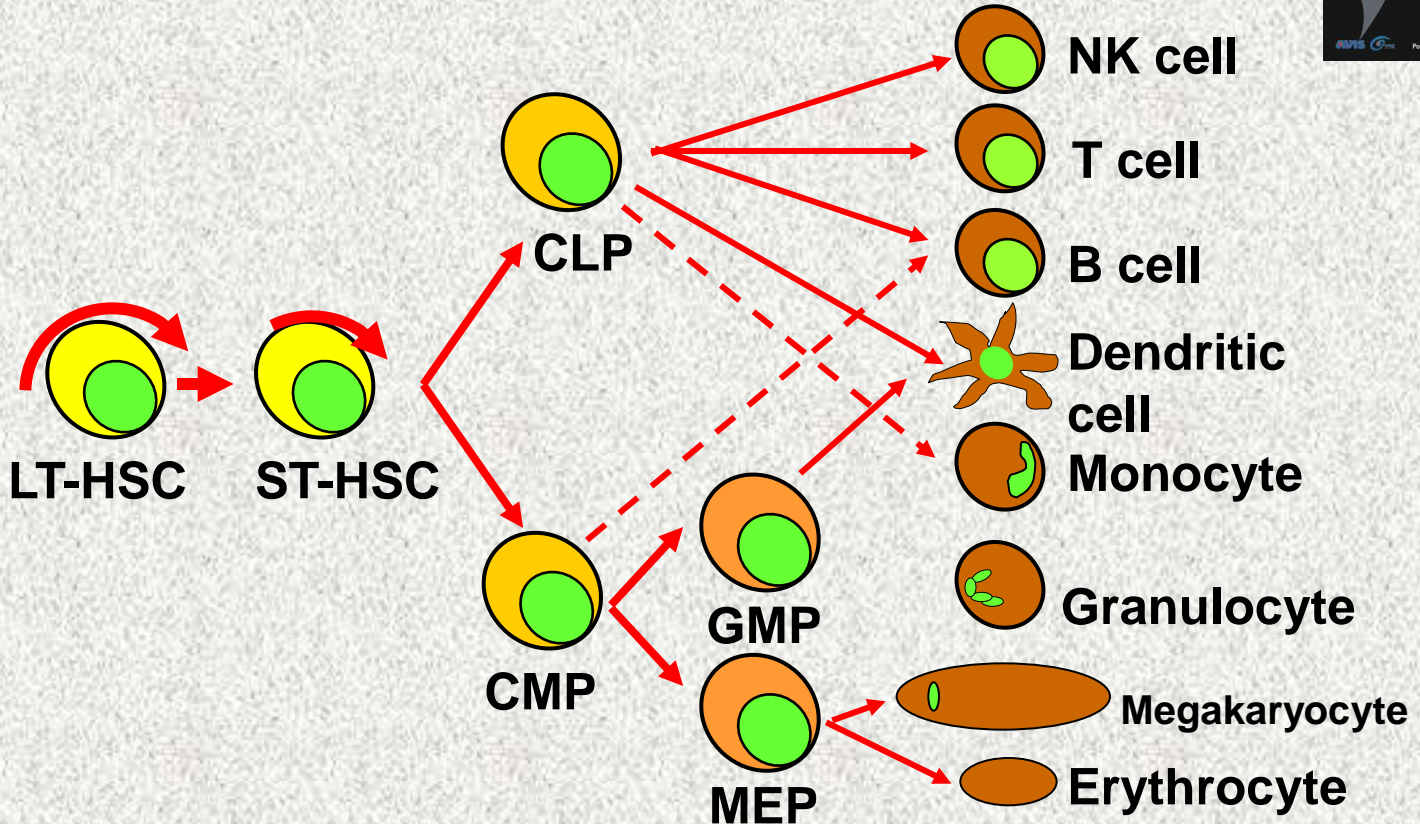
quindi la CSE
deve essere in grado di:



1. Riprodursi.
2. Differenziarsi.
3. Rigenerare la produzione delle cellule ematiche dopo la distruzione totale del midollo seguita da trapianto.



CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE



PLASTICITÀ DELLE CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE

- Dal midollo al fegato (cellule ovali)
- Dal midollo al cuore (cardiomiociti)
- Dal midollo ai muscoli scheletrici
- Dal midollo al sistema nervoso centrale (neuroni, oligodendrociti)
- Dal midollo al rene (cellule epiteliali tubulari)



Da Alberto Marmont
modificata





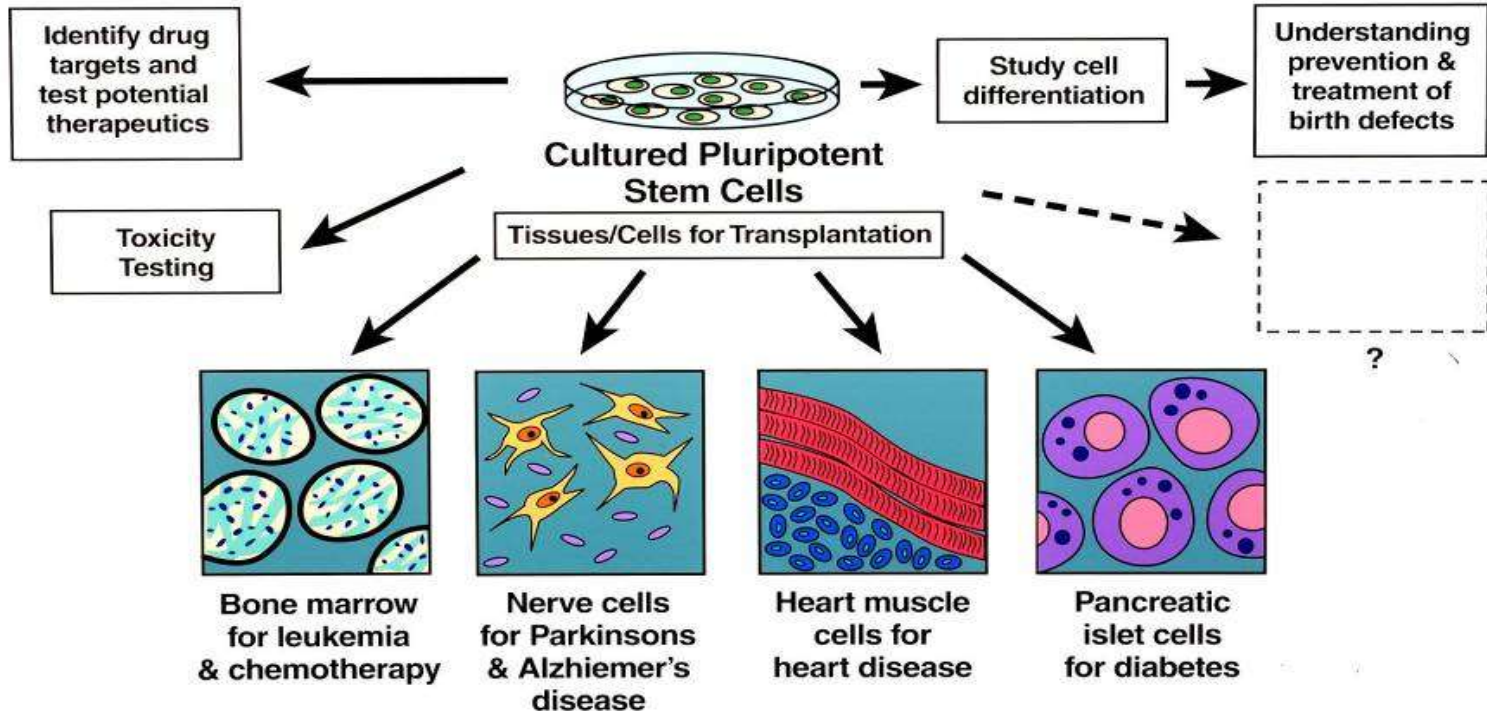
- Dal midollo al pancreas (cellule beta insulari)
- Dal midollo al polmone (cellule Clara)
- Dal midollo alla cute
- Dal midollo al tubo gastroenterico



Herzog - Krause, BLOOD 15.11.2003

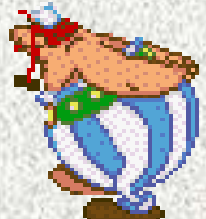
Da Alberto Marmont
modificata

The Promise of Stem Cell Research



DOVE SI TROVANO LE CELLULE STAMINALI?

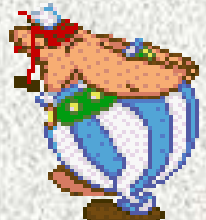
In generale in tutti i tessuti
che si rinnovano



DOVE SI TROVANO LE CELLULE STAMINALI?

In generale in tutti i tessuti
che si rinnovano

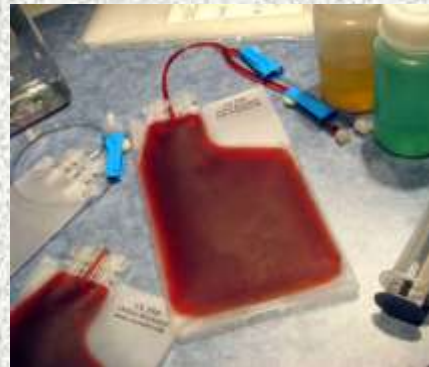
1) nella blastocisti embrionale
(cellula staminale embrionale)



DOVE SI TROVANO LE CELLULE STAMINALI?



2) nel cordone ombelicale
(cellula staminale cordonale)



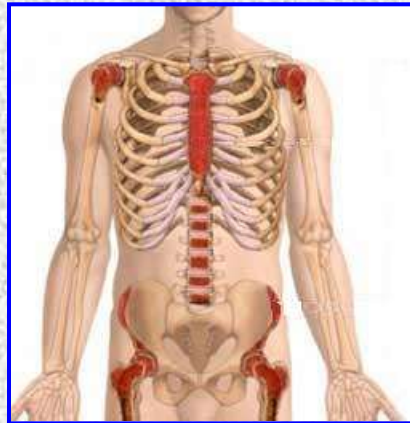
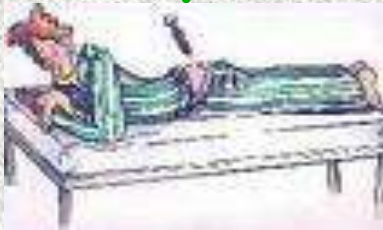
Cellule staminali da cordone ombelicale



Pluripotenti. Sono cellule dotate di grande capacità proliferativa e considerate al momento solo precursori degli elementi del sangue.

DOVE SI TROVANO LE CELLULE STAMINALI?

3) nel midollo osseo (e nel sangue periferico) dell'organismo sviluppato

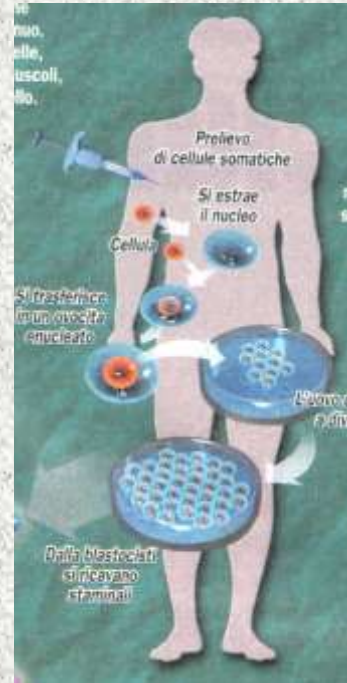


Cellule staminali da adulto

Pluripotenti.

Permettono la ricostituzione dei tessuti danneggiati.

Difficoltà ad identificarle, espanderle, mantenerle indifferenziate e a farle specializzare in tessuti diversi da quello di partenza.



nel midollo osseo le cellule CD 34+ sono il 3 - 5%
nel sangue periferico invece lo 0,03 - 0,05%

la procedura per incrementare le CSE nel sangue periferico si chiama mobilizzazione e si ottiene con maggior efficienza utilizzando sia chemioterapia sia fattori di crescita ematopoietici (fino a 100 - 160 volte) rispetto alla sola chemioterapia o ai soli fattori di crescita (20 - 25 volte)

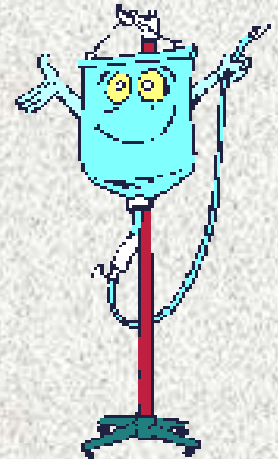


I fattori di crescita emopoietici



Sono prodotti da diverse cellule (linfociti, monociti, macrofagi, cellule endoteliali e fibroblasti)

Determinano la moltiplicazione e la differenziazione delle CSE in cellule mature



Applicazioni delle cellule staminali in ematologia e oncoematologia



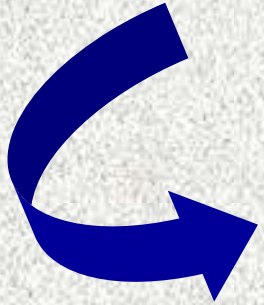
- Leucemie e linfomi
- Mielodisplasia
- Mieloma
- Aplasia midollare
- Insufficienze del midollo
- Patologie congenite (es. ematologiche, emoglobinopatie, immunodeficienze gravi)



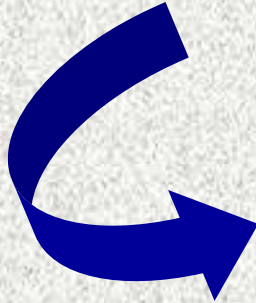
**Il trapianto di CSE nelle
malattie ematologiche permette
di trattare il paziente con dosi
adeguate di chemioterapia e
radioterapia prevedendo al
termine l'infusione o di cellule
staminali dello stesso paziente
(autotrapianto) o da donatore
compatibile familiare o non
consanguineo (allotrapianto)**



AUTOTRAPIANTO



mobilizzazione
chemioterapici
G - CSF



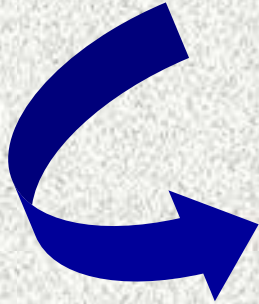
conta CD34+
citofluorimetria



AUTOTRAPIANTO

conta CD34+

per GB $>1500/\text{mm}^3$

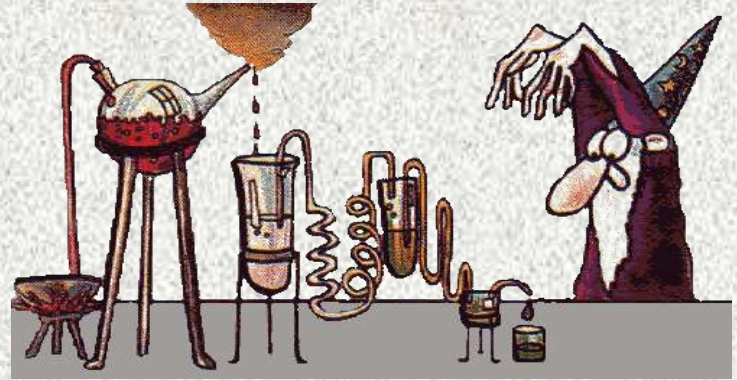
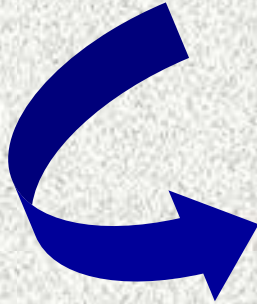


raccolta
leucoafèresi
per CD34+ $>20 \times 10^3/\text{ml}$

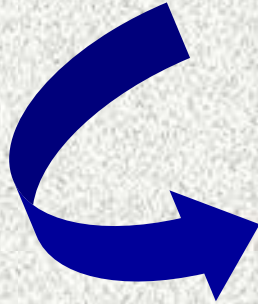
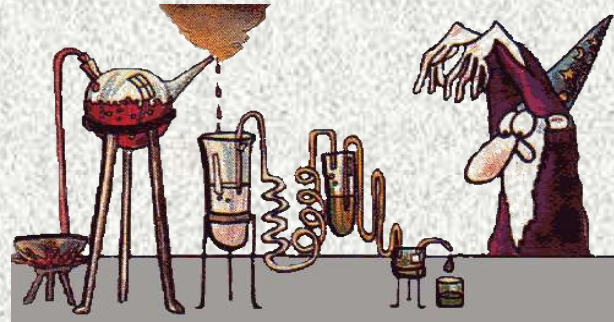


AUTOTRAPIANTO

raccolta
leucoaferesi
CD34+ >2 x 10⁶/Kg



AUTOTRAPIANTO



congelamento (DMSO)
e
conservazione (test)
-196 °C in azoto liquido



AUTOTRAPIANTO

condizionamento



scongelamento (tempi rapidi)
e
reinfusione (<30 minuti)

ALLOTRAPIANTO

DA FAMILIARE

DA NON CONSANGUINEO



PROBLEMATICHE:



COMPATIBILITA' SISTEMA HLA

DECRETO MINISTERIALE 3 MARZO 2005



“Protocolli
per l'accertamento dell'idoneità
del donatore di sangue
e di emocomponenti.”

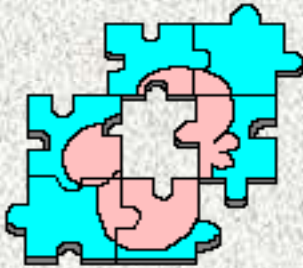


TITOLO IV , ART. 12
**Donazione di cellule staminali
emopoietiche periferiche**

“reclutamento”



iscrizione: compilazione
domanda, consenso informato,
modulo anamnestico



+

prelievo per HLA

inserimento anagrafica e tipizzazione nei registri, locale, regionale, IBMDR



attesa

quando compatibile

sessione informativa



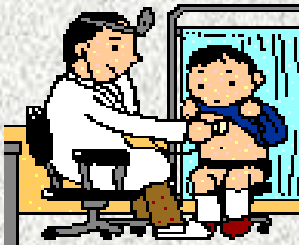
Prelievo di staminali midollari

Procedura

- Anestesia
- Ricovero

Effetti collaterali e rischi

- Dolore locale
- Reattività all'anestesia

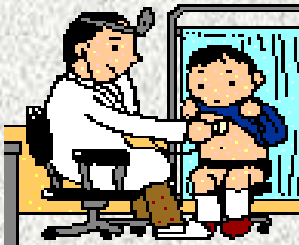


Prelievo di staminali periferiche (PBSC)



Procedura

- Assunzione fattore di crescita (G-CSF)
- Aferesi a doppio ago in regime ambulatoriale
- Controlli pre e post



Effetti collaterali e rischi

- Dolore osseo, muscolare, febbricola, cefalea
- Splenomegalia
- Rarissimo rischio trombotico
- PLTpenia, Ipocalcemia, ematomi dovuti all'aferesi

Da Pecoroni modificata

Aferesi:

dal greco, rimuovere.

Prelievo a scopo trasfusionale

(da donatore) o a scopo terapeutico

di uno più componenti del sangue

mediante l'utilizzo di separatori

cellulari



IDONEITA'

ANAMNESI + VISITA MEDICA

storia familiare e personale per:
allergie, malattie genetiche, malattie ematologiche,
malattie autoimmuni (**tiroidite**), pregressi interventi
chirurgici in anestesia, **episodi trombotici**, irite
episclerite, epatopatie, assunzione farmaci, gravidanza

Esame obiettivo

no splenomegalia e attenta ispezione degli accessi venosi
(se PBSC)



IDONEITA'



ESAMI DI LABORATORIO

Emocromo, tests sierologia virale (anche TOXO e CMV), NAT, test di gravidanza, funzionalità epatica e renale, elettroforesi proteine, elettroliti, ricerca Emoglobine patologiche (HbS), tests coagulativi per trombofilia (PT, PTT, ATIII, Proteina C ed S, APC resistance, omocisteina, studio genetico mutazioni del Fattore V e del Fattore II).

RX TORACE - ECO ADDOME

VISITA CARDIOLOGICA CON ECO



VISITA ANESTESIOLOGICA SE PRELIEVO MIDOLLARE

Modalità di somministrazione del G-CSF



- Sotto la responsabilità del medico della unità di aferesi
- G-CSF sottocute alla max dose di $10\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{d}$ in due somministrazioni giornaliere partendo dal gg -4 rispetto a quello della raccolta. La 9^a dose il 5° giorno dell'aferesi almeno 1 ora prima della procedura
- possibilità di istruire il donatore all'autosomministrazione
- controllo clinico quotidiano del donatore da parte del medico referente i per eventuali effetti collaterali (ev. Paracetamolo)
- al 4° gg di assunzione controllo emocromo (leucocitosi) + conta CD34

G-CSF: effetti collaterali

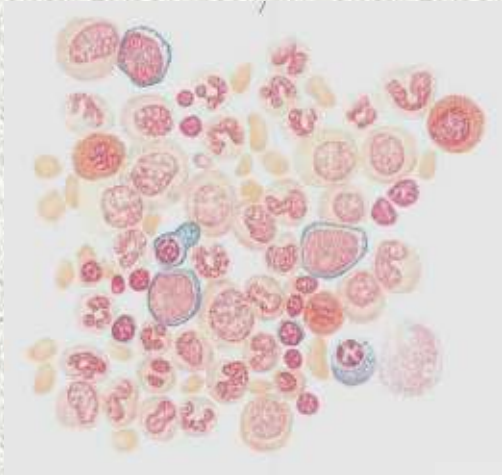


- **frequenti e modesti**, controllabili con paracetamolo, durante la somministrazione (febbricola, cefalea, dolori ossei, astenia, ecc)
- **se reazioni gravi** (febbre elevata, forti dolori, importante splenomegalia, leucocitosi $>70.000/\mu\text{l}$ o altro) **si interrompe la somministrazione**

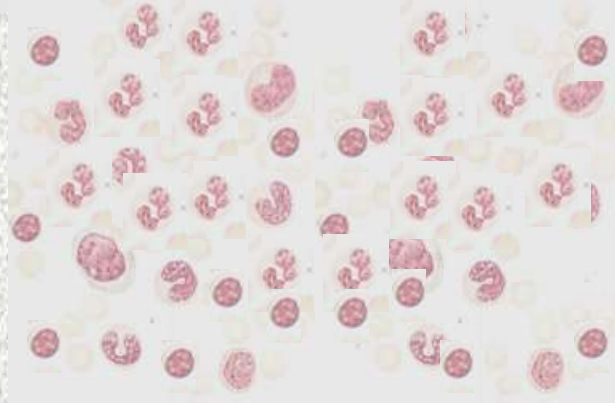
Sangue

midollare

periferico



“mobilizzato”



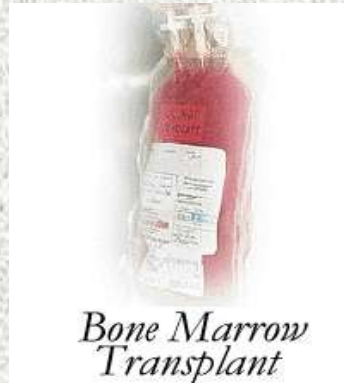
Raccolta con separatore cellulare



Conteggio delle cellule raccolte



PBSC

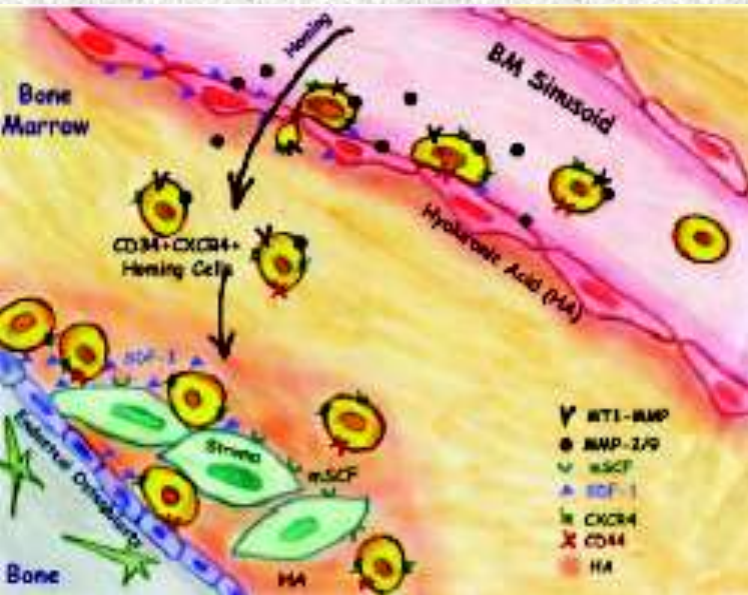
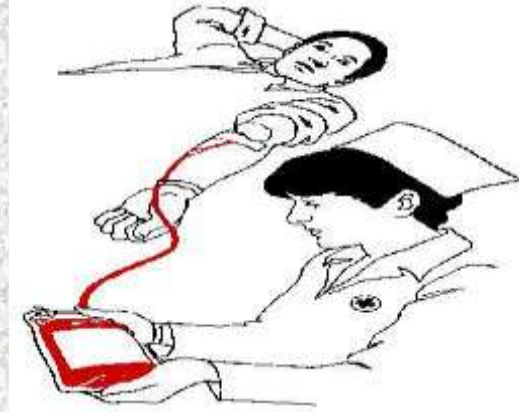


Trasporto

Da Pecoroni modificata



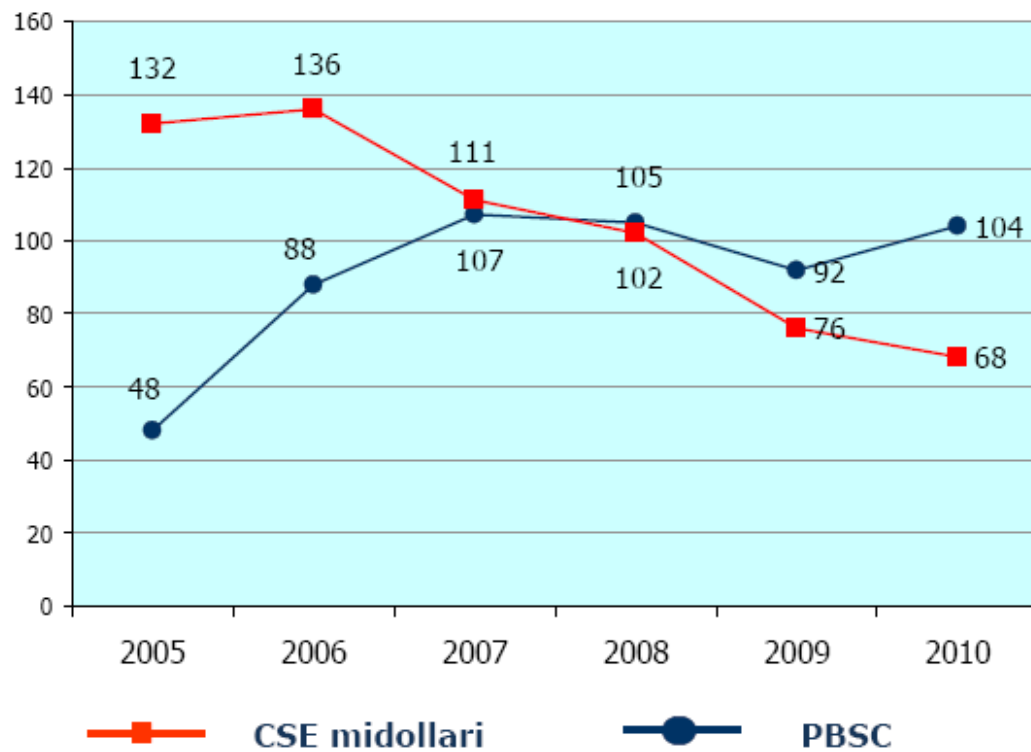
Il trapianto viene infuso come una trasfusione di sangue



Processo di homing delle CD34 che migrano all'interno dell'osso

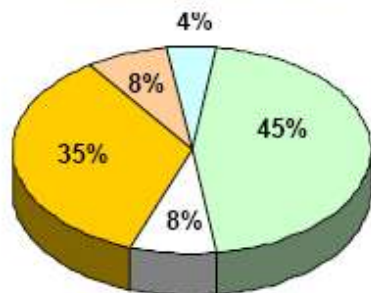


Sorgente di CSE da donatore IBMDR

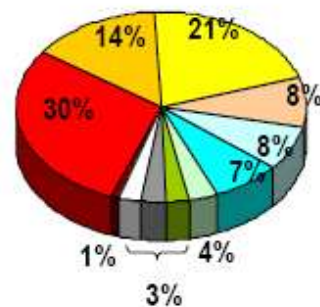


Patologie dei pazienti in ricerca

Patologie dei pazienti in ricerca nel 1990



Patologie dei pazienti in ricerca nel 2010

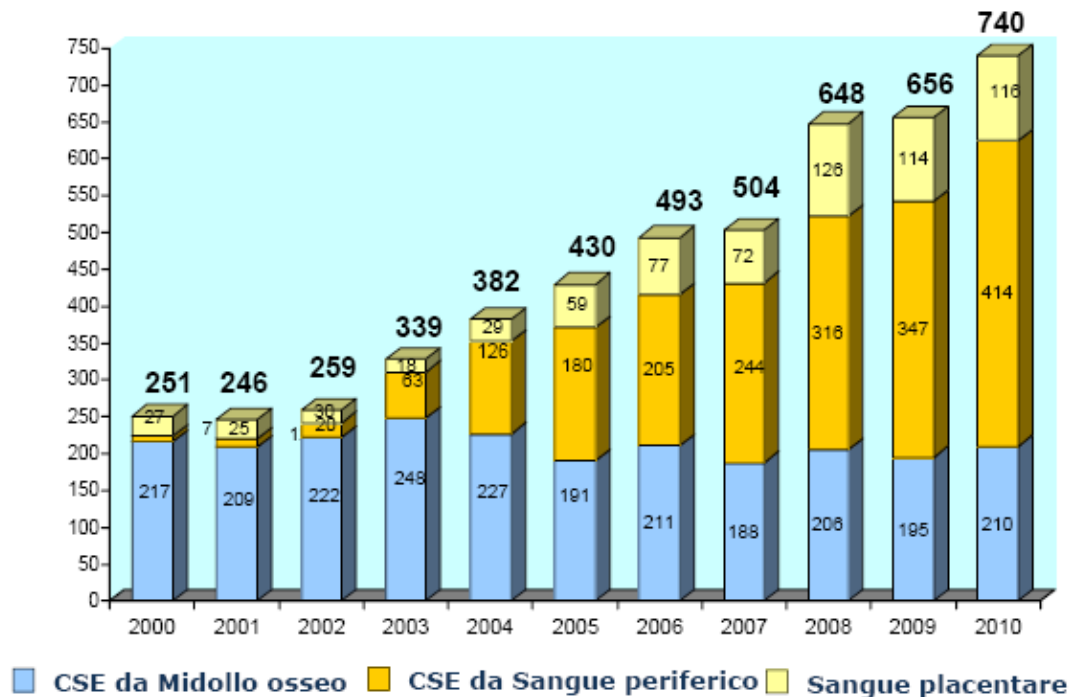


- Leucemia mieloide acuta
- Leucemia linfoblastica acuta
- Linfomi
- Mielodisplasia alto rischio
- Immunodeficienze e disordini congeniti
- Mieloma multiplo

- Leucemia mieloide cronica
- Talassemia
- Mielofibrosi idiopatica
- Anemia aplastica severa
- Neuroblastoma



Trapianti di CSE da non consanguineo in Italia



grazie

