

Le aree di ricerca del 5 x mille 2011.

CELLULE STAMINALI

La realizzazione del Centro di Ricerche Cliniche sarà essenziale per programmare i numerosi *trial clinici* che utilizzeranno cellule staminali adulte.

CHE COSA SONO LE CELLULE STAMINALI.

Le cellule staminali sono **cellule indifferenziate**, prive di specializzazione strutturale o funzionale, potenzialmente in grado di differenziarsi in uno qualunque degli oltre 200 tipi cellulari presenti nell'organismo. Esistono cellule staminali embrionali, fetali e adulte.

Le cellule staminali embrionali, dette totipotenti, sono presenti solo nell'embrione poco prima dell'impianto nell'utero della madre e sono quelle cellule che, pur contenendo tutte le informazioni genetiche necessarie per dar origine a qualunque cellula dell'organismo adulto, sono ancora indifferenziate.

Le cellule staminali fetali, definite pluripotenti, sono presenti nel feto in via di sviluppo, mentre le adulte si trovano in alcune zone profonde dei tessuti differenziati degli animali adulti e, nonostante siano prive di specializzazione, sono già parzialmente indirizzate a svilupparsi verso un determinato tipo di cellula.

Le cellule staminali adulte sono serbatoi di **cellule di riserva cui ciascun tessuto attinge naturalmente per rigenerarsi**, sostituendo le cellule troppo vecchie o troppo usurate per continuare a svolgere la loro funzione, o **per reintegrare perdite accidentali**. Finché si trovano nell'organismo e in condizioni fisiologiche, le cellule staminali adulte di un certo tessuto possono dare origine solo a cellule differenziate di quel tessuto. Prelevate e poste in coltura, invece, possono essere indotte a differenziarsi anche in cellule di altri tessuti, sebbene con bassa frequenza. Lo stesso può avvenire somministrando opportuni fattori di differenziamento direttamente nei serbatoi di cellule staminali presenti nell'organismo. Se, per esempio, si vuole ottenere una cellula della pelle, del cuore o del sangue, si espongono un gruppo di cellule staminali a particolari sostanze in grado di orientare il differenziamento nella direzione desiderata.

L'efficienza di questo processo è ancora modesta nella maggior parte dei casi, perché non conosciamo ancora tutti i segnali e i meccanismi che si verificano.

Le cellule staminali adulte si moltiplicano in genere meno rapidamente di quelle embrionali e possono essere mantenute in coltura per tempi più limitati.

C'è ancora molto lavoro da fare prima di poter stabilire quale tipo di cellula staminale sia da preferire per una data patologia.

I MAGGIORI SUCCESSI DEL SAN RAFFAELE NEL CAMPO DELLE CELLULE STAMINALI.

1. ADA Salsabil, palestinese, è stata la prima nel 2000, a seguire nove bambini provenienti da tutto il mondo, tra cui Valerio, italiano. Erano tutti malati di *Immunodeficienza Severa Combinata* da carenza di *Adenosina Deaminasi (ADA-SCID)* e ora vivono una vita normale grazie al **protocollo di terapia genica sviluppato presso l'Istituto San Raffaele-Telethon per la Terapia Genica (HSR-TIGET)**.

Il gruppo di ricerca multidisciplinare dell'HSR-TIGET, composto da pediatri, immunologi, biologi molecolari e infermieri, ha pubblicato all'inizio dell'anno sul *New England Journal of Medicine* i risultati di uno studio durato quasi dieci anni. Oltre alla descrizione del protocollo terapeutico, è riportato il *follow-up* (da 1,8 a 8,0 anni) sui dieci bambini inclusi nel *trial clinico*. Otto di loro non necessitano più di terapia farmacologica (la sostituzione enzimatica) e tutti sono in buone condizioni di salute.

La protezione dalle infezioni e i miglioramenti nello sviluppo fisico, ottenuti dopo la terapia genica, permettono loro di svolgere una vita normale. Vanno a scuola, fanno sport e hanno una vita sociale e affettiva del tutto uguale a quella dei loro coetanei sani.

Il risultato è straordinario, se si considera che la loro malattia è fatale soprattutto nella prima infanzia, perché comporta l'assenza di una risposta immune efficace, con infezioni ricorrenti, disturbi della crescita importanti, oltre a danni di tipo epatico, scheletrico, neurologico e comportamentale.

L'ADA-SCID è una malattia genetica, dovuta alla presenza di alterazioni nel gene che codifica l'enzima Adenosin Deaminasi. Tali alterazioni determinano un difetto nel metabolismo delle purine, con conseguente accumulo di intermedi tossici nelle cellule e nei tessuti. I precursori delle cellule immunitarie sono particolarmente sensibili a questo tipo di tossicità, ragion per cui i malati non sviluppano il sistema immunitario.

Le cure disponibili fino all'avvento della terapia genica erano il trapianto di midollo o la terapia enzimatica sostitutiva con l'enzima ADA bovino. Nel primo caso, oltre ad un elevato rischio di rigetto, c'è la difficoltà di individuare un donatore giusto. La seconda non sempre è efficace e può sollecitare risposte anticorpali, presentando inoltre un costo economico estremamente elevato.

Il protocollo di terapia genica, sviluppato all'HSR-TIGET, è al contrario **una cura molto efficace e sicura**. Per realizzarla, è necessario isolare le cellule staminali emopoietiche dal midollo osseo dei pazienti e infettarle "in vitro" con un retrovirus che trasporta la versione normale del gene ADA. La reinfusione delle cellule manipolate nei bambini malati ha luogo dopo un blando trattamento con busulfano, un chemioterapico che serve a preparare il terreno per il loro attecchimento. In questo modo, le cellule guarite trovano le condizioni ideali e sfruttano il loro vantaggio selettivo per ripopolare il sistema immunitario.

A pochi mesi di distanza dal trattamento, **i bambini tornano a fare una vita normale**.

Il protocollo ADA-SCID **è il primo vero successo della terapia genica a livello mondiale**.

Un protocollo analogo, sviluppato in Francia e rivolto a un diverso tipo di immunodeficienza combinata congenita (SCIDX1), è risultato efficace in termini di ricostituzione del sistema immunitario, ma ha presentato gravi problemi di sicurezza. Infatti, alcuni dei bambini trattati hanno sviluppato una leucemia dovuta all'inserzione del vettore virale nei pressi di un gene importante per il controllo della proliferazione cellulare.

Si sta ora procedendo alla registrazione del protocollo ADA-SCID presso l'EMA (*European Medicines Agency*), attraverso la mediazione della Fondazione Telethon, che ha finanziato il progetto, fin dal suo inizio, in *joint-venture* con la Fondazione San Raffaele. Questo potrà permettere di dispensare il progetto attraverso il Sistema Sanitario Nazionale. Le cellule staminali emopoietiche, che contengono il gene normale, hanno già ricevuto proprio dall'EMA la designazione di Farmaco Orfano, primo passaggio necessario in questo iter. Altri bambini sono stati trattati, dal 2006 a oggi, sempre con la stessa efficacia, e l'**HSR-TIGET** è diventato **il centro di riferimento mondiale per la terapia dell'ADA-SCID**, un centro che all'estero ci invidiano per la sue capacità di innovazione, eccellenza e produttività. La disponibilità di investimenti privati (Fondazione Telethon e Fondazione San Raffaele), distribuiti seguendo rigidi criteri di merito, ha permesso, in questo caso all'Italia, di emergere a livello internazionale nel campo delle terapie innovative. Un esempio concreto che dimostra come una distribuzione dei fondi oculata e rigorosa serva a far crescere l'eccellenza.

Inoltre, l'esperienza sviluppata negli anni sulla messa a punto di questa terapia innovativa sta permettendo ai ricercatori dell'Istituto San Raffaele di procedere a passi più spediti nell'elaborazione di protocolli di terapia genica per altre malattie. Tra queste si possono elencare ad esempio alcune patologie genetiche molto rare e molto gravi, quali la sindrome di *Wiskott-Aldrich* e la Leucodistrofia Metacromatica, ma anche malattie più comuni e ad alto impatto socio-economico, soprattutto nel bacino mediterraneo, quali la Talassemia, l'Anemia Falciforme e alcune malattie acquisite.

2. Distrofia muscolare di Duchenne. I ricercatori, guidati da Giulio Cossu, hanno dimostrato **l'efficacia di una terapia con cellule staminali** su cani affetti da **distrofia muscolare**. Le cellule staminali normali da donatore, iniettate nel cane distrofico, hanno raggiunto, riparandolo, il muscolo danneggiato. I cani hanno sorprendentemente recuperato parte della funzione motoria che la distrofia muscolare aveva compromesso.

3. Sclerosi multipla. Un gruppo di ricercatori dell'Istituto ha dimostrato che **le cellule staminali adulte del cervello**, iniettate in topi affetti da sclerosi multipla, **possono ricostruire la mielina** delle cellule nervose distrutta dalla malattia.

IL PROGETTO.

È un programma di ricerca che mira allo sviluppo e all'integrazione dei progetti di ricerca presenti al San Raffaele che studiano **le cellule staminali e la loro capacità di generare tessuti sani in modelli animali** (pre-clinici) di malattie genetiche o acquisite. Lo scopo ultimo del Programma è promuovere la traslazione verso la clinica, dei risultati di questi progetti, in maniera da ottimizzare l'efficacia e minimizzare i rischi per i pazienti.

È un momento molto importante per la biologia delle cellule staminali e per la medicina traslazionale in generale. **Molti progetti si trovano proprio ora sul punto di passare dal laboratorio al paziente**, dovendo affrontare le sfide che questo comporta, sia in termini economici sia in termini scientifici.

La velocità con cui oggi si passa dall'identificazione del gene che causa la malattia, al tentativo di cura sul modello animale, è di gran lunga maggiore rispetto a quella di pochi anni fa.