


# Staminali: Milano ricerca

IN QUESTO INSERTO

 ASSOCIAZIONE DONATRICI ITALIANE SANGUE CORDONE UMBELICALE	Introduzione di Paolo Rebullà	I
	Intervista a Rosaria Giordano	II
	Intervista a Sergio Abrignani	III-IV
	Intervista a Giovanna Cantarella e Lorenza Lazzari	
	L'ADISCO-TECA	IV

Obiettivo di questo inserto è di presentare un aggiornamento sul tema delle cellule staminali. Dal Marangoni, la cronaca del workshop del 27 giugno scorso: un'occasione di confronto tra ricercatori sugli studi in corso, sui risultati e sulle opportunità di sviluppo di un settore in grande espansione

A cura di IVO TARANTINO

## Staminali multidisciplinari

Discusse a Milano le potenzialità terapeutiche delle cellule staminali nelle diverse specialità

**U**n tema molto 'caldo', è il caso di dirlo, ma nonostante i 39 gradi percepiti all'esterno, oltre 130 medici, biologi e ricercatori hanno partecipato al workshop 'Quali staminali per quale ricerca e quale terapia', tenuto il 27 giugno (vedi programma nel riquadro) nell'aula 111 dell'Università degli Studi di Milano. Scopo del workshop era favorire il contatto fra ricercatori di diverse specialità, legati dal comune interesse alle applicazioni terapeutiche delle cellule staminali. Queste possibili applicazioni stanno stimolando la creazione di una nuova branca della medicina, denominata 'Terapia Cellulare' o 'Medicina Riparativa', nella quale è assai importante disporre di

una massa critica di dati scientifici che provengano da competenze e specialità non sempre vicine alla medicina e alla biologia, quali la fisica, la chimica, l'ingegneria e l'informatica, con un'apertura anche alla medicina veterinaria, che consente di utilizzare cellule e modelli animali per eseguire le sperimentazioni necessarie prima di avviare gli studi clinici sull'uomo.

Il workshop, di cui viene presentato un ampio rendiconto in queste pagine e in quelle del prossimo numero dell'inserto ADISCO, si è articolato in tre sessioni.

Nella prima sono stati presentati l'attività della Milano Cord Blood Bank (oltre 5.500 donazioni in inventario e 233 unità di sangue placentare trapiantate in tutto il mondo) e i programmi clinici che prevedono l'uso di cellule staminali manipolate nella Cell Factory 'Franco Calori' della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena. Questi protocolli, attualmente in corso, riguardano l'ematologia, la cardiologia e la neurologia. Al centro della seconda sessione, alcune prospettive multispecialistiche che si prevede possano aprirsi nei prossimi anni, con particolare attenzione alle malattie del fegato, ai traumi del midollo spinale, alla riparazione delle corde vocali, alle procedure di fecondazione assistita, all'impiego delle cellule mesenchimali ed endoteliali.

Infine, nella terza sessione si è discusso di alcuni progetti trasversali, come il consorzio CONSTEM che riunisce università, ospedali, industrie interessate alle cellule staminali, il progetto 'Immunoproteomica' del neonato Istituto Nazionale di Genetica Molecolare e la Banca dei Materiali Biologici del Consorzio degli IRCCS milanesi.

Prima delle conclusioni, si è affrontato il tema della protezione della proprietà intellettuale legata alle scoperte sulle cellule staminali e si sono discusse le prospettive di finanziamento della ricerca in questo campo a livello regionale e nazionale.

Il gruppo si è dato appuntamento a fine anno per verificare l'avanzamento dei programmi collaborativi esistenti e di quelli che si svilupperanno nei prossimi mesi.

di PAOLO REBULLA

### Quali staminali per quale ricerca e quale terapia?

**Lunedì 27 giugno 2005**

#### Introduzione

#### Esperienze locali in corso

Cord Blood Banking e Trapianto: programmi nazionali e internazionali

Espansione emopoietica

Riparazione miocardica nell'infarto acuto

Sicurezza dell'autotrapianto nella distrofia di Duchenne

#### Nuovi programmi locali

L'epatocita e la cellula staminale epatica

Riparazione del trauma spinale

Riparazione delle corde vocali

Espansione e gel piastrinico autologo

Il progetto 'ovociti'

I prodotti della cell factory: HSC, MSC, cellule endoteliali, adipociti

#### Progetti trasversali

Immunoproteomica (INGM/NOBEL)

Biobanking

Le cellule staminali tumorali

La proprietà intellettuale

Regione Lombardia e distretti industriali

Ricerca nazionale, MIUR, VII Programma Quadro

#### Discussione e proposte operative

#### Conclusioni

# Staminali e cuore.

## I progetti della Cell Factory

Intervista a **Rosaria Giordano**, ricercatrice presso la Cell Factory della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena

### Quali sono le ricerche legate alle cellule staminali attualmente in corso presso la Cell Factory? Che tipo di pazienti riguardano? E quali i risultati ottenuti finora?

Al momento stiamo svolgendo due protocolli clinici. Il primo riguarda il trapianto, da donatore consanguineo o non consanguineo, di progenitori del sangue di cordone ombelicale espansi, in pazienti pediatriche affetti da una malattia del sangue benigna (ad es. talassemia) o maligna (ad es. leucemia). Alla base di questo studio il fatto che sul sangue di cordone ombelicale grava ancora un certo grado di inefficacia a causa del suo piccolo volume e, quindi, della bassa dose cellulare trapiantata. Per questo motivo è stato messo a punto un sistema di coltura in vitro di queste cellule, che vengono fatte aumentare di numero per 14 giorni grazie all'impiego di sostanze particolari, dette citochine. Sono stati a oggi trapiantati dal prof. Franco Locatelli di Pavia 3 bambini (il primo affetto da talassemia, la seconda bimba affetta da anemia a cellule falciformi e il terzo affetto da una malattia maligna chiamata mielodisplasia), con ottimi risultati. Il secondo protocollo riguarda la somministrazione intracoronarica di progenitori staminali purificati dal midollo osseo e dal sangue periferico di pazienti con un infarto miocardico acuto (nelle prime due settimane dall'infarto) e che non sono riusciti a recuperare la funzione cardiaca in maniera efficace. L'obiettivo di questo studio è quello di rigenerare i vasi del cuore e quindi aiutare anche il recupero di tessuto cardiaco danneggiato dall'infarto.

### Quali sono gli obiettivi degli studi della vostra équipe e più in generale le prospettive terapeutiche basate sulle staminali per la cura delle patologie cardiache?

Il nostro obiettivo è quello di offrire un'opportunità di guarigione a persone che, dopo aver avuto un esteso infarto del miocardio, mostrano un esito non ottimale delle terapie tradizionali e che, con l'andar del tempo, sviluppano insufficienza cardiaca e potrebbero entrare a far parte di quel gruppo di pazienti che necessitano di un trapianto di cuore.

### Ci può descrivere i metodi su cui si basano i vostri studi? In particolare, quali sono i fattori chiave che li differenziano da altri studi analoghi?

Nel caso dell'espansione di sangue di cordone ombelicale, il nostro studio intende amplificare i progenitori più immaturi, utilizzando citochine in grado di mantenere tale compartimento. Gli altri studi sul tema, effettuati negli USA, non sono riusciti a ottenere un'amplificazione pari alla nostra

nel compartimento più immaturo. Nel caso del protocollo cuore, ad eccezione della nostra, attualmente non ci sono ricerche in corso che prevedano la somministrazione intracoronarica selettiva di alte dosi di cellule purificate in un periodo così vicino all'infarto.

### Quali i risultati auspicati per il futuro di queste ricerche?

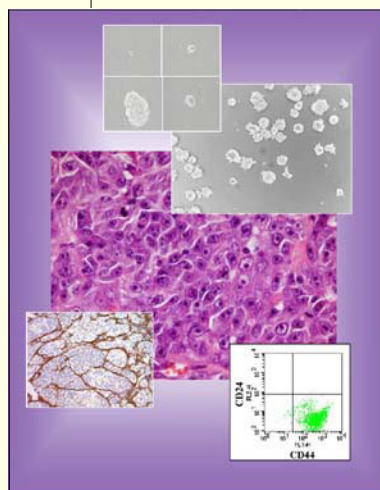
Oggi abbiamo possibilità tecnologiche incredibili, che ci consentono di ottenere, dalle tradizionali sorgenti di cellule per trapianto, il singolo tipo cellulare più adatto per curare malattie un tempo fatali. Quello che stiamo cercando di realizzare è di selezionare, amplificare ed 'indirizzare' in vitro le cellule più adatte alla terapia di specifiche malattie, con lo scopo finale di un 'trapianto a misura di ammalato'.

## UNA RICERCA BASILARE DELL'ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E LA CURA DEI TUMORI

### Individuate le staminali cattive alla base della crescita del tumore

**A**ll'Istituto Nazionale dei Tumori la ricerca sulle cellule staminali si indirizza verso l'analisi delle cause del tumore e la sua genesi. Secondo gli studi più recenti, la massa tumorale conterrebbe un 'nucleo irriducibile' di cellule progenitriche con caratteristiche di staminalità, capaci di riprodursi indefinitamente e resistenti ai trattamenti antineoplastici. Queste cellule sarebbero responsabili dell'origine e della ripresa della malattia che si credeva sconfitta. A questi risultati è giunta la ricerca condotta dal dottor Dario Ponti e pubblicata su *Cancer Research* (Ponti et al., luglio 2005). Nel Dipartimento diretto dal dottor Pierotti, che ha presentato in anteprima lo studio all'incontro del 27 giugno, è stato sviluppato un modello in vitro che consente l'isolamento e l'espansione di cellule staminali/progenitori di carcinoma mammario. Queste cellule, presenti in una minima frazione nei tumori umani, sono in grado di riprodurre nei topi lo stesso tumore di origine, anche quando inoculate a bassissime concentrazioni. Le cellule staminali tumorali condividono con le cellule staminali normali adulte alcune caratteristiche quali la capacità di autorinnovarsi e di generare a loro volta cellule con diversi tipi di differenziazione, di crescere in sospensione e di migrare (preludio al processo di metastatizzazione). Le cellule staminali tumorali, contrariamente a quanto ci si potrebbe aspettare, non proliferano molto, lasciando alle loro cellule figlie il compito di accrescere la massa tumorale e sono generalmente resistenti alla maggior parte delle terapie utilizzate per il trattamento dei tumori (farmaci e radiazioni). Averle individuate consente di andare alla radice dell'insorgere del tumore ed evitare che si riformi.

Da: *Cancer Res* 2005; 65(13): 5506-11



# Dal fenotipo delle staminali la determinazione a priori della loro 'destinazione funzionale'

Intervista a **Sergio Abrignani**, Direttore Scientifico Istituto Nazionale di Genetica Molecolare

**N**ell'ambito della ricerca collegata alle cellule staminali si inserisce un filone di attività dell'Istituto Nazionale di Genetica Molecolare (INGM), Fondazione privata indipendente no-profit costituita dal Ministero della Salute, dal Ministero degli Affari Esteri, dalla Regione Lombardia e dalla Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena. Gli ambiti di studio dell'Istituto sono la bioinformatica, la genomica, la proteomica e l'immunologia. La sua missione è la ricerca indirizzata alla scoperta e allo sviluppo di nuovi mezzi diagnostici, nuove terapie e nuovi vaccini nei settori dei tumori e delle malattie autoimmuni rare. Il principio ispiratore - data anche la forte relazione con la Fondazione Policlinico Mangiagalli - è quello della ricerca traslazionale, capace di essere trasferita nel più breve tempo possibile dal banco di laboratorio al letto del malato.

## Dottor Abrignani, quali sono i progetti di ricerca collegati alle cellule staminali su cui siete più impegnati?

Lo studio che ci vede attualmente più attivi, e che stiamo per iniziare insieme al gruppo del dottor Paolo Rebutta, è volto a caratterizzare il fenotipo di cellule staminali con potenzialità diverse. In pratica, stiamo cercando di identificare delle proteine di superficie che ci consentano di capire le diverse 'destinazioni funzionali' delle cellule staminali in anticipo rispetto alle tecniche note fino a oggi.

## Quale sarebbe il vantaggio di questa scoperta?

Oggi le cellule staminali si identificano, poi si espandono in laboratorio ed è possibile verificare la loro destinazione, la loro funzione solo alla fine di questo processo. Noi, al contrario, miriamo a poter conoscere a priori le diverse potenzialità delle staminali per poterle separare prima dell'espansione: per farlo stiamo cercando di individuare dei marcatori di superficie, oltre a quelli classici. Il primo passaggio di questo studio è la preparazione di una 'library' di anticorpi (composta da diverse migliaia di antisieri) specifici per le circa 3.000 proteine di superficie con funzione e distribuzione tissutale poco note o ignote. Questi anticorpi verranno

poi saggiati su cellule staminali di diversa provenienza tissutale.

## Quali sono i principali obiettivi dell'Istituto?

Il nostro obiettivo primario è fare ricerca traslazionale, e non a caso lavoriamo all'interno di una struttura come la Fondazione Policlinico Mangiagalli, perché per portare a termine questo lavoro abbiamo bisogno di interagire con un contesto clinico di alta qualità. Quando sarà pronta la sede definitiva dell'INGM, il Padiglione Invernizzi, potremo ottenere il massimo rendimento dalle sinergie: sfruttare le competenze cliniche dell'Ospedale e mettere a sua disposizione le competenze di un 'laboratorio' che cerca di lavorare alle frontiere della tecnologia e della scienza in campo biomedico.

## L'attività di studio e di ricerca, evidentemente, ha una forte componente progettuale.

## Se proietta il vostro lavoro nel futuro, cosa vede?

Nel caso del progetto 'staminali' l'obiettivo a lungo termine è guarire i pazienti utilizzando staminali che possano essere scelte 'à la carte', come da un menu. Per farlo è necessario conoscerne destinazione, processi di divisione e attivazione per poter giungere, in ultimo, alla riparazione dei tessuti.

# Un nuovo alleato nella cura delle patologie della voce?

Intervista a **Giovanna Cantarella**, Unità Operativa Otorinolaringoiatria, e **Lorenza Lazzari**, ricercatrice presso la Cell Factory della Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena

realizzata con **ALESSANDRA CHIARELLO**

## Dottoressa Cantarella, lei si occupa da anni di patologie legate alle corde vocali e quindi alla voce. Quali sono, in questo campo, le ricerche legate al trapianto di cellule in corso nella sua Unità Operativa?

Il nostro ultimo successo è la sperimentazione di una tecnica derivata dalla chirurgia estetica, la lipostruttura, su pazienti affetti da paralisi alla laringe o da disfonia dovuta ad alterazioni cicatriziali o congenite delle corde vocali.

## In che cosa consiste la lipostruttura e che risultati avete ottenuto?

La lipostruttura prevede l'innesto nelle corde vocali di adipociti (cellule adipose), separati, prima del trapianto, dalle altre componenti del tessuto adiposo sottocutaneo prelevato dalla parete addominale. L'applicazione di questa tecnica in otorinolaringoiatria ha consentito di restituire una voce normale alle persone operate e di risolvere i disturbi della deglutizione, che sono spesso causa di patologie polmonari conseguenti all'inalazione di quanto ingerito (polmonite *ab ingestis*). Si tratta di un grande passo avanti nella cura della paralisi delle corde vocali e delle lesioni malformative o cicatriziali cordali.

## Quali sono i benefici offerti dalla nuova tecnica rispetto a quelle applicate in precedenza?

Da circa un secolo gli otorinolaringoiatri tentano di risolvere i problemi in oggetto con l'iniezione di varie sostanze (paraffina, teflon, silicone) nel muscolo vocale. Questi interventi producono, però, un beneficio temporaneo, spesso seguito da un notevole peggioramento: i materiali utilizzati provocano gravi reazioni infiammatorie e di rigetto. In anni più recenti si è iniziato a utilizzare il grasso autologo, cioè del paziente stesso, per aumentare la massa della corda deficitaria,

facilitando così la chiusura delle corde vocali. La principale limitazione in questo caso è rappresentata dal riassorbimento del materiale iniettato, che determina quindi un miglioramento solo temporaneo.

#### **Quali sono, quindi, i vantaggi della lipostruttura?**

Diversamente dalle tecniche precedenti, il follow-up della lipostruttura ha dimostrato la stabilità a lungo termine dei risultati ottenuti su un primo gruppo di 14 pazienti.

#### **Pensa che ci sia un legame tra l'innesto degli adipociti e quello delle cellule staminali?**

È possibile che i risultati positivi a lungo termine della lipostruttura delle corde vocali siano dovuti alla presenza di cellule staminali nel tessuto adiposo sottocutaneo utilizzato per il trapianto.

#### **State effettuando ricerche sul trapianto delle cellule staminali per risolvere questi o altri problemi delle corde vocali?**

Sì. Con la collaborazione della Cell Factory del nostro Ospedale si sta sperimentando la possibilità di isolare e coltivare in vitro le cellule staminali presenti nel tessuto adiposo in modo da poterle eventualmente trapiantare nelle corde vocali deficitarie.

#### **Insomma, un vero e proprio lavoro di squadra. Dottoressa Lazzari, in cosa consiste questa collaborazione tra la Cell Factory e l'Unità Operativa Otorinolaringoiatria?**

L'approccio terapeutico sperimentato dalla dottoressa Cantarella viene supportato da uno studio di caratterizzazione cellulare e molecolare condotto presso la Cell Factory 'Franco Calori' della Fondazione. Nei nostri laboratori le cellule trapiantate nei pazienti con paralisi delle corde vocali e con lesioni malformative o cicatriziali sono state parallelamente manipolate in vitro per conoscerne ed approfondirne le potenzialità.

#### **Che tipo di analisi avete condotto su queste cellule?**

Il tessuto adiposo aspirato dall'addome e dalla parte superiore della coscia è stato disgregato in laboratorio mediante soluzione enzimatica e le cellule separate sono state coltivate in presenza di fattori di crescita specifici. Con osservazioni al microscopio è stata analizzata la loro capacità proliferativa, la loro morfologia, il loro fenotipo.

#### **A che tipo di risultati hanno portato le analisi?**

Lo studio ci ha portato a isolare una popolazione staminale

mesenchimale, tipica del midollo osseo e presente all'interno dei campioni di tessuto adiposo trapiantati, che possiede un'elevata potenzialità. Inoltre, al fine di caratterizzare la loro espressione genica, è stato eseguito un ampio screening molecolare per marcatori embrionali, recettoriali, muscolari, nervosi, endoteliali, epatici e pancreatici. Infine, per valutare quali potrebbero essere le potenzialità differenziali di queste cellule staminali, sono state testate differenti condizioni di coltura per dare origine a osteociti, condrociti, adipociti, epatociti e anche a cellule endoteliali, muscolari e pancreatiche.

#### **Ritenete quindi che nel buon esito della lipostruttura sia determinante l'apporto delle cellule staminali presenti nel tessuto trapiantato?**

I nostri studi, sebbene preliminari, supportano l'ipotesi che le cellule adipocitarie trapiantate dal gruppo della dottoressa Cantarella contengano cellule staminali con elevata potenzialità differenziale che permettono di riparare il danno a livello delle corde vocali e garantire la formazione di tessuto a lungo termine.

#### **Per entrambe un'ultima domanda. Proviamo a immaginare il 'destino', il migliore possibile, per gli studi e le terapie che oggi state svolgendo. Cominciamo da lei, dottoressa Cantarella.**

Il 'sogno' della nostra équipe è che le cellule staminali impiantate nella corda vocale paralizzata possano 'evolvere' in fibre muscolari e ripristinare la contrattilità del muscolo vocale consentendo quindi il pieno recupero della motilità delle corde vocali e delle funzioni della laringe: fonatoria, respiratoria e sfinterica.

#### **E per lei dottoressa Lazzari?**

La ricerca sulle cellule staminali sta velocemente portando i primi frutti nell'applicazione clinica. Ovviamente noi ricercatori, che crediamo in questa ricerca, vorremmo poterla veder applicata con successo a tutte le patologie che ad oggi non dispongono di terapie efficaci.

## L'ADISCO-TECA

di FRANCESCO ZANUSO

**C**ari amici di ADISCO, in primo luogo ho il piacere di annunciarvi l'imminente debutto sul web del nostro sito

[www.adiscolombardia.it](http://www.adiscolombardia.it), curato dal neo eletto Consigliere Riccardo Batti. Il sito crescerà nei contenuti e verrà costantemente aggiornato, ma le premesse sono davvero buone. Quindi, per tutte le vostre richieste o curiosità mandateci una e-mail all'indirizzo [info@adiscolombardia.it](mailto:info@adiscolombardia.it). E ora veniamo ai nostri principali appuntamenti. Il **24-25 settembre**, sul sagrato della Chiesa di San Marco a Milano, si terrà la VI edizione di 'Floralia', mostra mercato di fiori, ceramiche, tisane e prodotti naturali. ADISCO sarà presente con il tradizionale banchetto di cioccolato. A **ottobre** decollerà anche l'iniziativa 'Volley femminile con ADISCO'. Otto

squadre, tra le quali due del campionato di serie D, entreranno in campo con il nostro logo sulle magliette, promuovendo la nostra Associazione e l'importanza della donazione del sangue cordonale. Per il **4 dicembre**, nella chiesa di S. Maria Incoronata in C.so Garibaldi 122, con inizio alle ore 20.00, è previsto il consueto concerto natalizio. Si esibirà il gruppo 'Coro Femminile Philomela' diretto dal Maestro Giorgio Radaelli. I fondi raccolti sosterranno la ricerca e il trapianto delle cellule staminali, pertanto sin da ora vi invitiamo a contattarci per la prenotazione allo 02.5503.4132. Come sempre accade per le iniziative promosse da ADISCO, speriamo soprattutto nel vostro generoso supporto.