



scienza attiva[®]

**Le cellule staminali
pluripotenti (embrionali)**

Prof. Fulvio Gandolfi

Università degli Studi di Milano

Facoltà di Medicina Veterinaria

Embriologia e Terapia Genica e Cellulare

Le cellule staminali adulte: le staminali presenti in ognuno di noi.

Nel nostro corpo distinguiamo circa 200 tipi cellulari ognuno dei quali svolge una funzione specifica, per esempio cellule muscolari che si contraggono, cellule che formano la parete dei vasi, cellule che rispondono allo stimolo luminoso che colpisce la retina, cellule che conducono questo stimolo nel cervello e lo traducono in un'immagine che possiamo comprendere, cellule che formano gli alveoli polmonari e ci permettono di assorbire l'ossigeno dall'aria.

Tutte queste cellule vanno incontro ad usura e vanno sostituite quando non sono più in grado di svolgere la loro funzione. Il ritmo col quale le cellule vengono sostituite è diverso nei vari tessuti: alcuni sono sottoposti ad un'usura elevata e vengono sostituite continuamente, come i globuli rossi, lo strato più esterno della pelle o le cellule che rivestono il lume dell'apparato digerente. Altre vanno incontro ad un'usura più limitata e vengono sostituite più raramente come le cellule del fegato o le cellule che rivestono l'apparato respiratorio. Altre ancora vengono sostituite molto raramente come le cellule muscolari, le cellule del cuore o del cervello.

E' importante notare che quando una cellula è specializzata non è più in grado di dividersi e moltiplicarsi, quindi il mantenimento dell'equilibrio tra le cellule che si usurano e quelle che le sostituiscono è mantenuto da cellule particolari che vengono definite staminali.

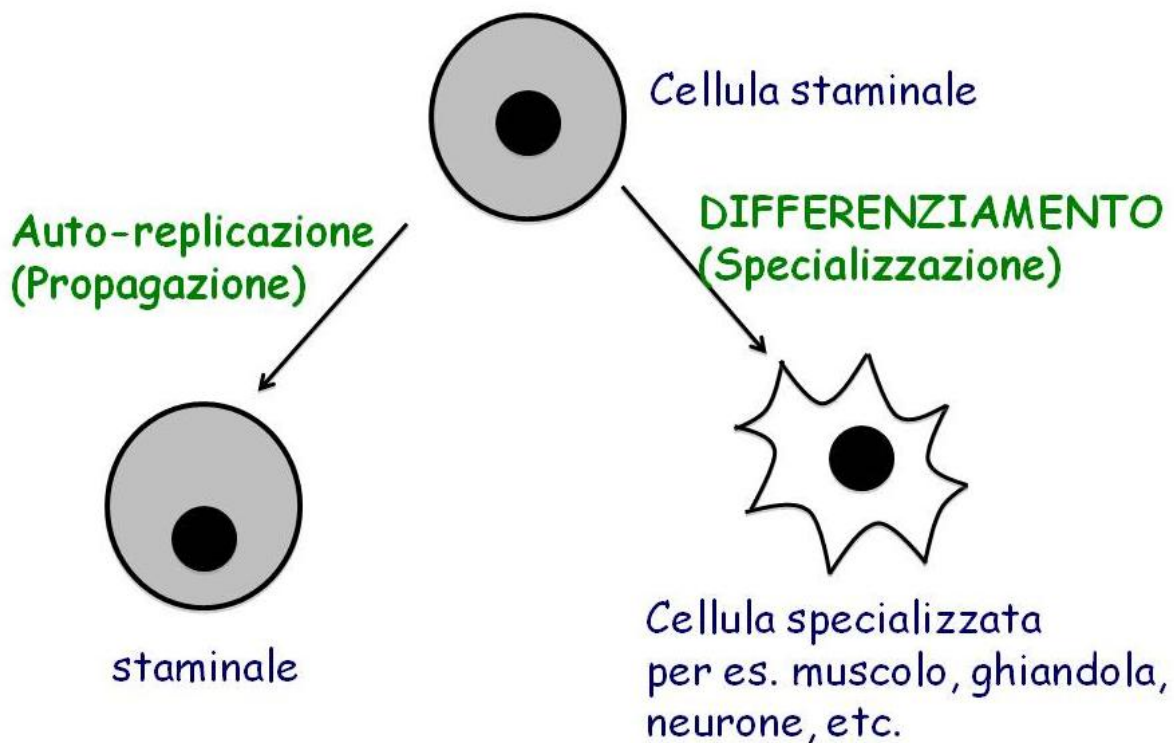


Figura 1. La capacità di dividersi in modo asimmetrico è la caratteristica tipica delle cellule staminali di qualsiasi tipo

Le cellule staminali sono presenti in ogni organo e tessuto che forma il nostro corpo. Sono diverse tra loro, ma hanno tutte una caratteristica comune: sono le uniche cellule in grado di

compiere una divisione asimmetrica, cioè di generare due cellule figlie diverse tra loro. Una uguale alla cellula madre, quindi ancora staminale, mentre l'altra, leggermente diversa, sarà in grado di differenziarsi in uno o più di quei 200 tipi cellulari specializzati che servono per farci funzionare.

Ciò che le rende diverse sono il tipo ed il numero di cellule a cui possono dare origine. Alcune cellule staminali, chiamate multipotenti, possono dare origine a tanti tipi cellulari diversi, come, per esempio, avviene nel midollo osseo, dove le cellule staminali chiamate emopoietiche, danno origine a tutti i tipi cellulari che troviamo nel sangue: globuli rossi, leucociti, linfociti e piastrine. Altre, come le cellule satelliti del muscolo, danno origine solo alle fibre muscolari e per questo vengono definite unipotenti.

Totipotenti: possono dare origine ad un intero organismo.

Pluripotenti: possono differenziarsi in qualsiasi tessuto, ma non ad un intero organismo.

Multipotenti: possono differenziarsi in tipi cellulari diversi, ma con precursori comuni

Unipotenti: si differenziano in un solo tipo cellulare.

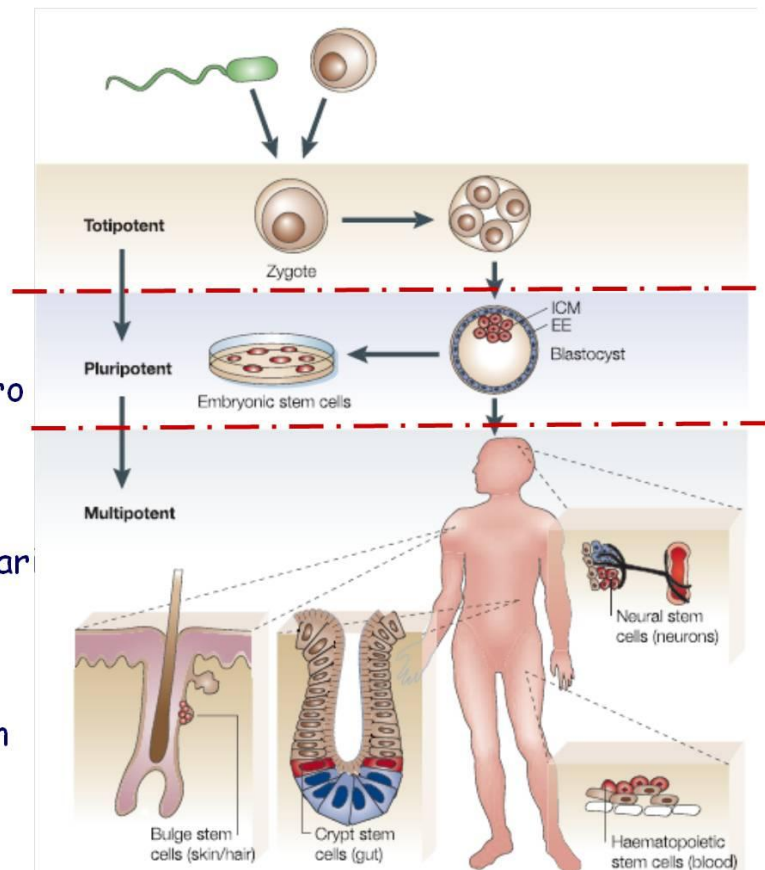


Figura 2: Il numero di tipi cellulari a cui possono dare origine caratterizza le diverse categorie di cellule staminali. Le cellule rimangono totipotenti e pluripotenti solo durante le primissime fasi dello sviluppo embrionale poi non esistono più nel nostro corpo.

Queste cellule staminali possono essere isolate e coltivate in vitro dove sono in grado di proliferare per un periodo di tempo più o meno lungo e di dare origine agli stessi tipi cellulari che generano in vivo. La loro capacità di proliferare in vitro riflette la loro capacità di proliferare in vivo: le cellule staminali dell'epidermide, lo strato più superficiale della pelle, proliferano molto più attivamente delle cellule staminali nervose o muscolari. Analogamente è molto più facile identificare ed isolare le cellule staminali della pelle rispetto a quelle presenti nelle parti più profonde del cervello.

Proprio per questo motivo si stanno studiando anche altri tipi di cellule staminali, che non sono normalmente presenti nel nostro corpo, ma che hanno la capacità di proliferare molto attivamente in vitro e sono capaci di differenziarsi in tutti i tipi cellulari: le cellule staminali pluripotenti.

Le cellule staminali embrionali: le cellule pluripotenti che sopravvivono solo in laboratorio.

Abbiamo detto che l'uomo è formato dall'insieme armonico di 200 tipi cellulari diversi, ma tutto ha origine da una cellula sola: la cellula uovo fecondata. Questa cellula inizia immediatamente a dividersi al ritmo di circa una volta ogni 24 ore generando cellule che inizialmente sono tutte uguali tra loro e che poi iniziano a differenziarsi in maniera armonica e coordinata per formare un embrione, un feto ed infine un neonato. L'uovo fecondato è quindi totipotente perché da esso derivano tutte le cellule che formano il nuovo organismo e nel caso dell'uomo anche quelle che formano la placenta. Dopo una settimana dalla fecondazione è possibile distinguere le cellule che daranno origine alla placenta e quelle che daranno origine all'embrione. Le cellule che danno origine all'embrione prendono il nome di epiblasto e sono cellule pluripotenti perché sono capaci di differenziarsi in tutti i tipi cellulari che formano l'organismo.

Le cellule dell'epiblasto NON sono però cellule staminali perché quando si dividono non producono cellule uguali a se stesse, ma si differenziano. Quindi lo stadio di pluripotenza nel corso del normale sviluppo embrionale è una condizione temporanea che si esaurisce in un periodo di tempo molto breve. Il numero di tipi cellulari in cui sono in grado di differenziarsi le cellule che originano dall'epiblasto si riduce gradualmente e costantemente fino ad essere limitato ad uno o pochi tipi cellulari.

Però se isoliamo le cellule dell'epiblasto dall'embrione e le coltiviamo in vitro esse si trasformano in cellule staminali embrionali in grado sia di propagarsi indefinitamente generando cellule sempre uguali a se stesse sia di differenziarsi in tutti i tipi cellulari che formano il nostro corpo.

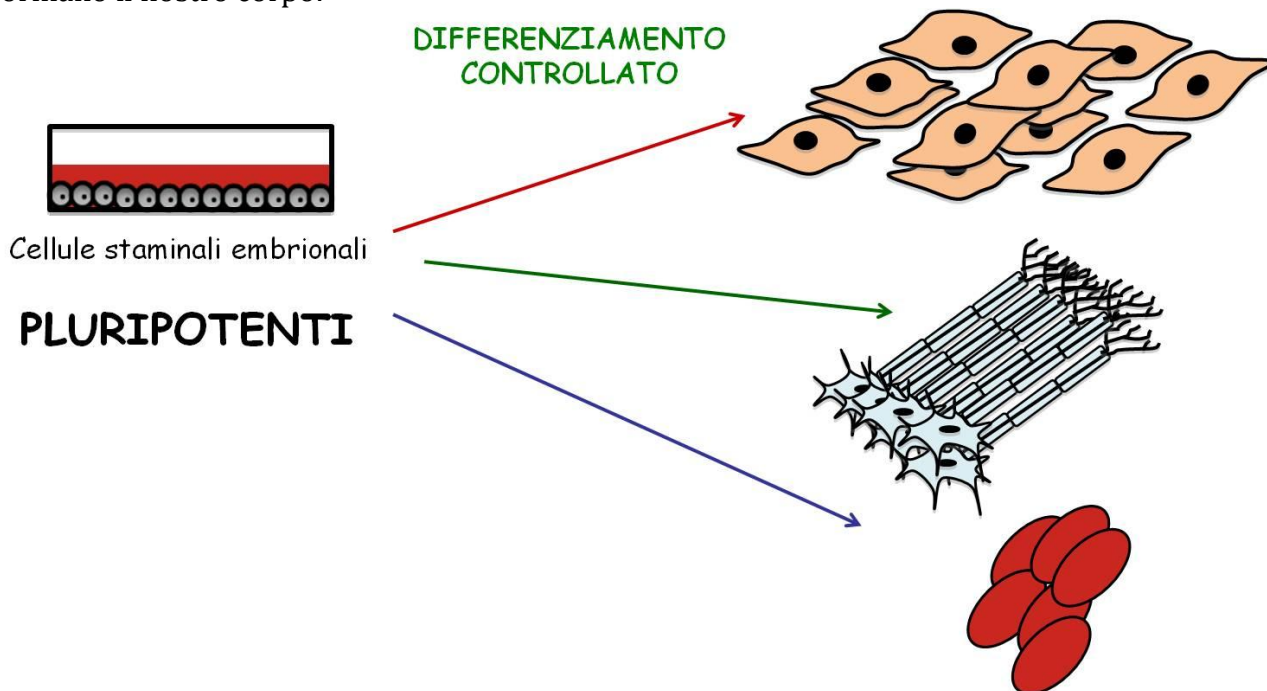


Figura 3. Le cellule staminali embrionali possono essere propagate in vitro all'infinito, ma in risposta a stimoli specifici sono in grado di differenziarsi in tutti i tipi cellulari del corpo. Le staminali embrionali però non sono in gradi di formare le cellule della placenta e per questo non possono essere definite totipotenti, ma sono pluripotenti

Le cellule staminali embrionali quindi sono pluripotenti, ma non esistono in natura in quanto sono il risultato dell'adattamento di una piccola popolazione cellulare presente per un breve periodo nell'embrione alle condizioni di coltura in vitro.

Queste cellule oggi vengono utilizzate per due scopi fondamentali: studiare i meccanismi che portano al differenziamento dei diversi tipi cellulari a partire da una singola cellula e per generare in vitro quei tipi cellulari che sono difficili da isolare direttamente dall'organismo e difficili da propagare in vitro, come le cellule nervose o muscolari, rendendole quindi disponibili in grandi quantità per poter essere utilizzate a scopo terapeutico.

Le cellule staminali pluripotenti indotte: le staminali artificiali.

Nel 2006 la ricerca sulle cellule staminali ha fatto un improvviso salto di qualità: sono state generate le "induced Pluripotent Stem Cells" comunemente indicate con la sigla iPS. Al contrario delle cellule staminali adulte ed embrionali le iPS non esistono in natura, ma sono generate artificialmente in laboratorio.

Si parte da una qualsiasi cellula, generalmente una cellula che si può isolare dalla cute, il fibroblasto, facile da raccogliere e da coltivare in vitro. Si inseriscono 4 geni - Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc - detti anche "Yamanaka factors" dal nome del ricercatore giapponese che li ha scoperti e la cellula si trasforma in una cellula staminale pluripotente sostanzialmente identica ad una cellule staminale embrionale.

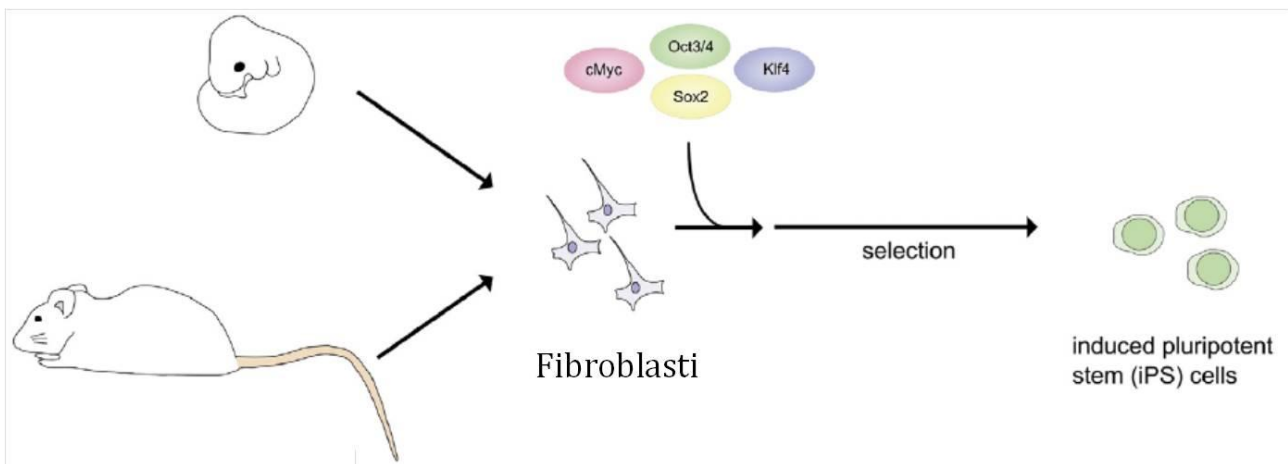


Figura 4: L'inserimento forzato dei quattro geni denominati "Yamanaka factors" trasforma cellule adulte differenziate, come i fibroblasti che troviamo nella pelle, in cellule pluripotenti chiamate iPS.

Come le cellule staminali pluripotenti derivate da un embrione le iPS si propagano facilmente e indefinitamente in vitro e possono dare origine a tutti quei famosi 200 tipi cellulari che formano il nostro corpo. Rispetto alle staminali embrionali le iPS hanno anche il vantaggio di non indurre una reazione di rigetto se vengono trapiantate nello stesso paziente da cui sono state ottenute. Infatti, le cellule staminali embrionali sono inevitabilmente eterologhe, cioè derivate da un individuo diverso dal paziente a cui sono destinate e quindi, come avviene per i trapianti d'organo, è necessario deprimere il sistema immunitario per evitare qualsiasi reazione avversa.

Al momento, però, presentano anche uno svantaggio rappresentato dal fatto che le iPS albergano nel loro genoma anche i vettori virali che sono stati utilizzati per inserire i 4 geni Yamanaka. Questo limita pesantemente il loro potenziale terapeutico in quanto esiste la

possibilità, seppure remota, che questi vettori virali si riattivino spontaneamente e diventino patogeni. Per questo motivo si stanno sviluppando una serie di metodiche per inserire i 4 geni senza utilizzare i vettori virali. Al momento però, l'efficienza di questi metodi è molto limitata.

Oltre alle possibili applicazioni terapeutiche la scoperta delle iPS ha dimostrato che è possibile riprogrammare una cellula completamente differenziata. Una cellula adulta e specializzata può quindi tornare ad uno stadio analogo a quello in cui si trovava durante i primi giorni dello sviluppo embrionale. Non solo questo stadio può essere mantenuto indefinitamente in vitro, ma la stessa cellula può essere indirizzata verso un nuovo differenziamento ottenendo così una cellula completamente diversa da quella da cui si è partiti.

Infine le iPS aprono anche un nuovo e affascinante scenario.

Se trasformiamo in pluripotente una cellula di un paziente affetto da una malattia genetica, per esempio il Morbo di Parkinson o la Sclerosi laterale amiotrofica possiamo poi studiare in vitro il processo che porta alla patologia o testare nuovi farmaci che possono arrestare questo processo.

La conversione diretta, come trasformare una cellula in un'altra senza passare dal via.

Una volta provato che la forzata espressione di 4 geni scelti accuratamente consente di fare ritornare una cellula adulta allo stadio embrionale per poi indirizzarla verso un tipo cellulare diverso ci si è chiesti se non fosse possibile trasformare direttamente una cellula adulta in un tipo cellulare diverso senza dover passare da uno stadio di tipo embrionale.

Studi molto recenti hanno dimostrato che è possibile ottenere anche questo strabiliante risultato, basta scegliere i geni giusti.

I geni giusti sono quelli che determinano le prime fasi del processo di differenziamento che vogliamo ottenere. Si inseriscono forzatamente in un tipo cellulare a nostra scelta e in questo modo è possibile trasformare fibroblasti del cuore in muscolo cardiaco, cellule esocrine del pancreas in cellule che producono insulina, fibroblasti in neuroni, e così via.

Come sempre ci sono vantaggi e svantaggi. Il vantaggio è rappresentato proprio dalla possibilità di evitare uno stadio di pluripotenza indefinita. Come abbiamo detto prima la pluripotenza permanente non esiste in natura come tale. Esiste invece una sua versione patologica rappresentata dalla trasformazione tumorale. Ricerche molto recenti stanno mettendo in luce in maniera sempre più circostanziata la pericolosa contiguità che esiste tra pluripotenza e tumorigenesi mettendoci in guardia sui possibili effetti collaterali dell'uso di questo tipo di cellule a scopo terapeutico. Ne consegue quindi che evitare lo stadio di pluripotenza rappresenta un indubbio vantaggio.

Evitare la pluripotenza però porta con sé una capacità di proliferazione più limitata riducendo così il numero delle cellule convertite potenzialmente disponibili.

Conclusioni e prospettive

Lo studio delle cellule staminali ha aperto nuove prospettive su come percepiamo i processi che portano alla formazione e al mantenimento dei diversi tessuti ed organi che formano il nostro corpo. Abbiamo sempre pensato che esistesse una via a senso unico che parte da uno stadio indifferenziato da cui una cellula può prendere diverse strade e arrivare a uno dei tanti tipi cellulari che si conoscono. Adesso sappiamo che questa via non è a senso unico, ma può essere percorsa anche al contrario facendo ritornare una cellula al suo stato iniziale per

poi reindirizzarla lungo un altro percorso. Come se ciò non bastasse abbiamo scoperto gli interruttori più intimi che accendono i processi di differenziamento e che ci consentono di trasformare una cellula di un tipo in un altro senza dovere prima renderla indifferenziata.

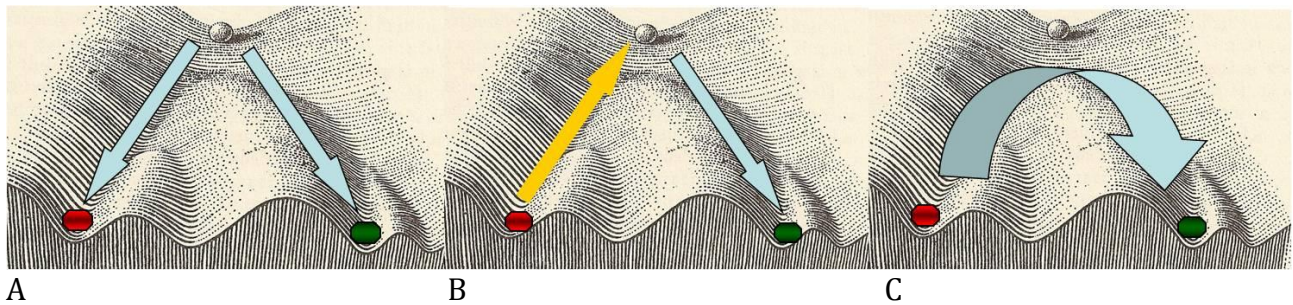


Figura 5: Rappresentazioni schematiche di come funzionano i diversi tipi di cellule staminali pluripotenti. (A): le **cellule staminali embrionali** partono dallo stadio indifferenziato, tipico appunto degli embrioni, e possono dare origine a tutti i tipi cellulari del nostro corpo. (B): le **cellule iPS** invece partono da una cellula adulta e differenziata, vengono riprogrammate ritornando allo stadio embrionale e poi si possono differenziare nuovamente in un altro tipo cellulare. (C): La **conversione diretta** consente di trasformare un tipo cellulare in un altro senza passare dallo stadio indifferenziato di tipo embrionale.

Siamo arrivati alla soluzione del problema? Possiamo finalmente utilizzare questi processi a scopo terapeutico?

Non ancora. La strada è ancora complessa perché quello che oggi è possibile fare è limitato ad un tipo cellulare isolato. Non esistono cellule isolate nel nostro corpo, sono tutte parte di un insieme complesso di tessuti organi ed apparati che agiscono in modo coordinato.

Nel futuro quindi si potrebbe cercare portare di trasformare una cellula in un'altra all'interno dell'organismo agendo così nel contesto della complessità architettonica e funzionale dell'organo.

Letture consigliate:

Egidio Caricati "Cellule Staminali per principianti" Stampa Alternativa