



Speranze per la cura dell'Emofilia con le cellule staminali 'potenziate'

di / **Silvia Barbon*** /

Si può curare l'Emofilia con le cellule staminali? Nuove prospettive terapeutiche offerte dalla Medicina Rigenerativa.

Arrivano buone notizie dalla ricerca TES, sul fronte della cura di una malattia genetica direttamente legata a donatori e donazione: l'emofilia. In questo articolo la ricercatrice di TES, Silvia Barbon, ci spiega a che punto sono le ricerche, finanziate anche grazie all'apporto delle Avis. Buona lettura. *Il Direttore*

Che cos'è l'Emofilia e qual è la terapia attuale?

L'Emofilia è una malattia genetica rara, causata da un deficit nella produzione di alcune proteine della coagulazione del sangue. La mutazione genetica che causa la malattia si localizza sul cromosoma sessuale X, per questo ne sono affetti più frequentemente i maschi, mentre le femmine sono in genere portatrici sane. Esistono due forme della patologia: l'Emofilia A, che dipende da una carenza del fattore VIII (FVIII) della coagulazione e l'Emofilia B, causata da un deficit del fattore IX (FIX). Questa disfunzione comporta ricorrenti episodi emorragici spontanei o post-traumatici a livello delle articolazioni e dei muscoli, che cau-

sano dolore cronico e disabilità, fino a mettere a rischio la vita dei pazienti nei casi più gravi.

Attualmente la terapia dell'Emofilia A si basa sull'infusione intravenosa di concentrati di FVIII o FIX derivati dal plasma di donatori sani o prodotti da cellule geneticamente ingegnerizzate. Oltre ai costi elevati, il limite legato all'infusione di questi prodotti è la breve emivita dei fattori della coagulazione circolante nel sangue: per mantenere concentrazioni plasmatiche terapeutiche di tali fattori è, quindi, necessario effettuare iniezioni ripetute. Inoltre, la terapia genica, pur rimanendo una valida strategia, presenta il rischio di insorgenza di tumori.

Nuove strategie d'intervento: il potenziamento terapeutico delle cellule staminali

Un nuovo approccio alla terapia dell'Emofilia deriva dalle moderne strategie di Medicina Rigenerativa, e può essere rappresentato dal trapianto di cellule staminali capaci di rinnovare la componente cellulare responsabile della sintesi dei fattori della coagulazione, senza alcuna manipolazione del DNA.

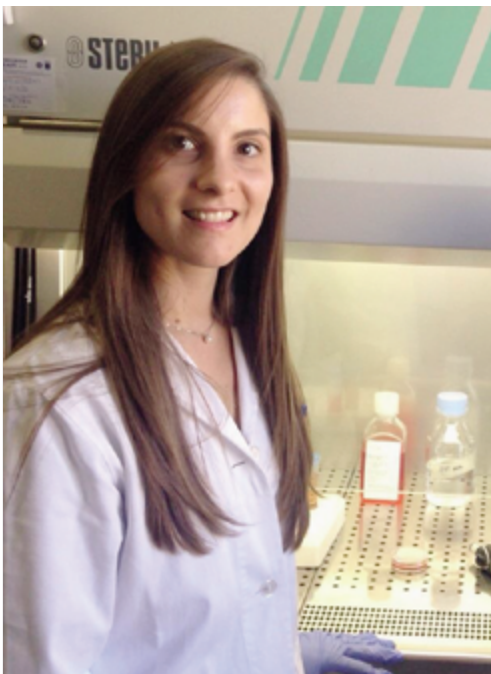
Negli ultimi decenni, diversi gruppi di ricerca



I topi affetti da Emofilia A sono appositamente creati in laboratorio tramite una mutazione genetica (del DNA) che prevede l'eliminazione del gene che codifica per il FVIII.

In questo modo, i topi non sono più in grado di produrre il fattore proteico e mostrano un deficit della coagulazione che simula quello dei pazienti affetti da Emofilia A.

L'ottenimento di questi animali da esperimento è regolato da tutta una serie di rigorose leggi nazionali ed europee, che legittimano e autorizzano l'impiego di modelli ani-



hanno studiato l'effetto della terapia cellulare sulla correzione dell'Emofilia, ricorrendo al trapianto di cellule endoteliali (le cellule che rivestono la parete dei vasi sanguigni) e cellule staminali da midollo osseo in modelli animali affetti dalla patologia. Le evidenze sperimentali pubblicate hanno messo in luce che il trapianto di cellule sane in animali affetti da Emofilia permette il recupero dell'attività del fattore VIII/IX, correggendo il difetto di coagulazione.

Tra le popolazioni cellulari che si configura-

mali per la sperimentazione di terapie di avanguardia, prima di poter procedere con la loro traslazione in ambito clinico (nei pazienti).

Infatti, lo studio sui modelli animali, che deve avere comprovato esito positivo sia riguardo alla bio-sicurezza che riguardo al beneficio clinico, è l'unica opzione possibile affinché la ricerca scientifica possa procedere con la sperimentazione nel paziente umano, senza mettere a rischio la salute.

no come possibili candidate per il trattamento dell'Emofilia, le cellule staminali mesenchimali (MSC) isolate, ad esempio, da midollo osseo, tessuto adiposo o sangue periferico, rappresentano quelle con le proprietà terapeutiche più promettenti. Oltre a poter essere ottenute da fonti tissutali relativamente accessibili e disponibili, le cellule MSC sono popolazioni adulte, il cui isolamento e la cui coltura in laboratorio non sollevano alcuna problematica di tipo etico. Inoltre, le MSC possiedono non solo un elevato potenziale rigenerativo, ma anche eccellenti proprietà immunomodulatorie, per cui possono sopprimere le reazioni immunitarie innescate nell'organismo ricevente e sono perciò definite "immunoprivilegiate". Sulla base di questo, si ritiene che le staminali mesenchimali non possano promuovere l'insorgenza di immunorigetto in seguito a trapianto da donatore.

Le ricerche condotte all'Università di Padova con il supporto di TES e APE

Da alcuni anni, un progetto di ricerca attivo presso l'Università di Padova - Istituto di Anatomia Umana, e supportato dalla Fondazione T.E.S. e dall'Associazione A.P.E. (Avis per Progresso Ematologico, Odv) sta indagando la possibilità di utilizzare cellule staminali da tessuto adiposo e da sangue periferico per il trattamento dell'Emofilia A.

Nonostante le basi genetiche dell'Emofilia A siano ormai ben note, rimane ancora controversa la fonte cellulare responsabile della produzione del FVIII. Tuttavia, è stato dimostrato che uno dei principali siti di sintesi di tale fattore è l'endotelio, ovvero il tessuto che riveste la parete interna dei sinusoidi epatici (i.e., i capillari che irrorano il fegato). Pertanto, il progetto di ricerca sopra menzionato si basa sull'ipotesi che la rigenerazione di un endotelio non più funzionale mediante l'utilizzo di cellule staminali da donatore sano possa offrire nuove opportunità terapeutiche per il trattamento dei difetti della coagulazione.

Lo stato di avanzamento di queste ricerche risulta promettente: un preliminare studio condotto in vitro (ovvero, in laboratorio) è recentemente esitato in una pubblicazione scientifica di rilevanza internazionale, che ha dimostrato che le cellule staminali da tessuto adiposo, se opportunamente stimolate con fattori di crescita (proteine) che simulano il microambiente endoteliale del fegato, sono in grado di aumentare la sintesi e la secrezione di FVIII.

Quale prova sperimentale ancora più impor-



Il trapianto di cellule staminali potrebbe essere, in un prossimo futuro, la chiave di volta per guarire malattie genetiche come l'emofilia.

tante, tale fattore si è rivelato funzionale nel promuovere la coagulazione del sangue. Per dimostrare scientificamente la capacità del FVIII prodotto dalle cellule stimulate nell'indurre la coagulazione del sangue, è stato fondamentale il contributo del Dott. Paolo Radossi e dei suoi collaboratori, che lavorano presso il Centro per l'Emofilia dell'Ospedale di Castel-franco Veneto. Presso i laboratori del Centro, è stato possibile eseguire un saggio di coagulazione del sangue utilizzando i campioni contenenti FVIII prodotti a Padova, ottenendo risultati positivi per quanto riguarda la funzionalità coagulante di tale fattore.

Un obiettivo ambizioso: trattare l'Emofilia in modelli animali affetti dalla patologia.

In parallelo, con il supporto di Fondazione T.E.S. e di A.P.E., sono state acquistati dall'Università di Padova - Istituto di Anatomia Umana, alcuni topi affetti da Emofilia A, che sono stati usati per produrre una colonia di animali utili a quella che viene chiamata la sperimentazione in vivo. Su questi animali sono state effettuate le prime prove di iniezione di cellule staminali, che però hanno evidenziato come la procedura chirurgica (esposizione della cavità addominale per iniezione locale delle cellule nella circolazione sanguigna del fegato) sia molto invasiva per l'animale, provocandone la morte sia immediatamente dopo la chirurgia sia dopo qualche giorno (5-10 gg) dall'intervento chirurgico.

Con la collaborazione del Dott. Bernardino Spaliviero, VicePresidente A.P.E. e radiologo specializzato in ecografia di precisione, è stata testata anche la possibilità di evitare l'operazione chirurgica invasiva ricorrendo alla somministrazione ecoguidata in animali sani e malati. Anche questa tecnica si è dimostrata di difficile realizzazione, a causa delle ridotte dimensioni dell'animale che impediscono una chiara e definitiva localizzazione ecografica del distretto vascolare in cui deve essere eseguita l'iniezione delle cellule. Attualmente, dunque, si stanno cercando delle soluzioni alternative per somministrare le cellule staminali ad elevato potenziale terapeutico senza danneggiare l'animale modello.

In conclusione.

Sulla base dei risultati raggiunti finora non solo dai Ricercatori dell'Università di Padova, ma da tutta la comunità scientifica internazionale impegnata su questo fronte di studi, le prospettive di applicazione clinica della terapia rigenerativa con cellule staminali sono entusiasmanti e, con ulteriori ricerche, esperienza specifica e collaborazione interdisciplinare, il trapianto di cellule staminali potrebbe diventare - in un futuro non troppo lontano - una opzione concreta nell'ambito delle terapie di rigenerazione tissutale per il trattamento di malattie genetiche quali l'Emofilia.

**Silvia Barbon*

Ricercatrice Università Padova - TES

Si può sostenere con una donazione libera la ricerca della Fondazione Tes tramite Bonifico Bancario. Puoi indicare nella causale, se lo desideri, il progetto di ricerca che preferisci (<http://www.fondazionetes.it/progetti/>) Le coordinate bancarie:

**INTESA SANPAOLO SPA -IBAN:
IT19X0306909606100000144827**

Le donazioni alla Fondazione sono fiscalmente deducibili sia per Persone fisiche, sia per Persone giuridiche (aziende).

Si può destinare il tuo 5X1000 a Fondazione Tes basta una firma e il CODICE FISCALE 02164260289 nella casella predisposta (Modello Unico, 730, CUD)

