

## LE CELLULE STAMINALI DEL SANGUE

Cinque anni fa ,valutando tutti gli studi fatti fino ad allora in medicina umana e veterinaria sulle cellule staminali, mi rendevo conto che qualcosa non funzionava.

Le cellule staminali prese in considerazione fino a quel momento erano quelle del grasso e del midollo :2 tipi di cellule staminali già indirizzate a produrre una linea cellulare ben definita, cioè` cellule del grasso e cellule del sangue potevano produrre anche altri tipi cellulari ,ma non era il compito che la natura gli aveva assegnato.

A rigor di logica le uniche cellule staminali adulte veramente pluripotenti potevano stare solo in un qualche cosa che connetteva tutti gli organi, cioè' il sangue.

Decisi allora di coinvolgere la professoressa Alessandra Gambacurta ,che già' si occupava di staminali, convincendola a tradire quella che era la direzione presa dalla ricerca e portandola a vedere la realtà' da una finestra diversa.

Comincio' così l'avventura delle cellule staminali del sangue periferico.

Nei primi stadi della ricerca, l'idea di una loro maggiore pluripotenza ci fu confermata dal fatto che uno dei recettori delle staminali ricavate dal sg. era lo stesso delle cell. Stam.

Embrionali. Poi, a mano a mano, gli studi fatti, ci hanno dato sempre più` la convinzione di poter ottenere con semplicità` cellule staminali adulte PLURIPOTENTI.

Avevamo in mano le staminali adulte più' potenti sulla piazza.

Nel giro di 4 anni abbiamo sperimentato in vivo su 1500 casi estrapolandone un protocollo che aveva le sue variabili nel numero di cellule, nel numero di trattamenti per ciclo, nel numero di cicli, nelle percentuali dei vari tipi di staminali ottenute; differenze stabilite per il tipo della patologia,dello stato del paziente ,del tipo di tessuto trattato e della sua ubicazione all' interno dell'organismo.

**I punti a favore del nostro sistema che produce cellule staminali adulte autologhe [cioè' dello stesso individuo]sono così' sintetizzati:**

**1-facilita' di estrazione delle cellule dal paziente, non dobbiamo trapanare un osso per ottenere il midollo e non dobbiamo tagliare la cute per avere il grasso, ma basta un semplice prelievo del sangue, oltretutto sono sufficienti 5 ml.**

**2-il tempo di preparazione e' brevissimo[3-6 giorni] per un numero altissimo di cellule**

**3- le cellule ottenute sono solo cellule staminali e non sono frammiste ad altre componenti**

**4-sono nel numero e nella percentuale che decidiamo di ottenere attraverso un CELL SORTER che e' una macchina costosissima. (FACS ARIA II 4 LASERS)**

**5-sono allo stesso stato grado di maturazione, vengono infatti raccolte della stessa grandezza**

**6- hanno un ottimo effetto se vengono inoculate localmente, ma soprattutto possono essere inoculate per via endovenosa. Questa e' la piu' grande differenza con tutte le metodiche che usano cellule staminali e ne va considerato il valore concettuale: le staminali non vengono**

**piu' usate come muratori che ricostruiscono un muro, ma come direttori d'orchestra che concertano l'azione del sistema neuro –endocrino- immunitario.**

**7- rispetto poi alle altre cellule staminali adulte hanno la caratteristica di sottostare alla legislazione che regola gli emoderivati autologhi che da` un'enorme facilitazione applicativa futura in medicina umana.**

**Valutiamo ora tutte le metodiche di medicina rigenerativa usate fin adesso in medicina umana e in medicina veterinaria [naturalmente il raffronto e' fatto solo per l'applicazione locale delle staminali perche' nelle altre tecniche non esiste ancora l'uso sistemico.]**

## **LA PATOLOGIA TENDINEA**

***In questa breve descrizione spiego i vantaggi e i limiti delle terapie rigenerative nella patologia tendinea;mettendo in risalto le maggiori potenzialita' che si hanno con l'uso delle cellule staminali ottenute dal sangue periferico e cio' che vale per il tendine puo' essere riportato a molti altri processi patologici.***

Per capire nella sua interezza la patologia tendinea dobbiamo capire perche` in natura si ha difficolta' ad avere una" restitutio ad integrum" del tendine:

le lesioni si hanno in atleti spinti a prestazioni esasperate come i cavalli da corsa e i completisti dove lo sforzo massimale e' molto superiore a quello che serve per sfuggire al predatore. Anche in cavalli dove lo sforzo non e' cosi' intenso: la sella, il peso del cavaliere, il lavoro e le ferrature li allontanano dal loro movimento naturale producendo su tendini e legamenti una sollecitazione maggiore di quella provocata in natura.

Questo iperlavoro del tendine porta alla rottura di fibre con afflusso di sangue nella lesione. Finche' le lesioni sono piccole le citochine rilasciate al momento della lesione richiamano le cellule staminali unipotenti del tessuto tendineo che riescono in questo modo a rigenerare il tessuto. Se le lesioni sono piu' grandi non vi sono cellule sufficienti alla riparazione e si produce una cicatrice che porta a recidive. In definitiva non c'e' un errore della natura,ma siamo noi che spingiamo il cavallo oltre il suo progetto genetico.

Cosa succede quando il tendine si rompe? Si crea un buco nella matrice tendinea che si riempie di sangue; il sangue produce sostanze diverse da quelle prodotte dalle cellule staminali e si ottiene una cicatrizzazione e non una "restitutio ad integrum" del tessuto. Per cui dobbiamo curare la compensazione che l'organismo si e' inventato per una patologia non programmata in natura.

Ad ogni tipo di lesione segue:

1-INFIAMMAZIONE

2- INIBIZIONE DELL'INFIAMMAZIONE

3- RICOSTITUZIONE TISSUTALE

4-INIBIZIONE DEL PROCESSO DI CRESCITA TISSUTALE

Fino a poco tempo fa la medicina tradizionale per curare il tendine aveva pensato di agire rinforzando la prima fase di questo processo aumentando l'infiammazione con focature, vescicanti, tinture rubefacenti, etc.... Ma si è visto che si aumentava solo il tessuto cicatriziale e non si ottenevano quindi risultati soddisfacenti, ma frequentissime ricadute.

Nella seconda fase del processo "l'inibizione dell'infiammazione", la medicina tradizionale si è avvalsa di cortisonici, antiinfiammatori non steroidei, l'acido ialuronico etc..., mentre nella medicina rigenerativa è stata usata la terapia genica e l'IRAP.

La terapia genica è stata applicata soprattutto in patologie intraarticolari ricombinando il RECETTORE ANTAGONISTA DELL'INTERLEUCHINA 1 ad adenovirus non patologici con ottimi risultati antiinfiammatori, ma si è anche visto che, per la risposta immunitaria dell'ospite, la terapia si poteva applicare una sola volta.

L'INTERLEUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST[IL-1RA o IRAP]

L'IRAP nacque in Germania e fu commercializzato dalla Orthogen AG; in Europa il prodotto fu conosciuto con il nome di ORTHOKINE e fu descritto come regolatore delle citochine, attivando quelle "buone" e inibendo quelle "cattive".

L'IRAP è composto da siero autologo a cui vengono aggiunte diverse citochine:

soprattutto il recettore antagonista dell'interleuchina 1, poi il fibroblastic growth factor -1, l'hepatocyte growth factor e il transforming growth factor beta -1, non sono invece aumentate nel siero le citochine pro- infiammatorie come l'interleuchina 1-beta e il tumor necrosis factor.

Anche questo sistema ha ottenuto più risultati nelle articolazioni, mentre la sperimentazione su tendini e legamenti non ci ha portato ancora a certezze.

Questa tecnica terapeutica agisce solo sul secondo punto del processo rigenerativo [l'inibizione dell'infiammazione] e in parte sul terzo [la rigenerazione tissutale] con la sua componente di fattori di accrescimento.

Proprio per la rigenerazione tissutale viene usato in medicina rigenerativa il PRP [PLATELET RICH PLASMA] o LISATO PIASTRINICO con discreto successo.

Questo è un cocktail composto soprattutto di fattori di accrescimento: platelet derived growth factor [PDGF], bone morphogenetic protein-2 [BMP-2], insuline-like growth factor -1 [IGF-1], transforming growth factor-B [TGF-B], vascular endothelial growth factor [VEGF], growth differentiation factor [GDF], basic fibroblast growth factor [bFGF], etc... , ma vi sono contenuti anche fattori che stimolano l'infiammazione. Al momento si preferisce il lisato piastrinico del sangue all'estratto midollare perché in quest'ultimo le componenti preinfiammatorie e infiammatorie sono più scarse.

Si deve tener conto che se il lisato piastrinico viene inoculato troppo presto [entro 10 giorni dalla lesione] a causa della sua componente di citochine infiammatorie stimola enormemente un'infiammazione già presente influenzando negativamente la guarigione. Se invece viene applicato dai 14 giorni in poi da un buon risultato rispetto a ciò che avviene in natura. È comunque essenziale eliminare, mediante congelamento, i leucociti residui nel PRP che contengono citochine infiammatorie. Una maggior produzione di fattori di accrescimento da parte di centrifughe più tecnologiche non significa un miglior risultato terapeutico. I fattori di accrescimento liberati si legano a recettori della superficie cellulare e attivano un processo produttivo intracellulare a cascata. Una volta che i fattori di accrescimento occupano i recettori sono portati all'interno della cellula in modo che il segnale non sia perpetuo e porti quindi a una incontrollata crescita e proliferazione cellulare come nel cancro. Per cui una volta che i recettori sono saturati, un maggior apporto di fattori di crescita non dà ulteriori benefici, ma ipoteticamente delle controindicazioni.

Uno dei limiti di questi cocktail di citochine[IRAP e PRP] sta' proprio nella mancanza del numero idoneo, del tipo e della consequenzialita' dei fattori di accrescimento contenuti[se sono troppi o se alcuni di loro non servono in quel determinato momento del processo rigenerativo dove vanno a finire? Possono sollecitare altre cellule al di fuori dell'area lesionata? Per quanto tempo rimangono attive? Possono sviluppare patologie tumorali ?] .

Un altro limite e' che entrambe le tecniche agiscono su un solo punto del processo rigenerativo.[L'IRAP nell'inibizione del processo infiammatorio,il PRP nella rigenerazione tissutale.] In definitiva con questi approcci affrontiamo un processo estremamente complicato come la rigenerazione con un cocktail di sostanze non ben definito che viene usato solo su uno stadio del processo rigenerativo, mentre in natura la produzione di citochine è concertata per consequenzialità, per numero e per tipologia.

Ci manca l'intima conoscenza del processo nella sua totalita' e, anche avendola, non avremmo la possibilita' di usare diverse citochine attimo per attimo al fine di ottimizzare la "rigenerazione".

Queste prerogative sono invece di competenza delle cellule staminali!

Per comprendere piu' semplicemente questo concetto immaginiamo di recarci con il mal di testa in farmacia: se al banco c'e' una cellula staminale ci dara' immediatamente un'aspirina; se invece c'e' il lisato piastrinico ci fornira' ogni tipo di farmaco che ha disposizione dando benefici ,ma anche controindicazioni.

Le cellule staminali producono momento per momento le citochine richieste nel processo rigenerativo senza pericolo di una iperproduzione.

Le CELLULE STAMINALI ADULTE finora usate sono state quelle del grasso e del midollo, che hanno gia' un indirizzo evolutivo specifico: verso la produzione di cellule adipose e verso la produzione di cellule del sangue.

Le prime sono spesso usate frammiste ad adipociti, cellule del grasso, con la conseguente produzione di altre sostanze [le cellule del grasso producono 100 tipi diversi di citochine: le adipochine tra le quali troviamo molti fattori infiammatori come il Tumor Necrosis Factor e l'Interleuchina-1].

Le cellule staminali del midollo osseo possono essere anche ottenute in purezza mediante coltura, ma sono talmente eterogenee che e' difficile stabilire quale marcatore mostrano costantemente.

Sono entrambi tipi di cellule staminali gia'indirizzate alla produzione di linee cellulari specifiche, ma riescono a trasformarsi in altri tipi di cellule, anche se non e' il loro compito.

Le cellule staminali che si ottengono con il nostro sistema brevettato di "sdifferenziazione" da cellule del sangue, sono state tipizzate come CD90-117, CD90-34 eCD 34-117 tramite cell sorter che e' una macchina che riesce a tipizzare, contare, separare le cellule, etc...

LE CD 90-117 hanno lo stesso recettore delle cellule staminali embrionali.

Qui puo' venir posta la solita domanda: come fate a stabilire che le cellule staminali CD90-117 ADULTE sono pluripotenti?

E'questa una domanda puramente accademica che fuorvia l'effettivo significato della nostra ricerca. Cosa importa se sono pluripotenti a tutti gli effetti e cosa significa pluripotenti? Se il significato di pluripotenza vuol dire "IDENTICHE ALLE CELLULE STAMINALI EMBRIONALI" siamo i primi ad asserirne il contrario. Una risposta adeguata potrebbe essere questa:

abbiamo scelto le cellule staminali del sangue proprio perche' arrivano dovunque nell'organismo e ci aspettavamo che si potessero trasformare in ogni tipo di cellula. In vivo ce

lo hanno confermato agendo su molteplici patologie allo stesso tempo, convincendoci della loro pluripotenza. (Nel 2009 abbiamo dimostrato in laboratorio la loro pluripotenza.)

Per rendere tutto piu' comprensibile anche al lettore meno preparato immaginiamo che le cellule staminali embrionali si identifichino in un ingegnere progettista e una fabbrica di automobili che costruisce la MACCHINA.

Le staminali adulte del sangue sono i meccanici che si sono specializzati proprio su quella macchina di cui hanno profondamente assimilato il progetto, per cui riescono a ripararne anche il piu' piccolo difetto, ma non saprebbero costruirla con la stessa efficienza delle embrionali ,cioe' dell'ingegnere e della fabbrica. Potrebbero.... ma probabilmente non gli riuscirebbe benissimo [clonazioni].

Anche le embrionali hanno pero' difficolta' ad aggiustare la macchina perche' il loro compito e' costruirla, non ripararla. Quindi non e' solo perche' sono eterologhe ad avere poca possibilita' terapeutica applicativa, ma perche' sono adibite a un compito diverso, dando fenomeni di rigetto e produzione di teratomi.

Due tipi di cellule con lo stesso recettore, ma con una totipotenza diversa:

una GENERATRICE, l'altra RIGENERATRICE.

L'ingegnere progettera', l'operaio della fabbrica costruirà, mentre il meccanico specializzato su quel tipo di macchina farà le riparazioni.

Nella cellula staminale embrionale abbiamo il concetto di progettazione e realizzazione mentre nella staminale CD90-117 adulta c'è la conoscenza del progetto che permette la riparazione.

Una cellula totipotente GENERATRICE e una super-pluripotente RIGENERATRICE.

*Le cellule staminali multipotenti come quelle del grasso o del midollo possono essere paragonate ad un'elettrauto o ad un carburatorista a cui si puo' anche chiedere qualcosa che esuli dal loro campo, ottenendo pero' indicazioni e risultati inferiori rispetto a chi si e' specializzato nella conoscenza dell'intera macchina. Se il motore gira male posso chiedere all'elettrauto [staminale del grasso o del midollo] di dare un sguardo: se e' una banalità la puo' risolvere, ma se e' piu' grave devo ricorrere al meccanico specializzato (cellule staminali del sangue pluripotenti)..*

*Riassumiamo allora i punti che rendono preferibili le cellule staminali del sangue a tutte le altre tecniche di medicina rigenerativa:*

*1-Producono i fattori di accrescimento adeguati e le altre citochine utili, momento per momento, nell'evoluzione del processo rigenerativo*

*2-Agiscono su tutti gli stadi della rigenerazione.*

*3-Hanno una capacita' rigenerativa superiore rispetto alle altre staminali usate finora perche' sono cellule staminali pluripotenti adulte.*

*4-Sono una popolazione omogenea grazie al passaggio di sorting, cioe' senza la presenza di cellule non staminali o altre componenti*

*5-Il sorting ci permette anche di usare cellule con un numero e una percentuale CD90-117 e CD90-34 ben precisa a seconda della patologia trattata.*

Questo riguarda l'applicazione locale delle cellule staminali , ma l' innovazione rivoluzionaria sta` nel loro uso sistemico. E non dobbiamo aver paura di avere staminali in circolo per lunghi periodi con possibili controindicazioni perche` dopo al massimo 48 ore vanno in apoptosi [cioe' vengono distrutte], ma in questo periodo hanno il tempo di informare alcune cellule del

sangue a trasformarsi in staminali quando tessuti patologici lo richiedano e questo fenomeno dura per molto tempo. Mi sono accorto di cio' che asserisco dal fatto che quando prelievo le cellule di un animale trattato il laboratorio ha bisogno di almeno 72 ore per produrre un numero utile di cellule, mentre anche dopo alcuni mesi dall'inoculazione del ciclo di staminali, il tempo di preparazione per lo stesso numero di cellule e' solo 4 ore. Questo significa che non ci sono cellule staminali in eccesso che girano nella corrente sanguigna, ma solo cellule del sangue con una maggior predisposizione a trasformarsi in staminali.

E' comunque importante capire che le staminali del sangue da sole non sono un protocollo terapeutico, ma fanno parte di un protocollo. Quando le uso per curare un cane cardiopatico continuerò la terapia farmacologica adeguata ed in piu' userò le staminali che agiranno sia sul cuore che sulla vascolarizzazione allungando la vita del cane e anche la sua terapia. Possono cosi' essere utilizzate a fianco di qualsiasi trattamento. Ne sconsiglio, pero', l'uso nel tumore che e' una patologia multifattoriale molto complessa; ma sono sicuro che in questa patologia possano essere usate unite alla chemioterapia inibendone gli effetti negativi e permettendone piu' cicli quando sono richiesti.

Marco Poletti

I risultati che abbiamo ottenuto nelle piu' svariate patologie degli animali prospettano uno sviluppo pieno di promesse anche per l'uomo.

Questa nuova terapia rigenerativa ha fatto riacquisire la vista ad animali ciechi e ha fatto camminare animali paralizzati riempiendo di gioia noi che la sperimentavamo. Non oso immaginare cosa potra' provare un medico a risolvere patologie simili nell'uomo.

Proprio per portare in umana questa terapia la THANKSTEM all'interno dell'universita' di TOR VERGATA sta' sviluppando diversi lavori di ricerca che necessitano di fondi; per questo e' stato aperto un conto corrente che puo' ricevere donazioni

Paese it

CIN EUR 75

CIN S

ABI BANCA 03002

CAB 03255

NCONT0 000400696424

CAST PROF GAMBACURTA docente di biologia all'Universita di TOR VERGATA  
PROGETTO CELLULE STAMINALI

***Codice IBAN IT75S0300203255000400696424***

