

relazioni

SESSIONE 9

Il ruolo della diagnostica microbiologica nell'attività di trapianto e per la sicurezza trasfusionale

Venerdì 22 Settembre 2006, ore 09.00 - 13.00, AUDITORIUM

S9.1

MEDICINA RIGENERATIVA E PLASTICITÀ DELLE CELLULE STAMINALI ADULTE

Ventura C.

Laboratorio di Biologia Molecolare e Bioingegneria delle Cellule Staminali

- Istituto Nazionale di Biostrutture e Biosistemi

- Istituto di Cardiologia, Ospedale S. Orsola

- Malpighi, Università di Bologna.

Le cellule staminali rappresentano elementi pluripotenti responsabili sia dello sviluppo di organi e apparati durante la vita embrionale, sia del mantenimento dell'integrità morfo-funzionale di alcuni tessuti nell'individuo adulto. La morte cellulare insorgente nel contesto di patologie degenerative acute o croniche comporta conseguenze cliniche in buona parte dipendenti dalle capacità rigenerative del tessuto danneggiato. Oggi sappiamo che il midollo osseo contiene cellule staminali adulte e fra queste le cellule staminali mesenchimali (hMSC). Si tratta di cellule che non hanno una funzione emopoietica ma possono differenziarsi in diversi fenotipi cellulari mostrando una potenzialità differenziativa di gran lunga superiore a quanto inizialmente ipotizzato. Queste cellule possono differenziarsi in cellule osse, cartilaginee, in epitelii cutanei e corneali. Per molti versi l'utilizzo di hMSC è già una realtà clinica in campo ortopedico, dermatologico e oculistico. Numerose evidenze sperimentali indicano un potenziale cardiogenetico e neurogenetico in hMSC. Tali cellule manifestano inoltre la capacità di esprimere markers dei tre foglietti embrionali e sono capaci di differenziarsi anche in cellule beta-pancreatiche. Molte ricerche sono attualmente in atto per comprendere i meccanismi molecolari in grado di "convincere" le hMSC ad adottare queste scelte differenziati-

ve. Un altro aspetto di estremo interesse è dato dal riscontro di hMSCs in tessuti alternativi al midollo osseo, quali la polpa dentaria e le membrane fetali della placenta a termine. Quest'ultima popolazione cellulare sembra essere più ancestrale e dotata di capacità proliferative e di autorinnovamento particolarmente spiccate. Anche in questo caso, le cellule hMSCs ottenute non danno luogo a fenomeni di rigetto in seguito a trapianto eterologo anche in speci diverse dall'uomo. Questa caratteristica è estremamente interessante perché consentirà in un immediato futuro di studiare le potenzialità differenziative e riparative di cellule staminali umane in modelli sperimentali animali di danno d'organo.

Le potenzialità differenziative e di "autorinnovamento" delle cellule staminali hanno recentemente suggerito un nuovo approccio al danno tissutale, quello della "terapia cellulare". Il successo della terapia cellulare dipenderà dalla comprensione dei meccanismi molecolari responsabili dell'induzione e del mantenimento di differenziamenti specifici nelle cellule staminali. La maggior parte di tali meccanismi resta attualmente sconosciuta. Le implicazioni della scoperta degli eventi molecolari che governano l'orientamento fenotipico delle cellule staminali risultano immediatamente evidenti nella prospettiva di una terapia cellulare di alcuni specifici tessuti, quali il miocardio e il sistema nervoso centrale e periferico. Le ricerche più recenti nel campo delle cellule staminali hanno ricevuto un impulso fondamentale dall'analisi dei meccanismi molecolari responsabili dell'orientamento differenziativo verso specifici fenotipi. In questo contesto, un'area di ricerca in rapido sviluppo è rappresentata dalla comprensione degli effetti indotti da modificazioni epigenetiche quali l'acetilazione di istoni e la metilazione del DNA sull'attività trascrizionale e sul rimodellamento della struttura e della funzione della cromatina. L'isolamento e la caratterizzazione di molecole chiave coinvolte in tali modificazioni epigenetiche indica che una varietà di fattori cooperano nella costruzione di vasti complessi che dirigono l'assemblaggio di specifici

che conformazioni dei nucleosomi, capaci a loro volta di regolare l'attivazione o la repressione trascrizionale. In particolare, il passaggio da uno stato di totipotenza ad una condizione di orientamento fenotipico in cellule multi/totipotenti potrebbe essere spiegato, almeno in parte, dall'insorgenza di complessi rimodellamenti della struttura cromatinica. L'acetilazione di istoni è stata a lungo associata all'attivazione trascrizionale e ad un incremento delle capacità differenziali in toto di cellule multipotenti. Le risposte cellulari associate ad iperacetilazione istonica sono risultate essere fortemente potenziate in presenza di inibitori delle metiltransferasi, quali la 5-aza-2'deoxytydine (5-aza). È stato evidenziato come la concomitante inibizione di istone deacetilasi, con conseguente iperacetilazione istonica, e l'inibizione di DNA metiltransferasi aumentassero ulteriormente la stessa acetilazione istonica, provocando un'induzione sinergica dell'attività trascrizionale.

Abbiamo recentemente sviluppato esteri misti di acido ialuronico con acido retinoico e acido butirrico, inibitore delle istone deacetilasi, che sono risultati essere in grado di indurre l'attivazione di profili di espressione genica responsabili del differenziamento cardiaco in cellule embrionali staminali totipotenti murine (Ventura C, Maioli M, Asara Y, Santoni D, Scarlata I, Cantoni S, Perbellini A. *J Biol Chem* 279:23574-23579, 2004). Gli effetti prodotti a livello trascrizionale dagli esteri misti dell'acido ialuronico si sono tradotti in un drammatico aumento della resa del processo cardiogenetico.

Questi risultati dimostrano per la prima volta che il programma differenziativo delle cellule staminali può essere chimicamente modificabile senza ricorrere a procedimenti complessi e potenzialmente rischiosi di trasferimento genico mediante vettori virali. Tale scoperta potrebbe aprire la strada verso approcci innovativi di bioingegneria tissutale e rigenerazione miocardica.

S9.2

DONATORI MULTIORGANO E MARGINALI: CRITERI MICROBIOLOGICI DI IDONEITÀ

Ghisetti V.

*S.C. Microbiologia, Ospedale Molinette,
corso Bramante 88, 10126 Torino*

Data la scarsità di organi disponibili e la disparità con il numero dei riceventi in lista di attesa si è vista la necessità di espandere il pool di donazioni definendo strategie elettive per l'utilizzo di organi da donatori a rischio cosiddetto "calcolato". Rientrano in tale situazione donatori in cui la presenza di uno specifico agen-

te patogeno o di uno stato sierologico depongono per un potenziale rischio di trasmissione di agenti infettivi. Tali situazioni sono compatibili con il trapianto in riceventi che presentino condizioni tali da rendere minimo il rischio di trasmissione perché anch'essi affetti dallo stesso tipo di infezione oppure provvisti di anticorpi specifici e quindi protetti (CNT, 26 novembre 2003). Il laboratorio di Microbiologia riveste un ruolo sempre più importante nella valutazione delle situazioni di marginalità della donazione d'organo perché è necessaria una tipizzazione microbiologica sensibile, specifica, accurata e rapida per definire le condizioni di rischio di trasmissione degli agenti infettivi al ricevente e l'idoneità alla donazione. L'introduzione delle tecniche molecolari per l'identificazione dei virus epatitici B (HBV), C (HCV) e HIV in soggetti sierologicamente negativi o con segni di infezione pregressa ha migliorato molto la definizione del rischio associato alla donazione, come anche la disponibilità di farmaci antivirali per la profilassi specifica di certe infezioni (HBV) nei riceventi a rischio.

Le condizioni di donazione a rischio calcolato sono le seguenti:

- a) donatori HbsAg positivi;
- b) donatori HbsAg negativi ma con sierologia positiva per HBV;
- c) donatori anti-HCV positivi;
- d) donatori con meningite o batteriemici MA in trattamento antibiotico da almeno 24 ore.

L'esperienza di molto Centri circa l'utilizzo di organi con infezione da HCV in riceventi HCV positivi ha messo in evidenza che la sopravvivenza a 5 anni di tali pazienti è molto simile a quella dei pazienti HCV positivi con donatori anti HCV negativi. Più problematico è l'uso di organi da donatori HbsAg positivi o con pregressa infezione da HBV (portatori occulti). Nei Centri dove si eseguono trapianti di fegato da donatori HbsAg positivi, in riceventi HbsAg positivi ad esclusione delle coinfezioni da virus Delta, il follow-up di tali pazienti ha evidenziato che nonostante una profilassi combinata con immunoglobuline specifiche e antivirali nessuno dei riceventi elimina il virus B, tutti rimangono HbsAg positivi richiedendo una terapia antivirale prolungata, con elevato rischio di sviluppare farmacoresistenza. L'infezione occulta da HBV è rivelabile nel siero dalla positività per anticorpi contro il core di HBV (anti-HBc) in soggetti HbsAg negativi, associata o meno alla presenza di altri indicatori sierologici di pregresso contatto con il virus. Tale condizione è molto frequente nelle popolazioni dei donatori di organo (24% in Italia, dati NIT del 2005), più alta che nella popolazione generale (valori intorno al 5%) e si associa ad un rischio di trasmissione di HBV con il trapianto di fegato che va dal 30 al 70% dei casi, in assenza di profilassi del ricevente. I test molecolari sui materiali biologici di tali donatori hanno evidenziato che solo una piccola frazione di essi è positiva per HBV DNA nel siero (non oltre il 10% con cariche vira-