

CELLULE STAMINALI ADULTE

RIEPILOGO:

Oggi partiamo da una prospettiva storica e inizieremo a parlare di **cellule staminali adulte**.

Rispetto alla concezione iniziale (inizio '900) secondo cui le cellule normali fuori dal corpo potessero essere coltivate ad oltranza e potessero autorinnovarsi in maniera illimitata, grazie agli esperimenti di Hayflick questi concetti furono completamente abbandonati e si comprese invece che qualunque fossero le condizioni di mantenimento delle cellule in coltura queste non potessero autorinnovarsi in maniera illimitata, ma che potessero rinnovarsi solo un numero limitato di volte (limite di Hayflick) → blocco della proliferazione con raggiungimento del plateau, a causa di meccanismi intrinseci che vanno a limitarne la proliferazione (presenza dei telomeri e loro accorciamento).

Le cellule normali non sono quindi caratterizzate dalla capacità di autorinnovarsi (lo sono invece le cellule tumorali).

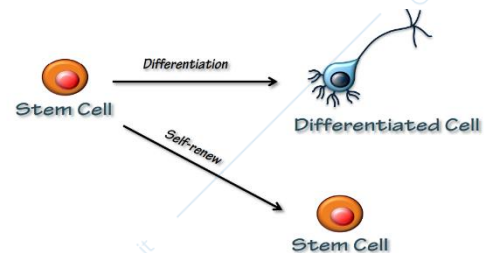
Quali sono quindi le caratteristiche delle cellule staminali che le rendono tali?

Sono cellule NORMALI indifferenziata in grado di andare incontro a DIFFERENZIAMENTO e di AUTORINNOVARSIS in modo illimitato.

Quando si parla di **differenziamento** si intende la capacità di dare vita ad una lineage di cellule che differenziano e che quindi presentano delle capacità nuove rispetto alla cellula madre. Il differenziamento è dovuto ad un [meccanismo epigenetico](#).

L'**autorinnovamento** non è una semplice duplicazione ma è la capacità di rinnovare sé stessa in modo illimitato quindi la cellula figlia che si genera deve possedere TUTTE le caratteristiche della cellula madre, non solo morfologiche, ma anche a **livello del potenziale differenziativo** e quindi deve essere in grado in ogni momento sia di differenziare sia di generare un'altra cellula figlia staminale. Un concetto intrinseco dell' autorinnovamento è che **questo potenziale deve essere ILLIMITATO**.

[È sinonimo di espansione clonale? No, perché non necessariamente il concetto di espansione clonale prevede il differenziamento.]



[**DEF.** Le SC hanno la capacità di autorinnovarsi generando una cellula uguale a sé stessa nonché di differenziare in una cellula specifica con delle peculiari caratteristiche funzionali. La capacità di autorinnovamento nelle SC deve essere mantenuta per sempre → una SC per essere definita tale deve quindi essere indifferenziata, con capacità di differenziare, e deve potersi autorinnovare generando una cellula figlia che andrà incontro a medesimo destino (ogni divisione permette differenziamento e self-renew).]

La cellula figlia deve essere equipotenziale cioè analoga capacità di generare le stesse cellule che può generare la madre.

CENNI STORICI: Origine del termine “cellula staminale

1. Ernst Haeckel e la teoria della ricapitolazione

Il termine è stato coniato da Ernst Haeckel (seconda metà '800) e fu attribuito ad un oggetto che oggi sappiamo non essere staminale.

Haeckel era uno dei maggiori sostenitori della teoria darwiniana dell'evoluzione e approfondì gli studi per la ricostruzione di alberi filogenetici che volevano rappresentare l'evoluzione a partire da un ipotetico antenato comune.

H. definì la **teoria della ricapitolazione**, secondo cui l'ontogenesi ricapitola la filogenesi: ovvero gli stadi precoci dello sviluppo assumono la morfologia tipica di altri organismi animali semplici quindi

lo sviluppo embrionale sembra ripercorrere l'evoluzione. Questo significa che l'antenato comune doveva essere simile allo ZIGOTE.

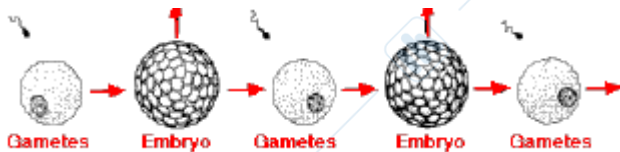
Heckel utilizzò il termine **Stamzelle** (zigote) per definire la cellula staminale (derivava dal termine tedesco "Stammbaume" (albero genealogico)) → Per Heackel quindi il termine Stamzelle rappresentava sia il progenitore unicellulare (paramecio) che lo zigote (uovo fecondato).

Oggi sappiamo però che in realtà questi due non descrivono una cellula staminale. Questo non poteva essere vero perché oggi ovviamente sappiamo che mentre l'antenato unicellulare può dividersi in modo essenzialmente illimitato (es. da una cellula di E. Coli è in grado di dare origine a una colonia di miliardi di individui), ma lo zigote nonostante sia una cellula Normale in grado di DIFFERENZIARE ma non fa autorinnovamento illimitato → è in grado di dividersi uno, due, tre volte per poi ottenere cellule che perdono la capacità dopo un certo numero di divisioni. Se fosse stato vero che lo zigote è una cellula staminale da questo si potrebbero creare infiniti cloni dello stesso individuo.

2. August Weissmann e la teoria del plasma germinale

W. riprende il termine coniato da H. ma lo utilizza per identificare le cellule della linea germinale. Weissmann studiò maggiormente lo sviluppo embrionale e formulò la **teoria del plasma germinale**: afferma che dopo la formazione dell'embrione da parte dei gameti, questo sarà composto da:

- cellule destinate al differenziamento formando cellule e tessuti specializzati (componente **somatica/soma**)
- cellule che continuano a portare l'informazione da una generazione all'altra (**linea germinale**).



Queste ultime cellule generano nuovo plasma germinale responsabile del conferimento della capacità di formare le cellule differenziate dell'organismo, che daranno origine ai gameti.

Un embrione forma i gameti da cui si genererà un altro embrione in grado di produrre altri gameti e così via.

Si pensava che il plasma germinale (informazione) rimanesse inalterato tra le varie generazioni nella sola linea germinale mentre nelle cellule dei tessuti andasse ad inattivarsi o perdersi parte del plasma. L'ipotesi della perdita del materiale genico non fu completamente errata perché le cellule quando si differenziano non perdono materiale ma hanno un silenziamento epigenetico.

3. Boveri e Häcker:

Utilizzarono il termine per identificare le cellule della linea germinale. *"Stem cells are the cells along the germline lineage between the fertilized egg and committed germcells. In these early studies, the term stem cell referred to what we today call the germline lineage, primordial germcells, and germline stem cells"*.

Studiando un embrione di un crostaceo si resero conto che durante lo sviluppo embrionale una cellula si divideva in due cellule figlie:

- Una cellula rimaneva nella linea germinale
- l'altra cellula differenziava in derivati del mesoderma

Con "stem cell" loro identificano la **prima cellula** ma il termine si riferiva alle cellule che noi definiamo cellule della linea germinale.

Secondo i due scienziati, quindi, lo zigote deve necessariamente contenere tutte le informazioni necessarie per il differenziamento di tutte le strutture del futuro organismo, pertanto le cellule derivanti dallo zigote andranno a differenziare in vari sottotipi cellulari.

[Boveri e Häcker ritenevano quindi che nel corso del differenziamento vi fosse la perdita di una parte dell'informazione (si presupponeva una base genetica del differenziamento)]

4. Arthur Pappenheim e le cellule staminali ematopoietiche

Arriviamo agli inizi del '900 quando per la prima volta il termine cellula staminale viene applicato per quello che effettivamente noi ancora oggi indichiamo con cellula staminale. La storia dietro a questo è una storia di conflitto scientifico, una diatriba, tra questi scienziati che studiavano lo sviluppo delle cellule del sangue, ovvero il processo di ematopoiesi, quindi la diversificazione delle cellule del sangue a partire dai progenitori: cercavano la relazione tra le cellule del sangue e quelle dei distretti ematopoietici (ovvero i precursori)

Loro all'epoca capirono che esistevano due lineage di cellule del sangue:

- rossa
- bianca

e che esistevano dei **progenitori comuni** per ogni lineage.

A questo punto partì la diatriba in cui gli scienziati si divisero in:

- **DUALISTI**: sostenevano che esistessero due progenitori → uno per la serie bianca e uno per la serie rossa e che questi due non avessero una stretta relazione;
- **UNICALISTI**: affermavano che esisteva un unico progenitore per entrambe le serie che si originavano poi per la grande capacità di differenziamento del progenitore.

Gli unicalisti cominciarono ad utilizzare il termine **STEM CELL** per definire la **cellula progenitrice di tutte le cellule del sangue** quindi il termine stem cell si usò quindi per definire qualcosa che originariamente il termine non prevedeva.

Pappenheim definì cellula staminale la cellula che era in grado di generare tutte le cellule del sangue.

Il concetto moderno di cellula staminale in realtà è relativo alle **CELLULE STAMINALI ADULTE**.

“Come può DIMOSTRARE Pappenheim che esiste quella cellula staminale emopoietica in grado di originare tutte le cellule del sangue, cioè come dimostro la staminalità di una cellula?”

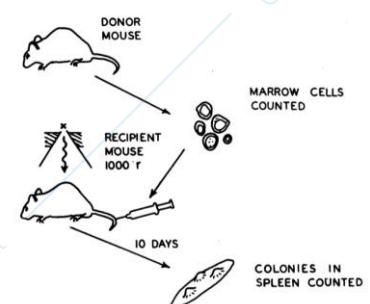
COME PROGETTARE UN ESPERIMENTO

Per prima cosa bisogna scegliere se utilizzare un sistema in vitro o in vivo e poi definire il sistema modello da utilizzare.

In classe abbiamo provato a dimostrarlo in vitro: prelevo il midollo di topo; metto poi le cellule in coltura; fornisco fattori per il differenziamento e dimostro che si è differenziato. Ma come dimostro che si autorinova illimitatamente?

Per dimostrare l'esistenza della cellula staminale è stato svolto un esperimento in vivo su modello murino ovvero **SPLEEN COLONY TECHNIQUE** (in vitro si presenta il problema dell'assenza della nicchia staminale):

1. Si estrae midollo di un primo topo da cui si prelevano le cellule
2. Le cellule vengono trapiantate in un secondo topo
3. Nella milza del secondo topo è possibile distinguere due colonie di cellule (una dal primo e una dal secondo topo) che possono essere



contate → si può definire quante cellule in grado di formare colonie si avevano perché conosco la frazione di cellule differenziate ed indifferenziate.

COLONIA: gruppo di cellule che deriva da una stessa cellula (clone)

4. Osservando le colonie sono presenti sia cellule differenziate (tramite colorazione di strutture note) che indifferenziate ovvero cellule che presentano la stessa capacità del progenitore. Ma come si dimostra che queste cellule non differenziate hanno le stesse capacità del progenitore?
5. Si disgregano le colonie e si trapiantano le cellule non differenziate in un nuovo topo in cui si osserva la formazione di nuove colonie che presentano di nuovo sia cellule differenziate che non differenziate.

Questo viene ripetuto più volte (con stesso risultato) per dimostrare che quindi queste cellule del midollo presentano sia capacità di differenziarsi nelle cellule delle due linee ma anche di autorinnovarsi illimitatamente.

[**Progenitore**: è una cellula che deriva da cellula staminale che però possiede capacità di autorinnovamento limitata e che può differenziare in un limitato numero di tipi cellulari (lineage).]

SAGGIO FUNZIONALE

È una tecnica che intende mettere alla prova una cellula per valutare se è in grado di svolgere la funzione che penso svolga → diverso da valutare la presenza o meno di marcatori caratteristici.

Es. Nei neuroni osservo se la cellula risponde o meno ai neurotrasmettitori

Nella cellula staminale cerco di capire se è in grado di autorinnovarsi e di differenziarsi

CELLULE STAMINALI ADULTE

In realtà quando si parla di cellule staminali si parla di **CELLULE STAMINALI ADULTE** (cellule staminali somatiche o tessuto specifiche) perché storicamente sono quelle su cui sono stati studiati i concetti di potenziale e nicchia staminale ed inoltre sono le UNICHE SC che esistono naturalmente in vivo.

“Cellule staminali presenti nel tessuto dell’adulto e del feto. Sono presenti nella maggior parte dei tessuti del corpo (come sangue, cervello, fegato, intestino, pelle) e possono differenziarsi nei tipi cellulari del loro tessuto di origine”

Infatti, sono cellule indifferenziate che in realtà sono già “specializzate”, nel senso che si possono differenziare soltanto in cellule del loro tessuto di appartenenza → si ha già un indirizzamento differenziativo (**committed cells**).

Già gli antichi greci sapevano che alcuni dei nostri organi possono rigenerarsi (mito di Prometeo → Fegato che si rigenera). Ad esempio, alcuni nostri tessuti (sangue, muscolo, osso, epiteli) presentano una capacità di **rigenerazione** funzionale alla riparazione in risposta a danno o alterazione. Le cellule staminali servono quindi anche a riparare dei tessuti danneggiati (mantenimento OMEOSTASI).

Le cellule staminali dell’adulto hanno quindi **due funzioni principali**:

- **RIGENERAZIONE TISSUTALE** in risposta ad un danno;
- **MANTENIMENTO DELL’OMEOSTASI** tissutale

Es. le cellule del nostro sangue vengono continuamente rinnovate ma anche la pelle di mantiene stabile nel tempo perché costantemente soggetta a desquamazione viene continuamente rinnovata.

Le cellule staminali adulte devono quindi possedere **POTENZIALE DIFFERENZIATIVO** e **CAPACITA’ DI AUTORINNOVARSI**.

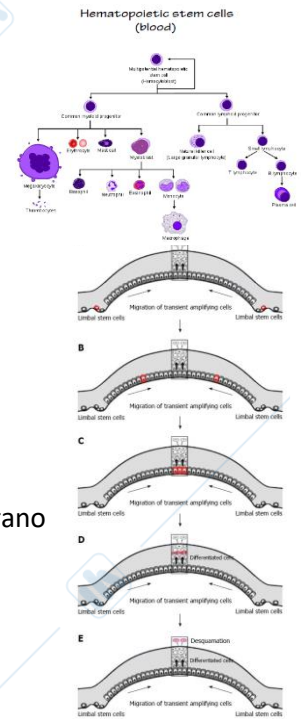
Si può parlare di **varie forme di potenziale differenziativo** ovvero cellulari specializzati che una cellula può generare:

- **MULTIPOTENZA**: la capacità di differenziare in molteplici tipi cellulari appartenenti ad uno specifico tessuto.

Es. le cellule staminali ematopoietiche capaci di generare TUTTE le cellule presenti nel sangue (megacariociti, leucociti ed eritrociti). Questo tipo di cellula staminale dà origine a due progenitori (mieloide e linfoide) caratterizzati da specifica capacità differenziativa ma con un limitato numero di cicli di autorinnovamento → i progenitori non sono quindi cellule staminali in quanto, pur avendo capacità differenziativa specifica, hanno una limitata capacità di self-renew ed inoltre i progenitori mieloidi e linfoidi non possono switchare tra le loro forme.

- **UNIPOTENZA**: la capacità di differenziare solamente in UN SOLO TIPO cellulare.

Es. le cellule limbal dell'occhio localizzate nel limbus. La cornea è un derivato dell'epidermide e va incontro a continua rigenerazione. Le cellule limbal sono responsabili della rigenerazione della cornea: sono presenti alla periferia della cornea (formano un cerchio intorno alla cornea) dove replicano rapidamente (amplificazione transiente) e differenziano. I prodotti del differenziamento migrano verso la regione centripetamente nella cornea, rimpiazzando le cellule perse.



NICCHIE STAMINALI

Le cellule staminali sono localizzate in **NICCHIE STAMINALI**: regioni di tessuto che contengono cellule staminali. → è un **MICROAMBIENTE** altamente organizzato che controlla il comportamento e l'omeostasi della cellula staminale.

Un classico esempio di nicchia staminale è il **midollo osseo** che è la nicchia staminale ematopoietica. Il midollo osseo è una regione ampiamente vascolarizzata intercalata nel tessuto osseo spugnoso (trabecole) ed è composta da una serie di tipi cellulari che includono le CS ematopoietiche, altre cellule mesenchimali nonché osteoblasti e osteoclasti. La forte vascolarizzazione permette l'ingresso diretto delle cellule neo-differenziate nel circolo sanguigno.

Il trapianto di midollo osseo è pertanto un trattamento terapeutico di routine in quelle patologie che vanno a compromettere la nicchia staminale ematopoietica.

Schofield si rese conto che la staminale ematopoietica si trova in un microambiente altamente organizzato dove è in contatto con altri tipi cellulari che ne vanno a determinare il comportamento. Secondo S., c'è un modo semplice in cui la nicchia può controllare tale comportamento se la cellula staminale si divide in due cellule figlie:

- La cellula che RESTA NELLA NICCHIA riceverà i **segnali che prevengono il differenziamento** prodotti delle cellule presenti nella nicchia (ovviamente diverse dalle SC).
- La cellula che LASCIA L'AMBIENTE di **default si differenzierà**.

Si ha quindi una divisione asimmetrica in cui si generano due cellule con comportamenti diversi.

Le SC quindi di default si **DIFFERENZIANO perché il differenziamento non richiede segnali** (cosa che è invece necessaria per mantenerla indifferenziata nella nicchia).