



LA DONAZIONE DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

Le cellule staminali emopoietiche

Le cellule del sangue, prodotte nel midollo osseo ed immesse in circolo, originano da cellule progenitrici, dette *cellule staminali*, che hanno la caratteristica di essere totipotenti, cioè di riprodursi a un ritmo estremamente intenso e a differenziarsi nelle varie linee cellulari.

Le cellule progenitrici sono piuttosto scarse ma, oltre a possedere una attività riproduttiva enorme (ogni giorno generano 200-400 miliardi di cellule nuove) sono in grado di replicarsi cosicché il loro numero resta invariato durante tutta la vita, anche se dovessero in parte venire prelevate (donazione).

Tali cellule possono essere raccolte o dal midollo osseo o, dopo mobilizzazione con fattori di crescita, dal sangue periferico o dal sangue del cordone ombelicale.

Cosa è il trapianto di cellule staminali emopoietiche

Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) si è affermato come una delle strategie terapeutiche più utili nella cura di emopatie maligne (es: leucemie acute o croniche, mieloidi o linfoidi) o ereditarie (Thalassemia Major) per le quali le terapie convenzionali non offrono che scarse o nulle possibilità di guarigione.

Per trapianto si intende la sostituzione di un midollo osseo malato o non funzionante, con cellule staminali sane in grado di rigenerare tutte le cellule del sangue, ricostituendo le normali funzioni ematologiche e immunologiche.

Il trapianto può essere *autologo* (trapianto di CSE dello stesso paziente dopo opportuno trattamento) o *allogeneico* (trapianto di CSE da un donatore sano). In quest'ultimo caso è indispensabile reperire un donatore con caratteristiche genetiche simili (compatibilità tissutale) a quelle del ricevente.

Il trapianto di CSE allogeneico consiste principalmente in due fasi:

- la prima è mirata alla distruzione delle cellule midollari del paziente con farmaci chemioterapici e/o radiazioni;

- la seconda consiste nella ricostituzione del patrimonio midollare del paziente, tramite l'infusione, per via endovenosa (in maniera del tutto simile ad una normale trasfusione), delle cellule staminali prelevate dal donatore HLA compatibile. Queste cellule riescono, infatti, a trovare da sole la strada per colonizzare la sede ossea di loro competenza e iniziare a produrre i normali elementi cellulari del sangue.

Perché servono donatori di CSE

Inizialmente (oltre 30 anni fa) i trapianti di CSE venivano eseguiti esclusivamente tra fratelli compatibili HLA identici.

Tuttavia, la constatazione che l'80% dei malati affetti da emopatie letali non poteva giovare di una terapia tanto valida (in Italia, ogni anno, circa 2000 pazienti eleggibili al trapianto non dispongono di un donatore all'interno della fratria) ha spinto gli ematologi a cercare il donatore al di fuori dell'ambito familiare.

I risultati soddisfacenti ottenuti ricorrendo a donatori non consanguinei hanno portato, nonostante l'estrema difficoltà nel reperire soggetti con caratteristiche genetiche simili, al fiorire in tutto il mondo di Registri Nazionali di potenziali donatori di midollo osseo.

Tali organizzazioni costituiscono delle vere e proprie banche dati che, collegate tra di loro in una rete internazionale, rendono accessibile ad un singolo paziente un pool di donatori estremamente ampio. La strategia è necessaria per aumentare la probabilità di reperire un donatore compatibile che, stante l'elevato numero di combinazioni possibili (*polimorfismo*) del sistema HLA, oscilla, in rapporto alla frequenza delle caratteristiche (*fenotipo*) considerate, da 1 su 1.000 a 1 su 100.000.

Anche in Italia è stato avviato, nel 1989, sulla spinta di diverse Società Scientifiche interessate alla materia (Società Italiana di Ematologia, Gruppo Italiano Trapianti di Midollo Osseo, Associazione Italiana di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Associazione Italiana Emato-Oncologia Pediatrica, Società Italiana di Immunoematologia e Trasfusione del Sangue), un programma denominato “**Donazione di Midollo Osseo**”. È stato, quindi, istituito il Registro nazionale Italiano Donatori di Midollo Osseo, internazionalmente noto come IBMDR (Italian Bone Marrow Donor Registry), con sede a Genova presso l'Ente Ospedaliero “Ospedali Galliera” e la cui attività è stata istituzionalmente riconosciuta con la Legge n.52 del marzo 2001. Esso ha lo scopo di procurare ai pazienti ematologici in attesa di trapianto, ma privi del donatore ideale (il fratello HLA-identico), un volontario, estraneo alla famiglia, con caratteristiche immunogenetiche tali da consentire l'atto terapeutico con elevate probabilità di successo.

Cosa è la compatibilità tissutale

Ciascuno di noi possiede un patrimonio di geni, ereditati dai genitori, che, come le impronte digitali, ci caratterizza in maniera univoca. Alcuni di questi controllano l'espressione di strutture (*antigeni*) presenti sulla superficie di tutte le cellule del nostro corpo.

Grazie a tali antigeni, caratteristici di un singolo individuo, il sistema immunitario riconosce le proprie cellule normali e reagisce contro quelle estranee o addirittura contro le proprie, se modificate.

Nell'uomo il gruppo di geni che controlla il "riconoscimento" dei vari tessuti dell'organismo è definito Sistema HLA (*Human Leucocyte Antigens*). Tali caratteristiche genetiche si possono determinare sia direttamente, esaminando il DNA con tecniche di biologia molecolare, sia indirettamente indagando, con tecniche sierologiche, i loro prodotti antigenici. Tali test (genericamente chiamati tipizzazione tissutale o tipizzazione HLA) assieme ad altri detti "funzionali" si utilizzano, in caso di trapianto, per stabilire la compatibilità tra donatore e ricevente. Solo tra fratelli esiste una buona probabilità (25%) di ritrovare gli stessi determinanti HLA, mentre tra individui non apparentati ciò è molto raro.

Come avviene il prelievo di cellule staminali midollari nel donatore

Le cellule staminali midollari da donatore non consanguineo vengono prelevate dal midollo osseo mediante ripetute punture delle creste iliache (ossa del bacino).

Trattandosi di punture ossee, è necessario che il prelievo venga eseguito in anestesia, risultando altrimenti doloroso.

In genere l'anestesia è totale, ma può essere effettuata anche quella di tipo epidurale, mediante puntura lombare.

Quella generale è comunque l'anestesia di elezione. Il prelievo non comporta danno o menomazioni al donatore, come dimostra l'esperienza di oltre 150 mila prelievi di sangue midollare effettuati nel mondo.

Esistono comunque dei rischi minimi (vedasi allegato H), legati alla procedura stessa, che possono essere così suddivisi:

- rischio anestesilogico (correlato al tipo di procedura impiegata e all'anestetico somministrato);
- rischio infettivologico (i siti di prelievo del sangue midollare o quelli di infusione sono suscettibili di infezione);
- rischio di lesioni (durante la raccolta del sangue midollare è possibile provocare danni in loco ai tessuti causando, per esempio, sciatalgia).



Per far fronte alle possibili complicanze da essi derivanti è quindi necessario che il donatore non presenti gravi alterazioni cardiocircolatorie e renali.

Il prelievo dura, di norma, meno di un'ora. All'uscita dalla sala operatoria, il donatore viene tenuto ospedalizzato per un periodo di 48 ore. Al risveglio, e per un paio di giorni, egli avvertirà del dolore, in genere contenuto, nelle sedi di prelievo. Dopo tre giorni al massimo, la dolorabilità è praticamente nulla. La quantità di sangue midollare che viene prelevata varia in rapporto al volume corporeo del ricevente/donatore, ma è usualmente compresa fra i 700 e i 1000 mL. L'organismo non avverte nessun sintomo di carenza e il midollo prelevato si ricostituisce spontaneamente in 7-10 giorni; è opportuno, comunque, che, una settimana prima della data fissata per il prelievo, il donatore si sottoponga all'autodonazione di una o più unità di sangue che gli verranno reinfuse, in sala operatoria, per bilanciare il volume di sangue circolante. Non è, di norma, necessaria l'assunzione di farmaci né prima, né dopo la donazione, fatta eccezione per l'anestesia e per la terapia farmacologica post-operatoria di supporto.

Da quanto sopra, appare ragionevole prevedere che un donatore debba restare assente non più di una settimana dalle sue abituali occupazioni.

Come avviene il prelievo di cellule staminali da sangue periferico (PBSC)

Poiché il sangue periferico, di norma, non contiene sufficienti quantità di cellule staminali emopoietiche per un trapianto, è necessario, prima del prelievo, incrementare il loro numero. In Italia il 90% di tutte le donazioni di CSE da donatore non familiare viene effettuato attraverso questa modalità.



A tal fine si somministra un fattore di crescita chiamato G-CSF (*Growth-Colony Stimulating Factor* - fattore stimolante la crescita cellulare), normalmente prodotto dall'organismo, e da qualche anno disponibile anche in commercio come formulazione farmaceutica, che ha la proprietà di rendere più rapida la crescita delle cellule staminali a livello midollare e di facilitarne il passaggio nel sangue periferico. Le prime sperimentazioni con il G-CSF risalgono al 1988: sono, quindi, passati oltre 30 anni e sono stati eseguiti numerosi studi, che hanno indagato sui possibili effetti secondari dovuti all'uso del farmaco.

A causa della stimolazione che induce nel midollo osseo, il G-CSF può provocare alcuni disturbi, solitamente di lieve o moderata entità, ben controllabili con comuni antidolorifici.

I disturbi che più comunemente si possono avvertire sono: febbre o febbre (anche 38 °C), cefalea, dolori ossei di diversa entità (soprattutto al bacino, alla schiena, agli arti), senso di affaticamento e talora perdita di appetito. Tali disturbi scompaiono rapidamente alla sospensione del trattamento e non lasciano sequele.

Il rischio di mortalità associato alla mobilitazione di PBSC e alla loro raccolta (incidenti cerebro-vascolari, rotture di milza e ischemia miocardica) in soggetti sani e non in età avanzata è molto basso, seppur non nullo. Non vi sono ad oggi evidenze tali da far considerare questo rischio superiore a quello inerente la raccolta di cellule staminali midollari.

In casi molto rari è stata segnalata:

- la comparsa di gonfiore addominale e/o al volto o agli arti inferiori, che può associarsi ad aumento della frequenza della minzione, difficoltà respiratoria e stanchezza;

- la comparsa di febbre, dolore addominale, dolore alla schiena e malessere.

In questi casi è essenziale che il donatore contatti subito il medico che ha prescritto/somministrato il fattore di crescita per tutte le informazioni necessarie.

La somministrazione di G-CSF è peraltro indispensabile per poter raccogliere le cellule staminali dal sangue periferico invece che dal midollo osseo. In un soggetto sano l'effetto di questi farmaci diventa visibile dopo 4-5 giorni di trattamento: è questo il momento previsto per la raccolta.

Si tratta di procedure generalmente molto ben tollerate, che non richiedono nessun tipo di anestesia.

I moderni separatori cellulari utilizzati prevedono circuiti e materiali rigorosamente sterili e monouso e possono richiedere due accessi vascolari (dalle due braccia): il sangue viene prelevato da un braccio, attraverso il circuito entra in una centrifuga dove la componente cellulare che interessa viene isolata e poi raccolta in una sacca apposita, mentre il resto del sangue viene reinfuso dal braccio opposto. In caso di unico accesso vascolare, le fasi di prelievo e di reinfusione avvengono alternativamente dallo stesso braccio.

Per tutta la procedura, che ha una durata di circa 3-4 ore, il sangue che entra nel separatore non deve coagulare e per questo viene continuamente miscelato con una soluzione anticoagulante-conservante (ACD, cioè acido citrico, citrato di sodio, destrosio). La presenza di citrato di sodio nella soluzione può indurre ipocalcemia, con eventuale comparsa di formicolii periorali, al naso, alle dita: si tratta di una sintomatologia di lieve entità, che scompare rapidamente con la somministrazione endovena di preparati che contengono Ca^{+} .

Per raccogliere la quantità desiderata di progenitori emopoietici circolanti possono essere necessarie da 1 a 2 procedure, che si effettuano in giorni consecutivi.

Nel 2% circa delle donazioni, può succedere che la mobilitazione delle CSE non sia ottimale. In tal caso al donatore potrebbe essere richiesta la somministrazione di un altro tipo di agente mobilizzante denominato Plerixafor, con la finalità di ottenere comunque un quantitativo di cellule sufficienti per l'esecuzione della terapia trapiantologica.

Impegno del donatore

La tabella seguente riassume e confronta l'impegno richiesto al donatore nelle due diverse tipologie di raccolta delle CSE.

Impegno del soggetto	Donazione da sangue midollare	Donazione da sangue periferico
Sessione informativa	√	√
Esami di laboratorio	√	√
Auto-donazioni di sangue periferico	√	
2 giorni di ricovero ospedaliero	√	
Anestesia generale o epidurale	√	
Dolore post-donazione	√	
Iniezione di G-CSF Giorno 1		√
Iniezione di G-CSF Giorno 2		√
Iniezione di G-CSF Giorno 3		√
Iniezione di G-CSF Giorno 4		√
Possibili effetti collaterali pre-raccolta		√
Raggiungere l'unità di aferesi con mezzi propri per 1-2 giorni		√
Giorni di recupero post-donazione	Di norma 10-15	Di norma 1-2

Che cosa si richiede e che cosa comporta far parte di un Registro di Donatori di CSE

Il donatore, al momento dell'iscrizione, deve essere maggiorenne e non avere più di 36 anni. Il sesso è indifferente.

È opportuno che sia sano o comunque non affetto da malattie croniche di qualche importanza ai principali organi o apparati.

I suoi requisiti debbono rientrare nelle caratteristiche richieste dalla normativa italiana vigente, nello specifico dall'accordo, ai sensi dell'Allegato I, punto 3, del decreto legislativo n. 16 del 2010, tra il Governo, le regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante «Criteri per la selezione del donatore di cellule staminali emopoietiche». (Repertorio atti n. 231/CSR del 30 novembre 2022). Per esempio: la gravidanza in atto o la presenza di infezioni trasmissibili

con gli emocomponenti, quali l'epatite "B" (HBsAg) o l'HIV controindicano in maniera assoluta la donazione di CSE.

Appare ragionevole che gli esami relativi a tali infezioni vengano eseguiti immediatamente prima dell'eventuale prelievo di CSE, potendosi il soggetto infettare nel corso della vita. Se, comunque, egli è già a conoscenza di una sua situazione in tal senso, non deve presentarsi come candidato alla donazione.

Qualora il candidato donatore soddisfi a tutte le regole del reclutamento, egli viene caratterizzato (*tipizzato*) per gli antigeni HLA. Questo esame, che si esegue su una piccola quantità di sangue (circa 10 mL prelevati, anche non a digiuno), oppure su altro campione biologico prelevato (saliva, buccal swab) è abbastanza complesso e viene condotto soltanto in alcuni Laboratori specializzati.

I dati genetici del nuovo donatore vengono registrati su un archivio informatico e trasferiti, al registro nazionale e tramite esso ai registri internazionali. Successivamente, se viene riscontrata la compatibilità con uno qualsiasi dei pazienti nazionali e/o internazionali in lista d'attesa il donatore è richiamato per ulteriori prelievi di sangue, necessari per indagini genetiche più raffinate.

È possibile che la compatibilità con il paziente non sia confermata e, pertanto, il donatore non veda realizzato l'intento espresso all'iscrizione: donare le proprie CSE per salvare una vita.

Non importa! I suoi dati genetici (più completi e approfonditi) non sono perduti. Potrà risultare, in seguito, compatibile con un altro paziente.

In qualunque momento il donatore potrà richiedere i risultati degli esami effettuati nel corso delle procedure di ricerca/donazione ed ha il diritto di ritirare il suo consenso; altrimenti, rimane iscritto sino al compimento del 55° anno di età.

Come si diventa donatori di CSE

È sufficiente rivolgersi a una delle molte strutture ospedaliere che partecipano al programma nazionale "*Donazione di midollo osseo*" elencate all' indirizzo:

<https://ibmdr.galliera.it/la-rete/poli-di-reclutamento>

<https://ibmdr.galliera.it/la-rete/centri-donatori>

oppure compilare il questionario online disponibile all'indirizzo:

<https://donatori.galliera.it/preiscrizione/>

ed essere richiamati per sottoscrivere un consenso informato ed essere sottoposti alla tipizzazione HLA. Per ricevere ulteriori delucidazioni è possibile contattare:

.....
.....