



Vedrai quanto è facile salvare una vita!

SAI CHE COSA SONO
LE CELLULE STAMINALI
E COME SI DONANO?

Scoprile!!!



Pubblicazione a cura di:

ADoCeS Federazione Italiana ODV

Supervisione scientifica: ***Prof. Alberto Bosi***

ADoCeSFederazione Italiana

Sede legale: presso **ADoCeS Regione Veneto**

Via Villa, 25 37134 Verona

Tel. 045 8309585 fax 045 8306137

e-mail: info@adocesfederazione.it

[www. Adocesfederazione.it](http://www.Adocesfederazione.it)

per iscrizioni: www.adocesfed.it



adoces_federazione



adocesfederazione



ADoCeS_Fed

Podcast:

<https://open.spotify.com/show/5OAlw3pZHXP6AFa8H3NVJ>

<https://podcasts.apple.com/us/podcast/cellule-si-raccontano/id1794290972>



SAI COSA SONO LE CELLULE STAMINALI E COME SI DONANO?

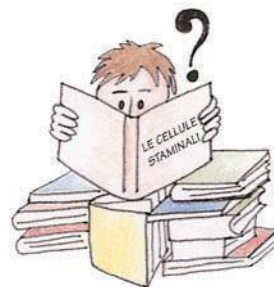
Presentazione

La tematica delle cellule staminali emopoietiche e l'evolversi della ricerca scientifica con il loro utilizzo richiedono approfondimento continuo che accompagni le nuove conoscenze con l'impegno di sensibilizzazione: la cura di molte gravi malattie, oltre la ricerca, ha bisogno della solidarietà sociale, cioè di donatori e di donatrici.

Il progresso scientifico sulle cellule staminali comporta sempre la corretta informazione sul loro utilizzo e sulle diverse modalità di donazione, coinvolgendo anche i giovani immigrati presenti nel nostro territorio.

Questa pubblicazione fa seguito alla precedente "Le cellule staminali emopoietiche, conoscerle per ridonare la vita", realizzata nel 2008.

Entrambe sono dedicate in particolar modo ai giovani che leggendole e approfondendone la conoscenza potranno meglio comprendere l'importanza di donare le cellule staminali emopoietiche, che hanno sostituito la donazione del midollo osseo, una donazione anonima volontaria e gratuita che non pregiudica in alcun modo il benessere del donatore e che può contribuire a salvare la vita a chi non ha in famiglia un donatore compatibile.



Perché i giovani sono i futuri volontari e donatori!

La storia delle donazioni e dei trapianti di midollo osseo in Italia

Fino a trent'anni fa i trapianti di midollo osseo in Italia venivano eseguiti esclusivamente tra fratelli consanguinei identici per il sistema umano di compatibilità (HLA). Purtroppo il 70% circa dei malati affetti da emopatie gravi (leucemie, anemie, linfomi, mielomi ed altre) non poteva giovare di questa opportunità terapeutica perché non disponeva di un donatore familiare compatibile. Questa motivazione ha spinto gli ematologi a cercare il donatore al di fuori dell'ambito familiare.

Quindi è stato istituito in Italia il Registro Italiano dei Donatori di Midollo Osseo (IBMDR). Esso ha sede a Genova presso l'Ospedale Galliera e fa parte del BMDW, il Registro Mondiale. Ha lo scopo di procurare ai pazienti ematologici candidati al trapianto, ma privi del donatore ideale (il fratello HLA identico), un volontario, estraneo alla famiglia, con caratteristiche immunogenetiche tali da consentire il trapianto con elevate probabilità di successo. A fine 2025 gli iscritti nel registro italiano sono oltre 500 mila.

In questi anni si sono registrati enormi progressi nelle conoscenze relative alle Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) e al loro impiego clinico. Le CSE possono essere ottenute sia dal sangue del cordone ombelicale che dal sangue periferico. Il midollo osseo non è più la fonte quasi esclusiva di CSE, quale era nella pratica trapiantologia fino al 1996.

Il sangue del cordone ombelicale ha visto crescere progressivamente il suo impiego a partire dal 1988 quando a Parigi, sotto la direzione di Eliane Gluckman, venne eseguito il primo trapianto, e grazie allo sviluppo in molti paesi di banche di stoccaggio e rilascio delle unità raccolte per i Centri di trapianto. Oggi è soprattutto il ricorso alle CSE prelevate dal sangue periferico che va imponendosi: oltre il 90% dei casi, specialmente nel trapianto autologo, ma anche in quello allogenico, sia da donatore familiare che non familiare.

E' un'altra tappa molto importante su un percorso che è ancora lungo, ma che si annuncia affascinante e ricco di promesse per tutti coloro che sono impegnati a servizio della vita e della persona.

COSA SONO LE CELLULE STAMINALI

Le cellule staminali sono cellule immature non specializzate, in grado di dare origine a cellule mature e più specializzate.

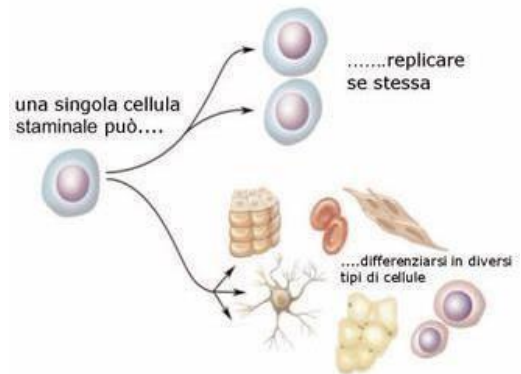
A seconda dello stadio di sviluppo e della potenzialità differenziativa si distinguono in Cellule staminali embrionali (fisiologicamente sono rappresentate dall'ovocellula fecondata e dalle cellule derivate da questa per successive duplicazioni) e da cellule adulte che possono essere multipotenti e danno origine per esempio alle CS emopoietiche.

Fino ad oggi sono state utilizzate le CS emopoietiche ottenute dal midollo osseo o dal sangue periferico, per scopo di trapianto.

.LE CS DA SANGUE CORDONALE E PLACENTARE

Sono CS adulte, multipotenti. Vengono prelevate dal cordone ombelicale dopo 60 secondi dal parto.

Si conservano in banche anche per decenni a disposizione dei pazienti ematologici che necessitano del trapianto.



LE CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

Cellula staminale è un termine per definire una cellula indifferenziata, in grado di dividersi per periodi indefiniti per autoriprodursi e dare origine ai numerosi tipi di cellule specializzate e ai tessuti che eseguono specifiche funzioni nell'organismo

Una delle CSmultipotenti meglio caratterizzate e più utilizzate è la **cellula staminale emopoietica**.

LE CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

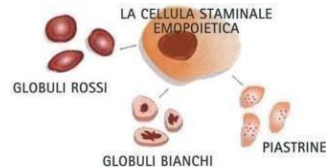
Il midollo osseo

Il sangue umano contiene una grande varietà di cellule, ognuna delle quali ha una funzione vitale da svolgere. I globuli rossi (o eritrociti) trasportano in tutto il corpo l'ossigeno, veicolato dall'emoglobina, le piastrine bloccano le emorragie promuovendo l'emostasi ovvero l'arresto delle emorragie, i globuli bianchi (leucociti) sono gli elementi costitutivi del sistema immunitario, che protegge l'individuo dall'azione di agenti estranei, virus e vari microrganismi. Tutte queste cellule originano da un'unica categoria

di cellule capostipiti, le **cellule staminali emopoietiche**, la cui sede primaria è il **midollo osseo**. Esse sono piuttosto scarse ma, oltre a possedere una enorme attività proliferativa, differenziativa e maturativa, sono in grado di replicarsi o autoriprodursi mantenendo il loro numero invariato durante tutta la vita.

Nell'embrione umano le cellule staminali del sistema emopoietico compaiono per la prima volta nel sacco vitellino e a mano a mano che lo sviluppo procede, migrano nel fegato. E' in questo organo che, durante la vita fetale, vengono prodotte le cellule del sangue, mentre dopo la nascita l'ematopoiesi diviene compito del midollo osseo.

Le fasi di quiescenza e maturazione delle cellule staminali sono regolate dal microambiente del midollo osseo, sul quale intervengono complessi meccanismi e dall'azione bilanciata di numerosi fattori di crescita che stimolano o inibiscono la maturazione cellulare.



Un danno alle cellule staminali emopoietiche (per esempio in seguito a chemioterapia o irradiazione o malattia) può rendere inefficiente il sistema emopoietico: una terapia molto efficace è il trapianto di CSE.

Il sangue del cordone ombelicale

E' un'altra fonte importante di cellule staminali emopoietiche: da oltre tre decenni i ricercatori hanno coperto che esso contiene le stesse CSE del midollo osseo.

DONAZIONE E TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMPOIETICHE (CSE)

Molte malattie del sangue come leucemie, anemia aplastica, beta-talassemia, immunodeficienze congenite, possono guarire con il trapianto di CSE.

I **trapianti di CSE** si fanno, quando possibile, utilizzando come donatore un fratello o una sorella del malato compatibili, cioè identici col malato, anche a livello genico, per gli antigeni di istocompatibilità definiti nell'uomo HLA (Human Leucocyte Antigen). I geni HLA presenti sul cromosoma 6, fanno parte di un sistema genetico molto complesso, detto anche Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC). Ognuno di noi possiede un patrimonio di geni HLA, ereditati dai genitori, che ci caratterizza in maniera univoca.

Essi controllano la produzione delle molecole degli antigeni HLA presenti sulla superficie delle cellule del nostro corpo.

Per mezzo di questi antigeni il sistema immunitario riconosce le proprie cellule normali e reagisce contro (rigetto) quelle estranee o addirittura contro le proprie, se modificate.

L'analisi di questi geni, o dei loro prodotti antigenici (**tipizzazione HLA**), avviene per mezzo soprattutto di tecniche di biologia molecolare e per- mette di stabilire la compatibilità tra donatore e ricevente.

Il sistema HLA è caratterizzato da un elevato polimorfismo dei geni che lo compongono per cui le combinazioni possibili sono così numerose che è raro riscontrare soggetti non consanguinei HLA identici. Anche tra consanguinei, comunque, la probabilità che due soggetti siano HLA identici è modesta. Due fratelli hanno solo il 25% di probabilità di essere HLA identici. Quindi solo parte dei malati può essere trapiantata. In Italia, ogni anno, circa 500 pazienti che necessitano del trapianto non dispongono di un donatore all'interno della famiglia.

Per sopperire a questa mancanza sono sorti in tutto il mondo dei **registri** di potenziali donatori di CSE. Tali organizzazioni costituiscono delle vere e proprie banche di dati genetici che, collegate tra loro in una rete internazionale e con i centri trapianto, rendono possibile ad ogni singolo paziente l'identificazione, ma non sempre, di un donatore



Ogni anno per raggiunti limiti di età, devono essere esclusi dal registro circa 15 mila iscritti: è quindi necessario un costante afflusso di nuove iscrizioni.

COME SI DIVENTA DONATORE VOLONTARIO E LE PROCEDURE PER LA DONAZIONE

✓ Il **donatore** deve essere maggiorenne e avere un'età inferiore ai 36 anni. Non deve essere affetto da malattie croniche gravi o trasmissibili col trapianto e in linea generale i suoi requisiti debbono rientrare nelle caratteristiche richieste dalla legge trasfusionale.

✓ **Viene tipizzato** per identificare le caratteristiche genetiche. Questo esame si esegue su una **piccola quantità di sangue o di un campione salivare**. I dati genetici vengono registrati su un **archivio informatico** e trasferiti, attraverso il registro regionale, a quello nazionale.

✓ Se viene riscontrata **identità a questo “primo livello” con uno dei pazienti** in lista di attesa, il donatore è richiamato per **ulteriori prelievi di sangue**, necessari per indagini approfondite.

✓ Qualora risultasse **compatibile nel 95% dei casi donerà le cellule staminali emopoietiche prelevate da sangue periferico**, dopo stimolazione con fattore di crescita. Questa procedura di staminoafèresi dura circa 3 / 4 ore presso un Centro Trasfusionale. Solo nel 5% dei casi si dona il midollo osseo presso un Centro Trapianti accreditato.
In qualsiasi momento il donatore **ha diritto di ritirare il suo consenso**, rimanendo comunque iscritto sino al compimento del 55esimo anno di età.



Ci si può iscrivere attraverso la piattaforma <https://adocesfed.it>.

E' necessario compilare un modulo, rispondere ad alcune domande sullo stato di salute e fornire i dati anagrafici e di contatto. Dopodiché, se risultato candidabile all'iscrizione, si verrà richiamati dal Centro Trasfusionale che si è scelto per completare le procedure con un colloquio con il medico.

Ci si può recare direttamente presso il Centro Trasfusionale presente in ogni ospedale.

LA DONAZIONE DI CSE DA SANGUE PERIFERICO

Procedura eseguita nel 95% dei casi

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. A tal fine viene somministrato al donatore un fattore di crescita chiamato G-CSF che ha la proprietà di rendere più rapida la crescita delle cellule staminali e favorirne il passaggio dal midollo osseo nel sangue periferico.

A causa della stimolazione che produce nel midollo osseo, il G-CSF può provocare alcuni disturbi, solitamente di lieve o moderata entità (febbre, cefalea, dolori ossei, senso di affaticamento, ben controllabili con comuni antidolorifici).

Tali disturbi scompaiono rapidamente alla sospensione del trattamento e non lasciano sequele.

La raccolta di cellule staminali da sangue periferico avviene tramite prelievo venoso da un braccio, mediante aferesi con una macchina dedicata presso il Centro Trasfusionale. La procedura ha una durata di 3-4 ore, è ben tollerata e non richiede nessun tipo di anestesia

LA DONAZIONE DI MIDOLLO OSSEO

procedura eseguita nel 5% dei casi

Il prelievo del midollo osseo viene eseguito generalmente dalle ossa del bacino, e in particolare dalle creste iliache posteriori, mediante aspirazione con aghi collegate a siringhe, previa anestesia generale o epidurale.

Il prelievo dura di norma 30-45 minuti e non comporta danni o menomazioni al donatore, come dimostra l'esperienza di molti anni.

Esistono comunque dei rischi possibili legati all'anestesia. Il medico anestesista che provvederà alla valutazione dopo controlli pre-donazione molto accurati.

Il midollo osseo prelevato si ricostituisce in pochi giorni.

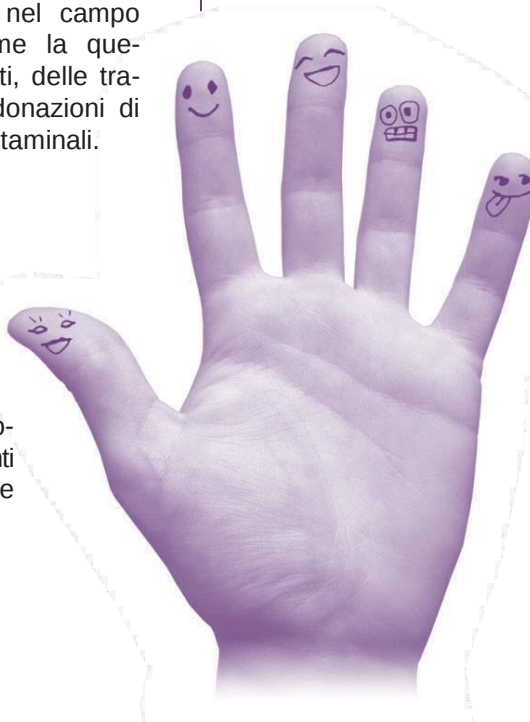


I DONATORI SONO TUTTI IMPORTANTI ... MA NON SONO TUTTI UGUALI

La necessità del coinvolgimento dei cittadini stranieri nella donazione di cellule staminali

A seguito del fenomeno dell'immigrazione si sono presentate problematiche finora non considerate nel campo della salute, come la questione dei trapianti, delle trasfusioni e delle donazioni di sangue e cellule staminali.

L'aumento di cittadini immigrati ha portato ad un parallelo aumento del numero dei ricoveri ospedalieri che possono richiedere trasfusioni di emocomponenti o trapianto di cellule staminali.



D'altra parte però le loro caratteristiche immunogenetiche, legate alla differente appartenenza etnica, possono talora creare difficoltà nel reperire donatori aventi caratteristiche genetiche più raramente identificabili, in quanto non presenti nei Registri Internazionali.

Si rende quindi necessario promuovere l'inserimento nei Registri di cittadini che provengono da Paesi extra-europei, per garantire ai loro connazionali pari opportunità di accesso alle cure.

IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

Il trapianto di midollo osseo (CSE) consiste nella sostituzione delle cellule staminali emopoietiche malate o non funzionanti con cellule staminali emopoietiche (CSE) sane in grado di rigenerare tutte le cellule del sangue e ricostituire le normali funzioni ematologiche e immunologiche. Nel trapianto da donatore (allogenico) il paziente ha 3 possibilità:

- ricevere il midollo osseo (CSE) da un fratello o sorella compatibile
- ricevere il midollo osseo (CSE) da un donatore volontario compatibile iscritto nei registri internazionali,
- essere trapiantato con le cellule staminali del sangue cordonale, donato dalle mamme e conservato nelle banche.

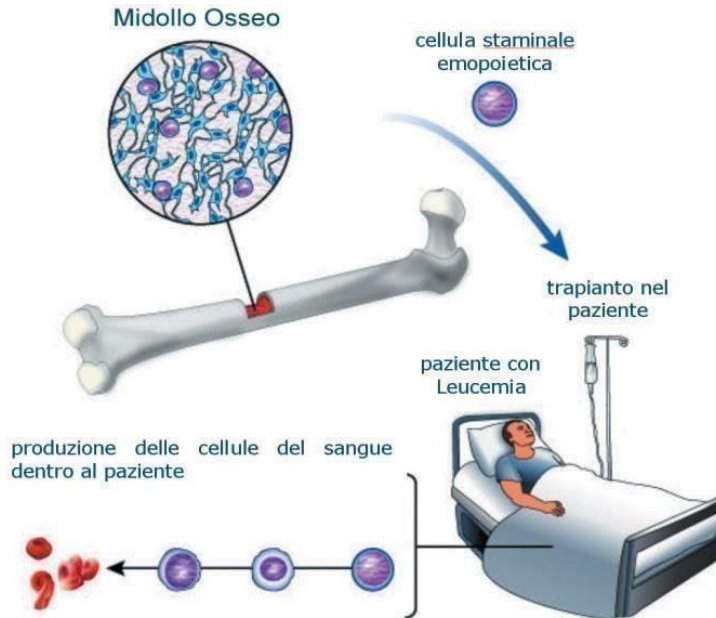
Il trapianto allogenico consiste principalmente in due fasi:

- **la prima** mira alla distruzione delle cellule midollari del paziente, con farmaci particolari e/o radiazioni;
- **la seconda** fase consiste nella ricostituzione del patrimonio midollare del paziente, tramite l'infusione, per via endovenosa (simile ad una trasfusione), delle cellule staminali emopoietiche (CSE) prelevate dal donatore.

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.



SCHEMA TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE DA MIDOLLO OSSEO



LA DONAZIONE DI CELLULE STAMINALI DA SANGUE CORDONALE

Il sangue cordonale è il sangue che rimane nel cordone ombelicale e nella placenta dopo la nascita.



Qualsiasi donna in attesa di un figlio, purché in buona salute, può donare il sangue del cordone ombelicale.

Il prelievo avviene al termine del parto, dopo 5 minuti dalla nascita del bimbo quando ormai il cordone ombelicale è stato reciso e la mamma ed il neonato hanno ricevuto le opportune cure.

Questa donazione è sicura ed indolore: il sangue viene raccolto dall'ostetrica in apposita sacca sterile e immediatamente recapitato alla banca per le analisi, la tipizzazione HLA e la crioconservazione in speciali contenitori di azoto liquido a -190°.

Dopo il parto, la mamma che ha donato il sangue cordonale, sarà sottoposta ad un prelievo venoso per escludere la presenza di malattie, che verrà ripetuto dopo sei mesi.

Prima della donazione, la mamma deve sottoscrivere il modulo di consenso che implica anche la sua disponibilità a sottoporsi ai controlli successivi.

Tutti gli esami per la donazione del sangue cordonale sono gratuiti.

La donazione è volontaria, anonima e gratuita.

Dove si può donare

Sono oltre 270 i Punti Nascita in Italia dove può essere effettuata la donazione del sangue cordonale.

La raccolta viene eseguita da personale ostetrico esperto e formato. Si svolge in perfetta sicurezza per mamma e neonato.

Il personale ostetrico che opera sul territorio per la preparazione delle coppie alla nascita del figlio, informa e sensibilizza su questa preziosa donazione che va a beneficio dei malati in attesa del trapianto, una gran parte bambini.

Al seguente link i recapiti e i riferimenti dei Punti Nascita

http://www.adoces.it/documents/Rete_Banche_Cordone.pdf

IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI DA SANGUE CORDONALE

Viene attuato con modalità simili a quello di midollo osseo.

I principali vantaggi che questo tipo di trapianto offrono sono:

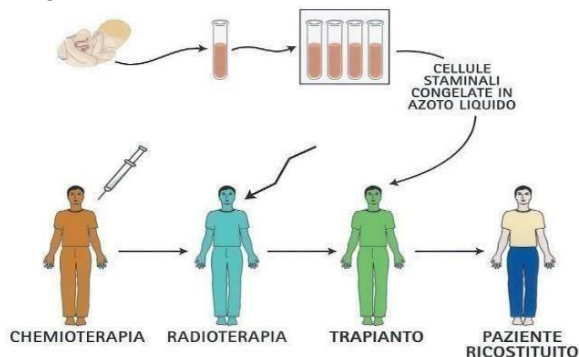
1. **l'immediata disponibilità** rispetto alla identificazione di un donatore di CSE compatibile e disponibile al prelievo quando vengono chiamati a donare (ad esempio: se una donatrice in quel momento è in gravidanza oppure se a un donatore viene diagnosticata una patologia non presente nell'atto dell'iscrizione al Registro).

Un risparmio di tempo in patologie che spesso rappresentano un'urgenza trapiantologica è un vantaggio molto importante;

2. la possibilità di effettuare il trapianto da sangue cordonale anche **quando il donatore ed il ricevente non siano perfettamente compatibili**, grazie ad una maggiore immaturità delle cellule, specie quelle immunocompetenti, caratteristica che ha come conseguenza una ridotta capacità di attuare un'aggressione immunologica contro i tessuti del trapiantato con ridotta incidenza e gravità della malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD).

Gli **svantaggi** sono invece rappresentati dalla quantità relativamente piccola di CS contenuta in una unità di sangue cordonale, che risulta spesso insufficiente per un trapianto su pazienti adulti. Esiste inoltre un rischio maggiore di non attecchimento delle CS trasfuse, di tempi di recupero dei globuli bianchi e delle piastrine più lunghi rispetto al trapianto di midollo e un rischio maggiore di recidiva dopo il trapianto nelle malattie onco-ematologiche.

Un altro svantaggio è rappresentato dal fatto che il sangue cordonale è una fonte unica e per ora non riproducibile per una eventuale ricaduta di malattia nel paziente.



LE BANCHE ITALIANE DI CELLULE STAMINALI DA CORDONE OMBELICALE

La banca delle cellule staminali cordonali è una struttura sanitaria pubblica che le raccoglie, conserva, tratta e distribuisce a scopo di trapianto garantendone la tracciabilità, la qualità, l'idoneità e la sicurezza.

Le sacche di sangue dicordone ombelicale sono raccolte per trapianto:

- **ALLOGENICO:** per curare un paziente non familiare
- **DEDICATO:** per curare un paziente consanguineo (fratello/sorella)
- **AUTOLOGO:** a favore del bambino stesso

Il Sangue cordonale, è prezioso per i trapianti ma anche per utilizzi terapeutici alternativi.

Le donazioni che risultano nonidonee per il bancaggio a scopo trapiantologico, per scarso volume cellulare, vengono impiegate per la produzione di farmaci e per trasfusioni nei neonati prematuri.



Care coppie donate
il sangue cordonale
alle Banche
pubbliche del SSN



Trasfusioni nei neonati prematuri



Curare le piaghe da decubito

CELLULE STAMINALI CORDONALI, DAL TRAPIANTO A NUOVI FARMACI



Ricavare gel per la cura del piede
diabetico



L'occhio non produce abbastanza lacrime

Occhio secco
Ricavare colliri sierici per
patologie come la sindrome
dell'occhio secco

LE SPERANZE DELLA RICERCA SULLE CELLULE STAMINALI

Per ovviare al problema della ridotta quantità di cellule staminali nel sangue placentare, in diversi Centri di ricerca italiani si sta cercando di sviluppare tecniche di colture che consentano la riproduzione di queste cellule al di fuori dell'organismo umano (espansione in vitro) per aumentarne il numero. Questa appare una risposta adeguata alla necessità di disporre di unità di sangue placentare ad alto contenuto di cellule staminali per un uso più generalizzato a livello clinico.

LA TERAPIA GENICA

L'espansione in vitro delle cellule staminali potrà essere applicata anche nella **terapia cellulare** e nella **terapia genica**.

La terapia genica ha come obiettivo la sostituzione dei geni alterati nelle malattie genetiche (causate da errori nei meccanismi che permettono la duplicazione e la trascrizione di porzioni di DNA) mediante il trasferimento di un gene "corretto" in cellule ospiti.

Tutto questo è oggi possibile grazie a dei particolari veicoli di tali porzioni, i virus, che trasmettono all'interno della cellula le parti del DNA corrette e le inseriscono al posto di quelle sbagliate.

E' addirittura possibile modificare questi virus in modo tale che vadano a "curare" proprio le cellule che con tengono il materiale genetico difetto so o alterato.

Ecco perché si pensa di utilizzare tali virus per modificare le cellule staminali adulte che sono in grado di accettarli e correggere l'effetto patologico di geni difettosi o mutati. Proprio per la loro capacità di trattenere stabilmente tali geni nel tempo, le cellule staminali adulte costituirebbero il substrato ideale per servire da vettori cellulari per la terapia genica.

GLOSSARIO

CELLULA STAMINALE: cellula non specializzata in grado di dividersi dando origine contemporanea mente ad una cellula staminale (uguale alla cellula madre) e ad una cellula precursore di una pro genie cellulare che alla fine darà a sua volta origine a cellule differenziate. Si trovano fra le cellule ma ture di ogni tessuto.

CELLULE STROMALI: cellule di sostegno.

CITOCHINE: gruppo di polipeptidi mediatori dell'infiammazione pro dotti da vari tipi di cellule, tra cui monociti, macrofagi e linfociti, per influenzare altre cellule

CRIOCONSERVAZIONE: conservazione mediante il freddo, si intende in generale in azoto liquido.

EMOPOIESI: processo fisiologico di produzione delle cellule del sangue che dopo la nascita di norma avviene nel midollo osseo.

EPATOCITI: cellule del fegato.

FENOTIPO: l'insieme delle caratteristiche morfologiche e funzionali di un organismo considerate come espressione del suo genotipo (il suo corredo genetico).

GENE: l'unità di base della eredità; è una sequenza ordinata di basi in doppio filamento (DNA) costituente un segmento genomico funzionale in un cromosoma o nei mitocondri. I geni possono essere strutturali o regolatori: un gene strutturale dà le istruzioni per la sintesi di una proteina.

IMMUNOLOGIA: ramo della medicina che studia i fenomeni connessi con l'immunità (proprietà dell'organismo di difendersi dagli agenti estranei e di resistere alle malattie infettive) e i metodi atti a procurarla.

LOCUS: la posizione occupata da un determinato gene su un cromosoma.

MATRICI EXTRA-CELLULARI: sostanze fra le cellule in un tessuto.

TESSUTO: un insieme coordinato di cellule specializzate e prodotti cellulari deputato a una o più specifiche funzioni.

TIPIZZAZIONE HLA: determinazione degli antigeni tissutali (molecole HLA) sulle cellule mononucleate e degli alleli dei geni HLA sul DNA.



FEDERAZIONE
ITALIANA
ADoCeS

TUTTE

LE DONAZIONI SONO
VOLONTARIE, ANONIME E GRATUITE

Iscriviti al Registro!!!

<https://adocesfed.it>

Potresti non venire mai chiamato
ma la tua disponibilità renderà possibile la scelta della
donazione migliore per il successo del trapianto



Federazione Italiana ODV 2025