

**L' ATTIVITÀ DI RICERCA CORRENTE PRESSO L'IZS LAZIO E TOSCANA:
principali risultati e loro trasferibilità operativa
Roma, 19 giugno**

Cellule Staminali: Nuovi Strumenti in
Applicazioni Cliniche (IZS LT 02/15 RC)

Katia Barbaro - UOC VIROLOGIA (e-mail: katia.barbaro@izslt.it)





Introduzione

Nell'ultimo decennio la ricerca sulle cellule staminali è divenuta un'area di grande interesse data la potenziale applicazione in medicina rigenerativa. La possibilità di riparare organi danneggiati o di creare *in vitro* tessuti da trapiantare è oggi ormai una realtà.

La cura della salute degli animali domestici, come cavallo, cane e gatto, e i relativi prodotti utilizzati per preservarne la salute e la longevità, hanno un forte impatto economico in tutto il mondo.





Per questi motivi la medicina rigenerativa sta suscitando un sempre maggiore interesse anche in ambito veterinario, visto che, rispetto alle metodiche tradizionali, riesce a garantire un minor periodo di ricovero e una maggior possibilità di recupero, portando benefici all'animale.

Patologie croniche e lesioni sono spesso di grave entità negli animali ed in particolare in soggetti anziani, i cui proprietari sempre più spesso richiedono nuovi e più sofisticati trattamenti e strategie di prevenzione.





Obiettivi

- Sviluppo di protocolli di isolamento ed amplificazione *in vitro* di cellule staminali isolate da vari siti di origine e di valutarne la loro capacità rigenerativa *in vitro* e *in vivo*.
- Sviluppo di nuove matrici biocompatibili, con attività osteoinduttiva (capacità di stimolare la crescita dell'osso), utilizzabili nella rigenerazione del tessuto osseo.





Materiali e metodi

- Sono stati sviluppati protocolli per l'isolamento e l'amplificazione *in vitro* di cellule staminali mesenchimali da diversi siti di origine (tessuto adiposo, midollo osseo, tessuto cartilagineo, tessuto neuronale) al fine di stabilire la sede più agevole per il prelievo di tessuto nell'animale in vita.
- Per il trattamento con cellule staminali mesenchimali, sono stati selezionati animali accuratamente visitati e sottoposti ad esami preliminari al fine di inquadrare correttamente la patologia. Le patologie trattate sono state lesioni tendino-legamentose, osteo-articolari, cartilaginee e malattie degenerative.
- Sono state realizzate e studiate nuove matrici biocompatibili, con attività osteoinduttiva, per future applicazioni di ingegneria del tessuto osseo.



Risultati

Sono stati ottimizzati i protocolli di isolamento, crescita e differenziamento delle cellule staminali mesenchimali isolati da diversi tessuti.

Casi clinici

Nell'ambito di questo progetto sono stati trattati con successo 20 animali (15 cani e 5 gatti) con cellule staminali mesenchimali autologhe. Le patologie sono state soprattutto di tipo ortopedico, ma ci sono state anche patologie degenerative (riportate sinteticamente in tabella).

PATOLOGIE	CANE	GATTO
ORTOPEDICHE	10	3
DEGENERATIVE	5	2
TOTALE	15	5





In nessun paziente si è manifestata alcuna reazione avversa in seguito al trattamento.

La maggioranza degli animali ha manifestato un netto miglioramento già dal giorno successivo al trattamento, probabile effetto della potente attività antinfiammatoria delle cellule staminali mesenchimali.

Produzione e caratterizzazione di nuove matrici per l'ingegneria tissutale ossea

Sono stati prodotti 3 matrici, preparati mediante elettrofilatura, composti da gelatina (Ge), acido polilattico (PLA) e RKKP (biovetro) in diverse proporzioni:

- A) Ge: PLA (1:3);
- B) Ge: PLA: RKKP (1:3:2,4);
- C) Ge:PLA:RKKP (1:3:4,8).





Le matrici sviluppate sono state caratterizzate da un punto di vista strutturale, chimico-fisico e biologico.

L'effetto di queste nuove matrici sul potenziale differenziativo delle cellule staminali isolate da tessuto adiposo nei tre *lineage* (adipogenico, condrogenico e osteogenico) è stata evidenziata, dopo opportuna stimolazione, sia mediante colorazione del monostrato cellulare, sia mediante la rilevazione di RNA specifici.





Impatto e trasferibilità operativa

I metodi di isolamento e coltivazione delle cellule staminali mesenchimali, nonché i protocolli terapeutici, contribuiranno a ridurre l'estemporaneità e l'empirismo che hanno spesso caratterizzato numerosi tentativi di approccio nella pratica veterinaria di campo. Inoltre, tali protocolli potrebbero costituire un modello applicativo anche per gli studi e la terapia con cellule staminali in medicina umana.





Conclusioni

Questo studio ha permesso di sviluppare protocolli di isolamento e differenziazione di cellule staminali mesenchimali (prelevate da tessuto adiposo, midollo osseo, tessuto cartilagineo e tessuto nervoso) nei *lineage* condrogenico, osteogenico ed adipogenico. Grazie alle potenzialità differenziative dimostrate *in vitro*, le cellule staminali mesenchimali, in particolare quelle isolate da tessuto adiposo, sembrano riservare grandi promesse nel campo dell'applicazione clinica veterinaria.



Tale ipotesi è stata avvalorata dal successo ottenuto nell'applicazione clinica delle cellule staminali mesenchimali in questo progetto.

Infatti, tutti gli animali trattati (15 cani e 5 gatti) con cellule staminali mesenchimali autologhe, hanno dato risultati positivi e senza reazioni avverse.

Questo importante risultato è dovuto soprattutto all'attenta valutazione clinica preliminare al fine di trattare solo animali con una reale possibilità di rigenerazione tissutale.

Inoltre, sono state sintetizzate e studiate nuove matrici al fine di ampliare il campo di applicazione delle cellule staminali mesenchimali, nei casi in cui la sola terapia cellulare non fosse sufficiente.





L'elevato potenziale proliferativo in vitro, il trofismo, la capacità antinfiammatoria, la possibilità di disporre di cellule off-the-self e, in modo particolare, la possibilità di differenziare e trans-differenziare verso cellule specializzate, se impiantate nel giusto contesto e microambiente, fanno sì che le cellule staminali (da sole o associate a matrici) possano essere uno strumento per la rigenerazione e la riparazione di tessuti danneggiati.

Oggi, la terapia cellulare rigenerativa in ambito veterinario rappresenta una valida alternativa alle terapie tradizionali per il trattamento di numerose lesioni, ma potrà diventare la terapia di elezione per molteplici patologie, non solo negli animali, ma anche nell'uomo; per questo saranno necessari ancora numerosi studi.

