



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

**FORMAZIONE INTERDISCIPLINARE SU ATTIVITA' DI SANITA' ANIMALE PRESSO LE
STRUTTURE DI BIOTECNOLOGIE E DIAGNOSI DELLE MALATTIE VIRALI**

Cellule staminali in ambito Veterinario

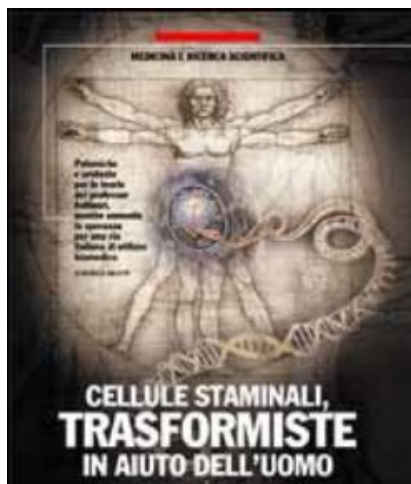
IZSLT "M.Aleandri" Roma, 8/11/18

**Dr. Ettore Galvano, DVM
Ufficio di Staff Biotecnologie**





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



La ricerca Le cellule bambini e le promesse della medicina

Una finestra sull'immortalità le staminali hanno 20 anni

L'ALTRA PAGINA

Le tappe
Dalla scoperta a oggi

1998
6 novembre James Thomson pubblica su Science la scoperta delle staminali umane.

2001
Il presidente Usa Bush limita fortemente l'uso di embrioni umani per la ricerca sulle staminali.

2005
Scienziati sudcoreani clonano embrioni umani per ottenere cellule staminali.

22 MILIARDI DI DOLLARI NEL MONDO
(secoli paesi come Cina e Corea del Sud, dove si fa molta ricerca ma non esistono dati pubblici)

Finanziamenti pubblici
da quando è iniziata la ricerca sulle staminali embrionali umane

Stati Uniti
(la ricerca è iniziata nel 1998)

1,4 mila
Le sperimentazioni cliniche in corso nel mondo con le staminali embrionali umane

29
I diversi tessuti del corpo in cui le staminali sono state trasformate

200
I brevetti

3.900
I brevetti

474 mila
Europa (con Portogallo escluso, inizia nel 1998)

184 Giappone
(dal 2000)

83 Gran Bretagna
(dal 2000)

Dentro il suo microscopio Thomson vide il futuro. E le enormi potenzialità di quella scoperta che ha creato troppe aspettative

6 novembre 1998 il giorno in cui la scoperta uscì su Science Thomson aveva già visto (quasi) tutto di quel che sarebbe accaduto nei 20 anni successivi. Non era difficile intuire le potenzialità di quel passo avanti. E Thomson è uno scienziato dotato di capacità di visione, racconta Pier Giuseppe Pellicci, che all'Istituto europeo di oncologia guida la unità sui meccanismi molecolari del cancro e sull'invecchiamento. Il biologo americano non riuscì a prevedere qualche dettaglio effettivamente difficile da immaginare, come la setta dei meliani che intorno al 2000 prometteva di clonare esseri umani per estrarne staminali, o le cliniche spuntate negli scantinati per vendere trattamenti non ancora testati. Il caso italiano di Stamina ha continuato di parallelo nel resto del mondo (alcuni attivi anche oggi). «Le promesse delle staminali erano così ricche», prosegue Pellicci, «il rischio di creare aspettative eccessive era quasi inevitabile. Vent'anni dopo, le cellule delle meraviglie hanno agitato il campo del problema etico non c'è più bisogno di distinguere embrioni per ottenerle, dal 2007 è facile farlo in laboratorio partendo da cellule adulte (anche se in terapia ci si fida di più delle embrionali). Raciati e farti clonatori si sono eccitati. «Abbiamo fatto passi enormi nella comprensione della biologia delle staminali», prosegue Pellicci, «prima conoscevano un solo tipo di cellule immortali, quelle del cancro, che per ottenere questa prerogativa devono però pagare il prezzo di perdere il seme. Le staminali invece possono replicarsi all'infinito mantenendo intatta la loro capacità di differenziarsi nei vari tessuti del corpo». Quelle stesse prime cellule osservate da Thomson al microscopio continuano ancora oggi a replicarsi nei laboratori di tutto il mondo. Le linee di staminali ottenute nei laboratori di Madison si sono moltiplicate per 2,40 mila e sono state spedite per posta 5.200 volte a 2.250 scienziati di 41 paesi e 6 continenti. Dal '98 a oggi (escludendo paesi come la Cina che non pubblicano i conti) il loro studio è stato finanziato con 2,2 miliardi di dollari (37 milioni in brevetti). «Però è vero», commenta Pellicci, «ci saremo aspettati più cure per i pazienti. Oggi le sperimentazioni in corso a base di staminali embrionali umane sono una trentina. Non moltissime. «Ma non dimentichiamo che negli ultimi anni abbiamo avuto»





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CELLULA STAMINALE

1868 STEMZELLEN Ernst Haeckel organismo primordiale da cui avrebbe preso il via
l'ALBERO della VITA

1894 STEMZELLEN Jacob Keller RIGENERAZIONE nel "Mondo Vegetale"

1896 STEM CELL Edmund Beecher Wilson RIGENERAZIONE nel "Mondo Animale"

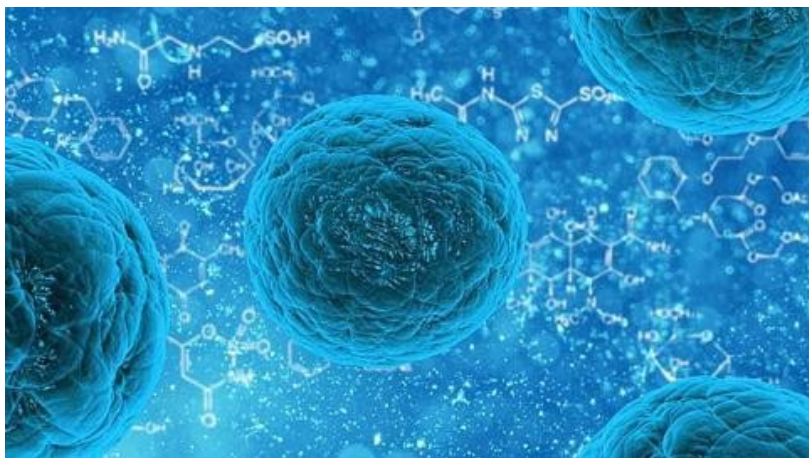
Anni '70 Alexander Friedenstein Popolazione Staminale non emopoietica del Midollo
Osseo in grado di funzionare come Progenitrice di Cellule Ossee Differenziate

1991 MESENCHYMAL STEM CELLS (MSC) Arnold Caplan

*"La formazione dell'osso e della cartilagine nell'embrione, così come
nell'adulto, coinvolgono la progenie di un esiguo numero di cellule
Denominate Cellule Mesenchimali Staminali"*



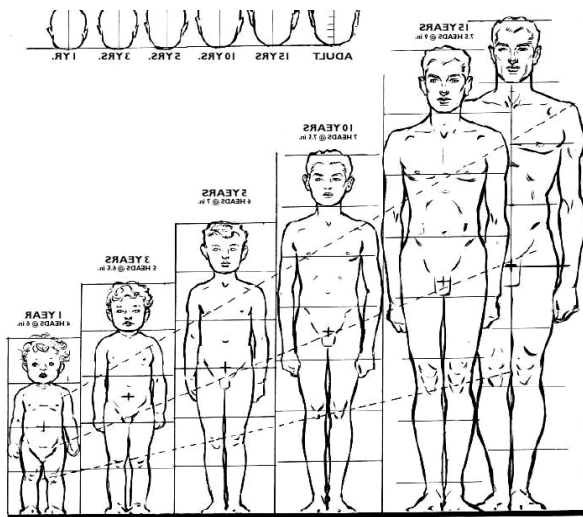
Che cos'è?



cellula immatura, che possiede la capacità di esteso o illimitato **autorinnovamento** (cioè di generare cellule sostanzialmente identiche a se stessa) combinata con la capacità di generare una progenie di **cellule differenziate** con **diverse specializzazioni** e competenze funzionali

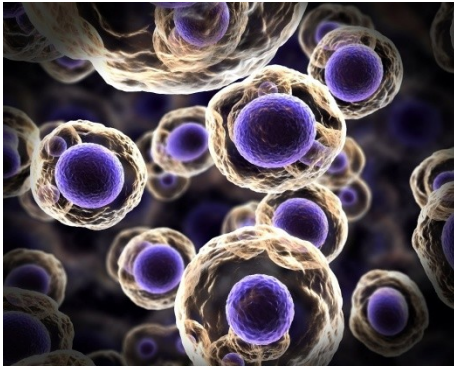


A CHE COSA SERVONO LE CELLULE STAMINALI?



Costruire e Mantenere





PRINCIPI DI STAMINALITA'

- Capacità di autorinnovamento
- Capacità di generare una cellula figlia diversa da se stessa e capace di differenziare
- Potenzialità
- Stretta dipendenza dal microambiente



**DIVISIONE CELLULARE
PECULIARE**

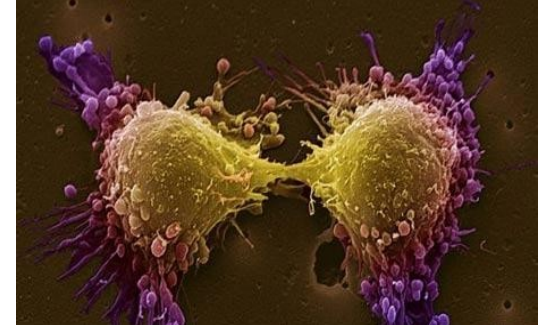


PIRAMIDE STAMINALITA'



NICCHIA



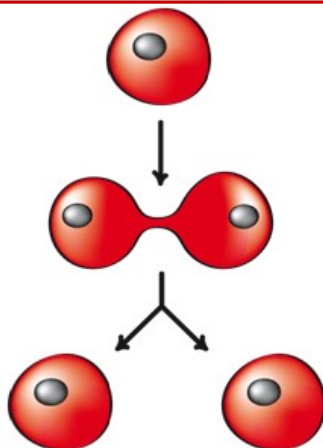


PRINCIPI DI STAMINALITA'

- Capacità di autoriprodursi
- Capacità di generare una cellula figlia diversa da se stessa e capace di differenziare

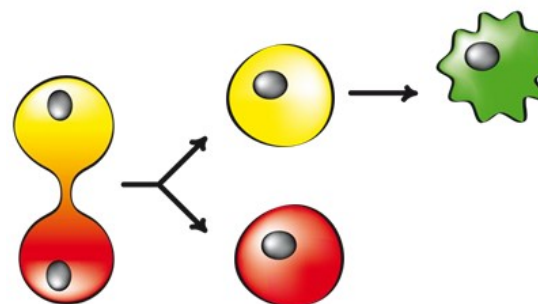
DIVISIONE CELLULARE SIMMETRICA E ASIMMETRICA

autorinnovamento



DIVISIONE SIMMETRICA

differenziazione

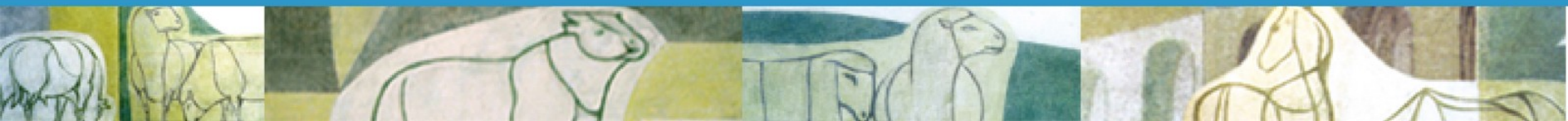


DIVISIONE ASIMMETRICA



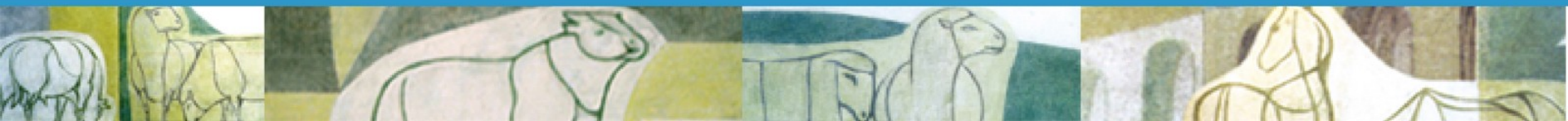
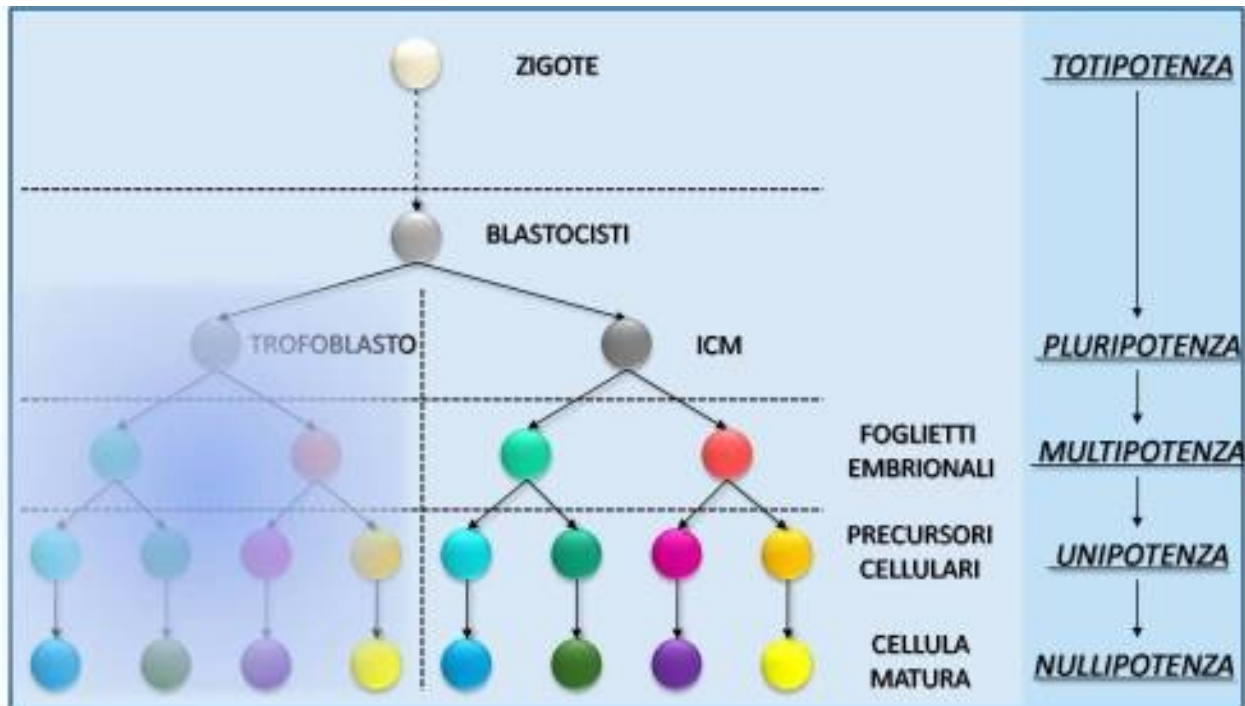
PRINCIPI DI STAMINALITA'

➤ Potenzialità



PRINCIPI DI STAMINALITÀ

➤ Piramide di Potenzialità



PRINCIPI DI STAMINALITA'

➤ Potenzialità

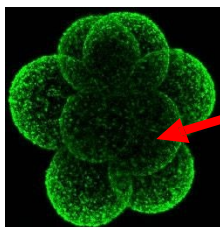
fecondazione



zigote



Stadio a 8
cellule



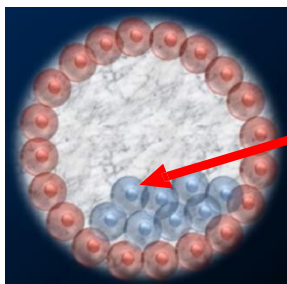
questa cellula può
formare embrione e
annessi embrionari

TOTIPOTENZA

morula



blastocisti



questa cellula può
formare solo l'embrione
(tutti i tipi cellulari
dell'embrione)

PLURIPOTENZA

**Cellule
staminali
embrionali**



PRINCIPI DI STAMINALITA'

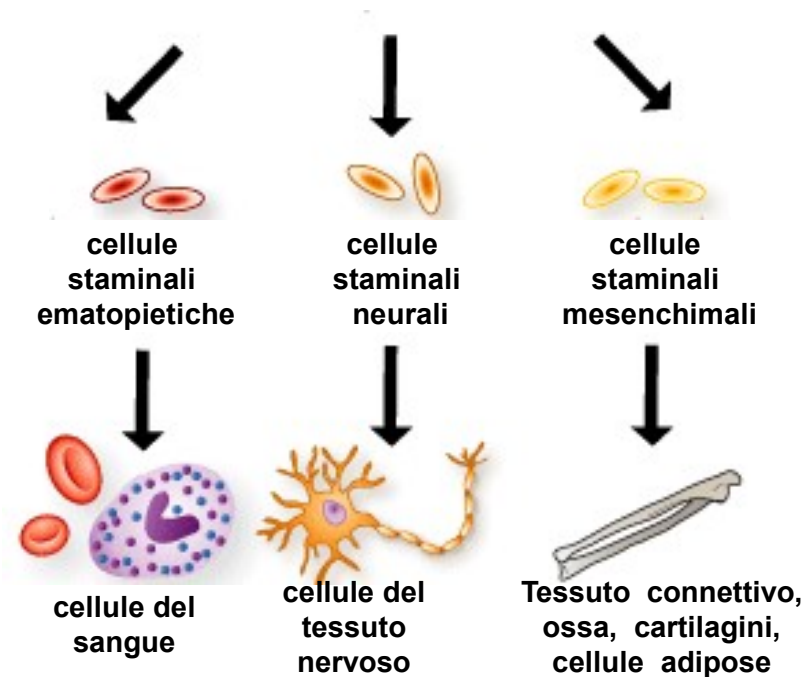


CORDONE OMBELICALE

FETO

INDIVIDUO ADULTO

➤ **Potenzialità**



MULTIPOTENZA

**Cellule staminali adulte o
tessuto-specifiche**

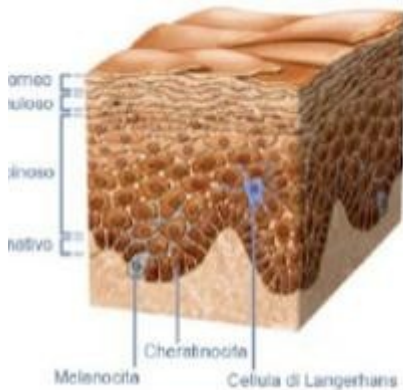
**possono differenziarsi in
diversi tipi di cellule
specializzate di un solo
tessuto**



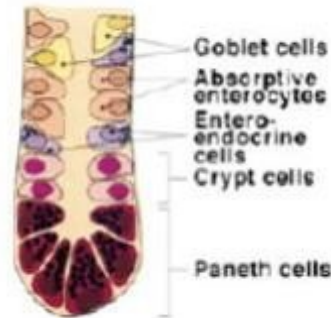
PRINCIPI DI STAMINALITA'

➤ **Potenzialità**

EPIDERMIDE



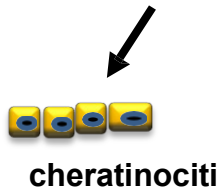
INTESTINO



UNIPOTENZA

**Cellule staminali adulte o
tessuto-specifiche**

compartimento germinale

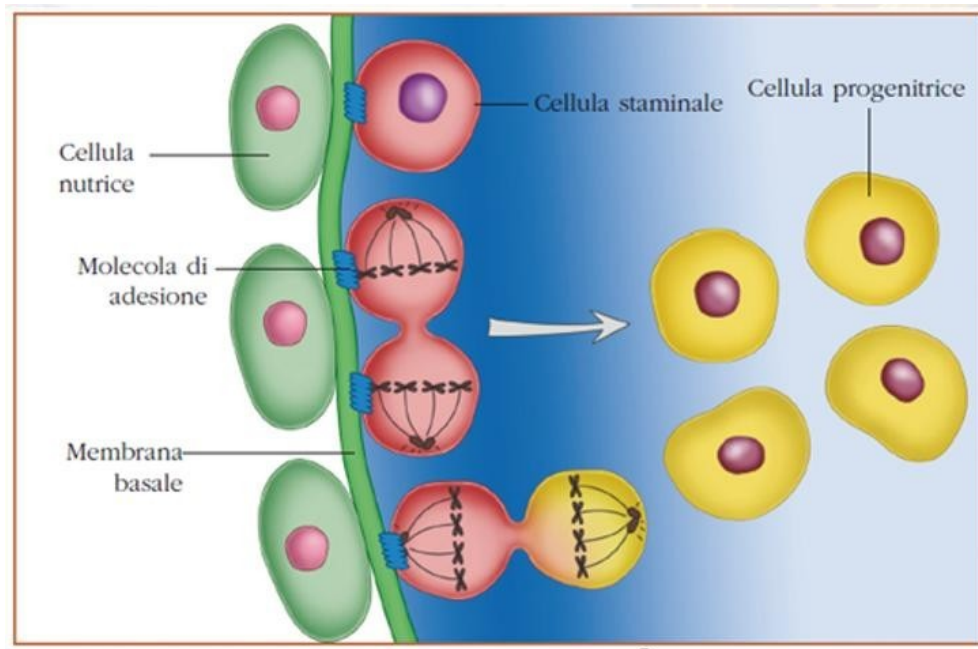


**possono differenziarsi in un
unico tipo di cellula
specializzata**



PRINCIPI DI STAMINALITA'

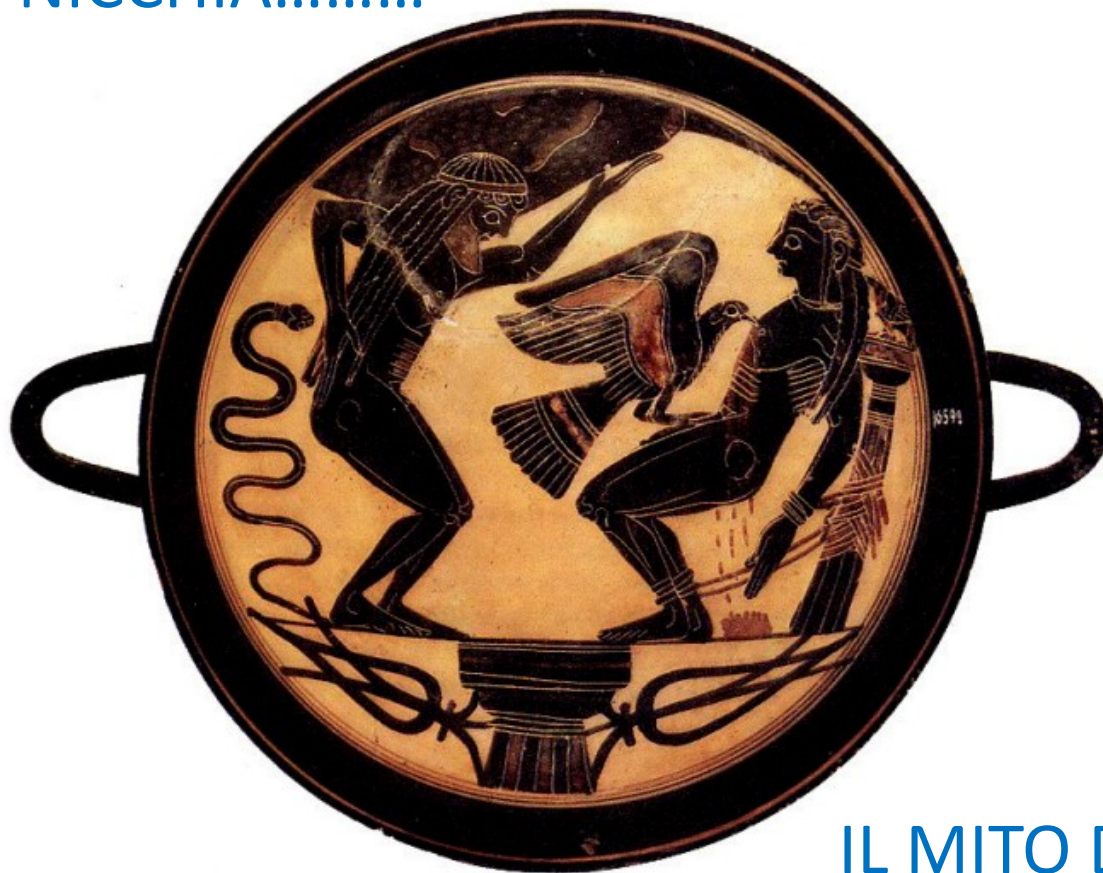
➤ NICCHIA



Le cellule staminali si trovano in microambienti denominati **nicchie** caratterizzate da una complessa rete di segnali biochimici, che, in presenza di citochine e/o fattori di trascrizione, interazioni cellula-cellula e cellula-matrice ne modulano la proliferazione e ne indirizzano il differenziamento



LA PRIMA NICCHIA.....

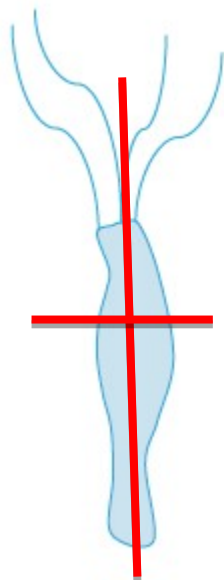


IL MITO DI PROMETEO





ORGANISMI IN GRADO DI RIGENERARE GRANDI PORZIONI DEL CORPO



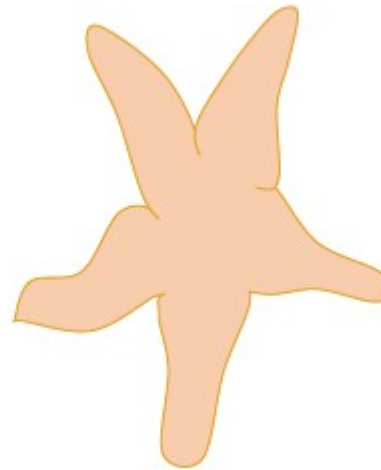
Idra



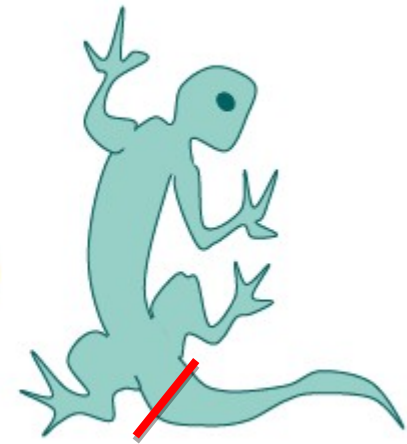
Planaria



Verme



Stella marina

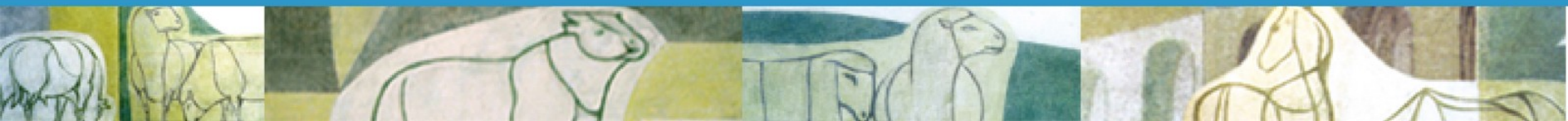
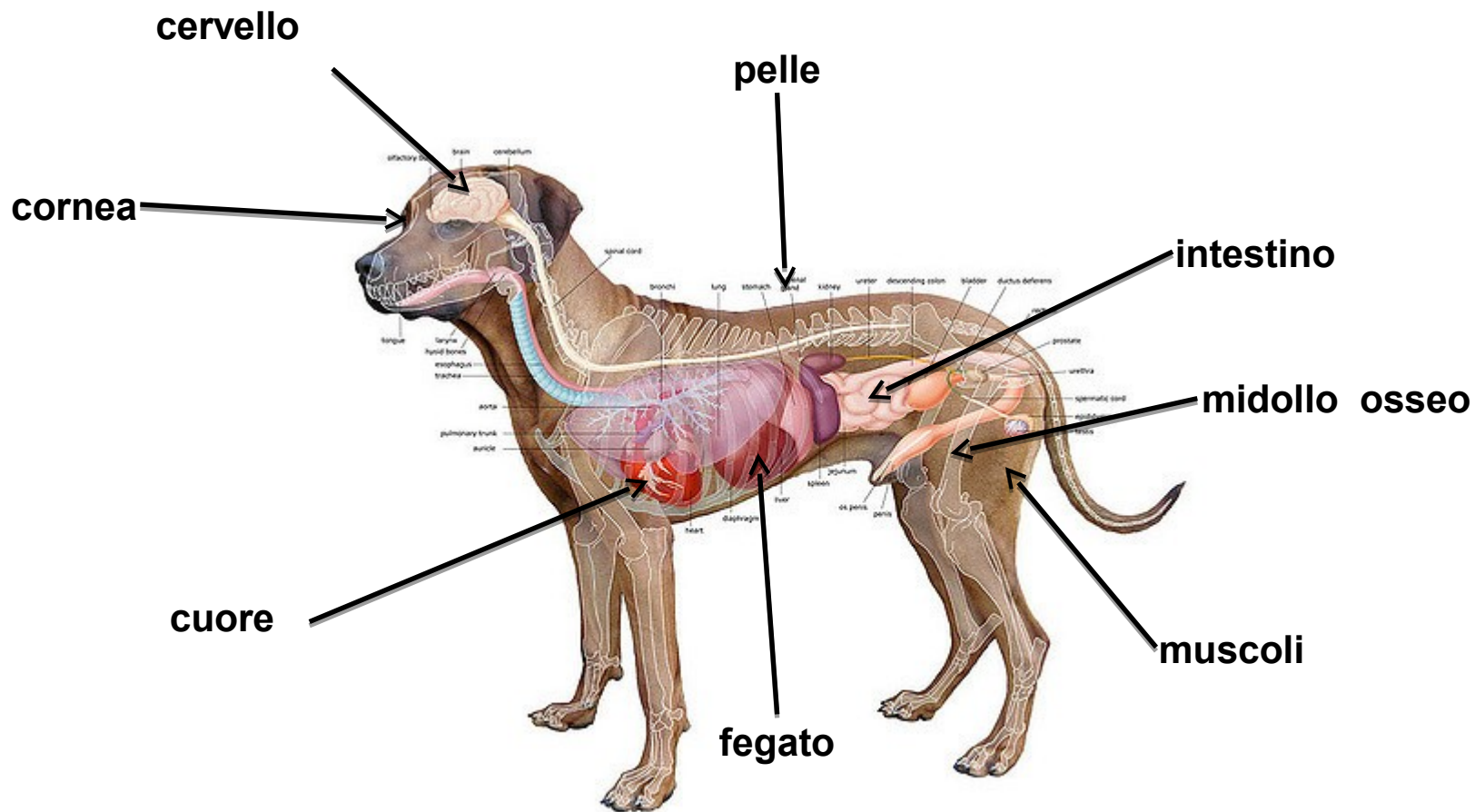


Lucertola

BLASTEMA



LE NICCHIE STAMINALI



REALTA' CLINICA ITALIANA

26-11-2013

GAZZETTA UFFICIALE DELLA REPUBBLICA ITALIANA

Serie generale - n. 277

DECRETI E DELIBERE DI ALTRE AUTORITÀ

CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO, LE REGIONI E LE PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO

ACCORDO 17 ottobre 2013.

Linee guida concernenti i requisiti sanitari minimi per
l'impiego delle cellule staminali in medicina veterinaria.
(Repertorio atti n. 147/CSR).

LA CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO, LE REGIONI E LE PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO

Nella odierna seduta del 17 ottobre 2013;

Visto l'art. 4 del decreto legislativo 28 agosto 1997,
n. 281, il quale prevede che questa Conferenza possa pro-
muovere e sancire accordi tra il Governo e le regioni e le

Sancisce accordo:

Tra il Governo, le regioni e le province autonome di
Trento e di Bolzano sulla proposta di accordo del Mini-
stro della salute recante «Linee guida concernenti i requi-
siti sanitari minimi per l'impiego delle cellule staminali
in medicina veterinaria», di cui all'allegato A, parte inte-
grante del presente atto.

Roma, 17 ottobre 2013

Il presidente
DELRIO

Il segretario
MARINO

ALLEGATO

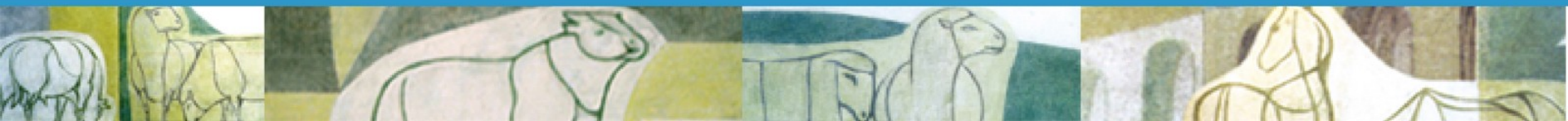
Proposta di Accordo tra il Ministro della salute, le regioni e le
province autonome di Trento e di Bolzano sul documento recante
«Linee guida concernenti i requisiti minimi per l'impiego delle
cellule staminali in medicina veterinaria».



.....in base all'origine:

- **CELLULE STAMINALI EMBRIONALI**
- **CELLULE STAMINALI FETALI**
- **CELLULE STAMINALI ADULTE**

Quanti tipi di staminali???

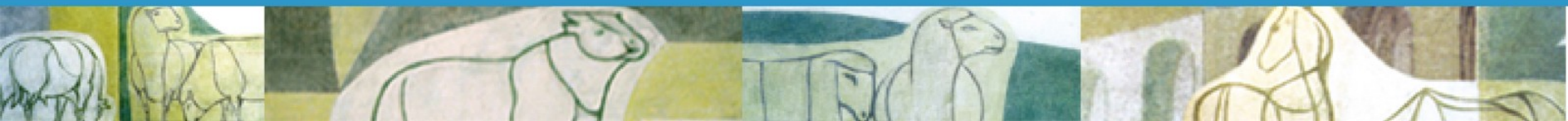




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

CELLULE STAMINALI DI INTERESSE CLINICO VETERINARIO

MSC (Mesenchymal Stem Cell) sono cellule staminali adulte, isolabili dalla componente stromale dei tessuti di origine mesenchimale, in grado di differenziarsi, in seguito a stimolazione adeguata, in uno dei diversi tipi cellulari dei tessuti mesenchimali (osteoblasto, condroblasto, adipocita, fibroblasto, ecc...)



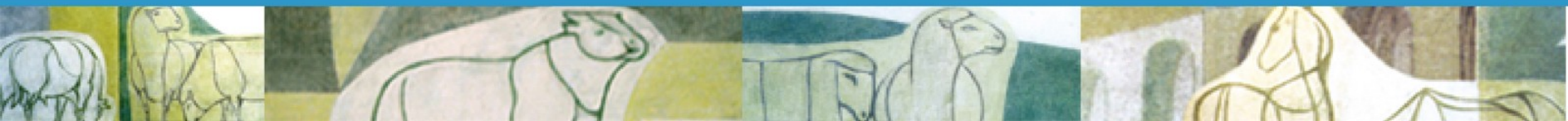
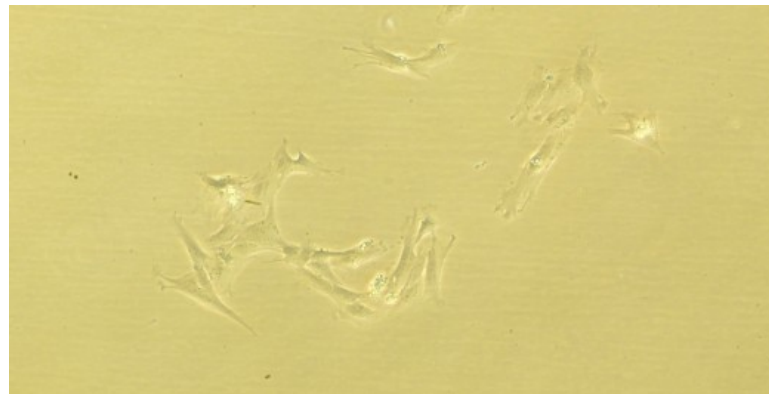
Possibili fonti per l'isolamento delle MSC:

- Midollo Osseo
- Tessuto Adiposo
- Sangue periferico
- Sangue cordonale
- Tutti i tessuti che derivano dal MESODERMA



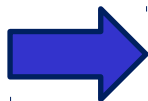
Caratteristiche delle MSC (da ISCT, International Society for Cellular Therapy):

- crescere adese alla superficie di coltura formando colonie di cellule ad aspetto simil-fibroblastico
- Essere in grado di differenziare in cellule della linea osteogenica, condrogenica ed adipocitaria
- Espressione di marker tipici (positività per CD90, CD73, CD105; negatività per CD45, CD34, CD14, CD19)



MECCANISMI BIOLOGICI DELLE MSC

DIRETTI



ATTIVITA' PLASTICA



MECCANISMI BIOLOGICI DELLE MSC

- Attività paracrina (secrezione molecole che modulano: la replicazione cellulare, l'inibizione dell'apoptosi, l'infiammazione, stimolano l'angiogenesi, regolano la deposizione di matrice extracellulare, la chemoattrazione cellulare, le funzioni del sistema immunitario)

INDIRETTI 

- Produzione Microvescicole (particelle nanometriche delimitate da doppio strato lipidico e contenenti componenti idrosolubili al loro interno: -stimolare direttamente le cellule bersaglio mediante recettori di membrana; -trasferire recettori o proteine alle cellule bersaglio modulandone capacità di risposta; -veicolare fattori di trascrizione mRNA inducendo cambiamenti funzionali in queste cellule)



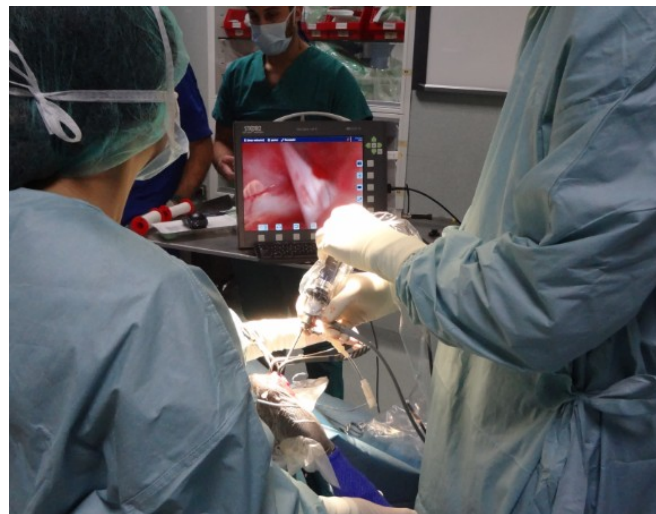


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

UTILIZZO DELLE MSC

VIE DI SOMMINISTRAZIONE:

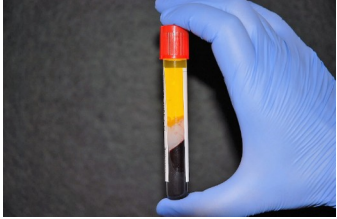
➤ **TOPICHE:** intralesionale,
microcircolo (es. endocoronarica)



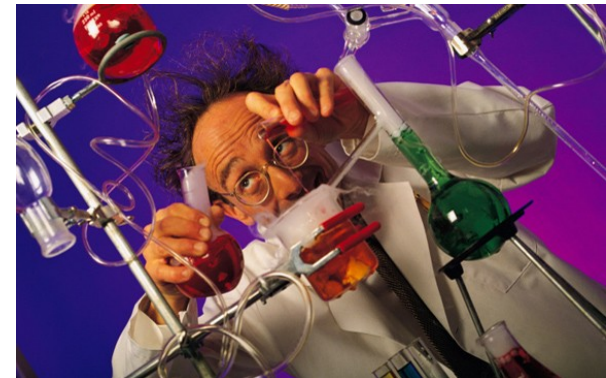
➤ **SISTEMICHE:** endovenosa,
endoarteriosa, intraperitoneale



MEZZI DI RISOSPENSIONE

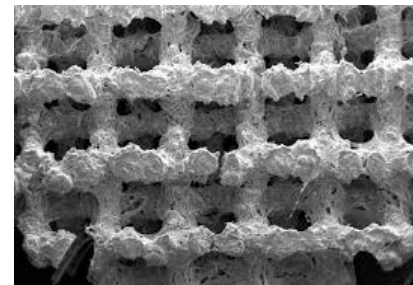


- Plasma o Siero
- PRP (Plasma Ricco in Piastrine) o Lisato Piastrinico
- Soluzioni isotoniche
- Soluzioni di Acido Jaluronico
- Medium di congelamento
- Medium di coltura



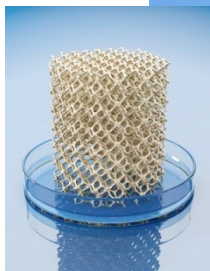


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



SCAFFOLD

supporto in cui vengono generalmente impiantate le cellule e fornisce

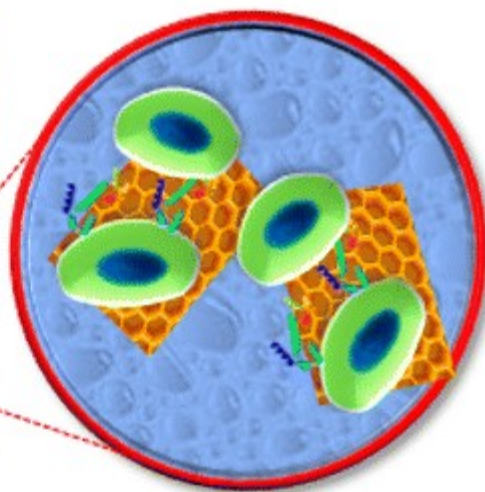
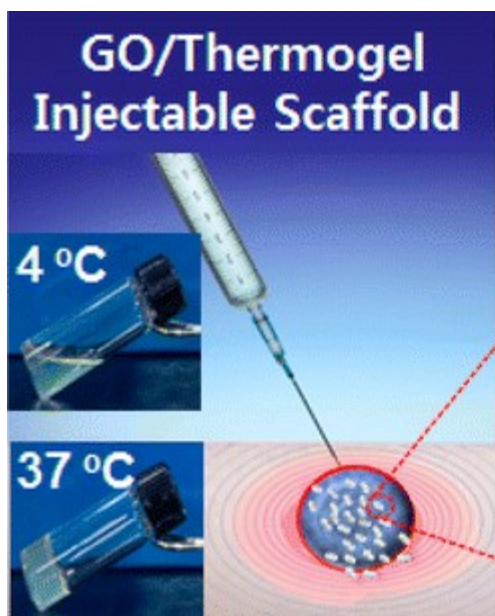


BIOCOMPATIBILI



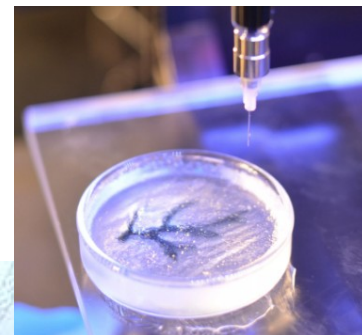


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



PRESTAMPATO in “blocchi” standard o modellabile con frese (CAD/CAM)

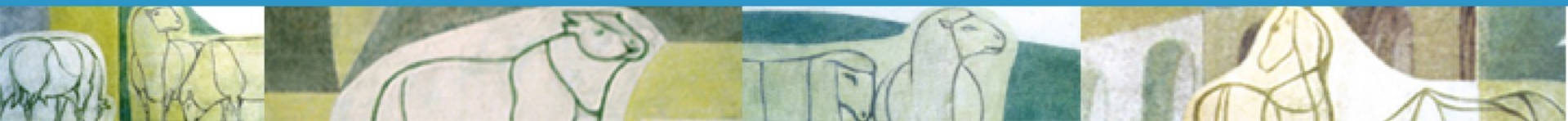
STAMPATO “su misura” utilizzando immagini TAC o SCANNER LASER 3D
da convertire in file .STL utilizzabili in tecnologia CAD/CAM





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

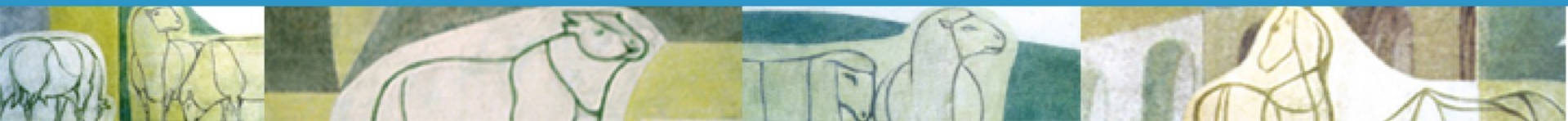
COSA...SI PUO' FARE





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

APPLICAZIONI CLINICHE





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

LESIONI CUTANEE





LESIONI CARDIACHE

Veterinary World, EISSN: 2231-0916

Available at www.veterinaryworld.org/Vol.9/December-2016/15.pdf

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Intravenous administration of puppy deciduous teeth stem cells in degenerative valve disease

Soontaree Petchdee¹ and Sarunya Sompeewong²

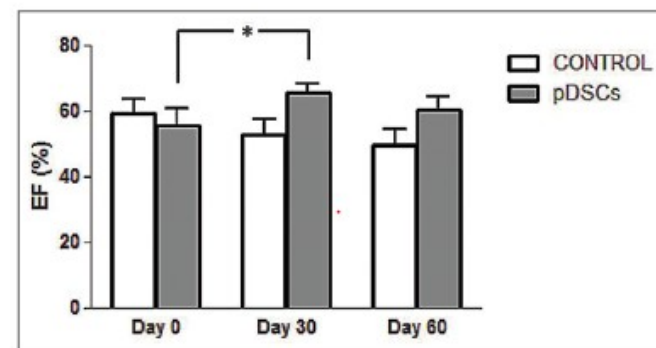
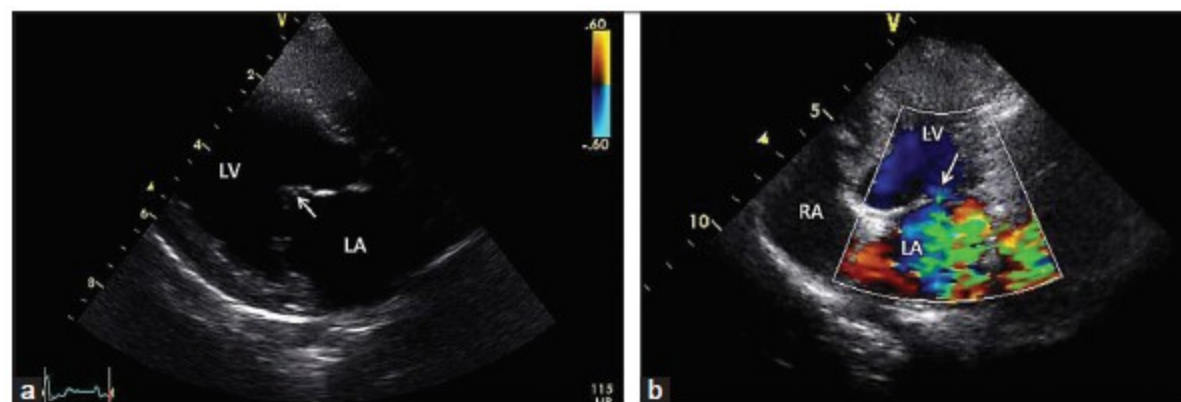


Figure-3: Ejection fraction in dogs with valve degeneration before (day 0), 30 and 60 days after puppy deciduous teeth stem cells administration (day 30 and day 60) compared with the control group, * $p < 0.05$.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

LESIONI RENALI



Hindawi Publishing Corporation
Stem Cells International
Volume 2016, Article ID 9618480, 13 pages
<http://dx.doi.org/10.1155/2016/9618480>

LIMITI

- *Research Article* Paziente **CRITICO** in tutte le fasi (**ESTRAZIONE/INFUSIONE**)
Skeletal Muscle-Derived Stem/Progenitor Cells:
A Potential Strategy for the Treatment of Acute Kidney Injury
- *Tempistica di espansione*
- *Difficoltà di applicazione per limiti legislativi (AUTOLOGO/ETEROLOGO)*
Egle Pavlyde,¹ Romaldas Maciulaitis,^{1,2} Mikolas Maunikas,³ Gintaras Sudzius,³
Ernesta Ivanauskaite Didziokiene,⁴ Arvydas Laurinavicius,^{4,5} Neringa Sutkeviciene,⁶
Edgaras Stankevicius,¹ Justinas Maciulaitis,^{1,7} and Arvydas Usas¹





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



LESIONI MUSCOLO-TENDINEE





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

LESIONI OSTEO-ARTICOLARI



BJR



■ INSTRUCTIONAL REVIEW: KNEE

Animal models of cartilage repair

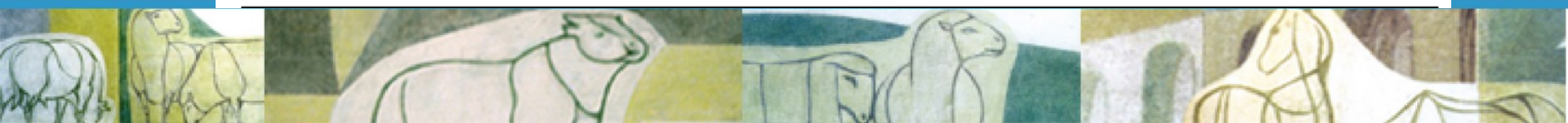
**J. L. Cook,
C. T. Hung,
K. Kuroki,
A. M. Stoker,
C. R. Cook,
F. M. Pfeiffer,
S. L. Sherman,
J. P. Stannard**

*From University of
Missouri, Columbia,
Missouri, United
States*

Cartilage repair in terms of replacement, or regeneration of damaged or diseased articular cartilage with functional tissue, is the 'holy grail' of joint surgery. A wide spectrum of strategies for cartilage repair currently exists and several of these techniques have been reported to be associated with successful clinical outcomes for appropriately selected indications. However, based on respective advantages, disadvantages, and limitations, no single strategy, or even combination of strategies, provides surgeons with viable options for attaining successful long-term outcomes in the majority of patients. As such, development of novel techniques and optimisation of current techniques need to be, and are, the focus of a great deal of research from the basic science level to clinical trials. Translational research that bridges scientific discoveries to clinical application involves the use of animal models in order to assess safety and efficacy for regulatory approval for human use. This review article provides an overview of animal models for cartilage repair.

Cite this article: *Bone Joint Res* 2014;3:89–94.

Keywords: Cartilage repair, Animal research models, *In vitro*, Orthopaedic research, Knee





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

Modules: Volume Rendering



nt

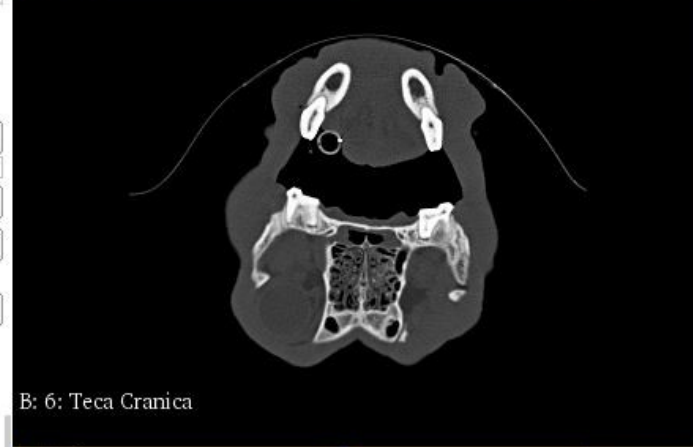
inica

Display ROI

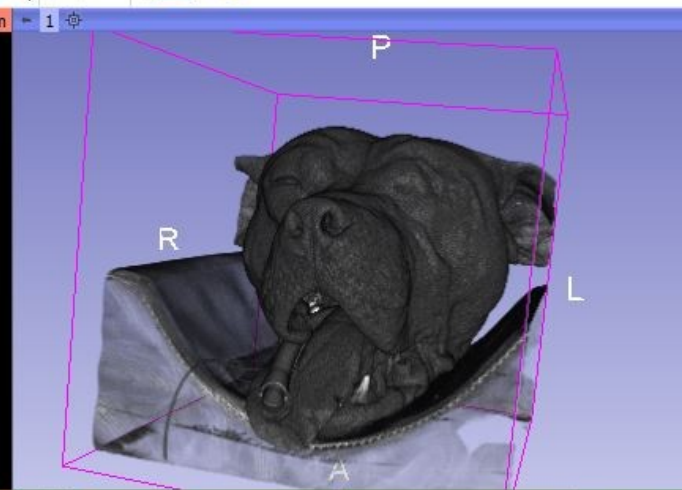
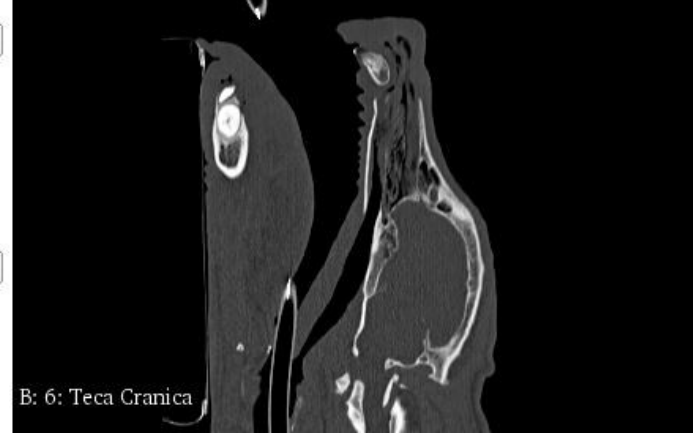
Fit to Volume

asting

S: 1293.800mm



R: 13.567mm

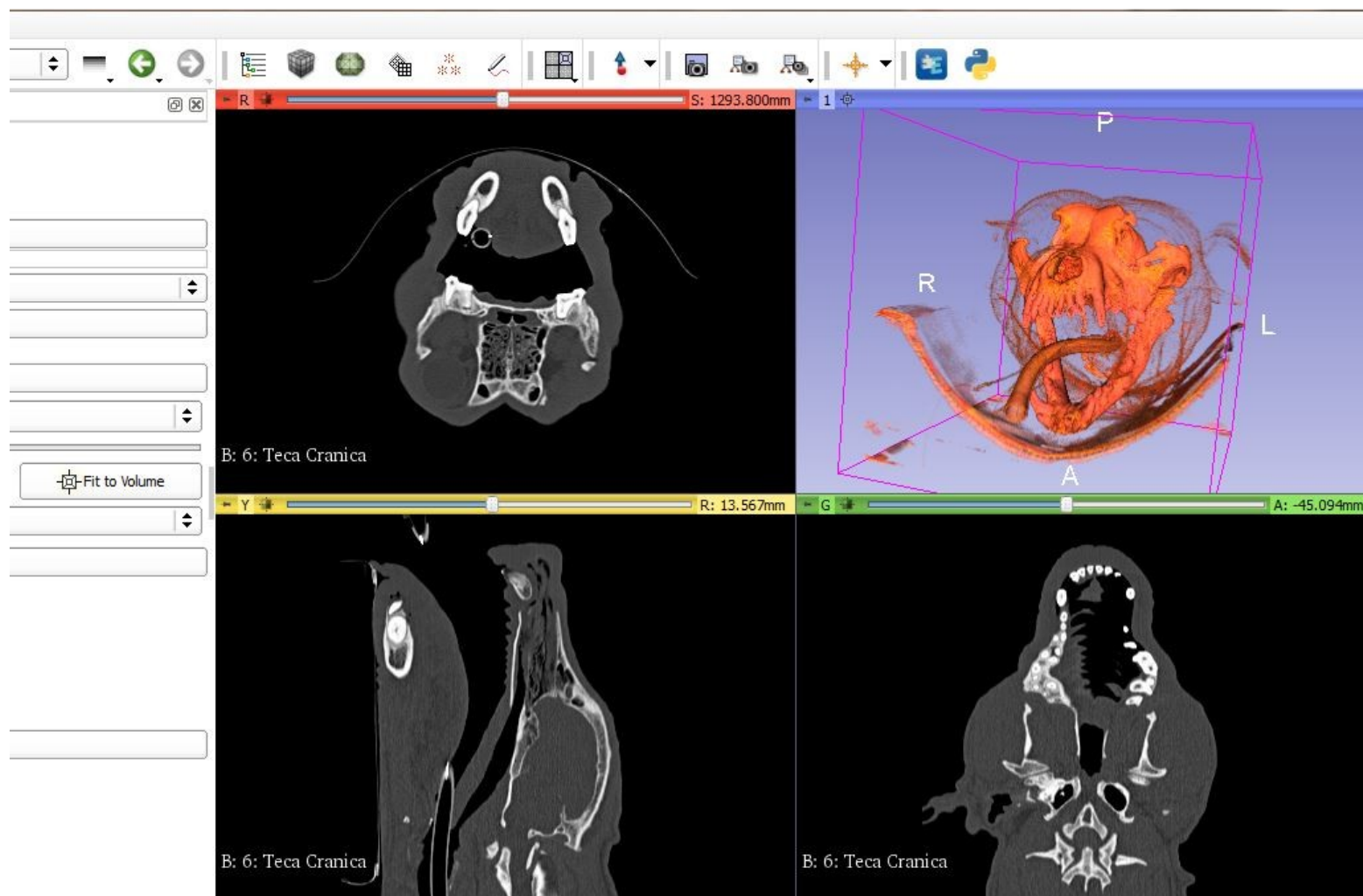


A: -45.094mm





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

elp

Modules: Volume Rendering

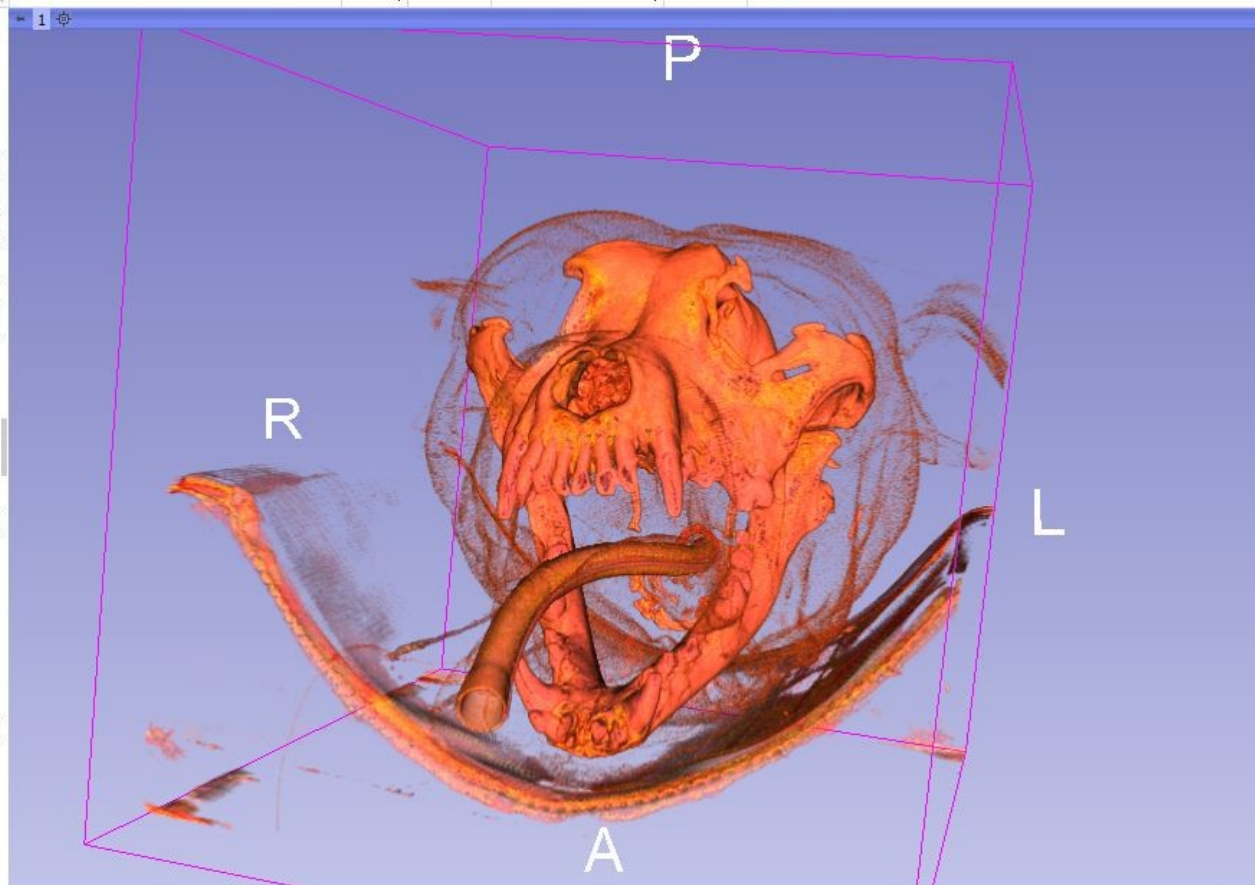
ent

anica

Display ROI

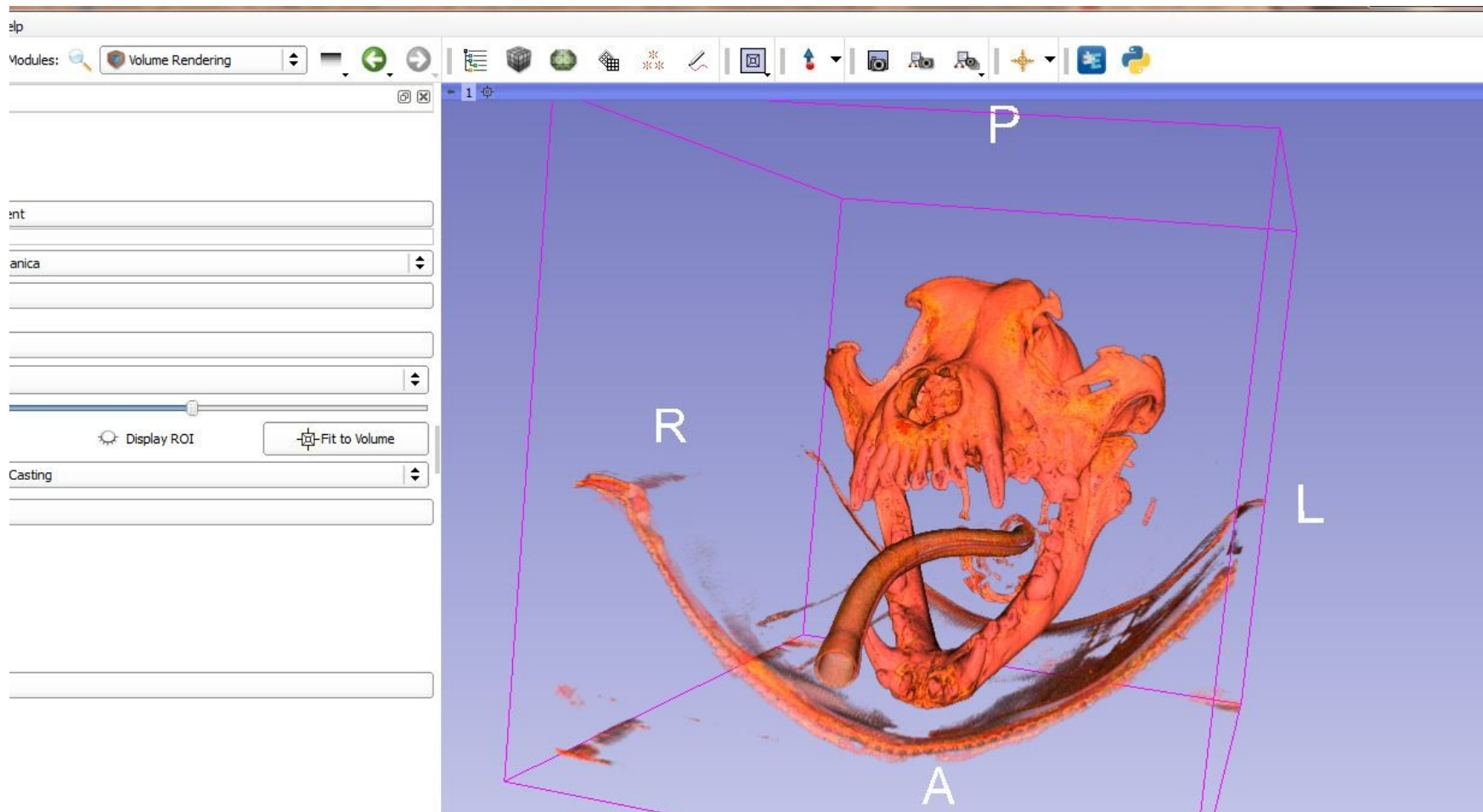
Fit to Volume

Casting



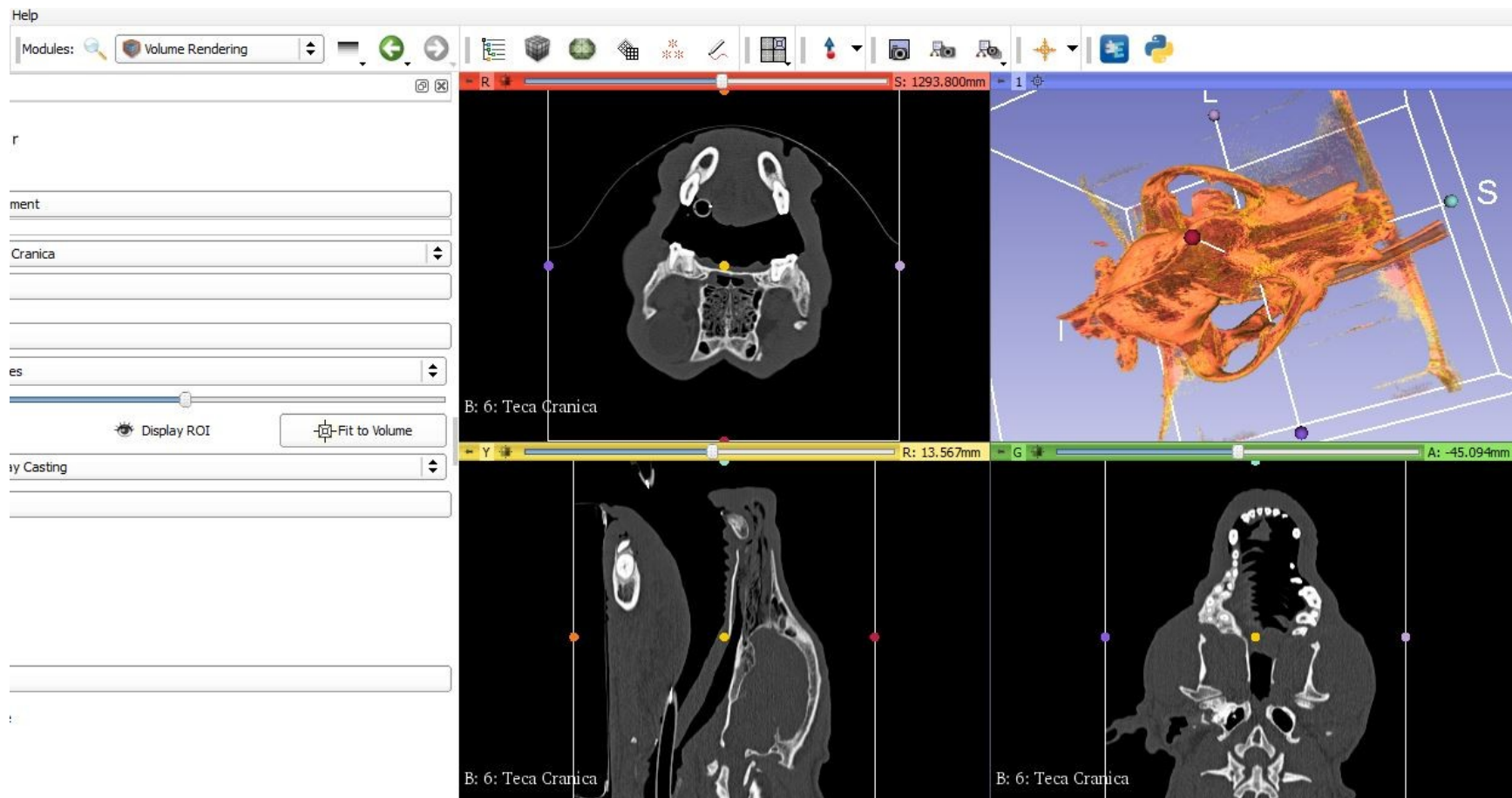


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



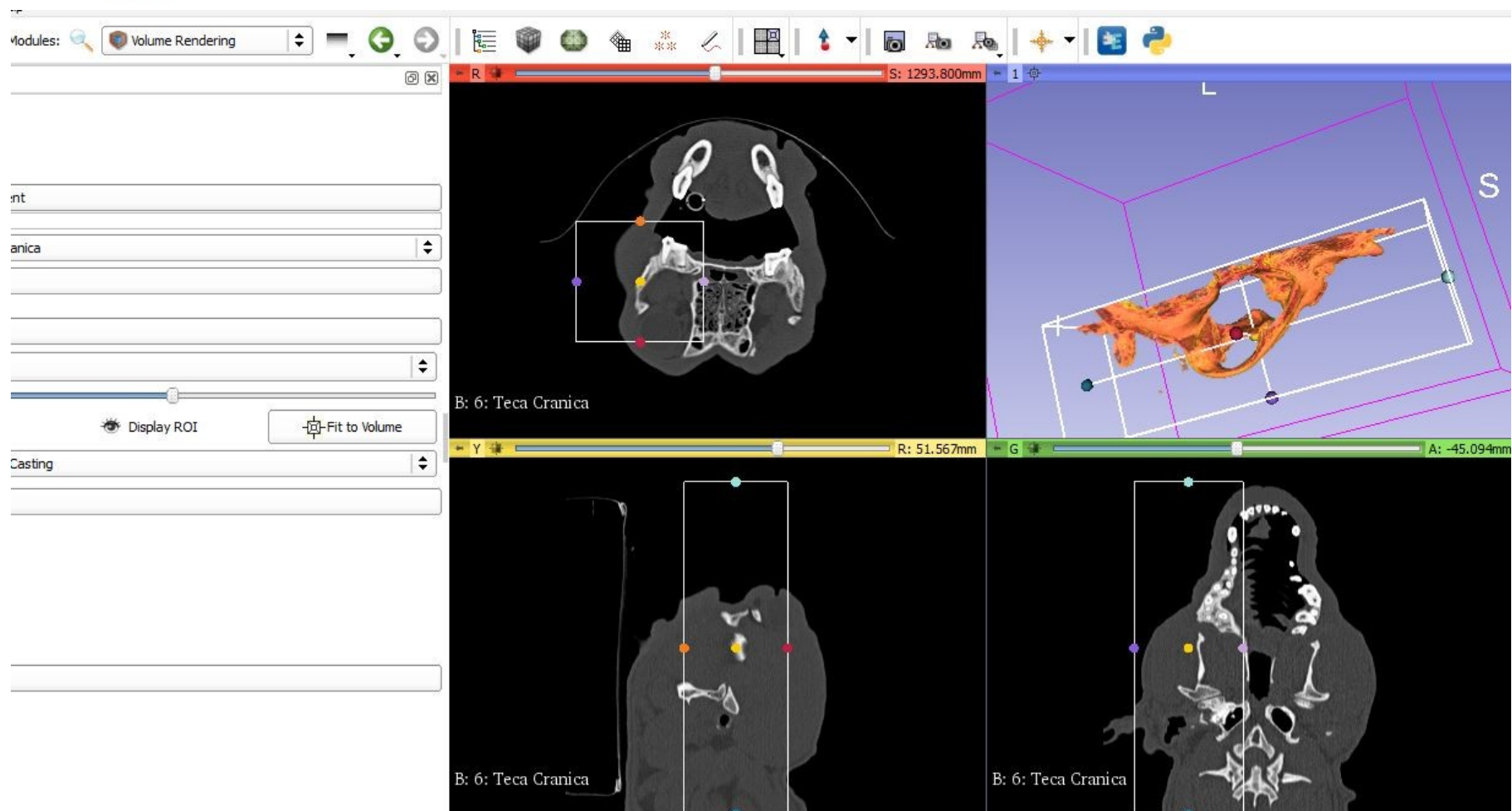


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



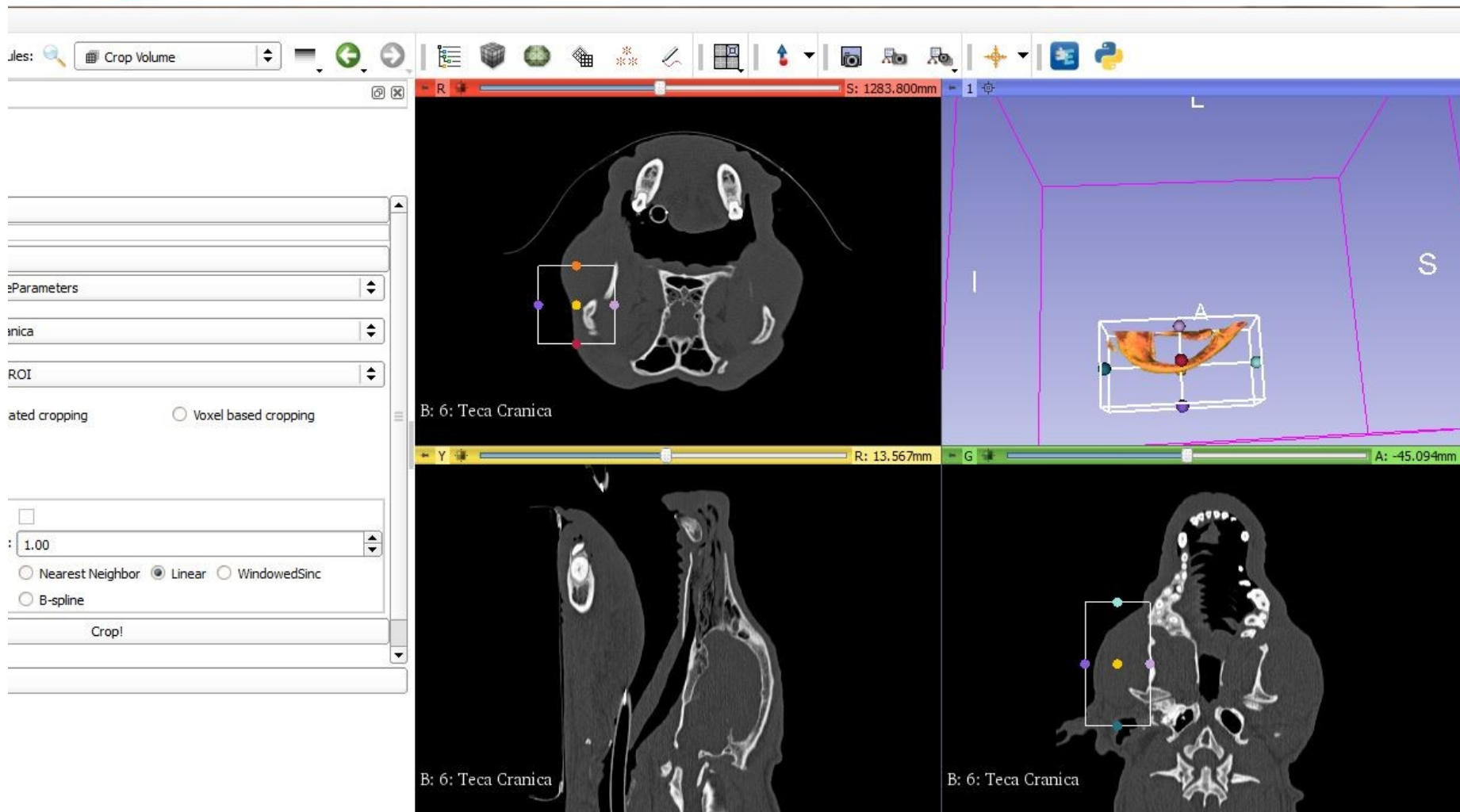


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



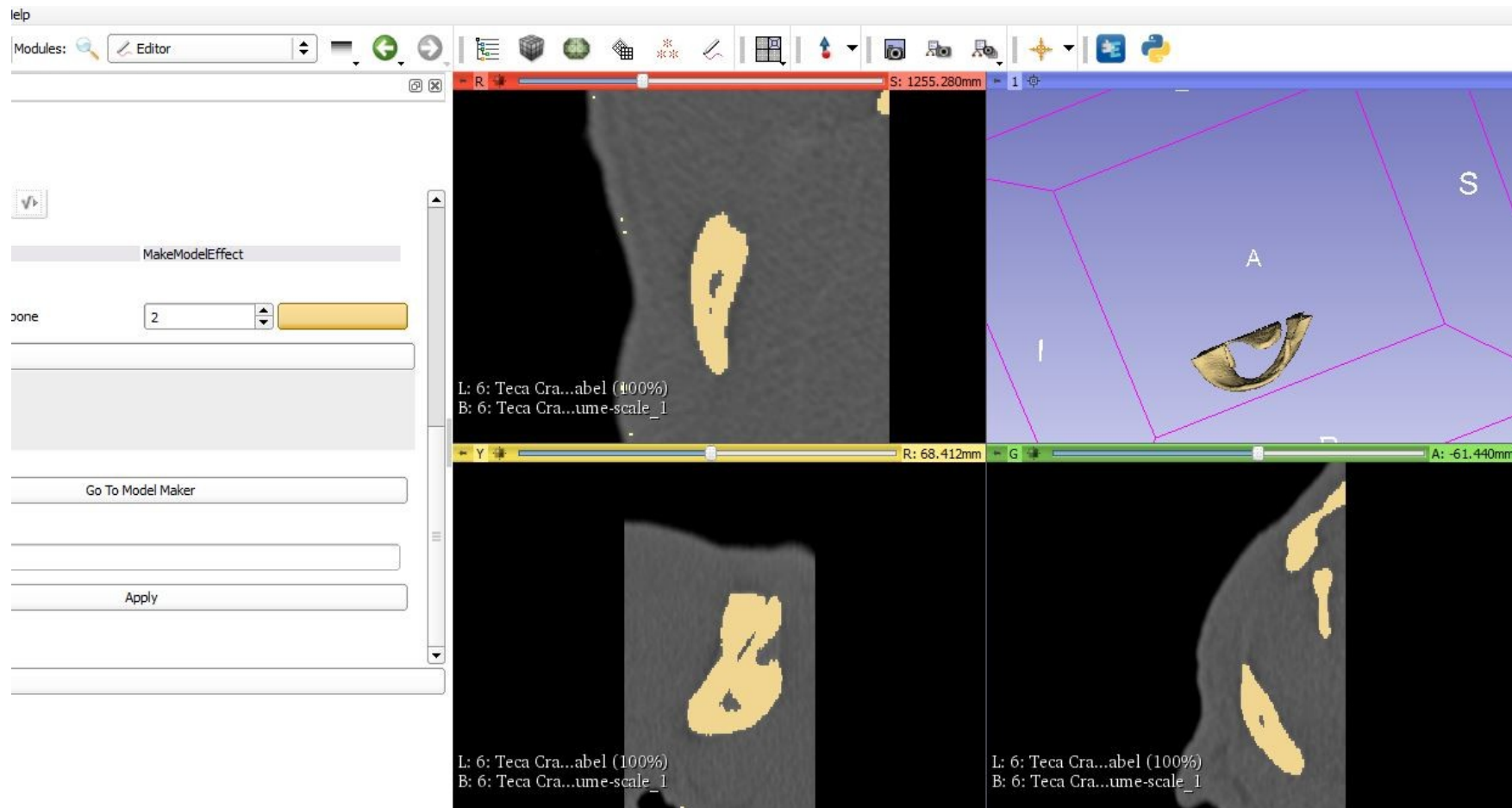


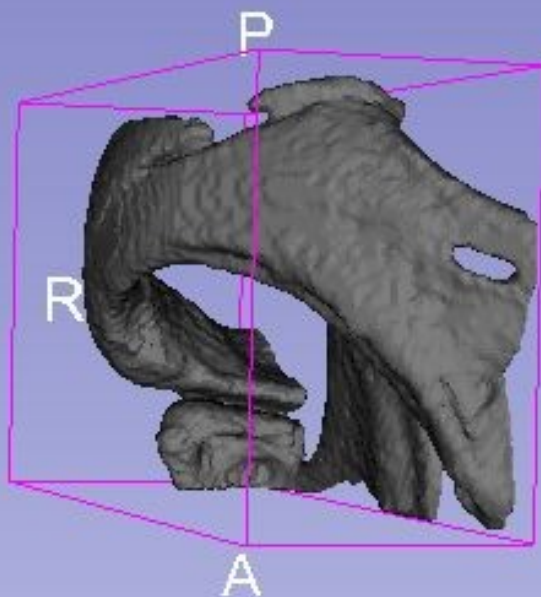
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*



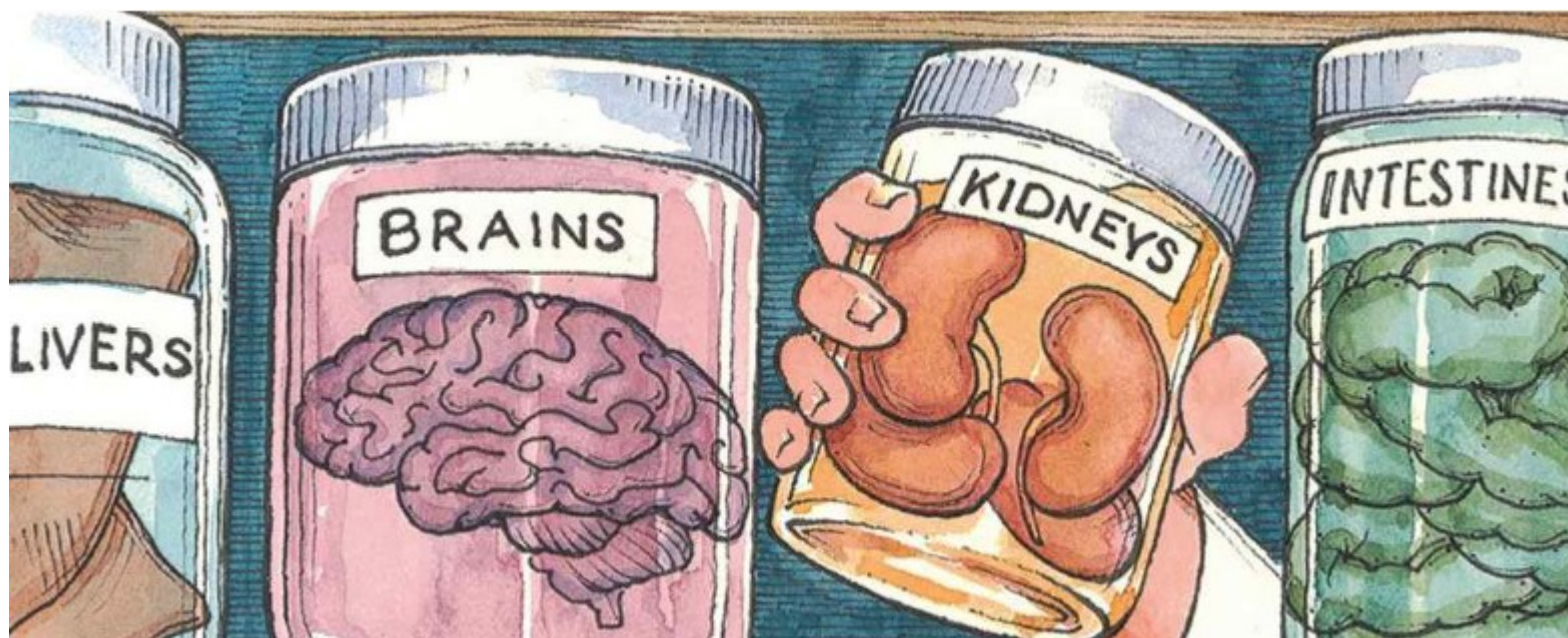




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

APPLICAZIONI SPERIMENTALI

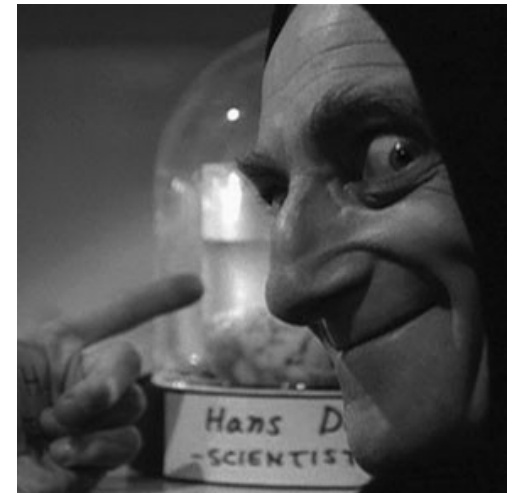
ORGANOIDI





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

L'organoide è un cluster cellulare 3D *in vitro* derivante da cellule staminali che si organizzano spazialmente in modo simile alla controparte *in vivo*.

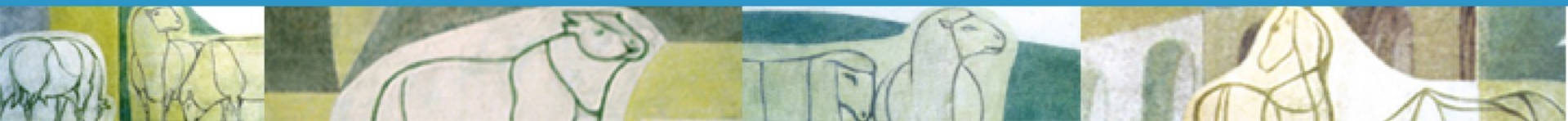




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

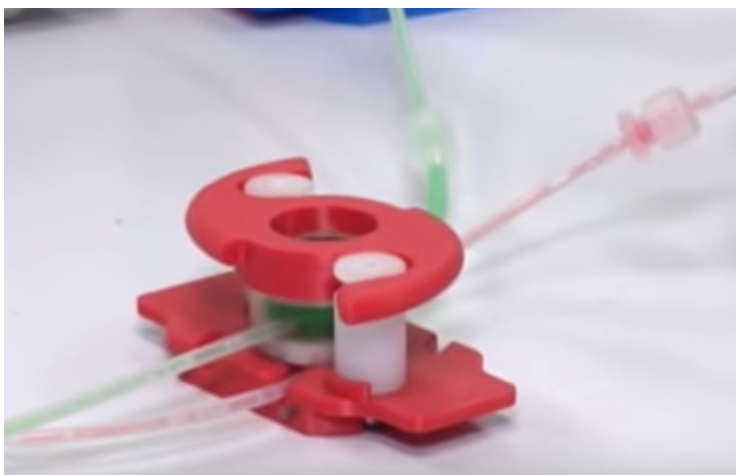
A che scopo?

- Espansione coltura cellulare e/o estrazione fattori di crescita e microvescicole staminali (SECRETOMI)
- TEST FARMACOLOGICI IN VITRO
- TRAPIANTO
- CREARE MODELLI di STUDIO per: Malattie Ereditarie, Malattie Infettive, Neoplasie.



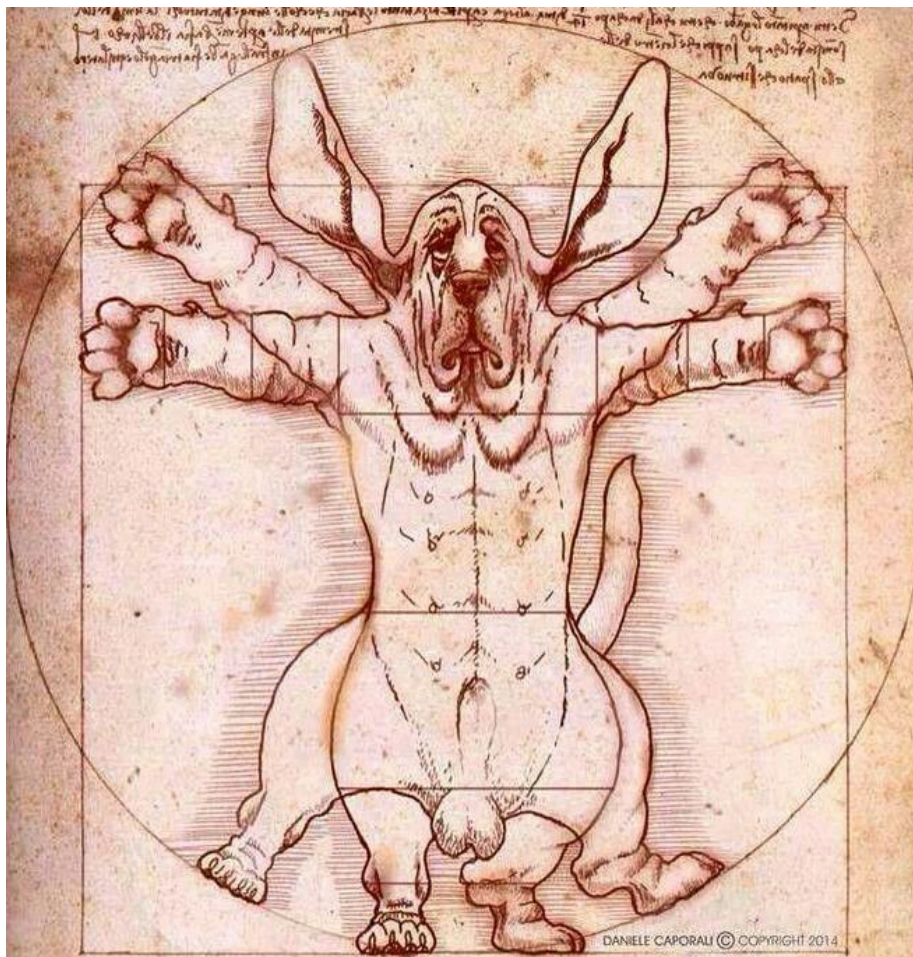


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

