

PROGETTI DI “RICERCA CORRENTE 2021”
RELAZIONE FINALE

N. identificativo progetto: IZS LT 02/21 RC

Progetto presentato da:

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE
REGIONI LAZIO E TOSCANA “M. ALEANDRI”

Area tematica: Sanità Animale

Titolo del progetto:

Terapia Rigenerativa nella Medicina veterinaria delle specie d'affezione: *challenge “in vitro”* su *scaffold* solidi e semisolidi nel contesto dello sviluppo di un protocollo per l'isolamento di cellule staminali da cordone ombelicale.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute

Responsabile Scientifico: Dott.ssa *Katia Barbaro*

SINTESI

Terapia Rigenerativa nella Medicina veterinaria delle specie d'affezione: challenge “in vitro” su scaffold solidi e semisolidi nel contesto dello sviluppo di un protocollo per l'isolamento di cellule staminali da cordone ombelicale.

Parole chiave: cellule staminali, cordone ombelicale, terapia rigenerativa

In medicina veterinaria, così come in medicina umana, negli ultimi decenni, ha assunto sempre maggiore importanza la terapia rigenerativa mediante il trattamento con le cellule staminali adulte che, come ampiamente descritto in letteratura, consentono di intervenire efficacemente nel trattamento di gravi malattie degenerative, ematologiche, immunologiche, genetiche, metaboliche ecc.

L'evoluzione delle procedure di terapia rigenerativa ha portato allo sviluppo di una varietà di metodiche cellulari che si basano tanto su cellule staminali adulte autologhe che eterologhe, in entrambi i casi provenienti da diversi compartimenti tissutali. Finora, sia le cellule autologhe che quelle allogeniche hanno mostrato di poter essere applicate in sicurezza e, al momento, la sostanziale differenza tra le due metodiche è strettamente associata ai tempi di produzione del numero di cellule necessario alla preparazione dell'inoculo. Utilizzando cellule autologhe, per esempio, è possibile utilizzare un singolo clone cellulare ma solo attraverso successivi processi di espansione cellulare che tuttavia possono richiedere anche diverse settimane. È evidente quanto lo sviluppo di una metodica in grado di azzerare il fattore tempo assuma notevole rilevanza in quelle patologie, quali i danni acuti e quelli traumatici, in cui è necessario intervenire in tempi rapidissimi. In questi casi, l'assenza di cellule staminali autologhe conservate in azoto liquido, rende fondamentale la possibilità di attingere a cellule staminali eterologhe, tra cui quelle ombelicali, in quanto alternativa immediatamente disponibile. Le cellule mesenchimali stromali allogeniche, infatti, sono isolate principalmente dal midollo osseo, dal tessuto adiposo

e dal cordone ombelicale e una volta espanse, possono essere conservate per essere utilizzare successivamente come strumento per un approccio clinico “ready to use”.

Il ricorso ad un approccio allogenico potrebbe inoltre consentire l'accesso alla terapia cellulare anche a pazienti per i quali l'utilizzo di cellule autologhe potrebbe essere precluso a priori per motivi quali l'età avanzata, così come per la presenza di alterazioni genetiche, patologie e disordini metabolici.

Le cellule staminali ombelicali si prestano bene all'utilizzo eterologo poiché hanno la capacità di modulare le risposte immunologiche dell'organismo ospite. Inoltre, la maggior capacità rigenerativa di queste cellule, le rende indispensabili anche in patologie a carico del sistema nervoso.

Allo stesso tempo, l'identificazione, la messa a punto e lo sviluppo di modelli sperimentali sempre più sofisticati, quali i modelli organotipici (es. colture tridimensionali di tessuti *in vitro*) utilizzati per lo sviluppo di un tessuto riproducibile e funzionale, costituisce oggi una sfida e un'opportunità per ridurre, se non sostituire completamente, la sperimentazione su modello animale in numerose aree cliniche.

In tal senso, recentemente, nell'ambito delle nanotecnologie innovative, molti studi hanno sempre più frequentemente fatto ricorso all'utilizzo dei biomateriali, mostrandone la versatilità e le proprietà fisiche potenzialmente sfruttabili, in associazione con le capacità rigenerative delle cellule staminali mesenchimali e dei loro derivati, in ambiti quali la terapia rigenerativa, l'ingegneria tissutale, l'ingegnerizzazione e la funzionalizzazione di nuovi *scaffold* (solidi o semisolidi).

SUMMARY

Regenerative Therapy in Veterinary Medicine of diseased species: "in vitro" challenge on solid and semi-solid scaffolds in the context of the development of a protocol for the isolation of stem cells from umbilical cord.

Keywords: stem cells, umbilical cord, regenerative therapy

In veterinary medicine, as in human medicine, in recent decades, regenerative therapy has assumed increasing importance through treatment with adult stem cells which, as widely described in the literature, to allow effective intervention in the treatment of serious degenerative, hematological diseases, immunological, genetic, metabolic, etc.

The advancement in regenerative therapy procedures has led to the development of a variety of cellular methods that are based both on autologous and heterologous adult stem cells, in both cases originating from different tissues. Until now, both autologous and allogeneic cells have shown that they can be applied safely and, at the moment, the substantial difference between the two methods is strictly associated with production times of the number of cells necessary for the preparation of the inoculum. When using autologous cells, for example, it is possible to use a single cell clone, but only after subsequent cell expansion processes which, however, can take several weeks.

It is clear that the development of a method, able to eliminate the time factor, plays an important role in those pathologies, such as acute and traumatic damage, in which it is necessary to act very quickly. In these cases, the absence of autologous stem cells cryopreserved makes it necessary to use heterologous stem cells, including umbilical ones, as an immediately available alternative. In fact, allogeneic mesenchymal stromal cells are isolated mainly from bone marrow, adipose tissue and umbilical cord and, once expanded, they can be cryopreserved for a "ready to use" clinical approach. The use of an allogeneic approach could also allow access to cell therapy to patients for whom the use of autologous cells could be precluded for reasons such as advanced age, as well as for the presence of genetic alterations, pathologies and metabolic disorders.

Umbilical stem cells are suitable to heterologous use as they have the ability to modulate the immunological response of the host organism. Furthermore, the greater regenerative capacity of these cells also makes them indispensable in pathologies affecting the nervous system.

At the same time, the identification and the design of sophisticated experimental models, such as organotypic models and three-dimensional *in vitro* tissue cultures used for the development of a reproducible and functional tissue, to date constitutes a challenge and an opportunity to reduce, if not completely replace, animal model testing in numerous clinical areas.

Many studies have recently increased in the field of innovative nanotechnologies, the interesting role of biomaterials, highlighting their versatility and potential exploitable physical properties, in association with the regenerative ability of mesenchymal stem cells, in areas such as regenerative therapy, tissue engineering, engineering and functionalization of new scaffolds.