

## Titolo del Progetto:

**SVILUPPO DI STRATEGIE INNOVATIVE PER L'UTILIZZO DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI UMANE NELLA MEDICINA RIGENERATIVA VASCOLARE**

## Responsabile Scientifico

Prof. Carlo Ventura

## Rendiconto Scientifico

Obiettivo principale del presente progetto è stato quello di sviluppare una rete di strategie dedicate alla comprensione di specifici meccanismi differenziativi delle cellule staminali e al loro utilizzo preclinico, creando le premesse per un successivo impiego clinico di tali cellule nella medicina rigenerativa in genere e cardiovascolare in particolare.

Abbiamo utilizzato cellule staminali umane adulte di tipo mesenchimale, come anche cellule staminali embrionali di topo.

In questo contesto, i principali risultati conseguiti possono essere così riassunti:

1. Abbiamo realizzato un nuovo metodo di processazione del tessuto adiposo umano, che per la prima volta ha consentito di ottenere un tessuto *micro-frammentato*, contenente una *nicchia vasculo-stromale* intatta (la *nanostruttura* in cui fisiologicamente risiedono le cellule staminali adulte in ogni tessuto del corpo umano) e, al suo interno, elementi cellulari con le caratteristiche di *periciti* e di cellule staminali mesenchimale. Tale procedura ha poi dato vita ad un prodotto tissutale denominato *Lipogems*, di seguito approvato per uso umano sia dall'EMA (European Medicines Agency), che dall'FDA (Food and Drug Administration) in diversi ambiti di medicina rigenerativa, quali:
  - a. La rigenerazione ossea e cartilaginea
  - b. La ricostruzione di tessuti molli e del tessuto lasso sottocutaneo, come nel caso di ulcere diabetiche e da decubito, e di fistole anali di varia origine, incluse quelle associate a patologie croniche infiammatorie intestinali come il morbo di Crohn.
  - c. La rivascularizzazione di tessuti gravemente ischemici, quali il piede diabetico o arti affetti da severe vasculopatie.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 6 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

2. Abbiamo dimostrato la possibilità di mettere in comunicazione mediante *co-trapianto* cellule staminali mesenchimali umane e isole pancreatiche in modelli animali di diabete sperimentalmente indotto, producendo le prime evidenze relative alla possibilità di aumentare la sopravvivenza e l'efficacia terapeutica delle cellule Beta-pancreatiche insulino-secerenti, grazie ad un ruolo paracrino della componente staminale. Questi studi hanno dimostrato la fattibilità di questa strategia innovativa che è stata successivamente portata alla applicazione clinica.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 1 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

3. Abbiamo per la prima volta dimostrato la possibilità di utilizzare molecole inibenti la sintesi endogena di colesterolo per innescare un differenziamento vascolare in cellule staminali mesenchimali umane (vasculogenesi) derivate da placenta a termine.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 3 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

4. Utilizzando Sodio Butirrato, inibitore delle Istone Acetilasi, siamo riusciti ad inibire la proliferazione e la migrazione di cellule muscolari lisce derivate dall'arteria polmonare. Questo aspetto è di particolare rilevanza clinica, dal momento che proprio la proliferazione di tali cellule rappresenta un meccanismo patogenetico fondamentale nell'insorgenza di ipertensione arteriosa polmonare primitiva, una patologia rara dagli esiti estremamente gravi, al punto da portare alcuni pazienti affetti al trapianto di cuore e polmone come una possibilità di sopravvivenza.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 4 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

5. Per la prima volta in letteratura abbiamo dimostrato la possibilità di utilizzare campi radioelettrici opportunamente convogliati per modulare il potenziale differenziativo e rigenerativo delle cellule staminali. In particolare:

- a. Siamo riusciti ad aumentare la resa del differenziamento cardiaco, neuronale e muscolare scheletrico in cellule staminali embrionali di topo

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 2 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

- b. Abbiamo "riprogrammato" cellule staminali mesenchimali umane adulte del tessuto adiposo ad elementi simil-embrionali, capaci di differenziarsi in cellule cardiache, neuronali e muscolari scheletriche, dimostrando così di poter incrementare significativamente il potenziale rigenerativo delle stesse staminali mesenchimali.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 7 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

- c. Abbiamo realizzato il primo esempio di "riprogrammazione" diretta di cellule somatiche umane (fibroblasti cutanei), in cellule miocardiche, neuronali e muscolari scheletriche. In questi esperimenti, i fibroblasti cutanei sono stati trasformati in elementi capaci di un potenziale differenziativo proprio delle cellule staminali embrionali, trasformandosi in ultima analisi elementi cellulari differenziati complessi, verso i quali le cellule somatiche di origine non si sarebbero mai altrimenti orientate. Questo tipo di riprogrammazione era stato precedentemente conseguito soltanto utilizzando tecniche di trasferimento genico con vettori virali che avevano introdotto all'interno delle cellule somatiche umane geni essenziali per ottenerne la trasformazione in elementi staminali similembrionali. Questi studi erano valse a Shinya Yamanaka e John. B. Gurdon il Nobel in Medicina nel 2012. Coi nostri studi abbiamo prodotto la prova della fattibilità di una riprogrammazione da noi definita *diretta*, perché ottenuta con sole energie fisiche (un campo radioelettrico convogliato in modo asimmetrico) senza dover ricorrere all'utilizzo di vettori virali per il trasferimento genico.

I risultati sono stati pubblicati come citato al n. 5 dell'allegato elenco di pubblicazioni.

### Commenti conclusivi.

Possiamo ritenere con soddisfazione pienamente raggiunti gli obiettivi previsti dal progetto. In particolare, i risultati conseguiti sono andati al di là delle nostre stesse aspettative, aprendo la strada a nuove strategie di Medicina Rigenerativa, alcune delle quali sono state poi tradotte con successo in pratica clinica (Lipogems, Radio Electric Asymmetric Conveyer – REAC, usi alternativi della rosuvastatina: da inibitore della sintesi endogena di colesterolo ad una azione di rivascularizzazione tissutale).

### Elenco delle Pubblicazioni Scientifiche in estenso su Riviste Internazionali ad Elevato Impatto:

1. Cavallari G, Olivi E, Bianchi F, Neri F, Foroni L, Valente S, La Manna G, Nardo B, Stefoni S, **Ventura C.** Mesenchymal stem cells and islet cotransplantation in diabetic rats: improved islet graft revascularization and function by human adipose tissue-derived stem cells preconditioned with natural molecules. *Cell Transplant.* 2012;21(12):2771-81. doi: 10.3727/096368912X637046.
2. Maioli M, Rinaldi S, Santaniello S, Castagna A, Pigliaru G, Gualini S, Fontani V, **Ventura C.** Radiofrequency energy loop primes cardiac, neuronal, and skeletal muscle differentiation in mouse embryonic stem cells: a new tool for improving tissue regeneration. *Cell Transplant.* 2012;21(6):1225-33. doi: 10.3727/096368911X600966.
3. Cantoni S, Cavallini C, Bianchi F, Bonavita F, Vaccari V, Olivi E, Frascari I, Tassinari R, Valente S, Lionetti V, **Ventura C.** Rosuvastatin elicits KDR-dependent vasculogenic response of human placental stem cells through PI3K/AKT pathway. *Pharmacol Res.* 2012 Mar;65(3):275-84. doi: 10.1016/j.phrs.2011.12.004.
4. Cantoni S, Galletti M, Zambelli F, Valente S, Ponti F, Tassinari R, Pasquinelli G, Galiè N, **Ventura C.** Sodium butyrate inhibits platelet-derived growth factor-induced proliferation and migration in pulmonary artery smooth muscle cells through Akt inhibition. *FEBS J.* 2013 May;280(9):2042-55. doi: 10.1111/febs.12227.
5. Maioli M, Rinaldi S, Santaniello S, Castagna A, Pigliaru G, Gualini S, Cavallini C, Fontani V, **Ventura C.** Radio electric conveyed fields directly reprogram human dermal skin fibroblasts toward cardiac, neuronal, and skeletal muscle-like lineages. *Cell Transplant.* 2013;22(7):1227-35. doi: 10.3727/096368912X657297.
6. Bianchi F, Maioli M, Leonardi E, Olivi E, Pasquinelli G, Valente S, Mendez AJ, Ricordi C, Raffaini M, Tremolada C, **Ventura C.** A new nonenzymatic method and device to obtain a fat tissue derivative highly enriched in pericyte-like elements by mild mechanical forces from human lipoaspirates. *Cell Transplant.* 2013;22(11):2063-77. doi: 10.3727/096368912X657855.
7. Maioli M, Rinaldi S, Santaniello S, Castagna A, Pigliaru G, Delitala A, Bianchi F, Tremolada C, Fontani V, **Ventura C.** Radioelectric asymmetric conveyed fields and human adipose-derived stem cells obtained with a nonenzymatic method and device: a novel approach to multipotency. *Cell Transplant.* 2014;23(12):1489-500. doi: 10.3727/096368913X672037.

Oltre a questi importanti risultati conseguiti in termini di pubblicazioni scientifiche, anche grazie al supporto garantito dalla Fondazione Fornasini di Poggio Renatico, abbiamo organizzato e portato a termine con successo un importante Congresso Internazionale, intitolato: ***“Asking Stem Cells for Complex Developmental Decisions: When Reprogramming and Pluripotentiality are Needed”***

Il Congresso è stato tenuto a Bologna il 14 Novembre del 2011, presso la sede del *NIBB (National Institute of Biostructures and Biosystems) Laboratory of Molecular Biology and Stem Cell Engineering*, all’epoca istituito a Bologna in Strada Maggiore N. 42.