



scienza attiva[®]

Medicina rigenerativa
e
Nanomateriali

Paolo Milani

Dipartimento di Fisica dell'Università di Milano

Medicina Rigenerativa e Nanomateriali

Definizione di Medicina Rigenerativa

La Medicina Rigenerativa (MR) è una branca della medicina relativamente nuova e fortemente interdisciplinare focalizzata sulla riparazione, rigenerazione e sostituzione di cellule, tessuti o organi per ripristinare funzionalità fisiologiche compromesse da cause quali difetti congeniti, malattie, traumi o invecchiamento. La MR fa uso di una combinazione di diversi approcci tecnologici che la rendono differente e assai più complessa rispetto ad un approccio tradizionale basato esclusivamente sul trapianto di organi. La Medicina Rigenerativa può essere suddivisa nei seguenti settori caratterizzati da soluzioni terapeutiche e metodologie differenti:

- 1) Ingegneria dei tessuti che fa uso di una combinazione di cellule e materiali artificiali per produrre in laboratorio tessuti impiantabili come per esempio la pelle artificiale per la cura di grandi ustionati.
- 2) Ingegneria biomedica per lo sviluppo di dispositivi che mimano le funzioni di organi (ad esempio pompe per il rilascio controllato di insulina)
- 3) Terapie basate sul trapianto di cellule staminali ricavate da donatori per la creazione di nuovi tessuti
- 4) Terapia genica in cui materiale genetico viene introdotto in cellule dell'organismo per modificarne il comportamento.

In questa breve introduzione alla Medicina Rigenerativa ci occuperemo in maggior dettaglio della prima metodologia in cui il ruolo di materiali nanostrutturati è preponderante. In particolare, come vedremo nel seguito, il controllo di materiali su scala nanometrica viene considerato come elemento strategico per ottenere la massima efficacia terapeutica.

L'obiettivo ideale della MR e' quello della (ri)costruzione in vivo (nel paziente) o in vitro (in provetta) di organi e tessuti complessi consistenti in una impalcatura fatta da materiali sintetici o naturali che siano stati "imbevuti" di cellule viventi.

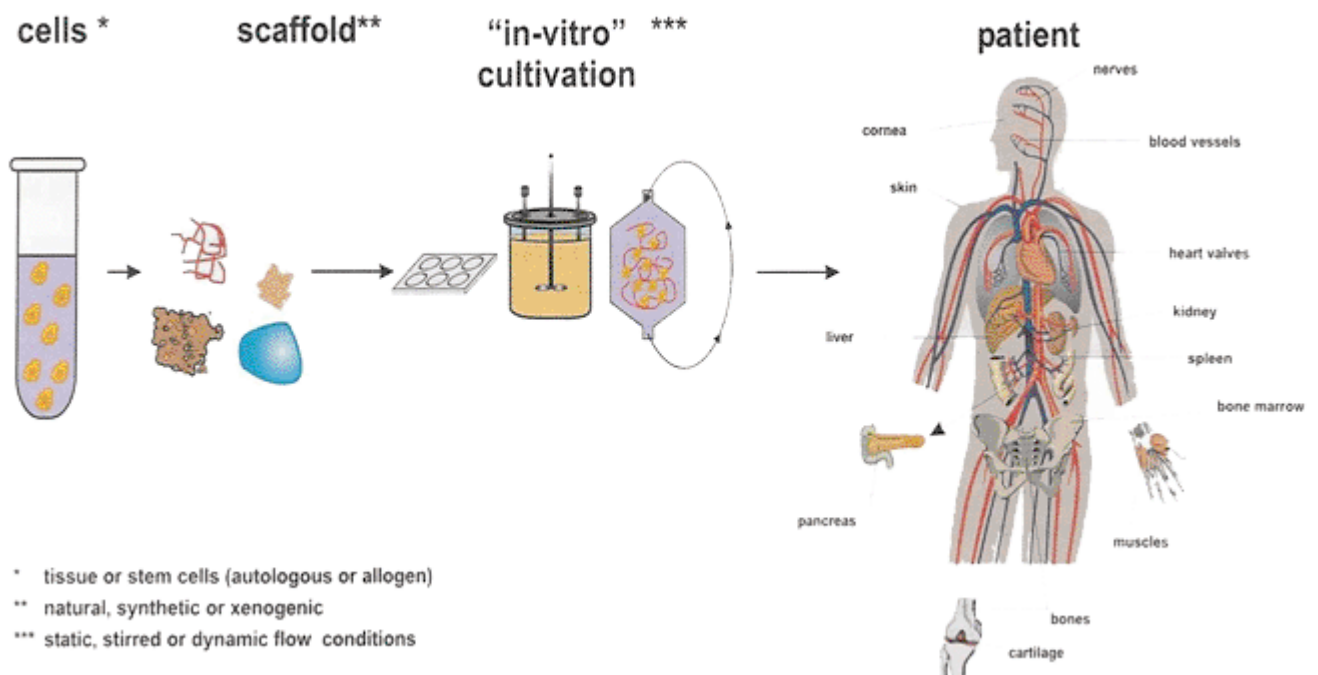


Figura 1: Schema tipico di approccio alla generazione di tessuti in vitro ed al successivo trapianto in paziente

La Matrice extracellulare

La matrice extracellulare (ECM) è un'entità strutturale complessa che circonda e sostiene le cellule all'interno dei sistemi viventi. Nei tessuti dei mammiferi l'ECM è più comunemente presente nei tessuti connettivi, come tendini, cartilagine, osso o derma della pelle. L'ECM è prodotta e mantenuta dalle cellule che la abitano: cambiamenti nella quantità e organizzazione delle componenti ECM ne modificano la struttura. Le proteine all'interno della ECM possono essere suddivise in diverse classi in base alla loro struttura e funzione, quella più importante è la classe strutturale costituita principalmente dalle famiglie del collagene e della elastina. Le fibre di collagene costituiscono l'intelaiatura della matrice che sostiene le cellule, conferendole stabilità meccanica, le fibre di elastina offrono flessibilità e resilienza. Proteine come la fibronectina, laminina, e tenascina servono da adesivo all'interno della matrice; queste proteine consentono alle cellule di attaccarsi alla matrice. Sistemi fibrillari come i proteoglicani stabilizzano la matrice in ambiente acquoso costituendo una struttura altamente intricata ed interconnessa.

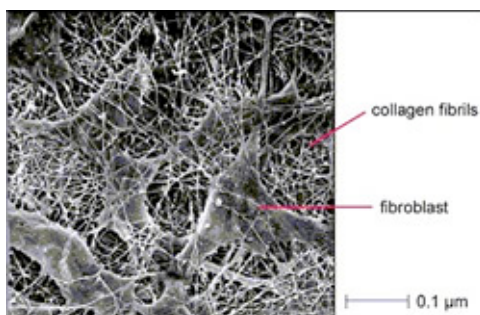


Figura 2A: Fotografia di una porzione di ECM naturale su cui sono adesi alcune cellule (fibroblasti) Copyright Molecular Cell Biology, Scientific American Books

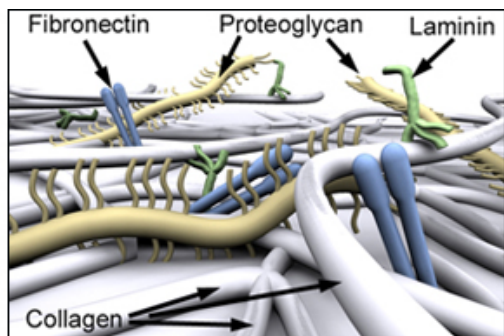


Figura 2B: rappresentazione schematica della struttura della matrice extracellulare.
fonte: <http://www.reading.ac.uk/cellmigration/matrix.htm>

Il collagene è il componente principale del tessuto connettivo: la struttura rigida o flessibile e le modifiche strutturali in molti tessuti del corpo sono spesso il risultato di cambiamenti nella composizione del collagene. La membrana basale che circonda l'endotelio dei vasi sanguigni, è composta di proteine e proteoglicani, come il collagene, laminina, entactin, fibronectina, etc.. Questa membrana agisce come una barriera fisica tra l'epitelio e i tessuti sottostanti. Essa fornisce la superficie di ancoraggio cellulare, fornisce il supporto architettonico ed induce la differenziazione cellulare. **E' assai importante notare come la matrice extracellulare nelle sue varie forme sia organizzata per fornire stimoli meccanici, strutturali e chimici su scala nanometrica.**

I biomateriali nanostrutturati

La pratica di utilizzo di protesi artificiali per la sostituzione parziale o totale di tessuti e/o organi danneggiati o mal funzionanti è basata sulla disponibilità di biomateriali che possiamo definire “passivi” ovvero capaci di svolgere un’azione essenzialmente meccanica di sostegno o riempimento senza indurre reazioni immunitarie di rigetto nell’organismo ospite.



Figura 3A: artroprotesi d' anca basata su componenti fabbricati in metallo e materiale plastico. Questa protesi e' l'esempio tipico dell'approccio tradizionale in cui la funzionalità viene ripristinata mediante impianto di sistemi "passivi" la cui funzione è esclusivamente meccanica senza alcuna integrazione di carattere biologico con i tessuti ospiti. www.patologieortopediche.com

Questa prassi appare ormai superata da una nuova generazione di biomateriali in grado di fungere da “impalcatura” per ospitare cellule che organizzandosi ricostruiscono il tessuto mandante in vitro grazie anche agli stimoli di natura chimica ed alla riorganizzazione strutturale che il biomateriale e' in grado di fornire nel tempo. Abbiamo così un ruolo “attivo” dei biomateriali che partecipano e determinano la ricostruzione dei tessuti e degli organi.

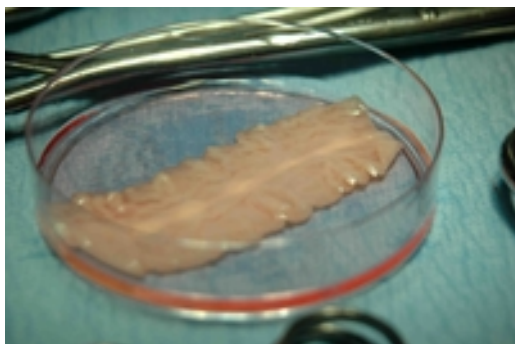


Fig. 3B: tessuto tracheale coltivato in vitro a prtendo da cellule prelevate dal paziente a cui il tessuto sta per essere reimpiantato (© Fraunhofer IGB)

I biomateriali nanostrutturati occupano una posizione centrale nelle strategie di sviluppo della medicina rigenerativa come ambienti con caratteristiche strutturali e chimiche in grado di controllare e dirigere il comportamento e la funzionalità cellulare in analogia con l'ECM. L'interazione con biomateriali può facilitare il ripristino di strutture o funzioni di tessuti danneggiati o mal funzionanti sia in condizioni di inserimento dei biomateriali in pazienti, sia come supporti per la ricostruzione in vitro di tessuti e/o organi i vista di un successivo trapianto. In quest' ultimo caso i biomateriali devono essere dotati di una struttura tridimensionale in grado di interagire con le

cellule, controllandone le funzioni ed indirizzandone la ricostituzione di tessuti complessi. Materiali di derivazione biologica e di sintesi sono stati ampiamente esplorati in medicina rigenerativa e ingegneria dei tessuti: in generale, materiali provenienti da fonti naturali (ad esempio, il collagene da tessuti animali) sono vantaggiosi per le loro proprietà intrinseche di riconoscimento e di affinità biologica. Tuttavia essi presentano anche notevoli svantaggi quali l'immunogenicità e la potenziale trasmissione di agenti patogeni.

I biomateriali sintetici offrono maggiori garanzie di sicurezza e flessibilità nel controllo delle funzioni cellulari. Negli ultimi anni si è affermato un nuovo paradigma nella costruzione di biomateriali sintetici basato sullo sfruttamento dei principi derivanti dalla biologia cellulare e molecolare ed arrivando a riprodurre con sempre maggiore precisione le caratteristiche strutturali, fisiche e chimiche della matrice extracellulare su scala nanometrica.

Il comportamento delle cellule dipende dalla loro interazione con l'ambiente circostante quindi sarà influenzata dalla struttura e dalle proprietà fisico-chimiche del biomateriale quali la l'energia di superficie o la sua composizione chimica. In particolare la topografia è uno stimolo cruciale: infatti è noto che la strutturazione della superficie su scala micrometrica e nanometrica influenza l'adesione, la proliferazione ed il differenziamento cellulare. In alcune applicazioni della MR il controllo dell'orientazione delle cellule è essenziale per ottenere un tessuto funzionale come nel caso dei tendini, nervi, cornea. La modulazione di stimoli chimici (proteine adese) su scala nanometrica è altresì un fattore importante di influenza del comportamento cellulare.

Poiché la nanotopografia gioca un ruolo fondamentale nella guida del comportamento cellulare, biomateriali caratterizzati da un controllo a livello nanometrico della loro struttura superficiale vengono usati sempre più frequentemente per la rigenerazione di tessuti. Svariati metodi litografici vengono usati per generare strutture fisiche e chimiche nanometriche ordinate o disordinate sulle superfici.

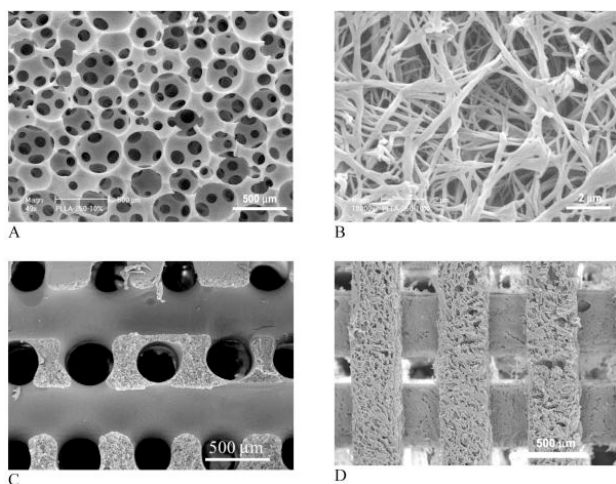


Figura 4: Alcuni esempi di biomateriali sintetici nano strutturati caratterizzati da strutture che li rendono adatti a favorire l'adesione cellulare influenzandone la proliferazione ed il differenziamento Adv Funct Mater. 2008, 18, 3566

Materiali interamente costituiti da componenti nanometriche vengono largamente usati per esempio nella rigenerazione del tessuto osseo (materiali metallici o ceramici). In questo caso si osserva sulla superficie di questi materiali un aumento dell'adesione e della proliferazione di cellule ossee (osteoblasti) ed una maggiore deposizione di calcio rispetto a materiali tradizionali non nano strutturati.

Numerosi studi in vivo ed in vitro hanno dimostrato la validità di un approccio basato su materiali nano strutturati nel caso della rigenerazione di differenti tessuti quali osso, cartilagine, nervi, vasi grazie ad un potenziamento dell'adesione, proliferazione migrazione cellulare.

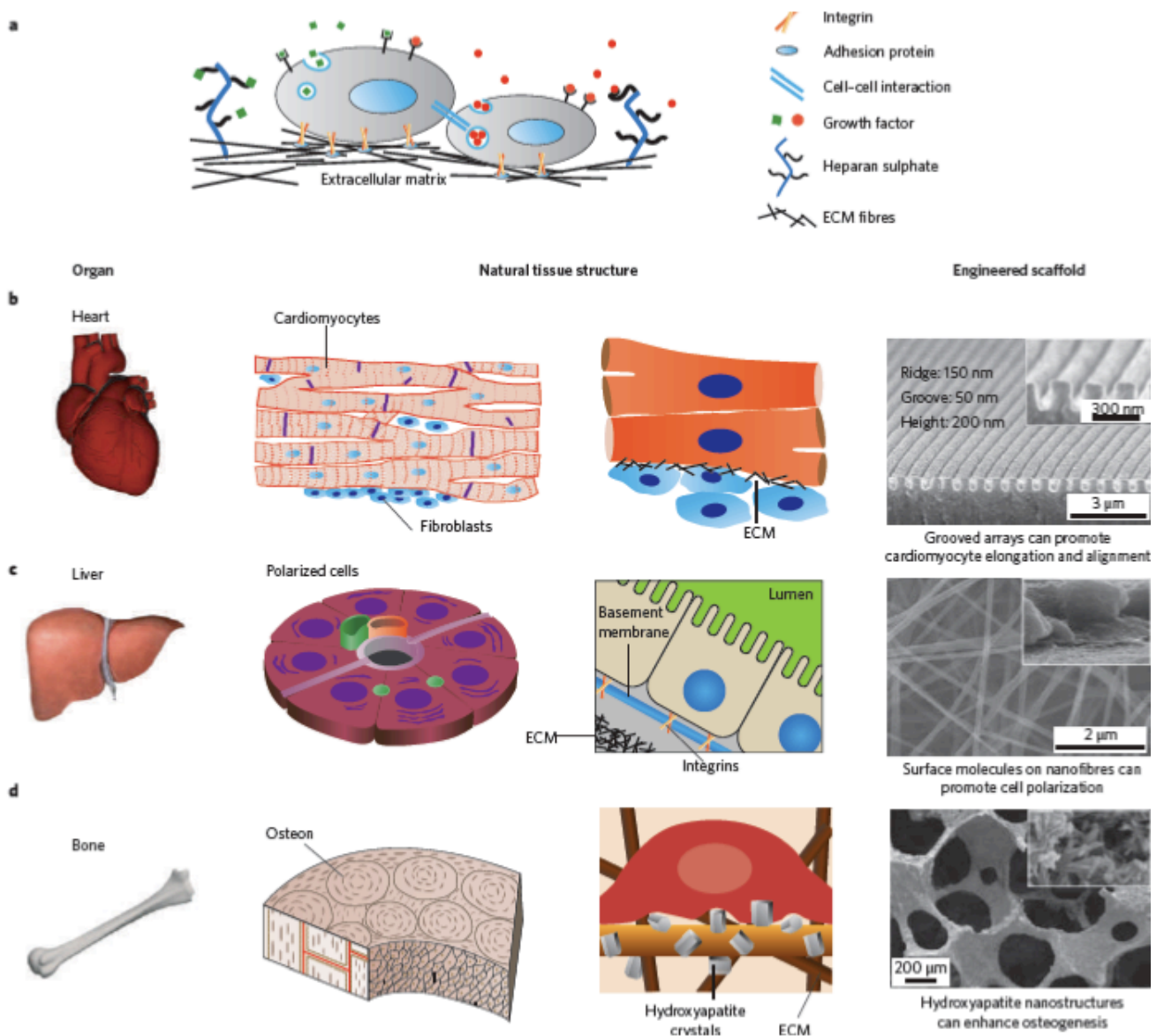


Figura 5: Schema delle varie strutture utilizzate dai materiali nano strutturati che fungono da impalcature per la rigenerazione di organi e tessuti: per il cuore si usano materiali caratterizzati da strutture lineari parallele per allineare le cellule cardiache in fase di crescita. Nel caso del fegato si usano fibre interconnesse per favorire la polarizzazione cellulare, mentre nel caso dell'osso si usano intelaiature porose ma strutturalmente resistenti simili a quelle naturali. www.nextbigfuture.com

Tra le possibili strutture che possono rimpiazzare la matrice extracellulare sono molto studiate ed utilizzate quelle costruite a partire da nano fibre polimeriche. Le nano fibre hanno una grande superficie attiva e possono essere assemblate in modo da formare una struttura altamente porosa ed interconnessa. Questa struttura favorisce la colonizzazione da parte delle cellule e lo scambio efficiente di nutrienti e metaboliti tra le cellule che hanno colonizzato la struttura a base di nano fibre e l'ambiente circostante. Le nano fibre possono essere prodotte usando materiali polimerici naturali o artificiali.

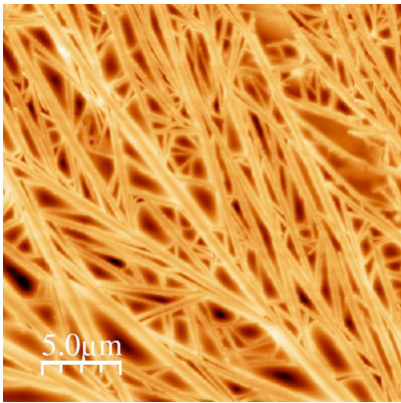


Figura 6: Immagine ottenuta mediante microscopia a forza atomica di una matrice artificiale simile all'ECM prodotta tramite l'assemblaggio di proteine artificiali
<http://www.npl.co.uk/news/the-extracellular-matrix>

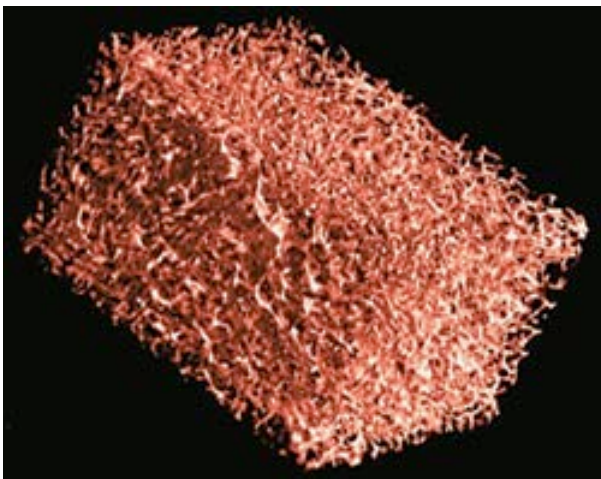


Figura 7 Impalcatura polimerica ad alta porosità costituita di un materiale biocompatibile e bioassorbibile.
www.rsc.org/Publishing/ChemScience/Volume/2007/09/Temperature_responsive_scaffolding.asp

Prospettive

L'ingegneria dei tessuti è un mercato emergente che coinvolge il settore ricerca e sviluppo delle migliori università ed aziende a livello mondiale. E' un settore multidisciplinare che fa parte sia del campo dei dispositivi medici sia di quello biotecnologico/biofarmaceutico. Il mercato dell'ingegneria dei tessuti e della medicina rigenerativa è nato a metà del 1990 con l'introduzione di prodotti per la cura delle ferite e le applicazioni ortopediche. Da quel momento il mercato si è ampliato sostanzialmente, avvicinandosi a 1,5 miliardi dollari nel 2008, ed è destinato a crescere avvicinandosi a 3,2 miliardi dollari entro il 2013.

Ogni anno negli Stati Uniti dai 40 ai 90 milioni di giorni di degenza sono dovuti al fallimento delle terapie per la cura e la rigenerazione di organi e tessuti. L'onere per il sistema sanitario è significativo, avvicinandosi a circa la metà della spesa totale annua per l'assistenza sanitaria. Una forte crescita è prevista per molteplici segmenti di prodotto. Ambiti con grandi volumi e/o elevato potenziale di crescita includono il settore neurologico, ortopedico, cardiovascolare, urologico, odontoiatrico e quello della cura delle ferite. Oltre ad un elevato potenziale in diverse aree della procedura clinica, esistono grandi opportunità nei mercati internazionali. Gli Stati Uniti, che rappresentavano il 90% del mercato globale nel 2008, resteranno il principale mercato e godranno di una rapida crescita. Tuttavia si prevede per i mercati in Europa, Giappone e Resto del mondo una crescita con tassi significativamente più elevati rispetto agli USA.

Per quanto riguarda il mercato delle protesi ortopediche, in Italia sono circa tre milioni i disabili, pari al 5% della popolazione, attorno ai quali ruota un mercato di prodotti e di ausili ortopedici che sfiora i 700 milioni di euro.

Conclusioni

La Medicina Rigenerativa può cambiare sostanzialmente l'approccio alla cura di molte patologie permettendo di generare tessuti od organi danneggiati utilizzando cellule prelevate dal paziente, coltivandole su appositi supporti nano strutturati in laboratorio e reimpiantandole successivamente. L'uso di materiali nanostrutturati è fondamentale dal momento che il comportamento cellulare negli organismi viventi e' influenzato da stimoli meccanici, strutturali e chimici che vengono modulati su scala nanometrica. Per questo motivo metodologie provenienti da aeree scientifiche anche apparentemente molto distanti devono essere integrate per riprodurre la complessità osservata in natura.