

UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

DNS

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE  
ISTITUTO DI ANATOMIA UMANA



fondazione  
onlus  
tes

AVIS  
ASSOCIAZIONE VOLONTARI ITALIANI SANGUE  
ABVS  
ASSOCIAZIONE BELLUNESA VOLONTARI DEL SANGUE

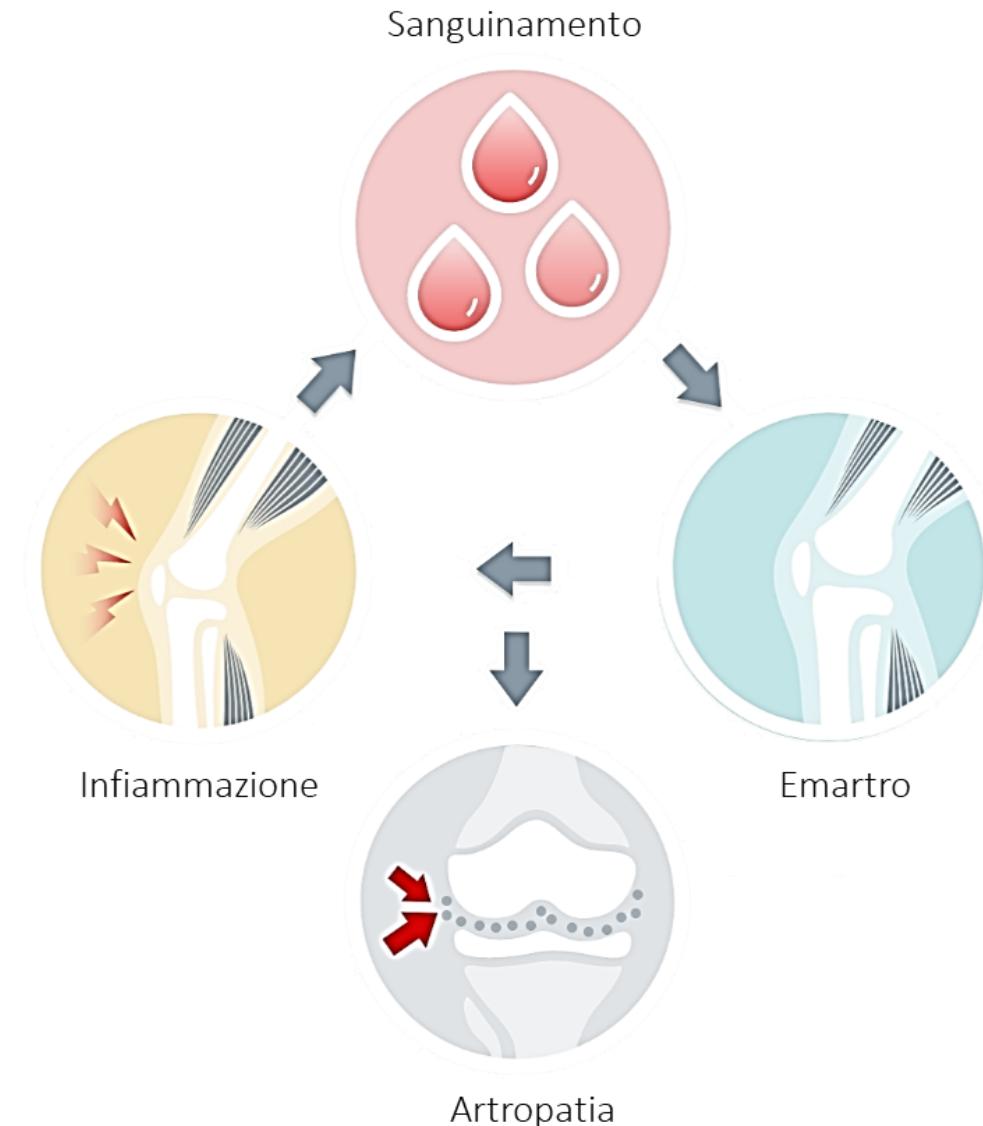


DAL LABORATORIO AL PAZIENTE:  
STRATEGIE D'AVANGUARDIA in MEDICINA RIGENERATIVA

Polivinil Alcol (PVA) e matrice cartilaginea:  
un innovativo biomateriale  
per curare le articolazioni nei pazienti emofilici

# ARTROPATIA EMOFILICA

- L'**emofilia** può danneggiare le articolazioni: nei pazienti emofilici i sanguinamenti ripetuti nelle articolazioni provocano infiammazione e progressiva distruzione della cartilagine. Questa patologia si chiama **artropatia emofilica** ed è molto simile all'**osteoartrite**.
- Le terapie attuali rallentano il danno, ma non rigenerano la cartilagine: farmaci, fisioterapia e chirurgia aiutano a controllare la malattia, ma non ricostruiscono il tessuto danneggiato.
- La **medicina rigenerativa** offre una nuova strada: i biomateriali tridimensionali (scaffold) possono guidare cellule staminali o condrociti a ricostruire la cartilagine.

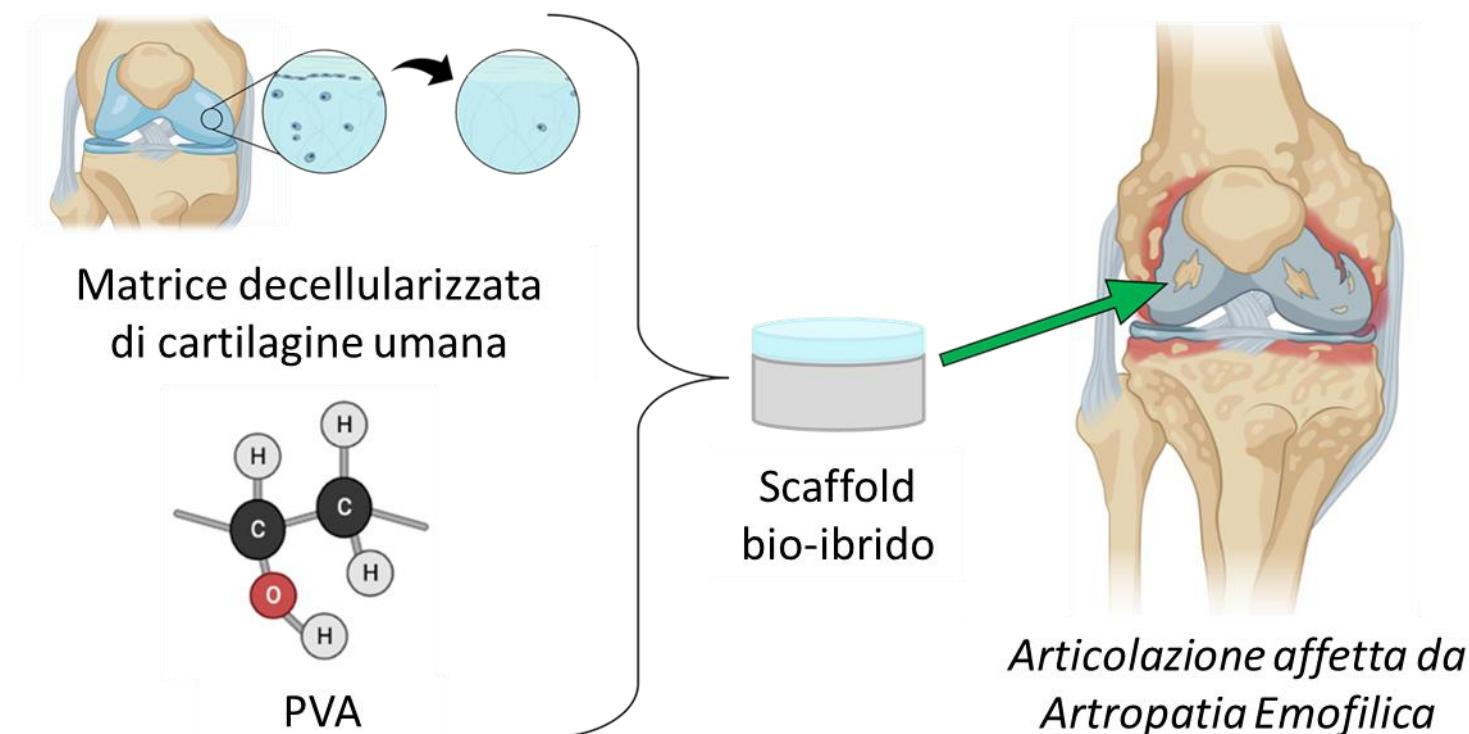


Questo studio ha riguardato la progettazione, lo sviluppo e lo studio *in vitro* di uno scaffold bio-ibrido in polivinil alcol (PVA) e matrice di cartilagine, in prospettiva di un suo utilizzo per la rigenerazione della cartilagine articolare nel paziente emofilico affetto da artropatia emofilica.

➤ Il PVA è un idrogel promettente perché è resistente, elastico e simile alla cartilagine, ma ha un difetto: le cellule non aderiscono bene alla sua superficie.

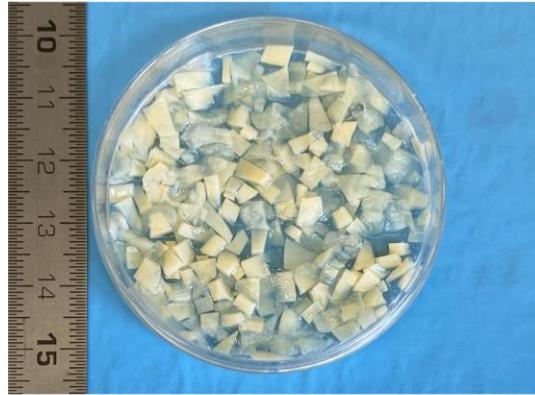
➤ **Idea dello studio:**

combinare il PVA con cartilagine umana decellularizzata, cioè un materiale naturale privo di cellule, ricco di proteine e segnali biologici che favoriscono la crescita cellulare.

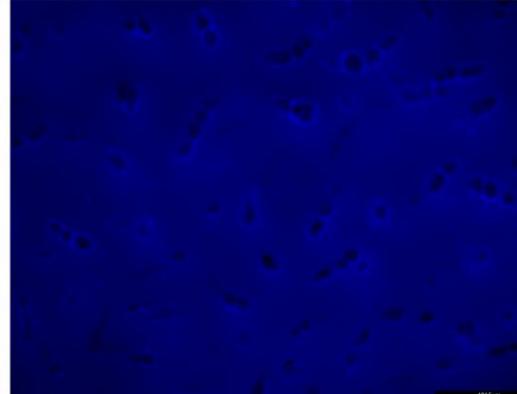
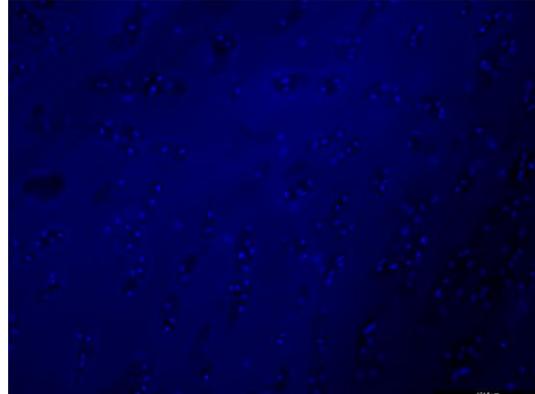
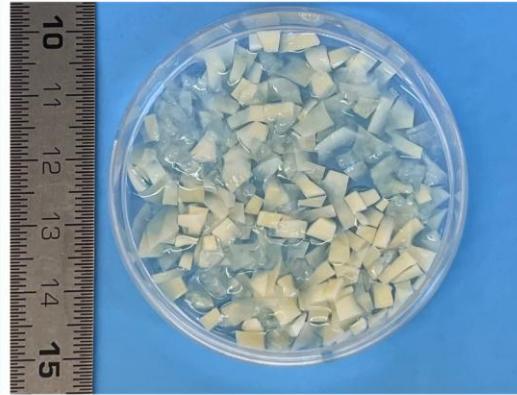


## DECCELLULARIZZAZIONE DELLA CARTILAGINE ARTICOLARE

Cartilagine nativa



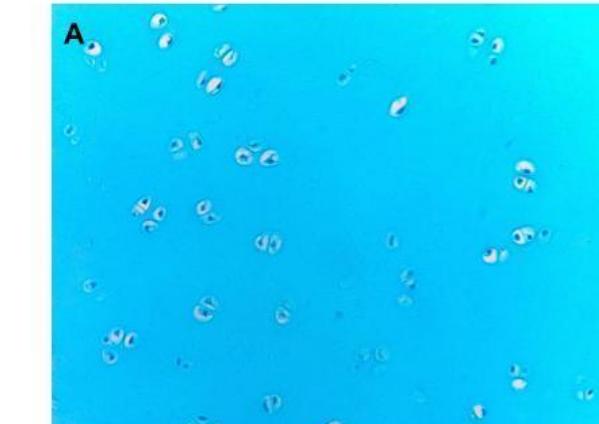
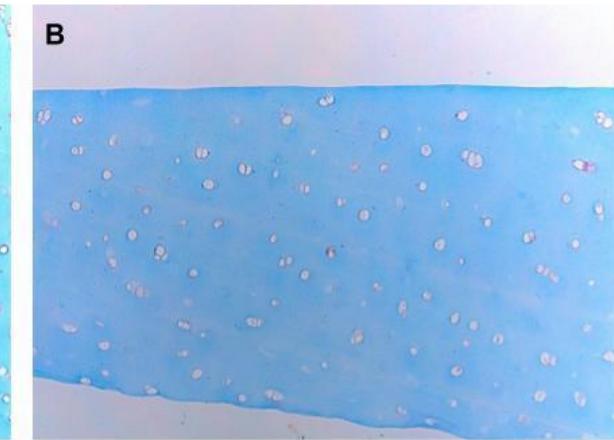
Cartilagine decellularizzata



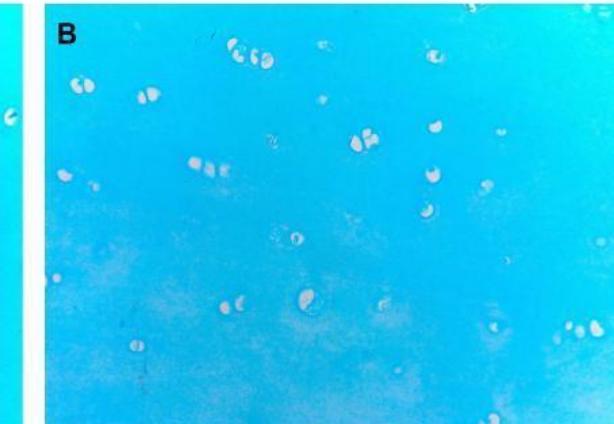
Cartilagine nativa



Colorazione Azan-Mallory (blu: collagene)



Colorazione Alcian Blue (blu/azzurro: glicosamminoglicani)



✓ La cartilagine è stata decellularizzata con successo:

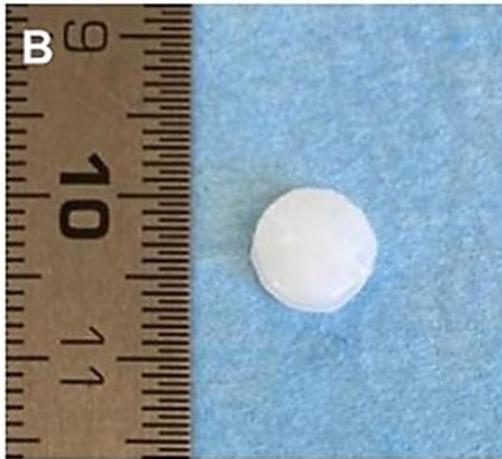
le analisi mostrano che sono state eliminate quasi tutte le cellule e il DNA, mantenendo però intatta la struttura del tessuto.

## STRUTTURA DEGLI SCAFFOLD BIO-IBRIDI

15%PVA/AC\_ *bilayer*

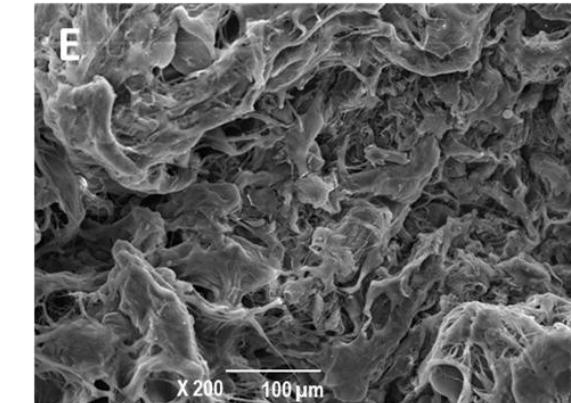
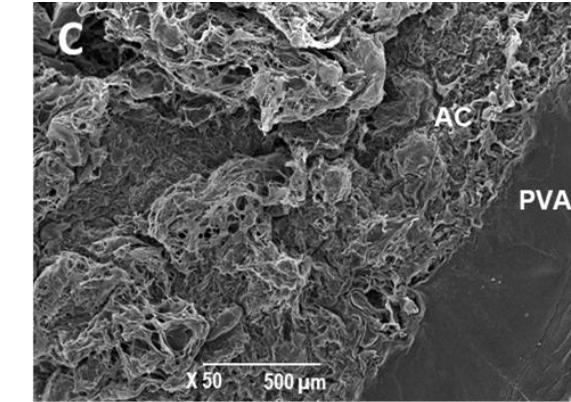


15%PVA/AC\_ *blend*

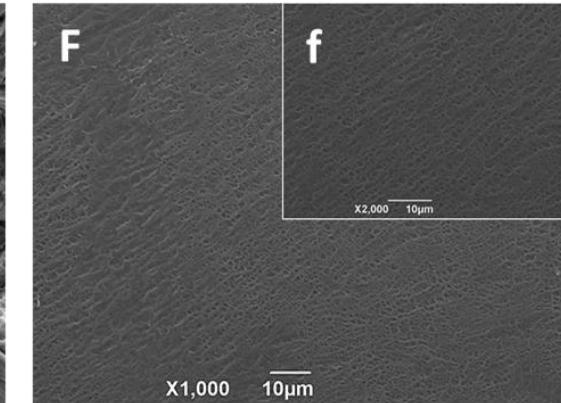
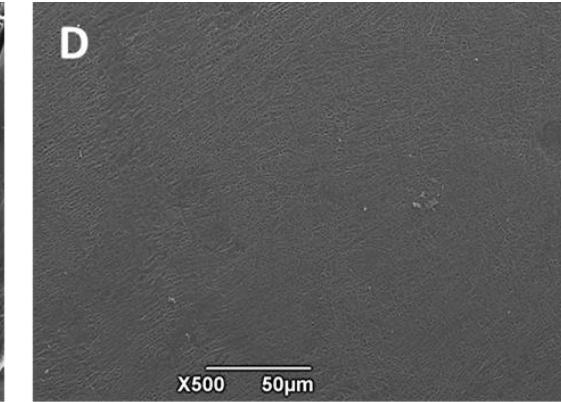


Aspetto macroscopico degli scaffold bio-ibridi

15%PVA/AC\_ *bilayer*



15%PVA/AC\_ *blend*



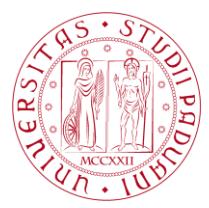
✓ Due tipi di scaffold bio-ibridi sono stati creati:

Bilayer → un foglio di cartilagine decellularizzata sopra uno strato di PVA

Blend → cartilagine sminuzzata e mescolata direttamente dentro il PVA

✓ **Morfologia e porosità diverse:** lo scaffold bilayer ha una superficie più porosa e simile alla cartilagine naturale, mentre il blend è più uniforme e simile a un PVA modificato.

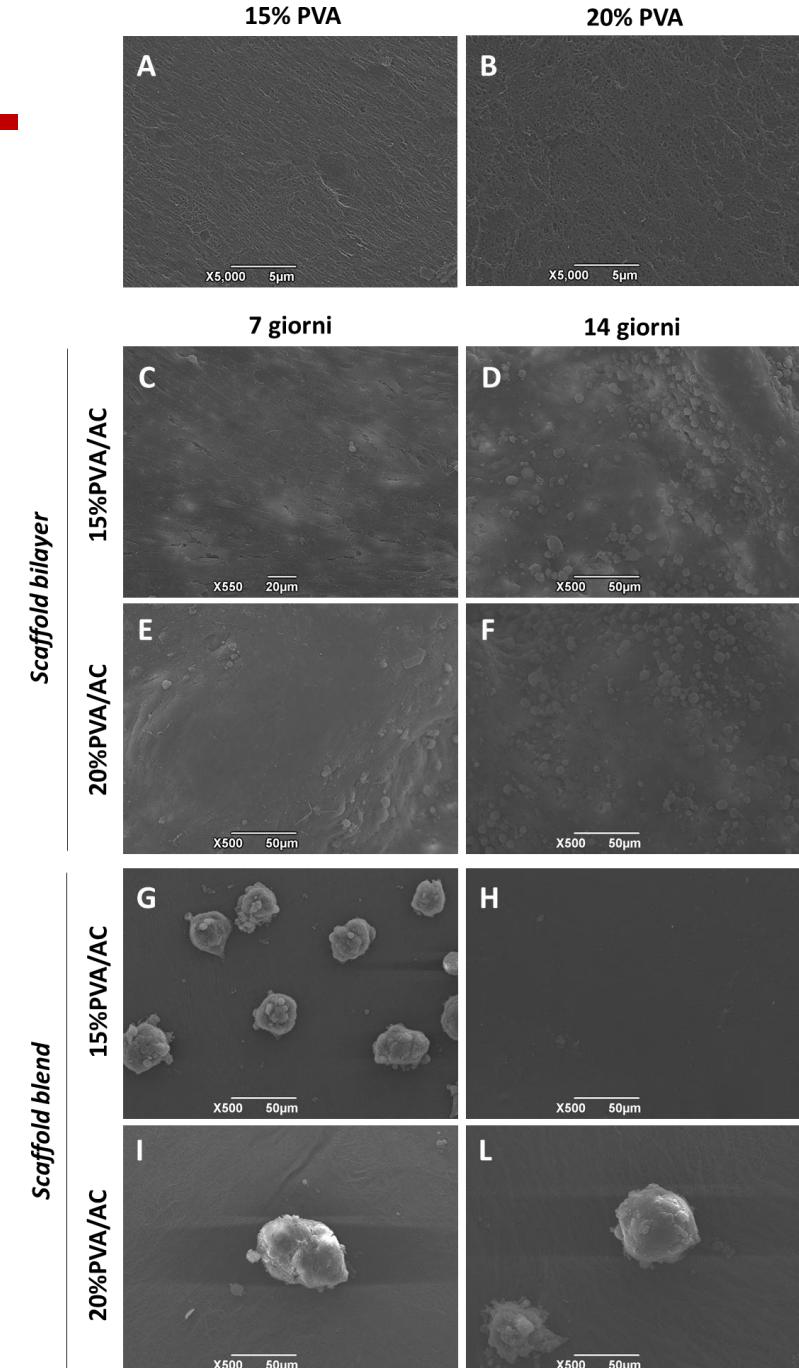
Ultrastruttura degli scaffold bio-ibridi analizzata al SEM



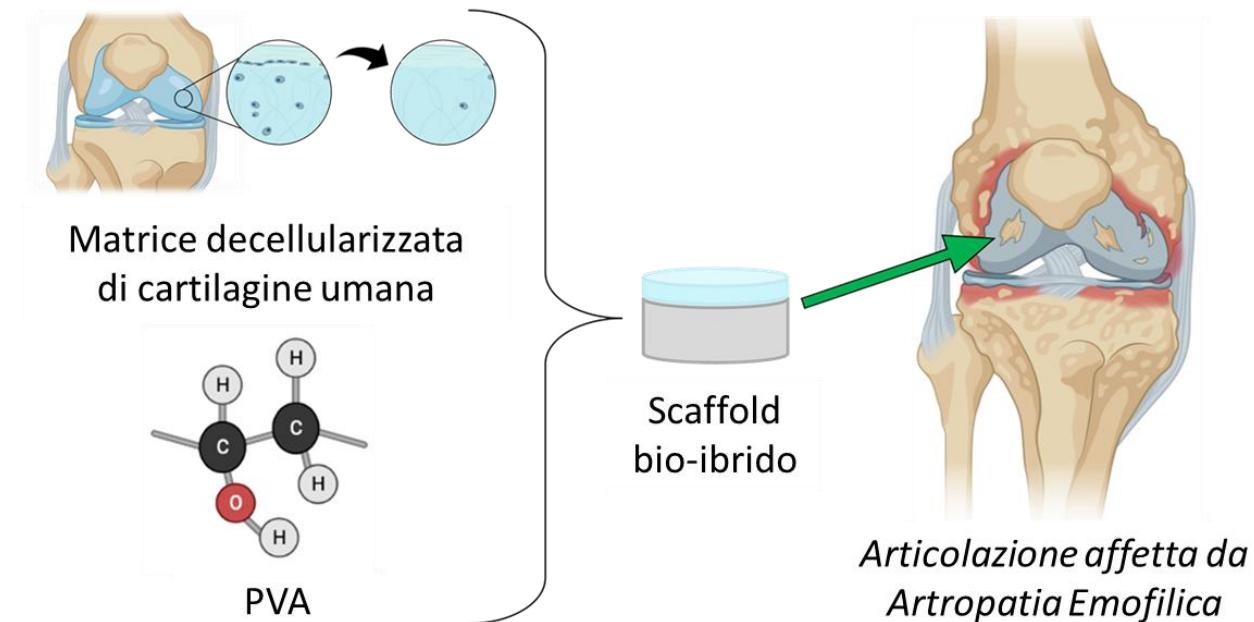
# INTERAZIONE DEGLI SCAFFOLD BIO-IBRIDI CON CELLULE STAMINALI

*Valutazione mediante SEM dell'adesione e proliferazione cellulare sugli scaffold PVA/AC bilayer e blend dopo 7 e 14 giorni dalla semina*

- Gli **scaffold bio-ibridi PVA/AC bilayer** (C-F) hanno favorito l'adesione e la proliferazione delle cellule, che hanno acquisito la caratteristica forma allungata e proliferato fino a formare un monostrato cellulare.
- Sugli **scaffold bio-ibridi PVA/AC blend** (G-L) le cellule sono identificabili sulla superficie come aggregati cellulari isolati (sferoidi).
- Sui supporti in solo PVA (A, B) non si è osservata crescita cellulare.



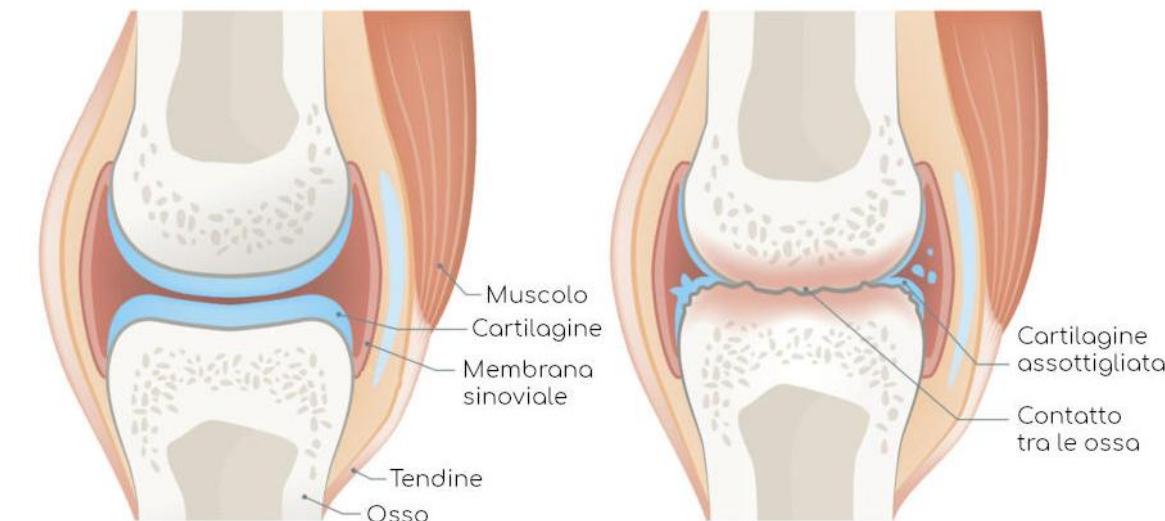
- Gli scaffold PVA + cartilagine decellularizzata sono sicuri e bioattivi, molto più efficaci del PVA puro nel sostenere la crescita cellulare.
- La configurazione bilayer è la più promettente per favorire l'adesione cellulare grazie alla superficie biologica più simile alla cartilagine naturale.
- La configurazione blend, pur meno efficace nell'adesione, crea un ambiente che supporta strutture cellulari 3D, potenzialmente utili per alcune applicazioni rigenerative.
- Lo studio rappresenta un passo importante verso nuovi impianti bio-ibridi per prevenire o rallentare l'artropatia emofilica, ma servono ulteriori test: differenziazione cellulare, stimolazioni meccaniche dinamiche e studi in vivo.



**Scaffold porosi a base di Polivinil Alcol ossidato (OxPVA) e matrice cartilaginea  
per rigenerare la cartilagine nella patologia dell'osteoartrite**

# OSTEOARTRITE

- **L'osteoartrite è una malattia degenerativa molto comune**, caratterizzata dalla progressiva degenerazione della cartilagine delle articolazioni. Può svilupparsi come conseguenza di **traumi o lesioni cartilaginee che non guariscono correttamente**, portando nel tempo a dolore, rigidità e limitazione funzionale.
- **Le lesioni della cartilagine guariscono difficilmente** perché il tessuto non è vascolarizzato e ha una capacità rigenerativa molto limitata, favorendo così la progressione verso l'artrosi.
- Le terapie attuali possono migliorare i sintomi ma non sempre ricreano una cartilagine di qualità e presentano limiti clinici importanti.
- **Gli idrogel rappresentano materiali promettenti** per imitare la struttura idratata della cartilagine, ma spesso i loro pori sono troppo piccoli per consentire un'adeguata crescita cellulare.



Articolazione  
sana

Osteoartrite  
(artrosi)



## ➤ Idea dello studio:

Questo studio sviluppa scaffold porosi di PVA ossidato (OxPVA), con o senza matrice decellularizzata da cartilagine umana, con l'obiettivo finale di creare un sistema intelligente per la rigenerazione della cartilagine articolare.

### OxPVA

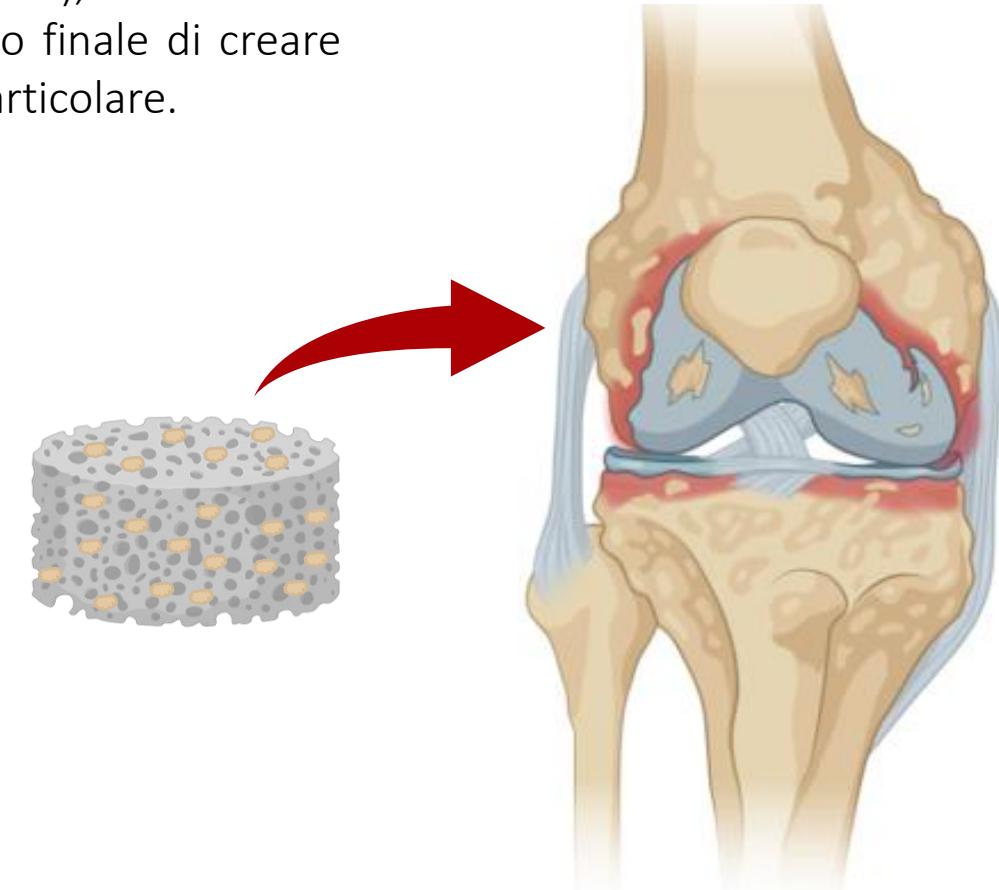
*Supporto biodegradabile per la rigenerazione tissutale*

### Cartilagine umana decellularizzata

*Incrementa la bio-attività dell'idrogel (fornendo proteine della matrice cartilaginea)*

### Porosità (10, 15, 25%)

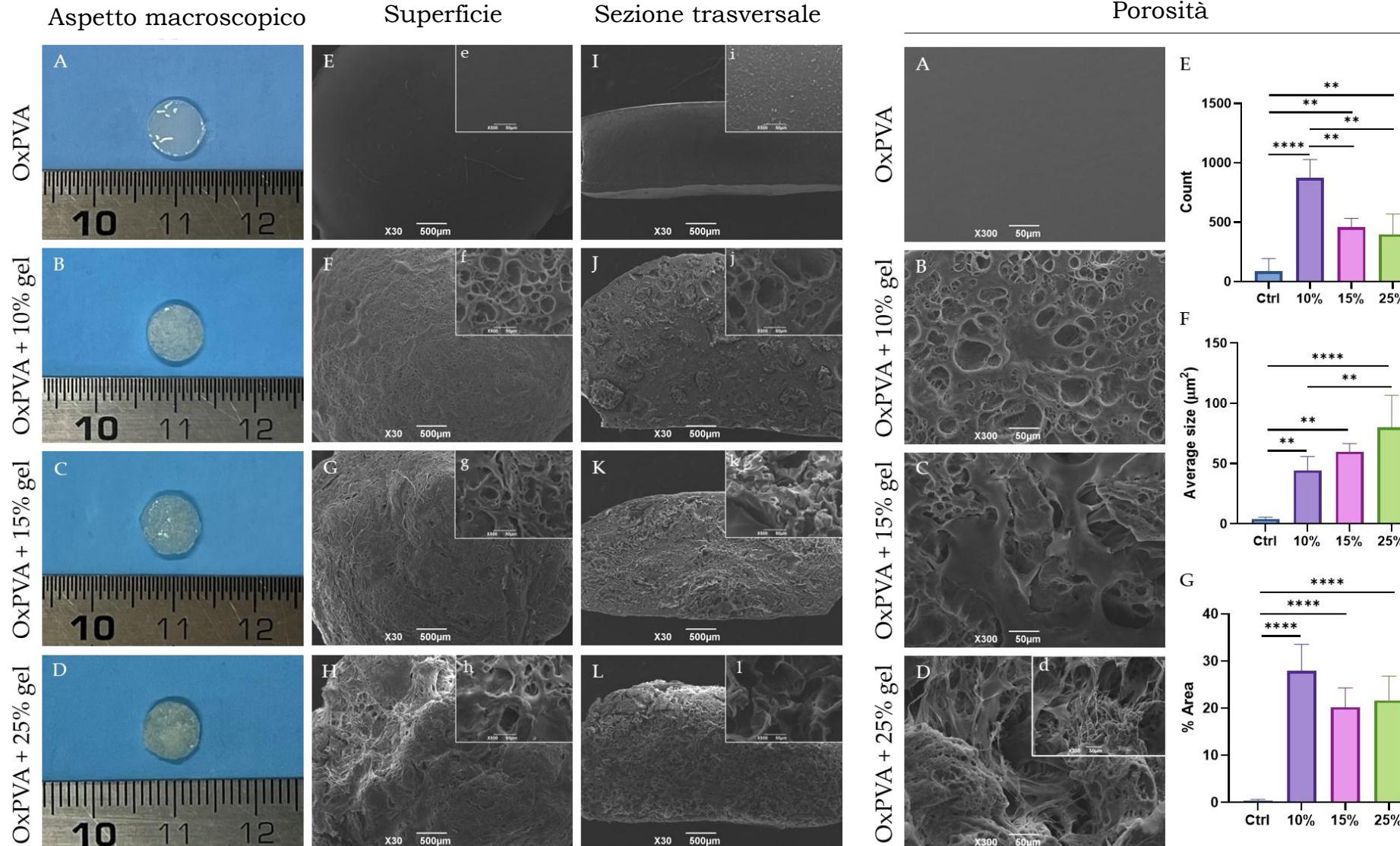
*Incrementa la bioattività dell'idrogel (favorendo la colonizzazione cellulare)*





## TIPI DI SCAFFOLD PER LA CARTILAGINE SVILUPPATI NELLO STUDIO

Tipo di scaffold	Come è fatto	Caratteristiche principali
OxPVA + 10% gel (gelatina)	Gelatina usata come “porogeno” per creare piccoli pori	Molti pori piccoli e distribuiti in modo uniforme
	Più gelatina per ottenere pori più grandi	Pori più ampi e comunicanti, struttura più aperta
	Massima quantità di gelatina tra quelle testate	Pori larghi, struttura molto porosa, migliore crescita cellulare
OxPVA + gel + matrice cartilaginea	Aggiunta di matrice extracellulare decellularizzata	Scaffold più bioattivo, con segnali naturali della cartilagine



## AUMENTO DELLA POROSITÀ

Più alta concentrazione di gelatina

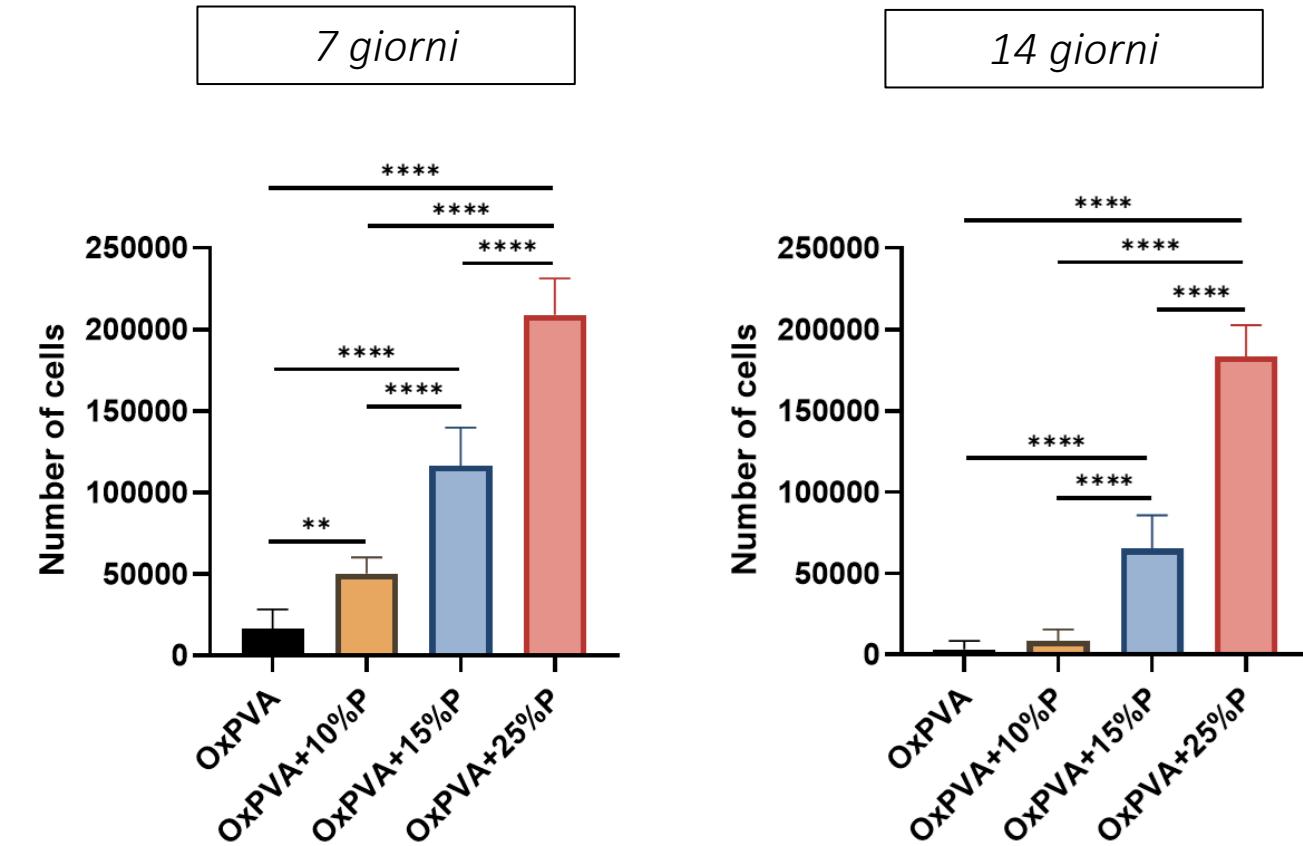


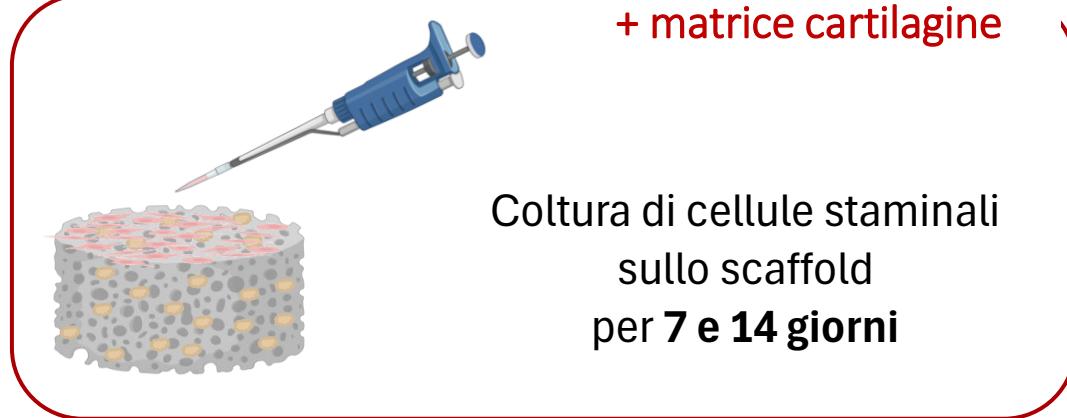
pori più grandi e maggiormente interconnessi, favoriscono l'ingresso di cellule e nutrienti



## MIGLIORE CRESCITA CELLULARE

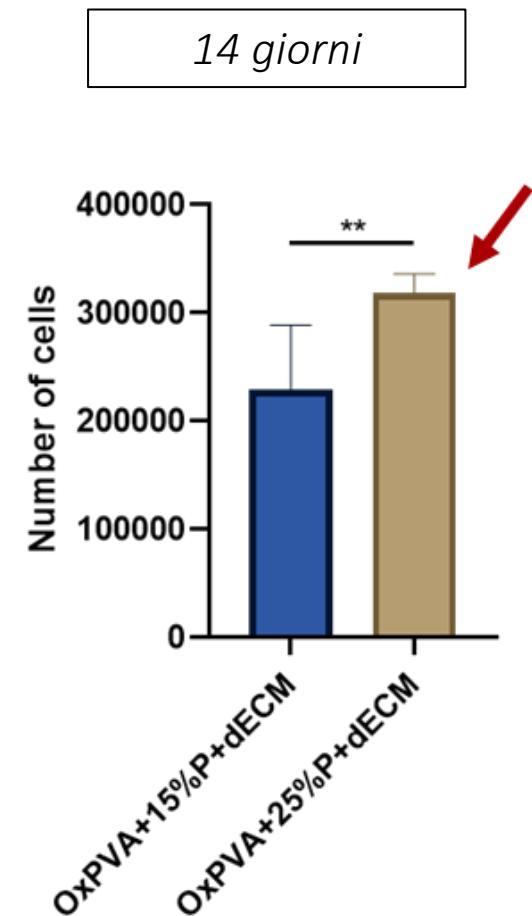
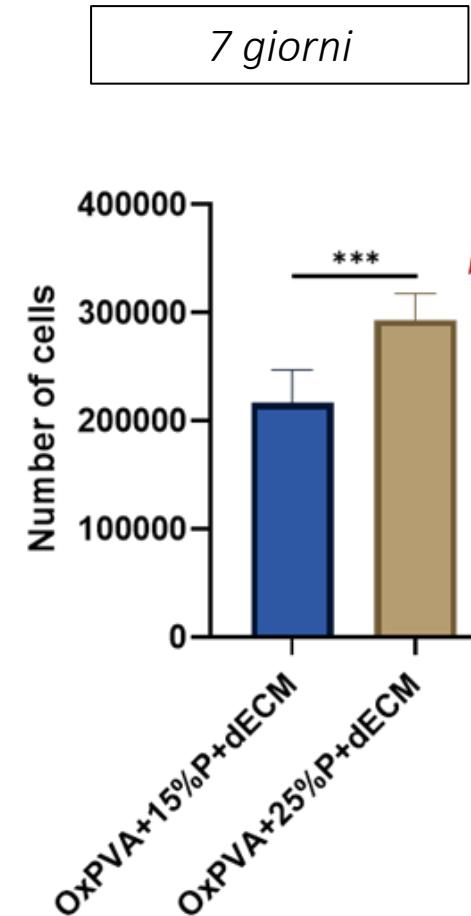
Gli scaffold OxPVA+25% gelatina  
hanno mostrato  
la migliore adesione e proliferazione  
delle cellule staminali



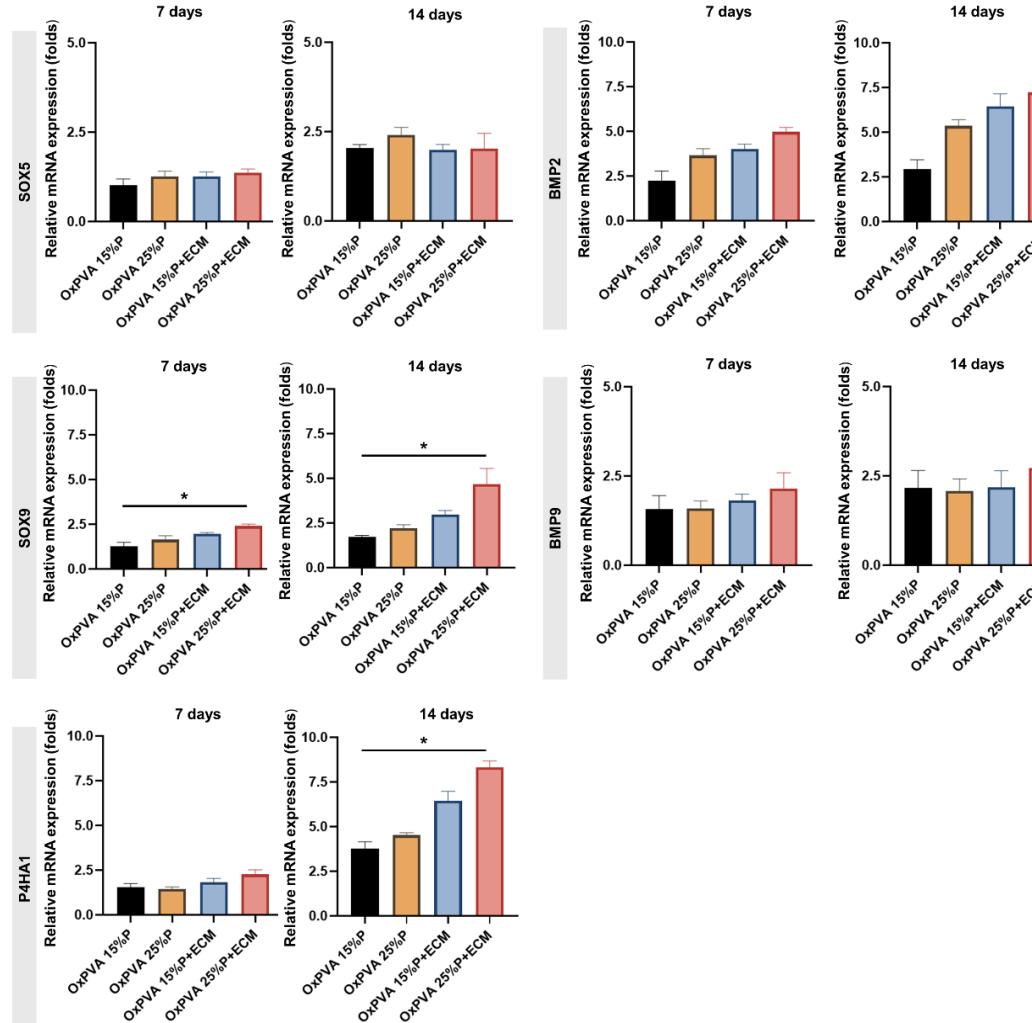


## MIGLIORE CRESCITA CELLULARE

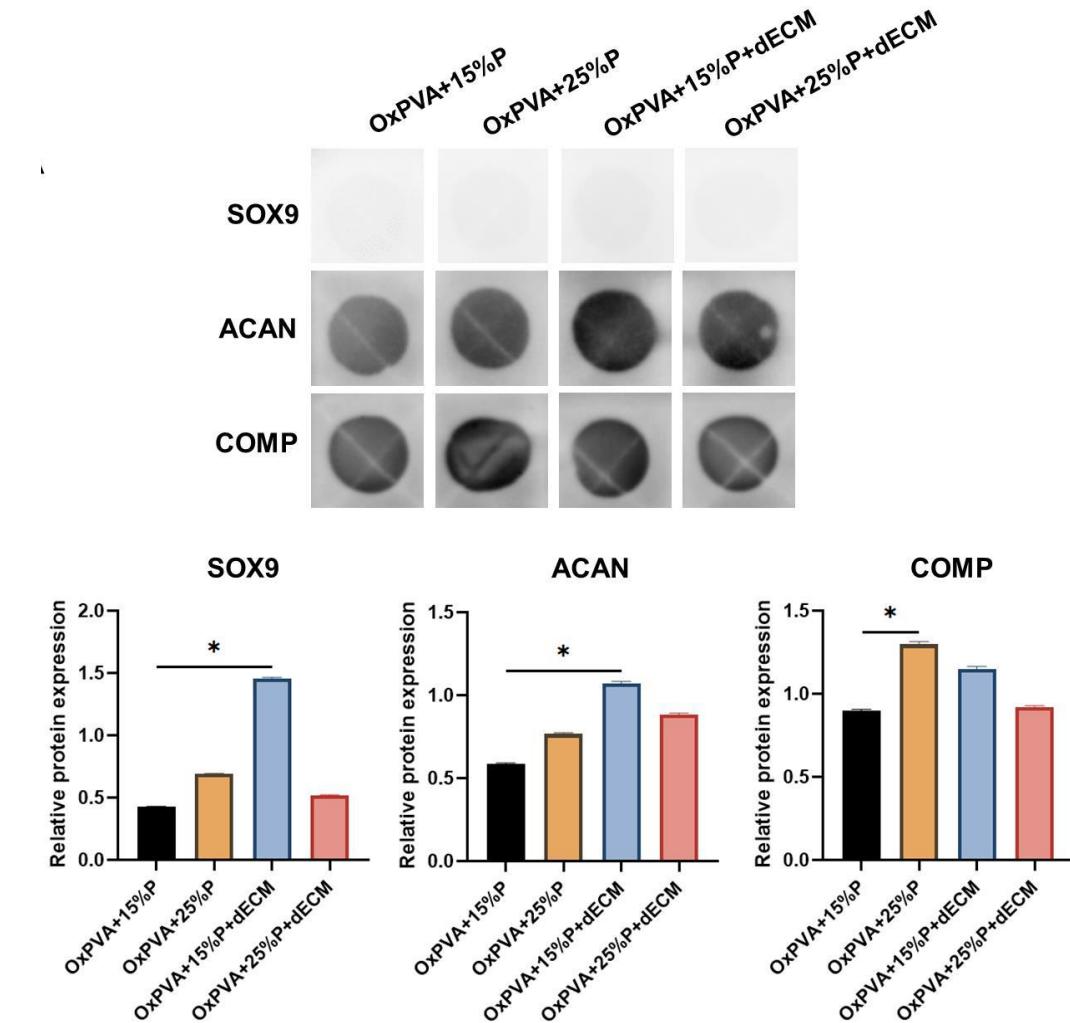
Gli scaffold OxPVA porosi  
con matrice di cartilagine  
hanno mostrato  
un aumento della **adesione e proliferazione**  
delle cellule staminali  
grazie alla **bio-attività della matrice stessa**



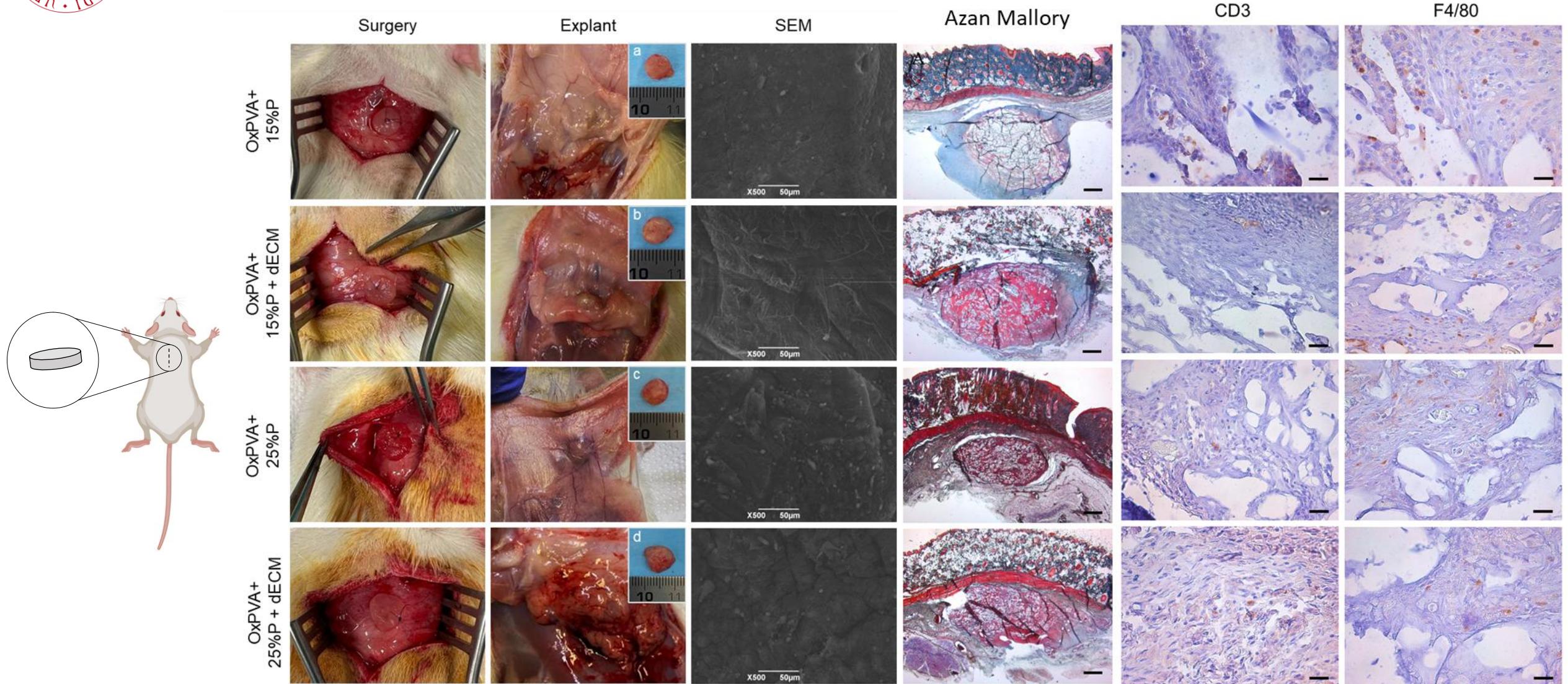
## Espressione di GENI specifici del TESSUTO CARTILAGINEO



## Espressione di PROTEINE della MARICE CARTILAGINEA

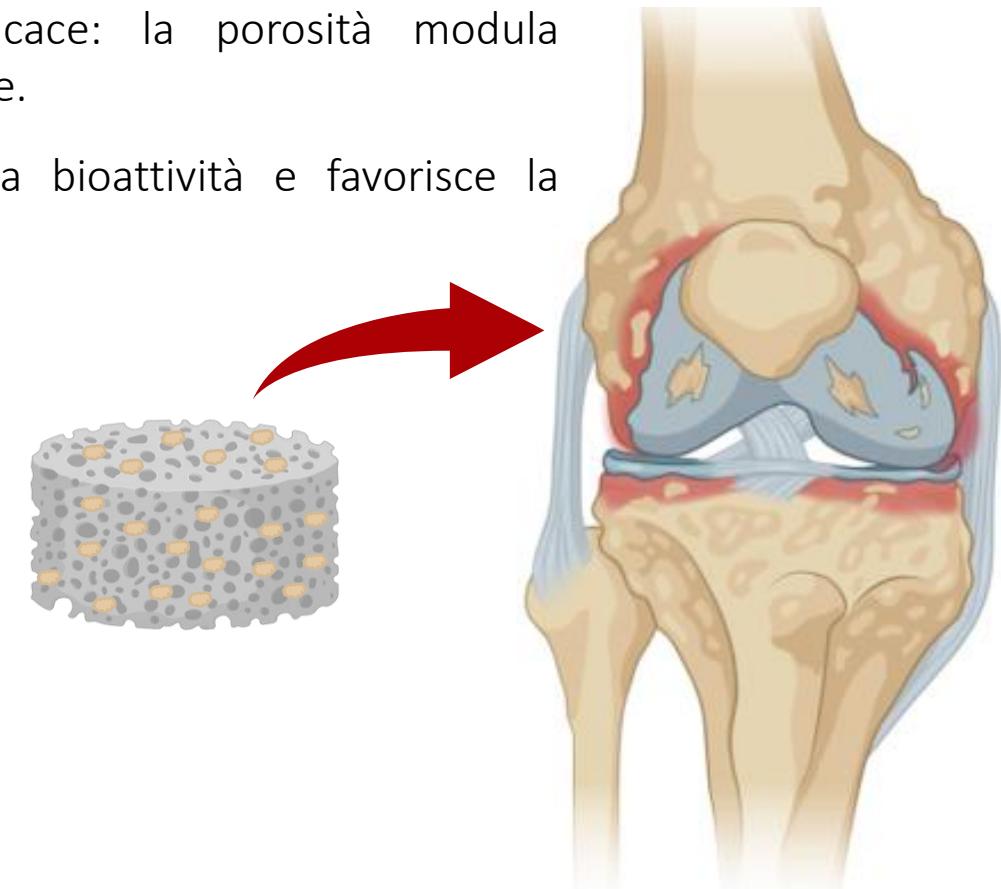


L'aggiunta di matrice cartilaginea decellularizzata agli scaffold porosi ne **migliora la bio-attività**, stimolando le cellule seminate sui supporti ad attivare **GENI** specifici della cartilagine e a produrre **PROTEINE** tipiche della matrice cartilaginea



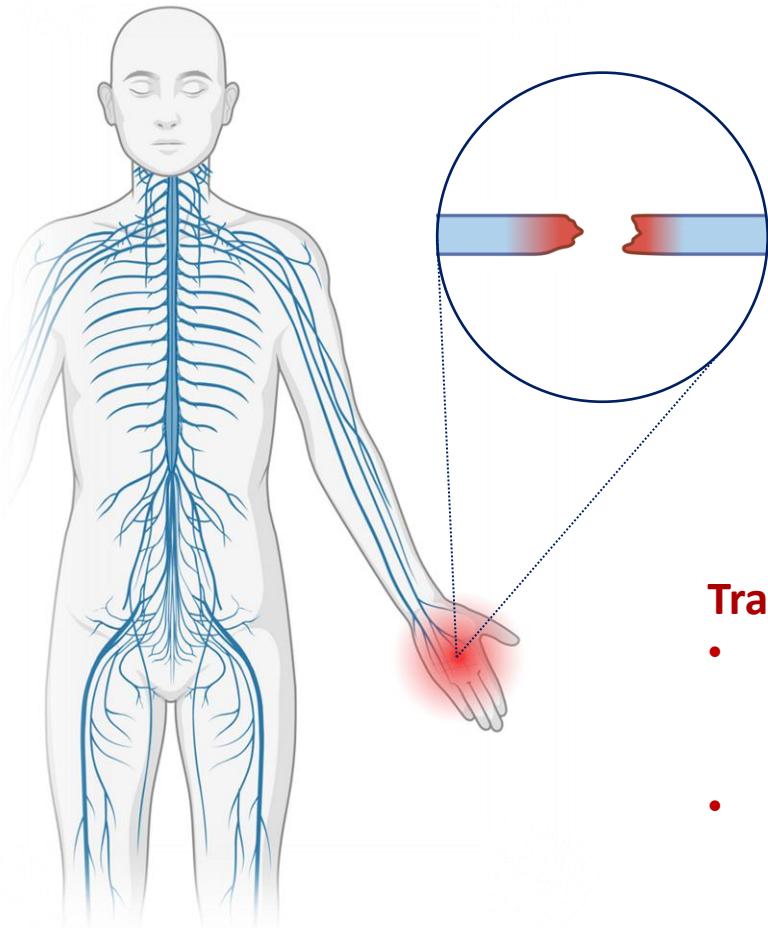
Gli scaffold in OxPVA poroso con o senza matrice cartilaginea hanno mostrato una **buona biocompatibilità in vivo**: l'impianto sottocutaneo nei ratti **non ha provocato infiammazione o rigetto**.

- I difetti della cartilagine articolare **restano una sfida clinica**, poiché la cartilagine non guarisce spontaneamente, aumentando il rischio di artrosi.
- Gli scaffold **OxPVA porosi** rappresentano una piattaforma efficace: la porosità modula microstruttura, proprietà meccaniche e capacità di supportare le cellule.
- L'integrazione di **matrice cartilaginea decellularizzata** incrementa la bioattività e favorisce la specializzazione verso le caratteristiche del tessuto cartilagineo.
- La combinazione **porosità + matrice cartilaginea** produce i risultati migliori in termini di proliferazione cellulare e produzione di matrice specifica della cartilagine.
- Gli scaffold mostrano **alta biocompatibilità** e rappresentano una base promettente per sviluppare futuri costrutti cartilaginei.



Nanotubi di carbonio e PVA ossidato:  
una nuova strada per la rigenerazione nervosa

# LESIONI DEI NERVI PERIFERICI



## Cause

Traumi, patologie di varia natura (genetiche, degenerative, tumorali)

## Incidenza

Ogni anno, in tutto il mondo, si stimano **oltre 5 milioni** di nuovi casi di lesione dei nervi periferici (PNI)

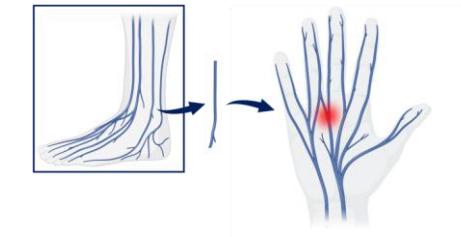
## Complicazioni

- intorpidimento dell'arto
- atrofia muscolare
- perdita della funzione neurologica
- dolore neuropatico

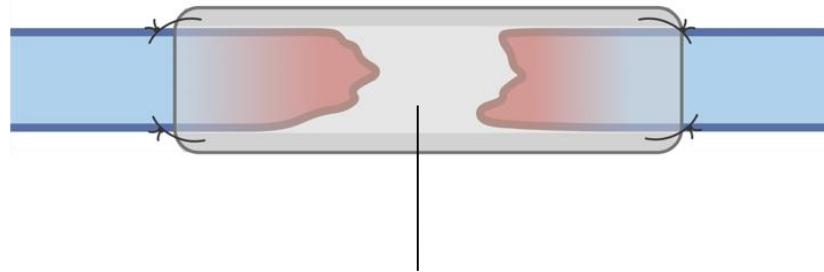
## Trattamento – Interruzione del nervo (**Gap**) > 10 mm

- L'autotripianto nervoso è oggi il *gold standard*, ma comporta problemi come morbidità del sito donatore e scarsa disponibilità di nervi.
- I condotti nervosi o neuroguide sono scaffold tubulari che vengono usati per ricongiungere i 2 monconi del nervo lesionato e favorirne la rigenerazione
- Rappresentano un'alternativa promettente, ma quelli disponibili non garantiscono ancora risultati soddisfacenti.

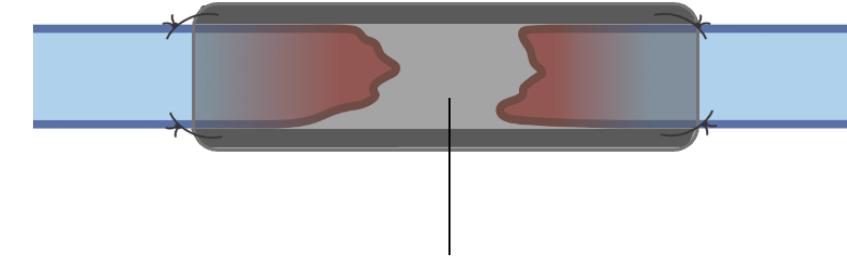
## Autotripianto nervoso



Condotto nervoso



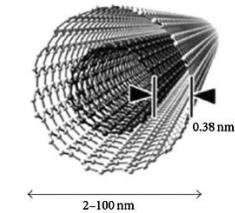
Neuroguida in PVA ossidato (OxPVA)



Neuroguida in OxPVA + nanotubi di carbonio

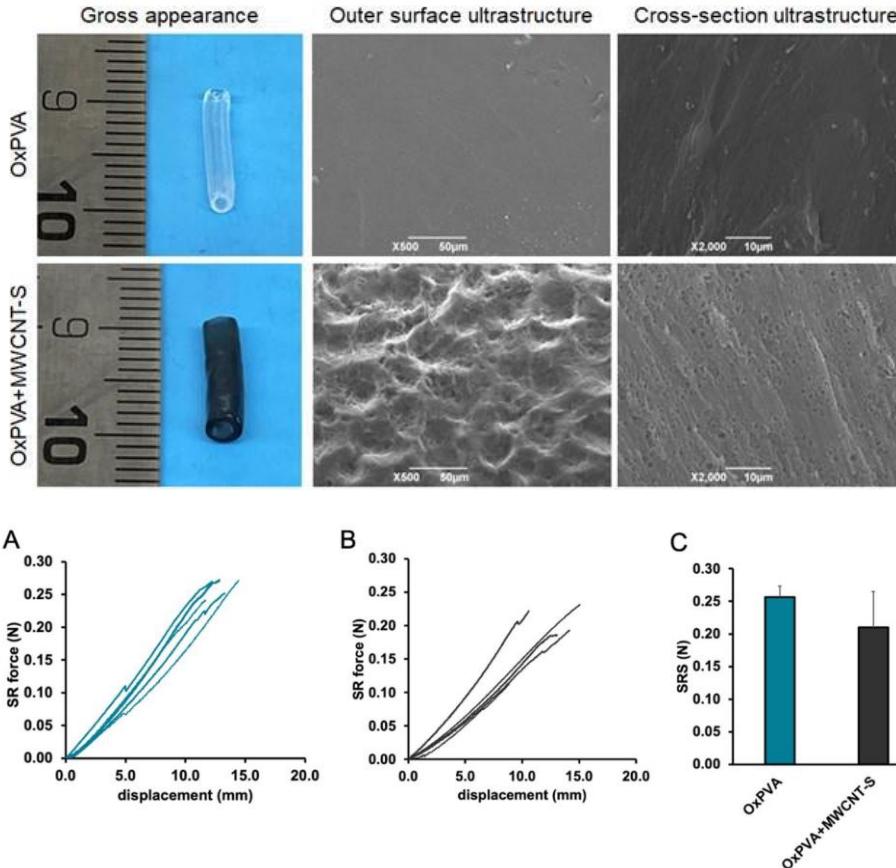


Migliore elettroconduttività  
del polimero OxPVA

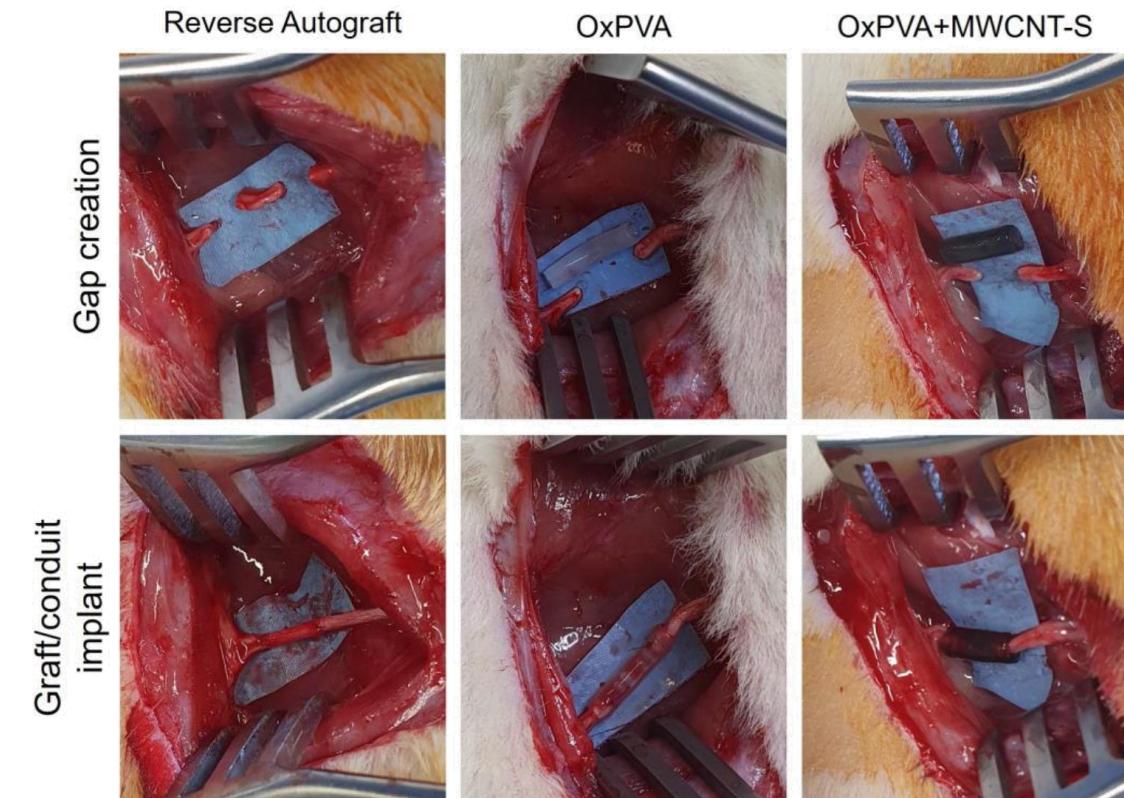


Nanotubi di carbonio

- Gli stimoli elettrici possono migliorare la rigenerazione nervosa, ma servono materiali conduttori, biocompatibili e meccanicamente adeguati.
- L'idrogel OxPVA è già noto come materiale promettente per la fabbricazione di condotti nervosi; integrandolo con nanotubi di carbonio si può ottenere un dispositivo conduttivo e potenzialmente più efficace.



- ✓ I nanotubi (CNT) sono risultati ben dispersi nel polimero OxPVA, senza agglomerati, garantendo una struttura omogenea del sistema.
- ✓ I condotti OxPVA+CNT risultano maneggevoli, suturabili e stabili, con nanoporosità che può favorire l'adesione di molecole bioattive.



Le immagini mostrano un intervento chirurgico sul nervo sciatico di ratto, in cui viene creato un gap di 5 mm.

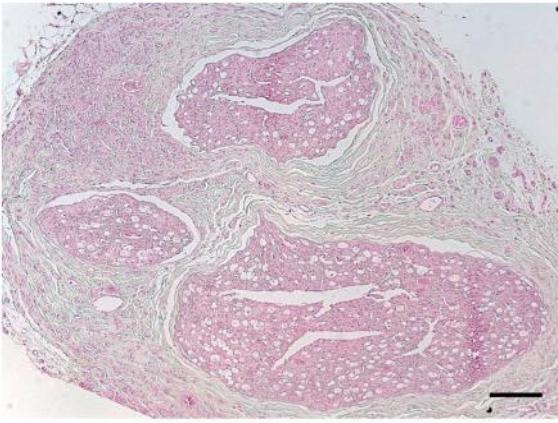
- Vengono testate tre strategie: l'autotriplanto (nervo prelevato dallo stesso animale), un condotto in OxPVA (polimero sintetico) e un condotto in OxPVA arricchito con nanotubi di carbonio.
- L'obiettivo è vedere come materiali differenti possano sostituire o supportare l'autotriplanto tradizionale, offrendo nuove soluzioni per riparare nervi danneggiati.

# RISULTATI della RICERCA

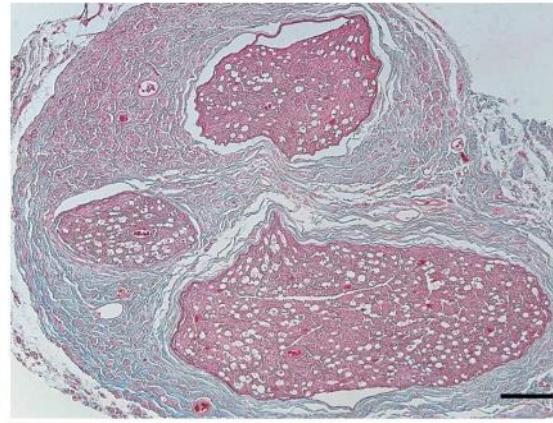
Reverse Autograft



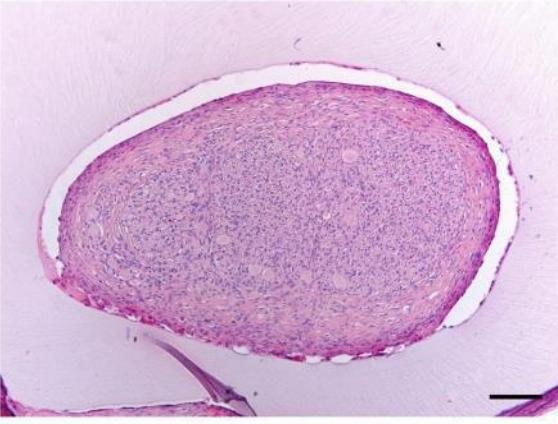
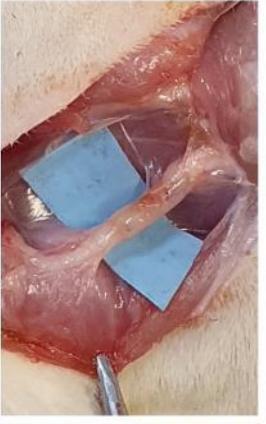
Hematoxylin & eosin



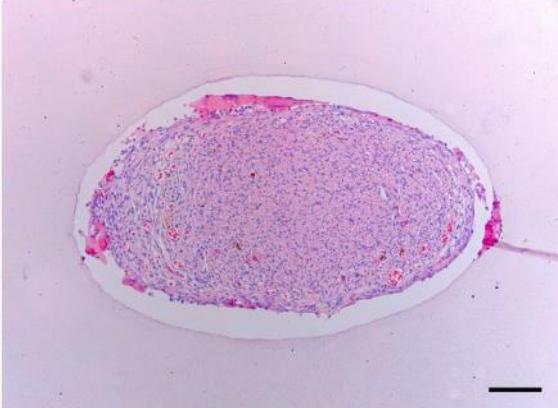
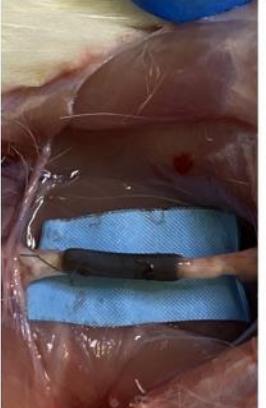
Azan Mallory



OxPVA



OxPVA+MWCNT-S

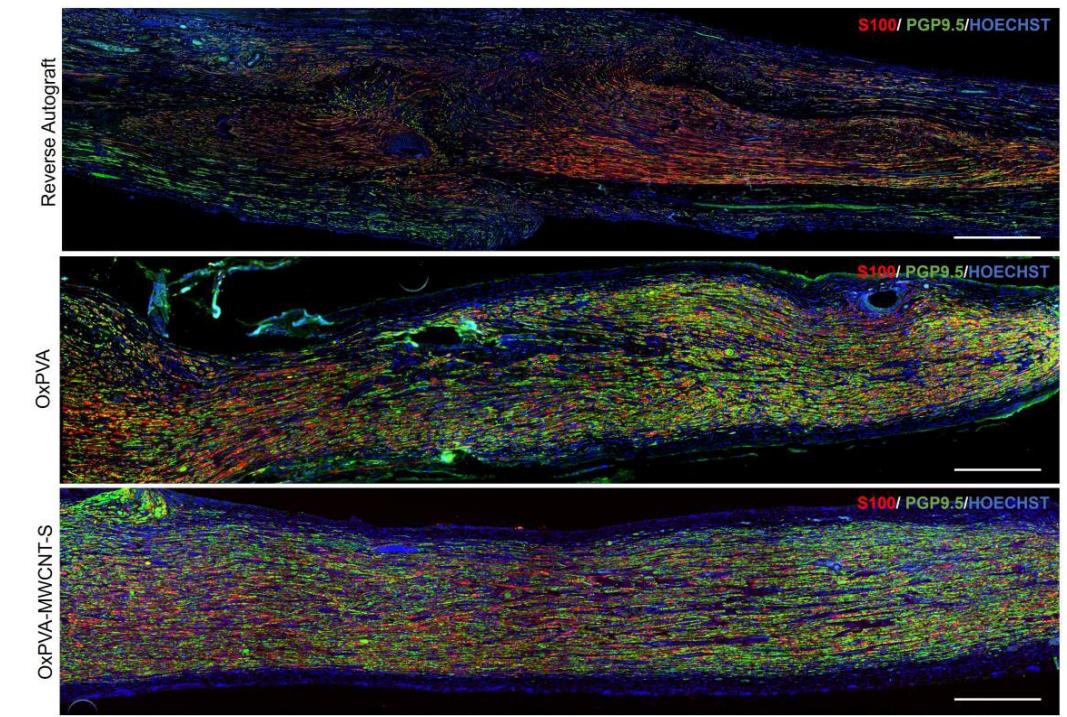
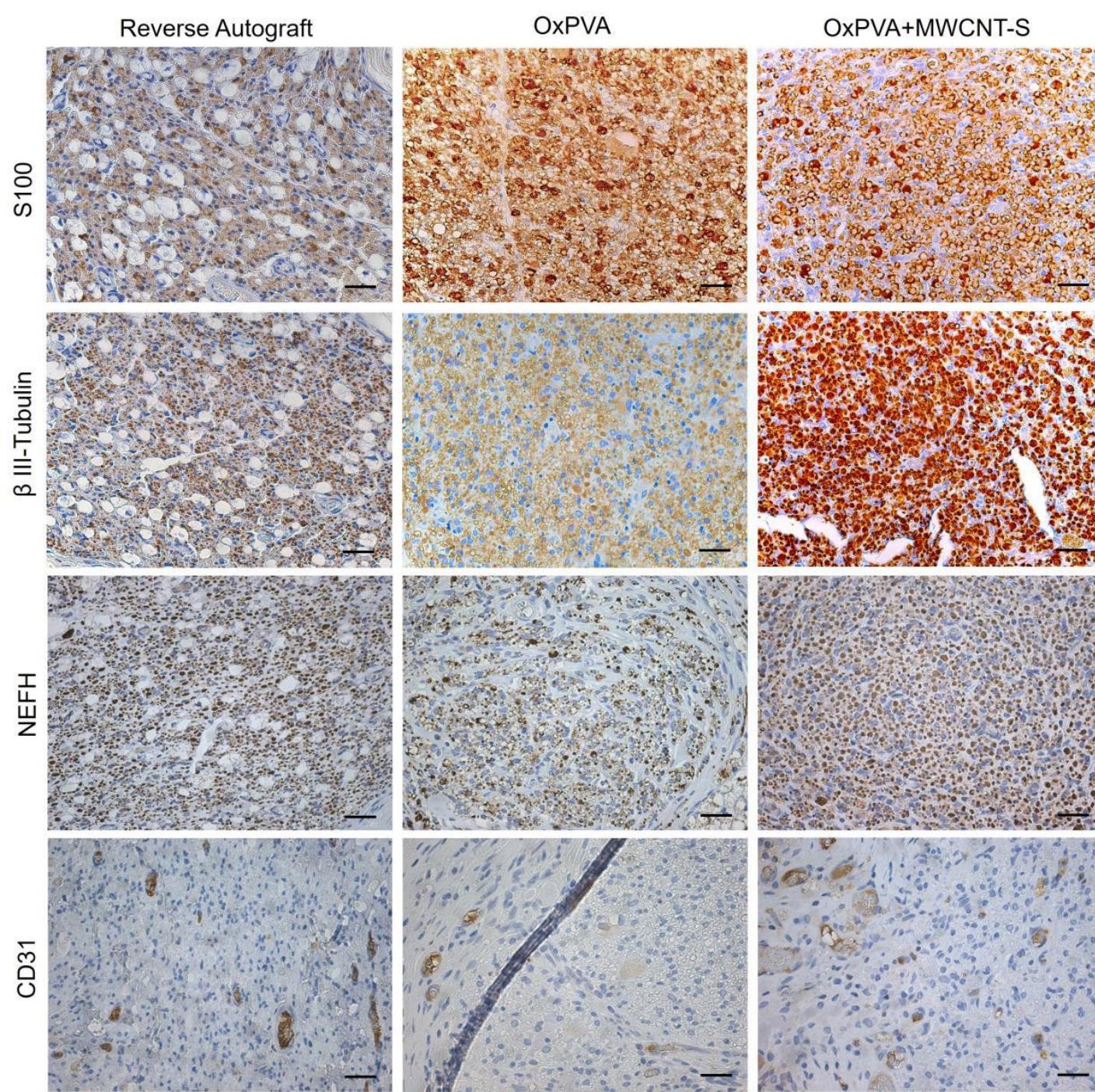


- ✓ A 6 settimane dall'intervento, il nervo sciatico è stato nuovamente esposto per l'espianto dei campioni.
- ✓ Tutti i dispositivi sono rimasti ben posizionati, non si sono degradati prematuramente e non hanno causato visibili reazioni avverse.



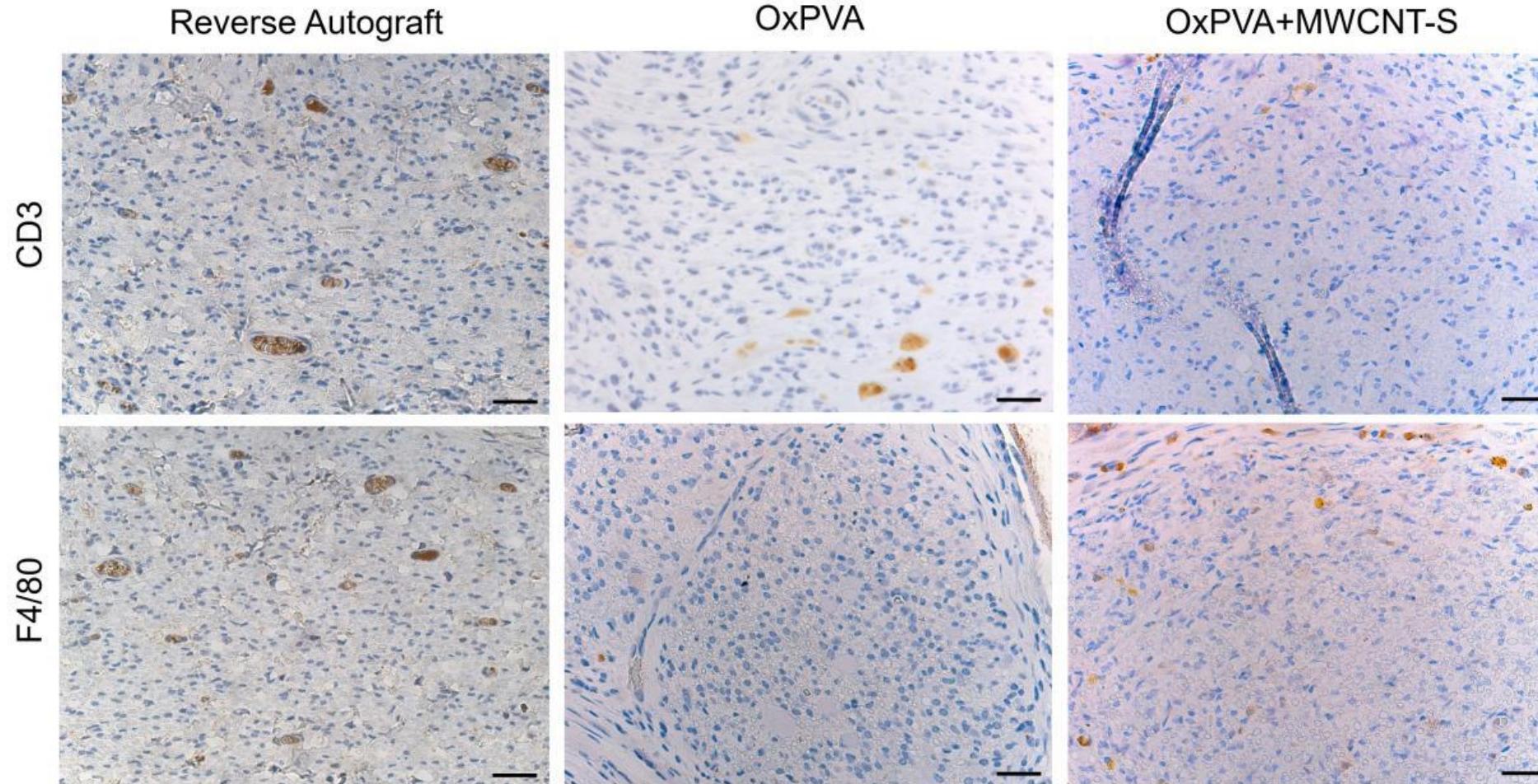
Tutto questo rappresenta un primo indicatore della **buona tollerabilità** dei materiali.

# RISULTATI della RICERCA

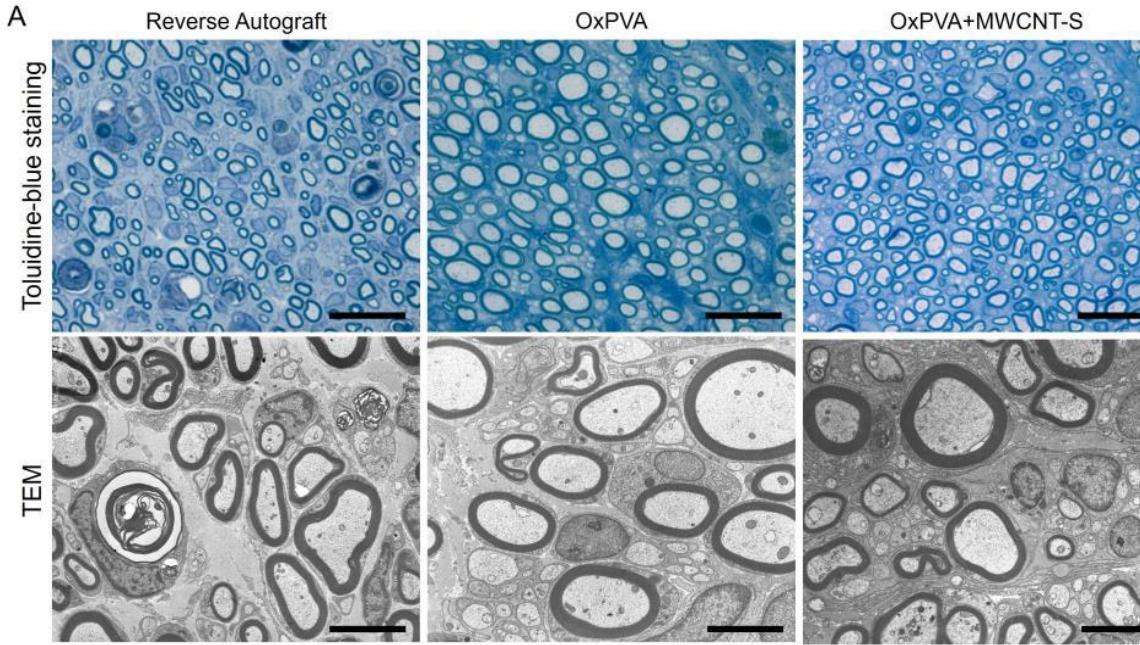


✓ Le analisi immunoistochimiche e immunofluorescenti mostrano cellule nervose (= **cellule di Schwann**), assoni e vasi sanguigni ben rappresentati all'interno dei condotti nervosi

▼  
si osserva il ricongiungimento dei 2 monconi del nervo lesionato all'interno dei condotti

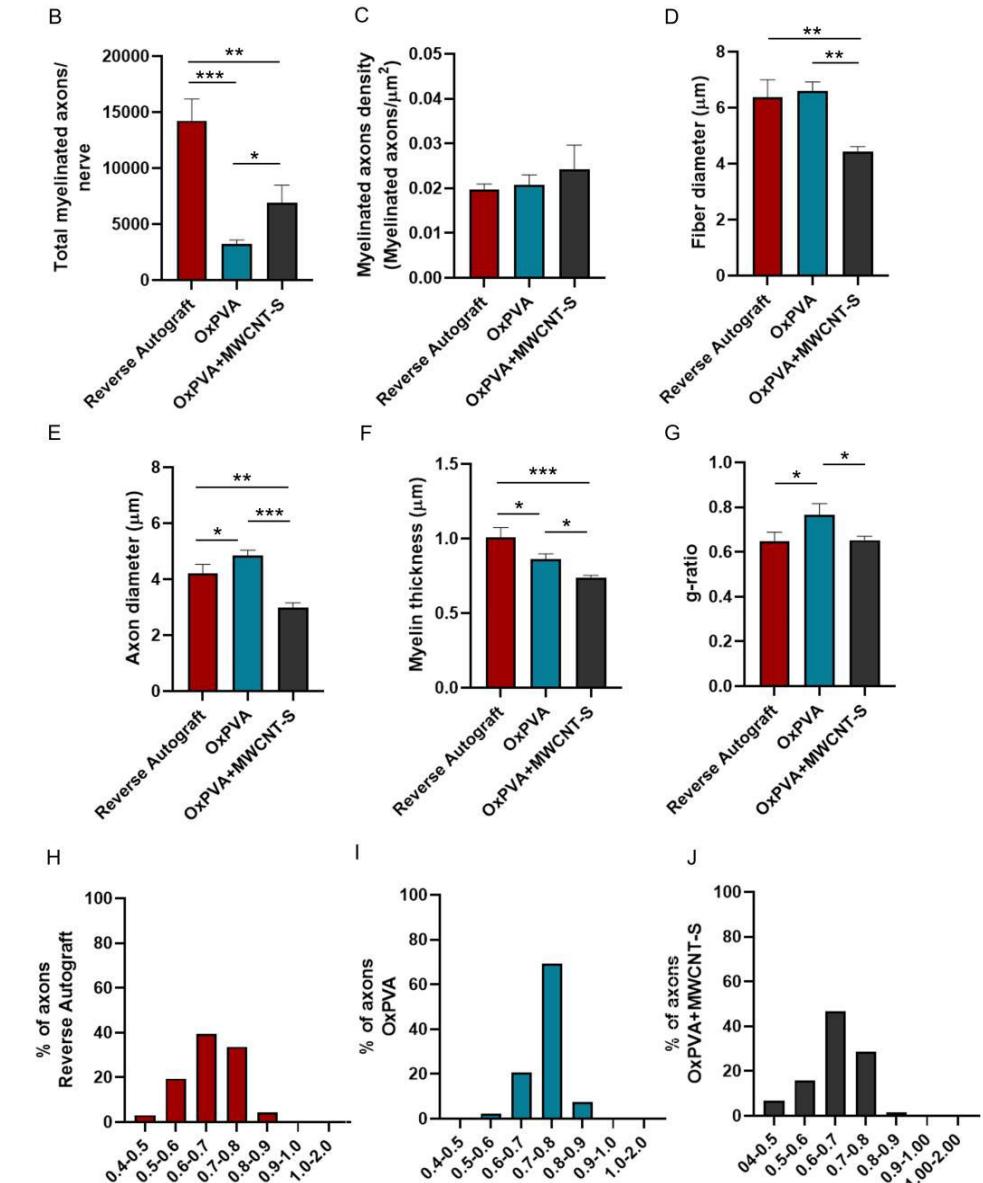


- ✓ In vivo, condotti in OxPVA e in OxPVA + nanotubi supportano la rigenerazione nervosa, **senza infiammazione significativa** (pochi linfociti CD3 positivi e pochi macrofagi F4/80 positivi).

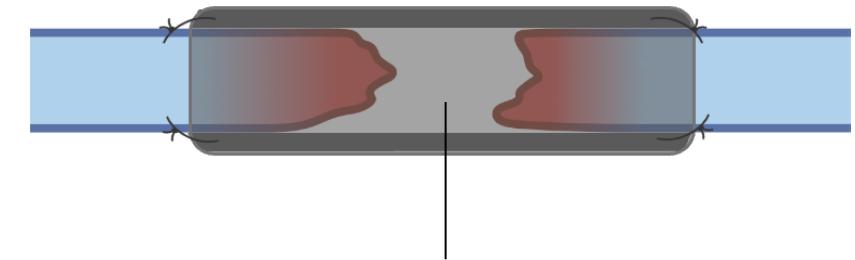


L'analisi quantitativa mostra risultati molto promettenti:

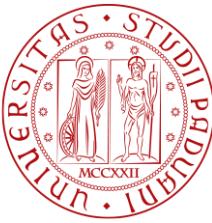
- ✓ il condotto in OxPVA + nanotubi di carbonio presenta il maggior numero di assoni mielinizzati, cioè più fibre nervose che stanno ricrescendo in modo efficace
- ✓ Inoltre, il suo **g-ratio**, un indice che indica quanto bene è formata la mielina attorno al nervo, è molto simile a quello dell'autotriapianto, che rappresenta lo standard ideale.
- ✓ In parole semplici: lo scaffold con nanotubi non solo favorisce la ricrescita di più fibre nervose, ma ne supporta anche una qualità di rigenerazione paragonabile al metodo migliore oggi disponibile.



- L'integrazione di nanotubi di carbonio (0,1%) in OxPVA **non altera le proprietà meccaniche**, ma migliora le caratteristiche elettroconduttrive del materiale.
- Il condotto OxPVA + nanotubi è **biocompatibile**, non induce infiammazione e supporta la rigenerazione nervosa.
- Le analisi morfometriche mostrano che il condotto OxPVA + nanotubi **favorisce la crescita di numerosi assoni mielinizzati**, con parametri simili al gold standard (autotriapianto nervoso).
- I risultati indicano che questo nuovo materiale **rappresenta un passo avanti verso condotti nervosi più efficaci**, combinando idrogel e nanomateriali conduttrivi.
- Studi futuri dovranno valutare **gap più lunghi ( $\geq 1$  cm)**, follow-up più estesi ed analisi funzionali, per confermare il reale potenziale clinico.



Neuroguida in OxPVA + nanotubi di carbonio



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

DNS

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE  
ISTITUTO DI ANATOMIA UMANA



fondazione  
onlus  
tes

AVIS  
ASSOCIAZIONE VOLONTARI ITALIANI SANGUE  
ABVS  
ASSOCIAZIONE BELLUNESI VOLONTARI DEL SANGUE



Fondazione  
Onlus  
**tes**

Fondazione per la Biologia  
e la Medicina della Rigenerazione  
T.E.S. - Tissue Engineering and Signaling - Onlus

**SOSTIENI LE NOSTRE RICERCHE!**

Per donazioni libere:  
INTESA SANPAOLO SPA  
IBAN: IT19X0306909606100000144827

BCC Veneta  
IBAN: IT25J0880762890000000874625

Per donare il 5 per mille alla ricerca:  
riporta il numero del codice fiscale **02164260289**

*Grazie del Vostro supporto!*