



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA

DNS

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE  
ISTITUTO DI ANATOMIA UMANA



fondazione  
onlus  
ites

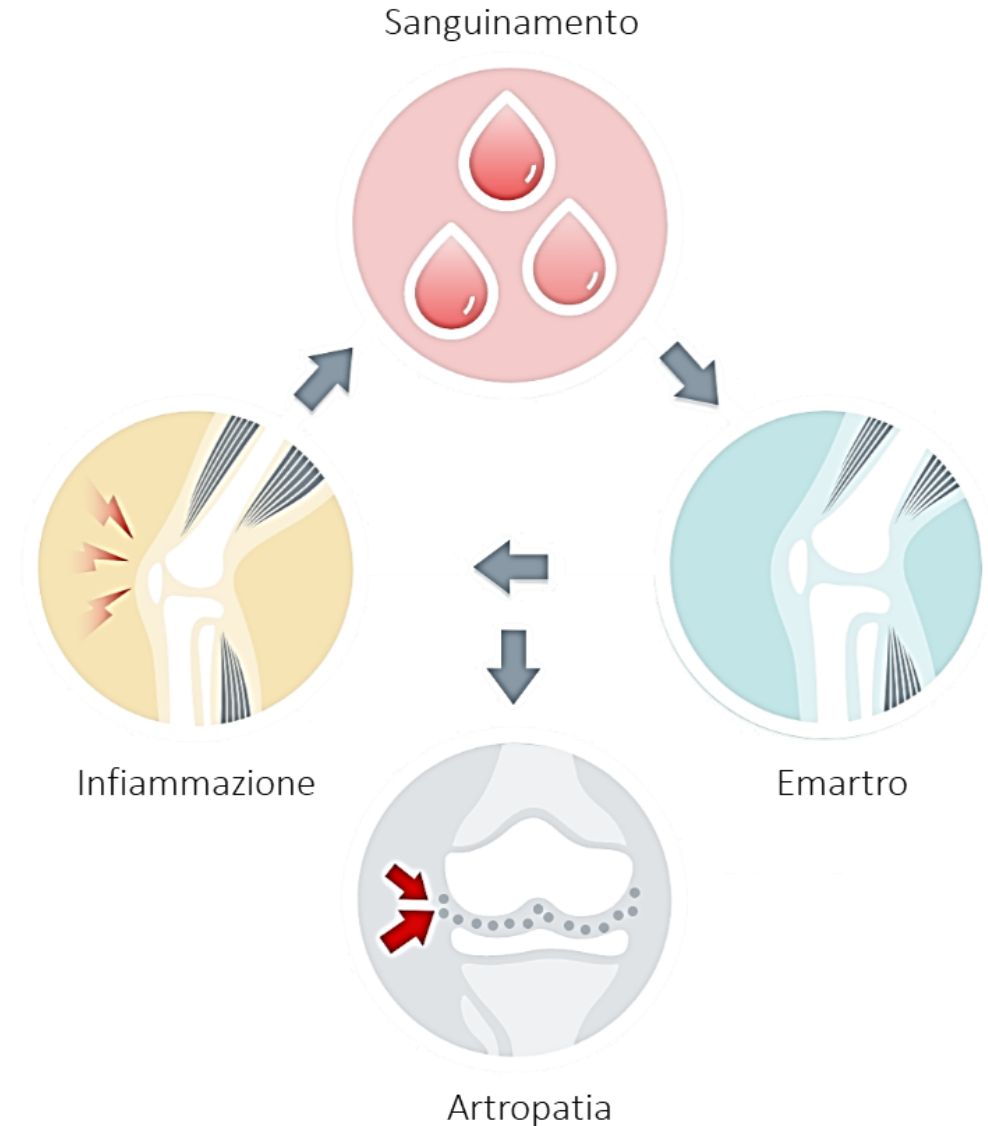


DAL LABORATORIO AL PAZIENTE:  
STRATEGIE D'AVANGUARDIA in MEDICINA RIGENERATIVA

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.

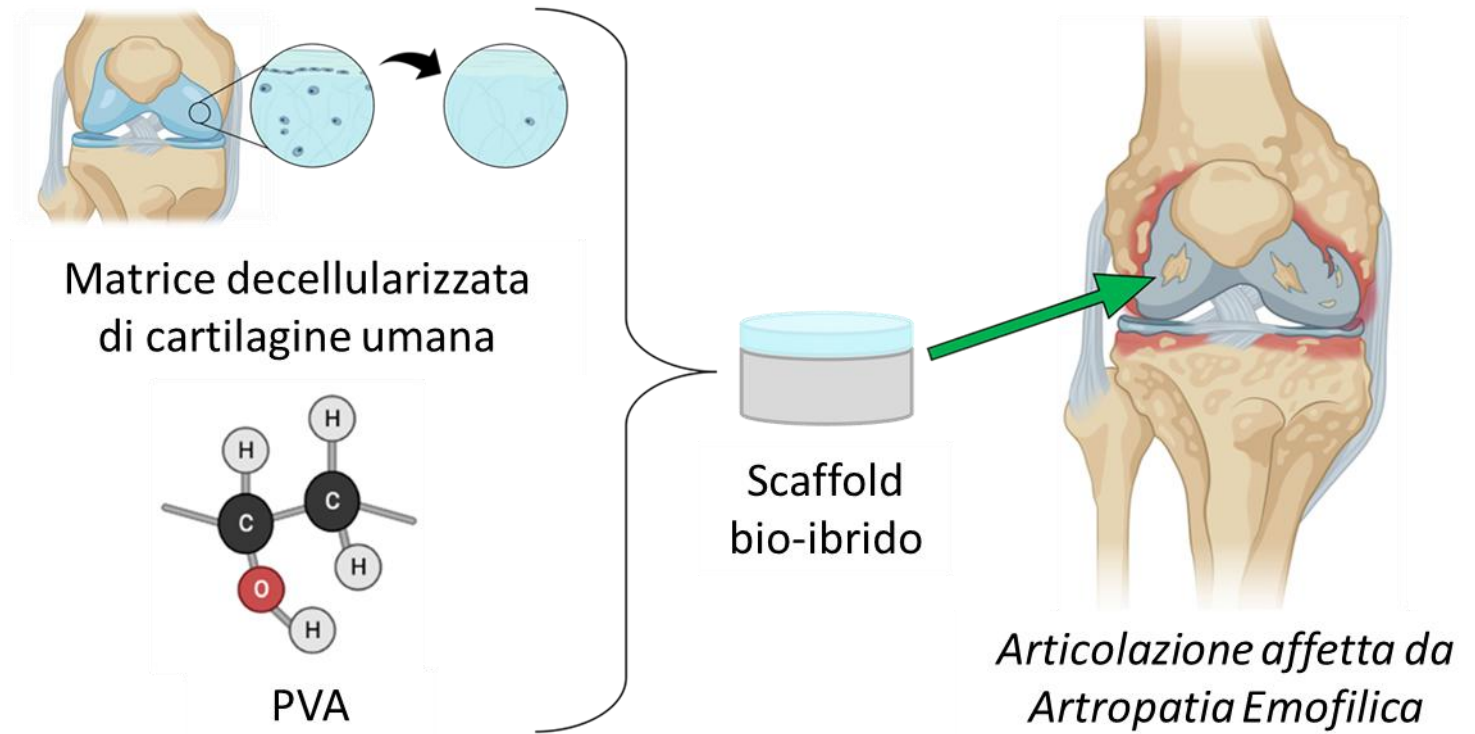


Questo studio ha riguardato la progettazione, lo sviluppo e lo studio *in vitro* di uno scaffold bio-ibrido in polivinil alcol (PVA) e matrice di cartilagine, in prospettiva di un suo utilizzo per la rigenerazione della cartilagine articolare nel paziente emofilico affetto da artropatia emofilica.

➤ 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.

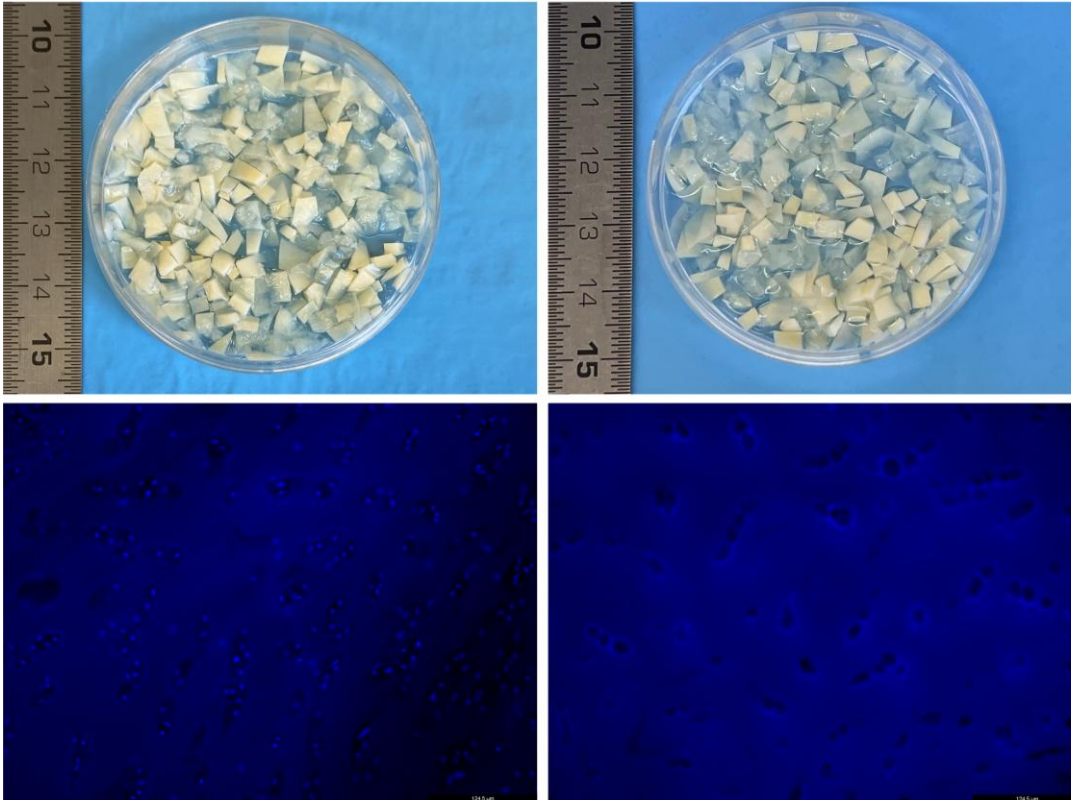




# DECELLULARIZZAZIONE DELLA CARTILAGINE ARTICOLARE

Cartilagine nativa

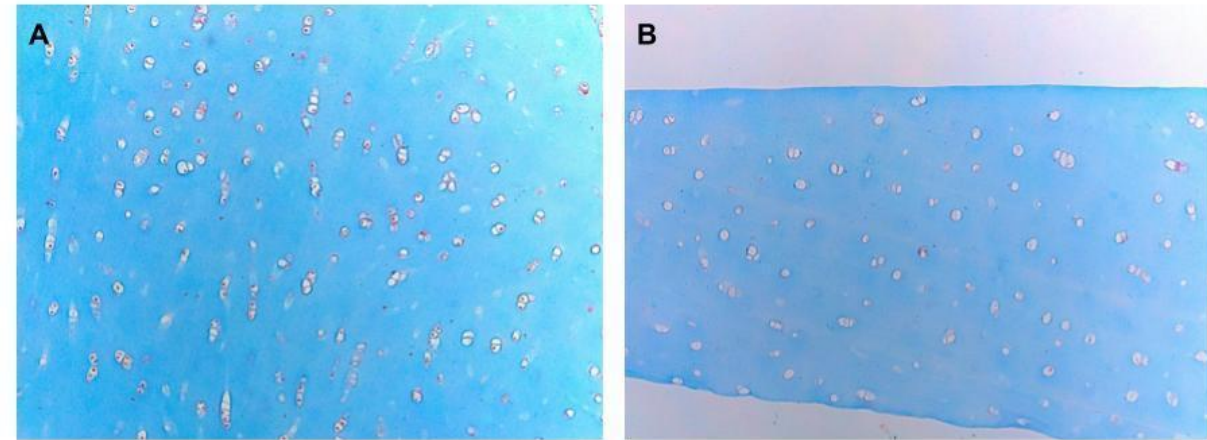
Cartilagine decellularizzata



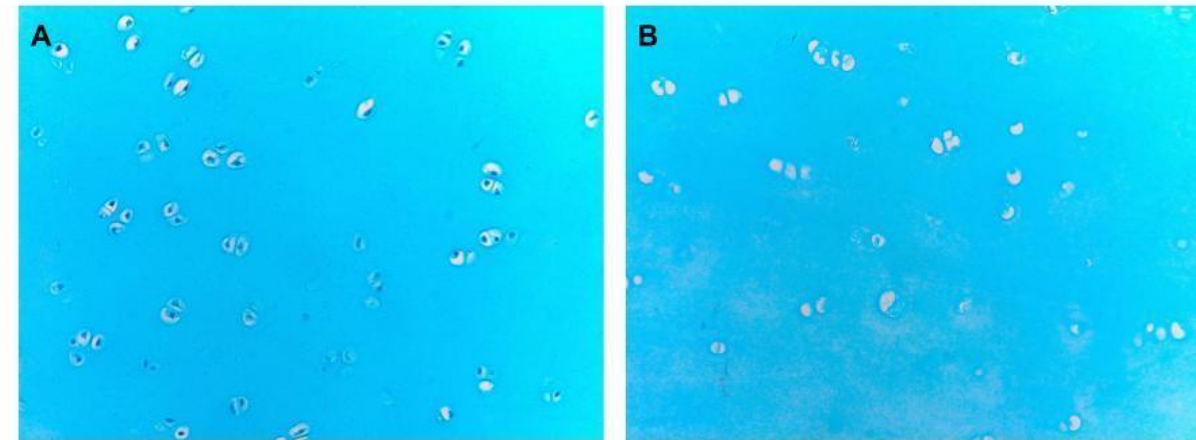
- ✓ **La cartilagine è stata decellularizzata con successo:**  
le analisi mostrano che sono state eliminate quasi tutte le cellule e il DNA, mantenendo però intatta la struttura del tessuto.

Cartilagine nativa

Cartilagine decellularizzata



*Colorazione Azan-Mallory (blu: collagene)*



*Colorazione Alcian Blue (blu/azzurro: glicosamminoglicani)*

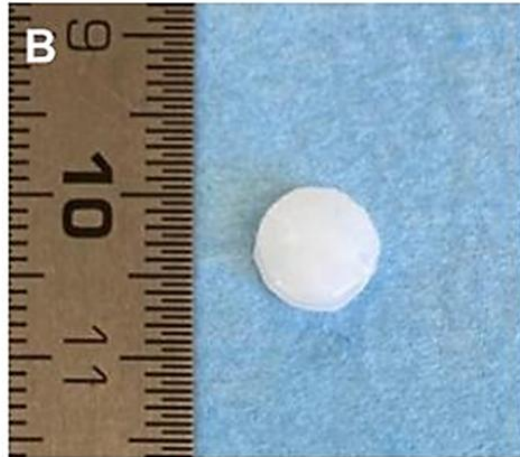


## STRUTTURA DEGLI SCAFFOLD BIO-IBRIDI

15%PVA/AC\_bilayer



15%PVA/AC\_blend



*Aspetto macroscopico degli scaffold bio-ibridi*

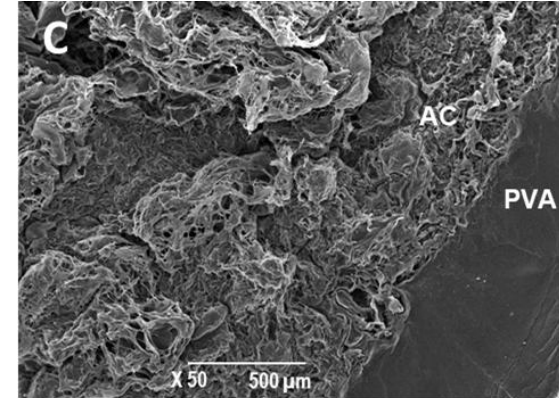
✓ **Due tipi di scaffold bio-ibridi sono stati creati:**

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

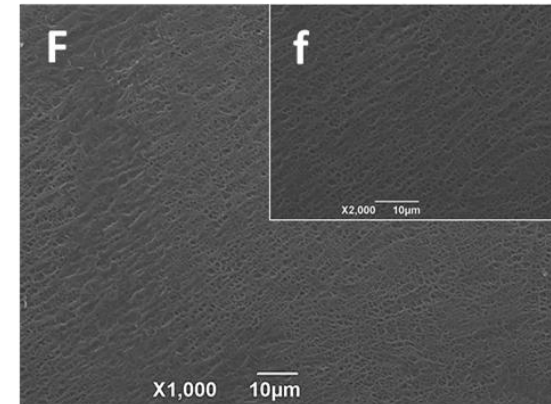
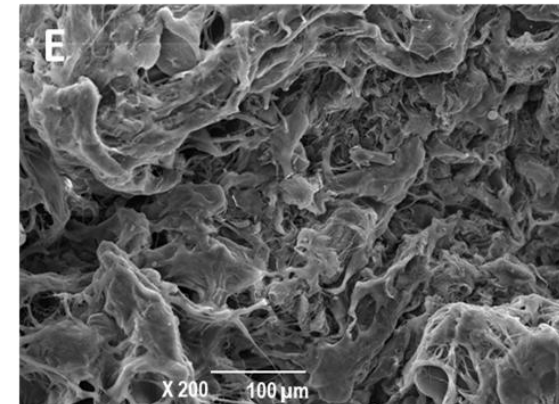
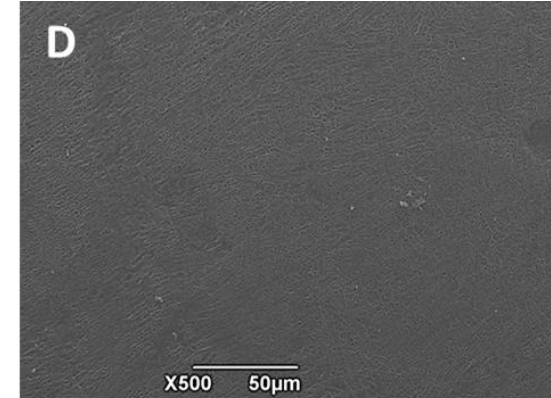
Blend → cartilagine sminuzzata e mescolata direttamente dentro il PVA

✓ **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.

15%PVA/AC\_bilayer



15%PVA/AC\_blend

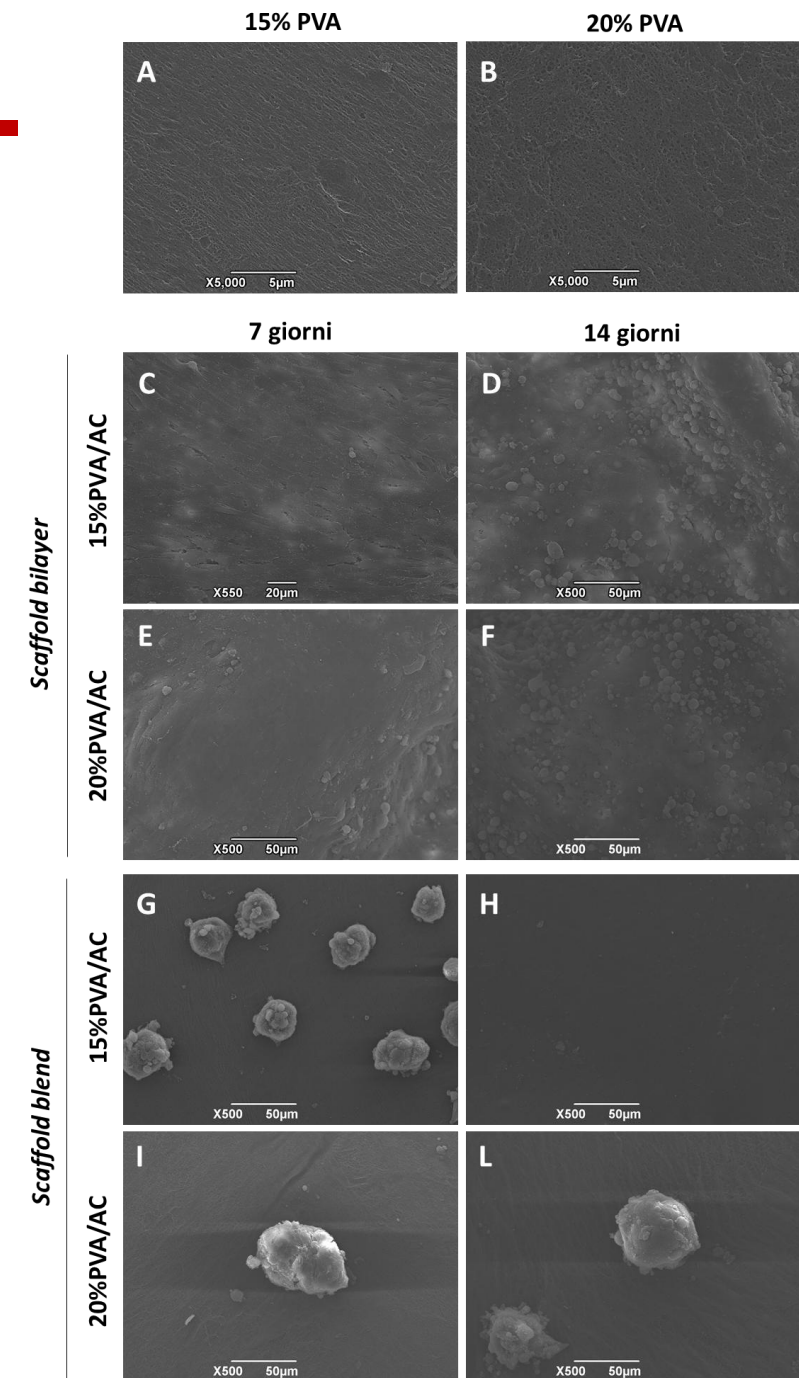


*Ultrastruttura degli scaffold bio-ibridi analizzata al SEM*

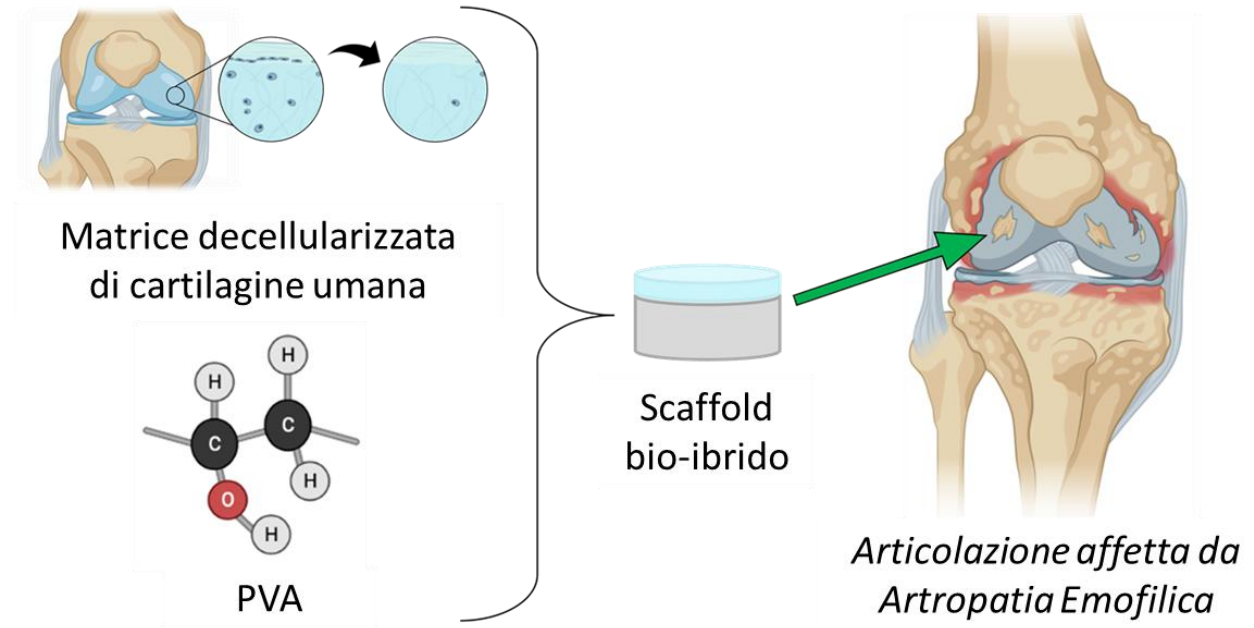
# INTERAZIONE DEGLI SCAFFOLD BIO-IBRIDI CON CELLULE STAMINALI

*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.

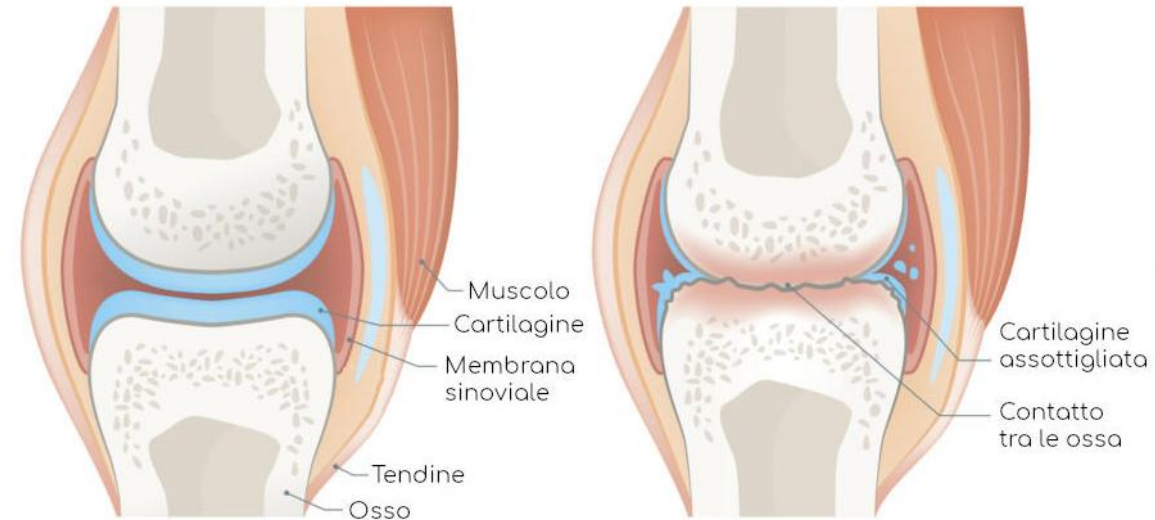




Scaffold porosi a base di Polivinil Alcol ossidato (OxPVA) e matrice cartilaginea  
per rigenerare la cartilagine nella patologia dell'osteoartrite

## 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

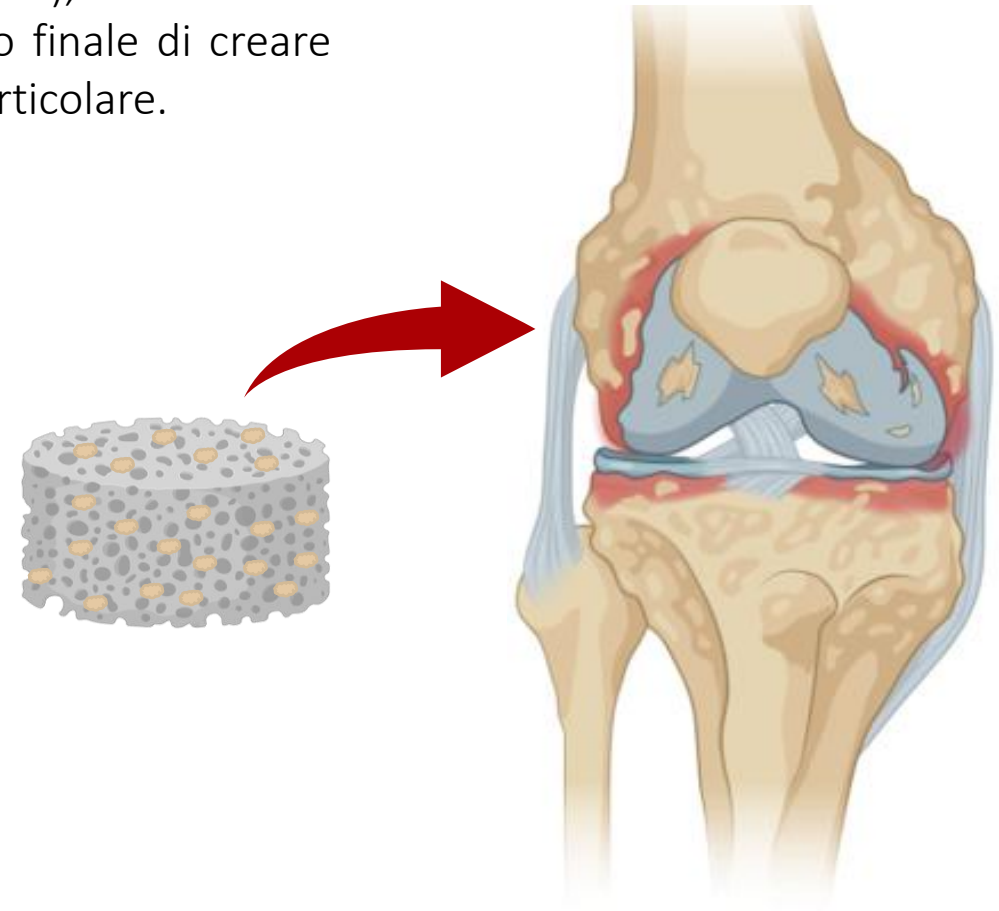
*Supporto biodegradabile per la rigenerazione tissutale*

### Cartilagine umana decellularizzata

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

### Porosità (10, 15, 25%)

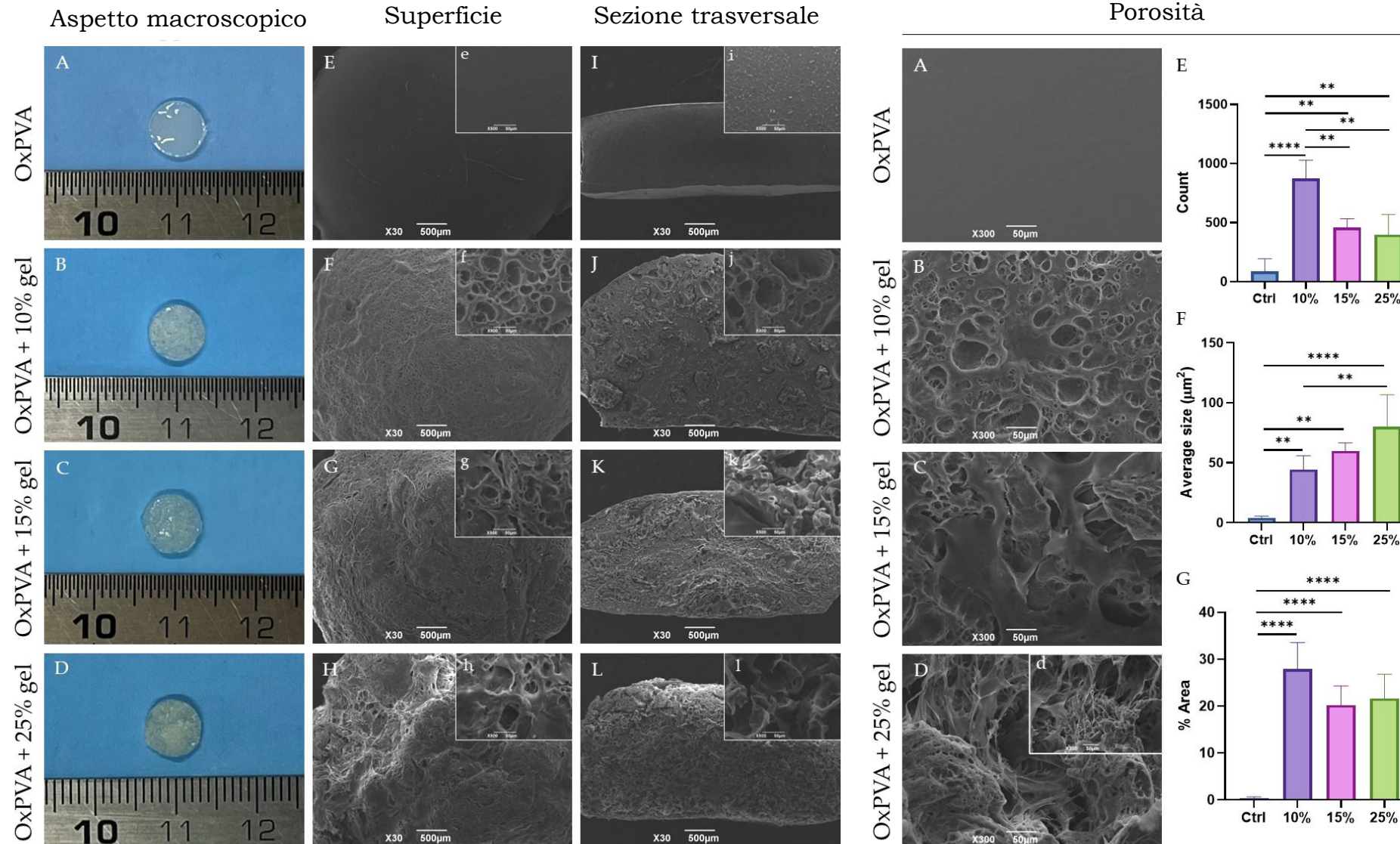
*Incrementa la bioattività dell'idrogel (favorendo la colonizzazione cellulare)*





## TIPI DI SCAFFOLD PER LA CARTILAGINE SVILUPPATI NELLO STUDIO

	Tipo di scaffold	Come è fatto	Caratteristiche principali
	<b>OxPVA + 10% gel (gelatina)</b>	Gelatina usata come “porogeno” per creare piccoli pori	Molti pori piccoli e distribuiti in modo uniforme
	<b>OxPVA + 15% gel</b>	Più gelatina per ottenere pori più grandi	Pori più ampi e comunicanti, struttura più aperta
	<b>OxPVA + 25% gel</b>	Massima quantità di gelatina tra quelle testate	Pori larghi, struttura molto porosa, migliore crescita cellulare
	<b>OxPVA + gel + matrice cartilaginea</b>	Aggiunta di matrice extracellulare decellularizzata	Scaffold più bioattivo, con segnali naturali della cartilagine



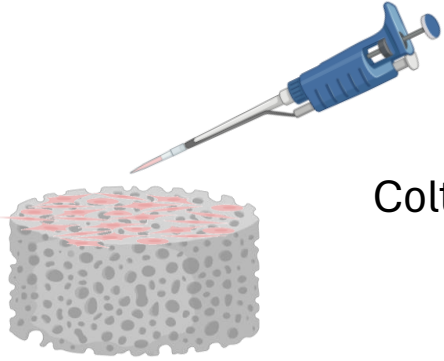
## AUMENTO DELLA POROSITÀ

Più alta concentrazione  
di gelatina



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

OxPVA poroso  
10, 15, 25%

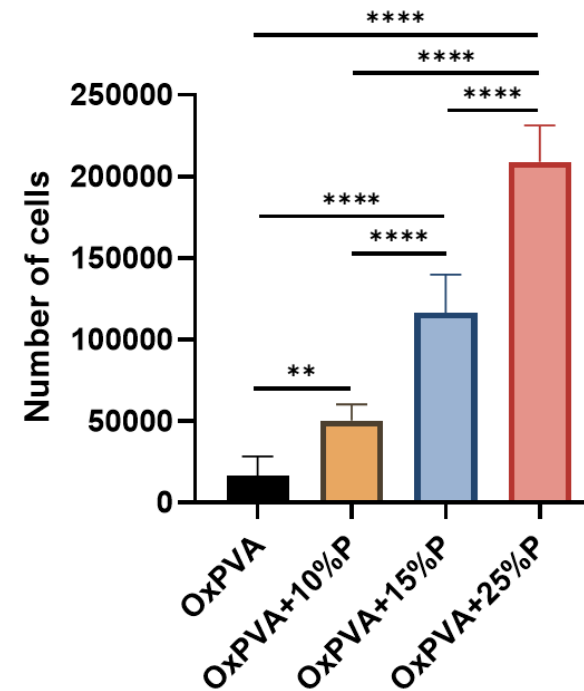


Coltura di cellule staminali  
sullo scaffold  
per 7 e 14 giorni

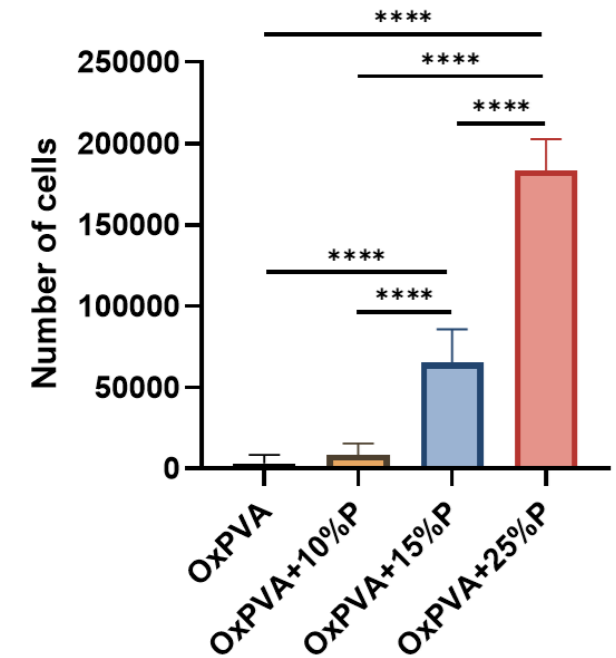
## MIGLIORE CRESCITA CELLULARE

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

7 giorni

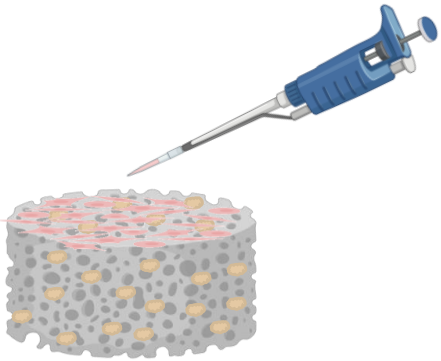


14 giorni





OxPVA poroso 15, 25 %  
+ matrice cartilagine

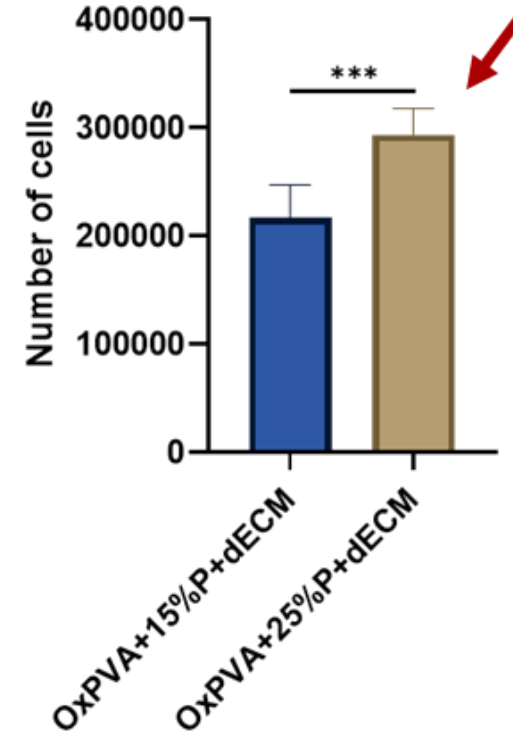


Coltura di cellule staminali  
sullo scaffold  
per **7 e 14 giorni**

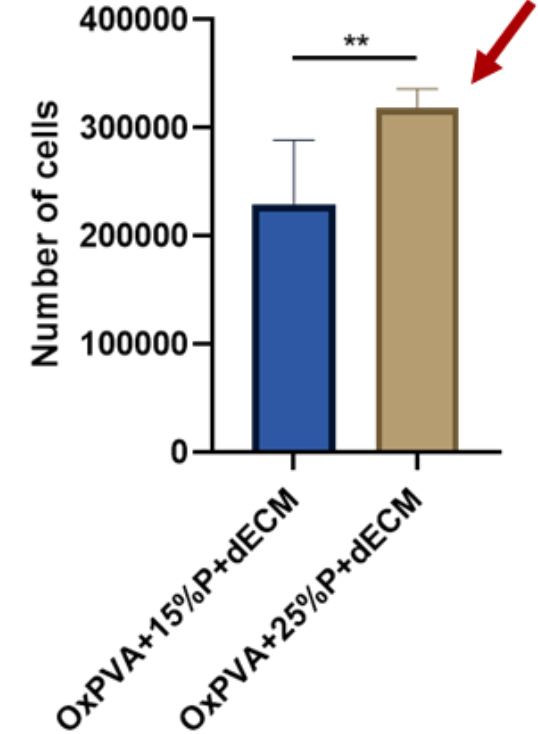
## MIGLIORE CRESCITA CELLULARE

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**

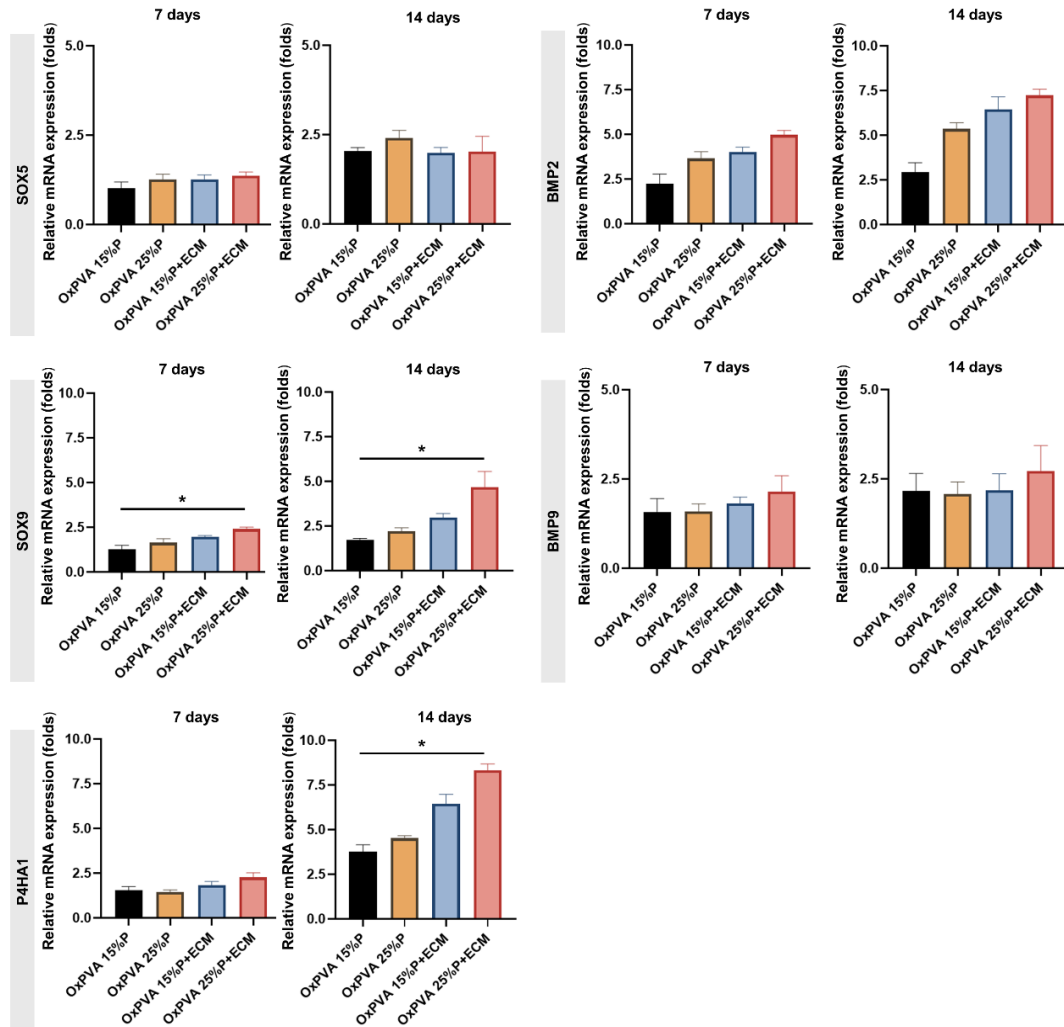
7 giorni



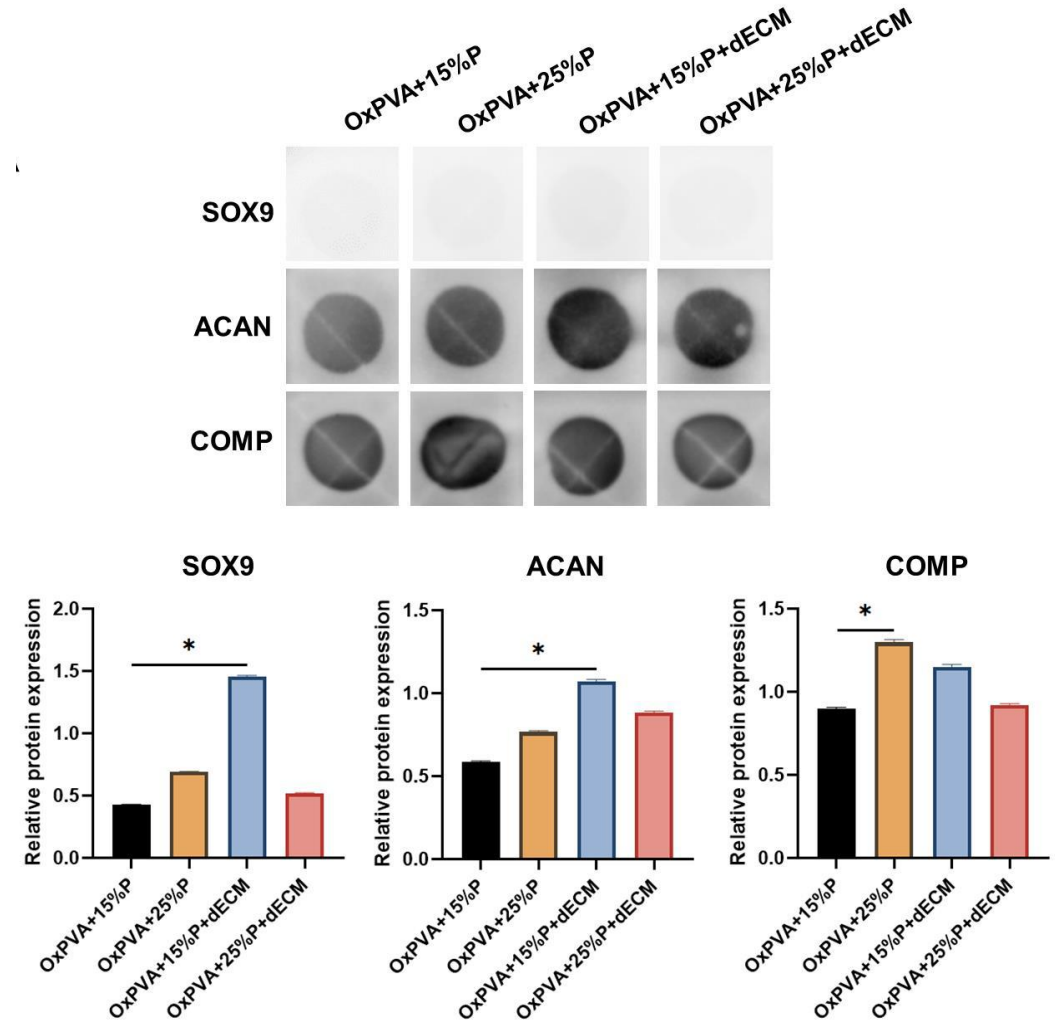
14 giorni



## Espressione di GENI specifici del TESSUTO CARTILAGINEO

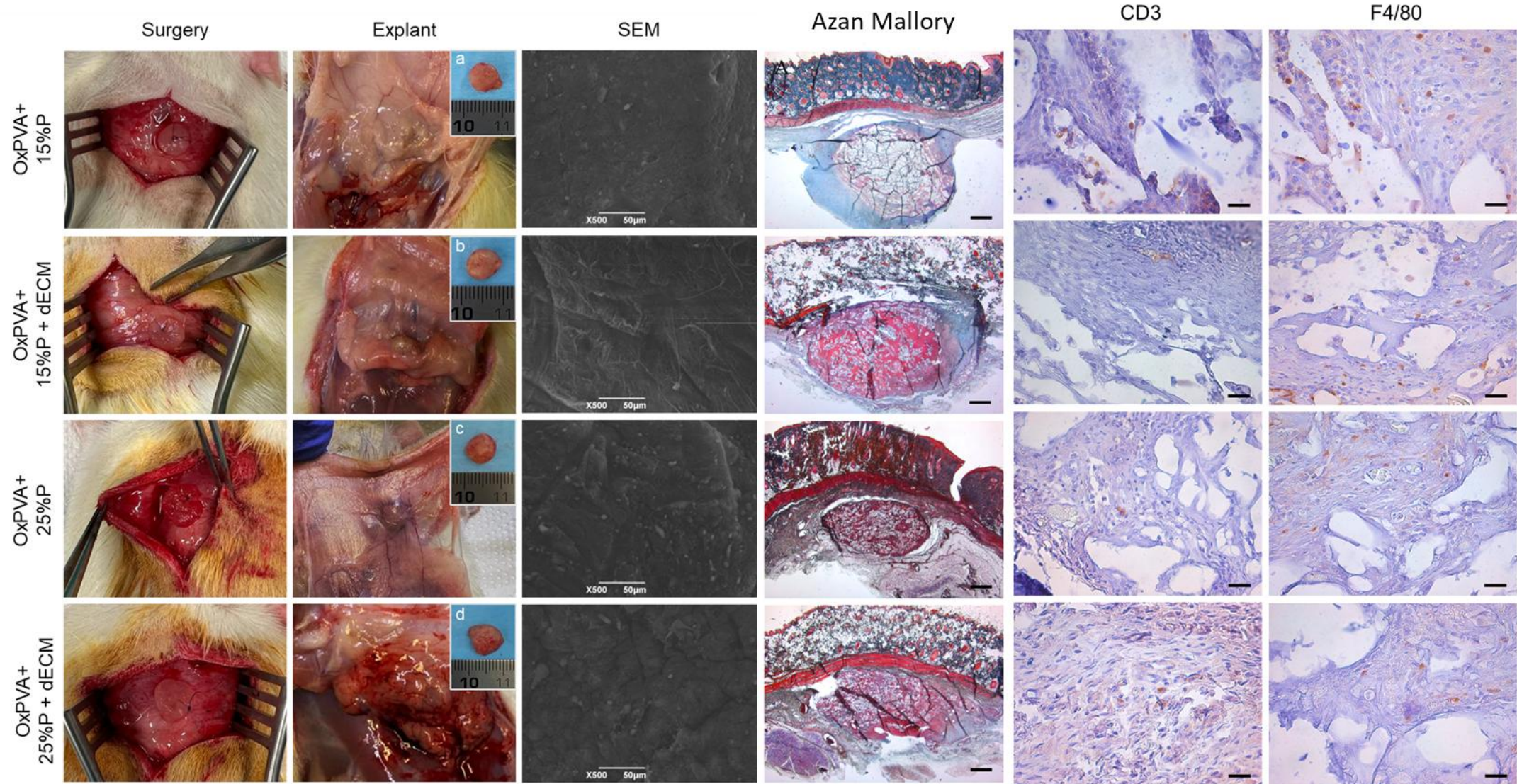
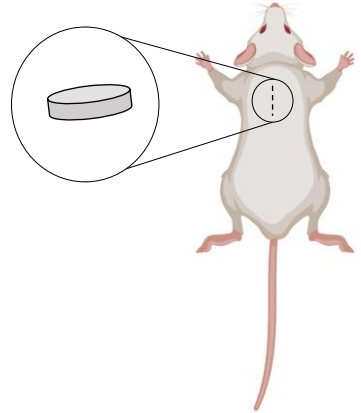


## Espressione di PROTEINE della MARICE CARTILAGINEA



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

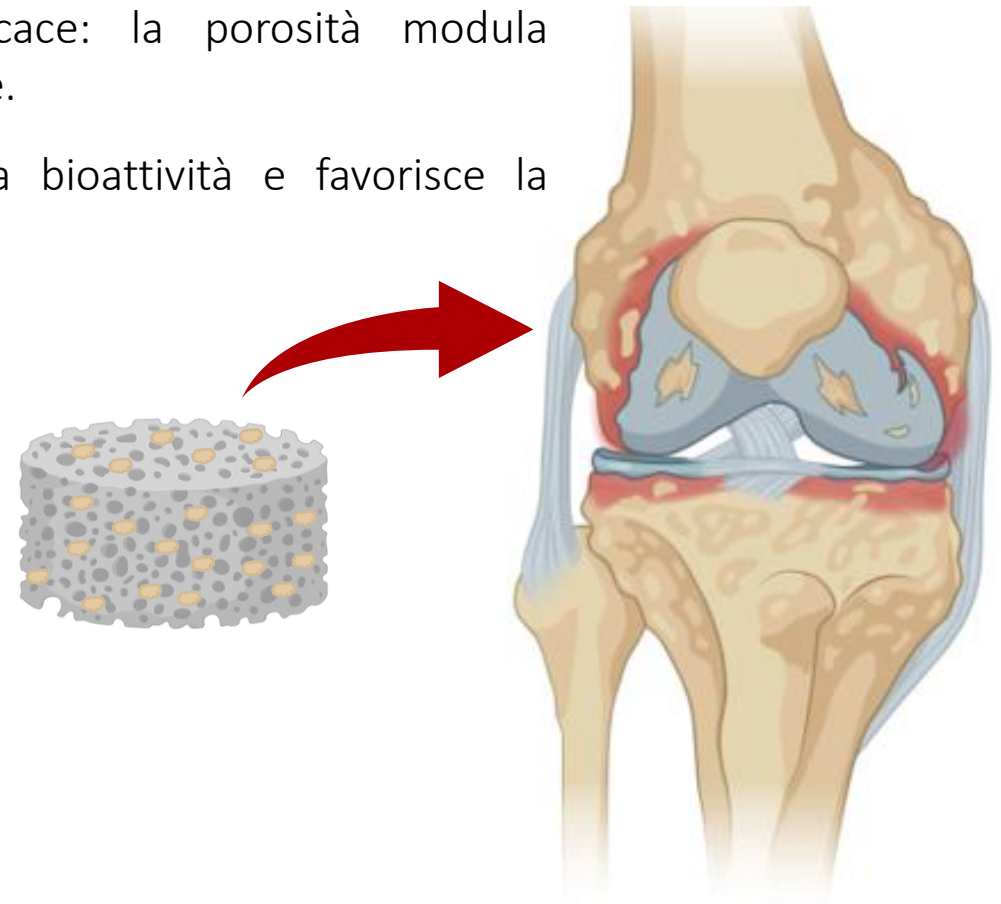




Gli scaffold in OxPVA poroso con o senza matrice cartilaginea hanno mostrato una **buona biocompatibilità in vivo**:  
l'impianto sottocutaneo nei ratti **non ha provocato infiammazione o rigetto**.

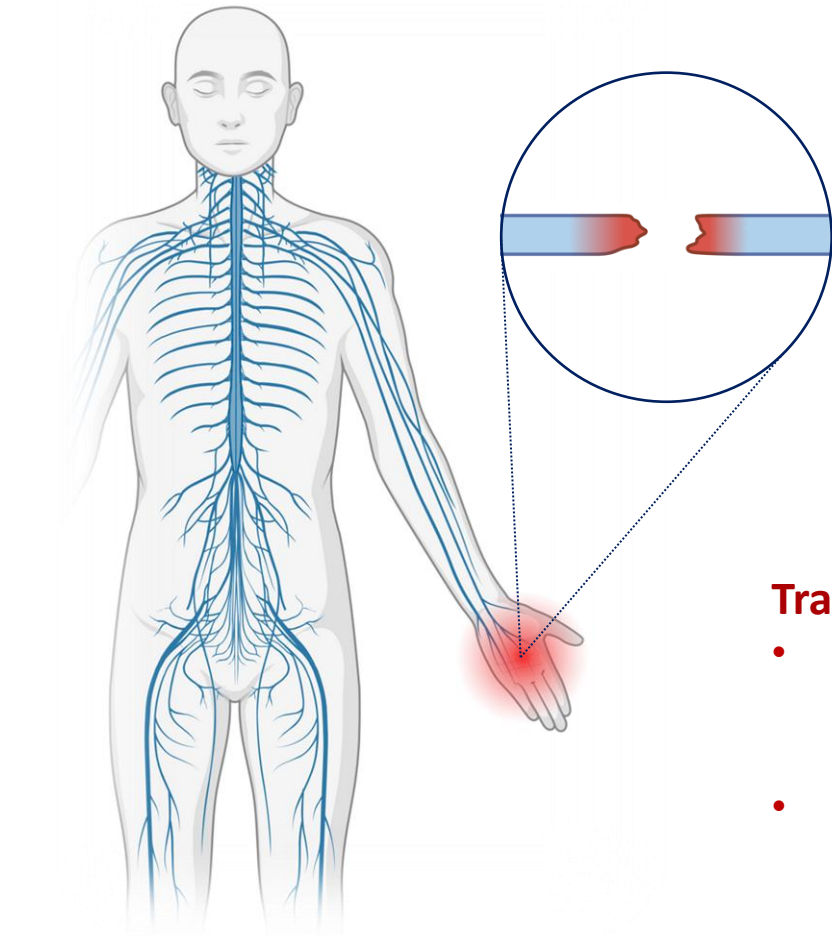


- I difetti della cartilagine articolare **restano una sfida clinica**, poiché la cartilagine non guarisce spontaneamente, aumentando il rischio di artrosi.
- Gli scaffold **OxPVA porosi** rappresentano una piattaforma efficace: la porosità modula microstruttura, proprietà meccaniche e capacità di supportare 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)

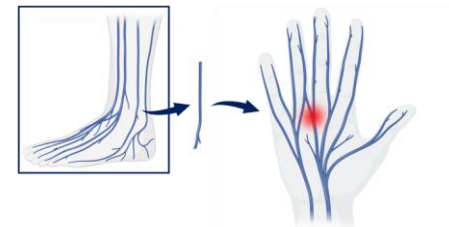
### Complicazioni

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

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

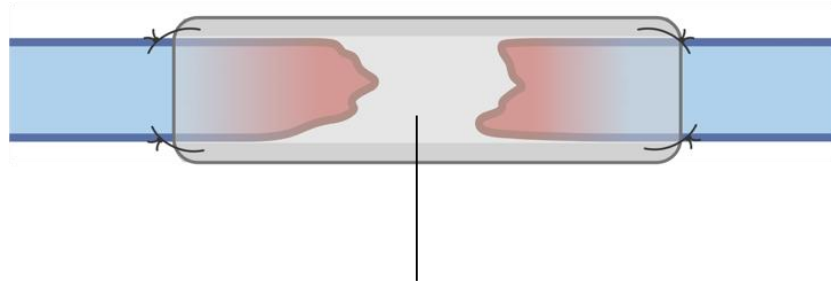
- L'autotrapianto nervoso è oggi il *gold standard*, ma comporta problemi come morbidità del sito donatore e scarsa disponibilità di nervi.
- I condotti nervosi o neuroguide sono scaffold tubulari che vengono usati per ricongiungere i 2 monconi del nervo lesionato e favorirne la rigenerazione
- Rappresentano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

### Autotrapianto nervoso

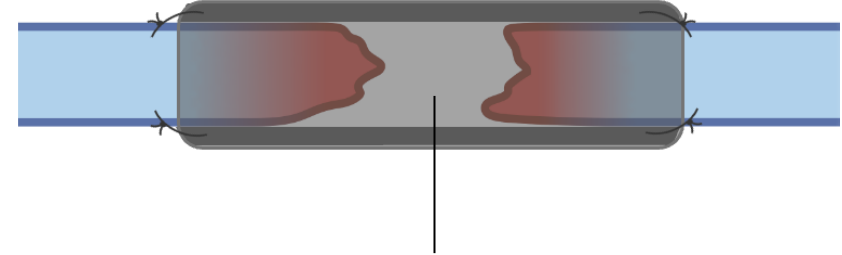


### Condotto nervoso





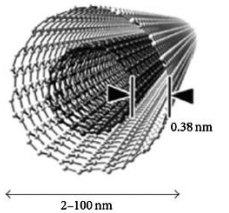
Neuroguida in PVA ossidato (OxPVA)



Neuroguida in OxPVA + nanotubi di carbonio

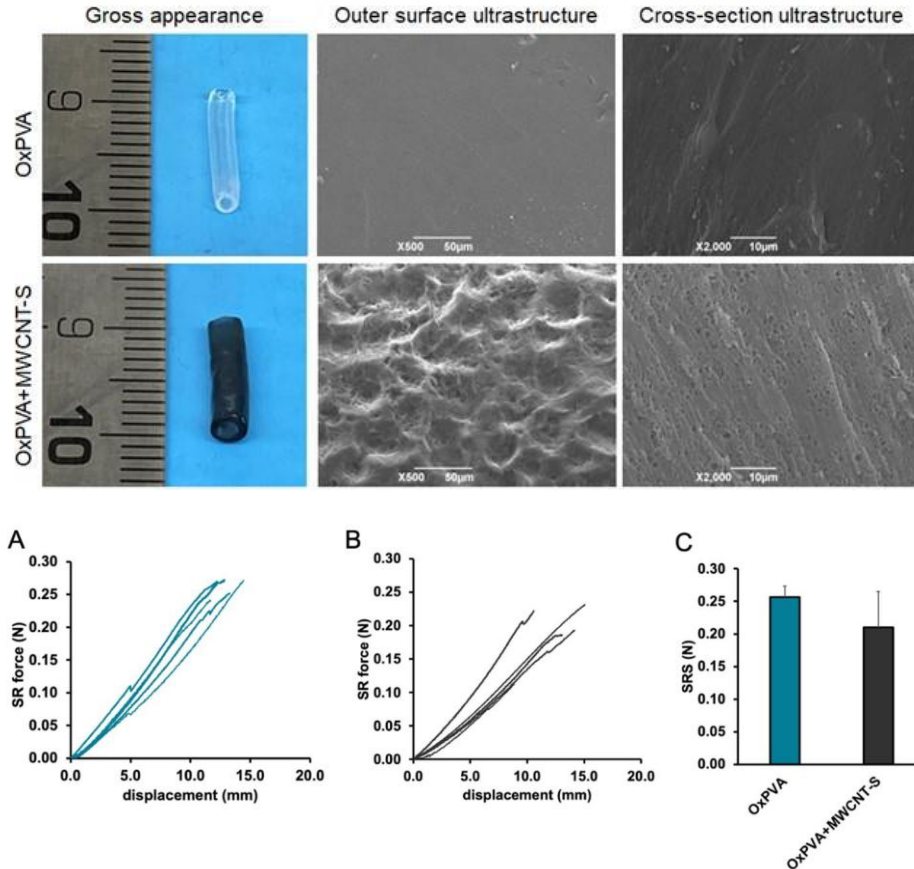


Migliore elettroconduttività  
del polimero OxPVA

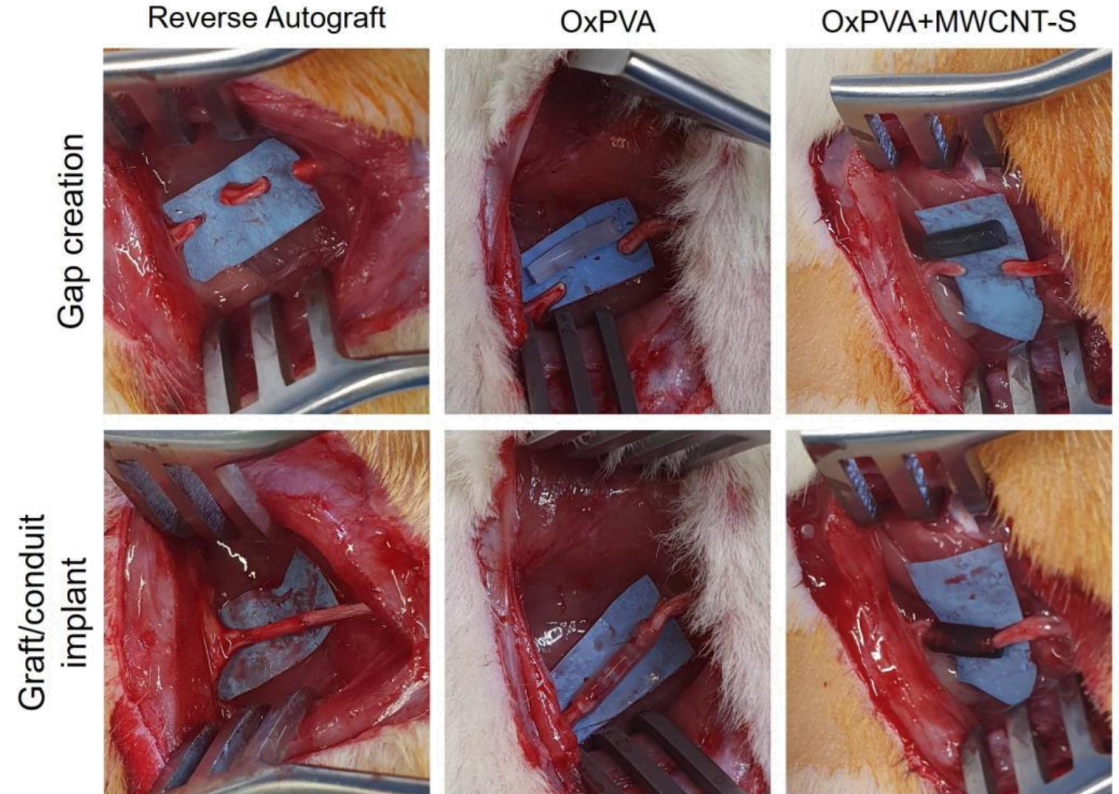


Nanotubi di carbonio

- Gli stimoli elettrici possono migliorare la rigenerazione nervosa, ma servono materiali conduttivi, 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'autotrapianto (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'autotrapianto tradizionale, offrendo nuove soluzioni per riparare nervi danneggiati.

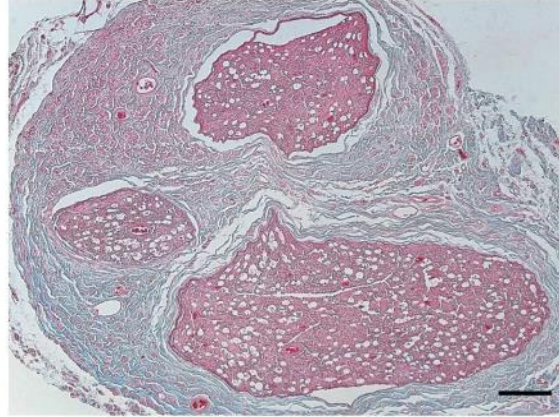
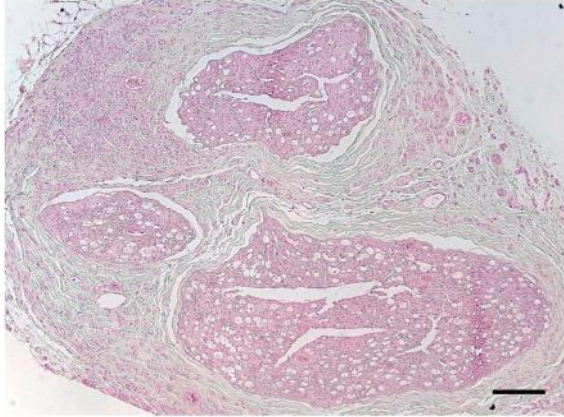


Graft/conduit  
explant – 6w

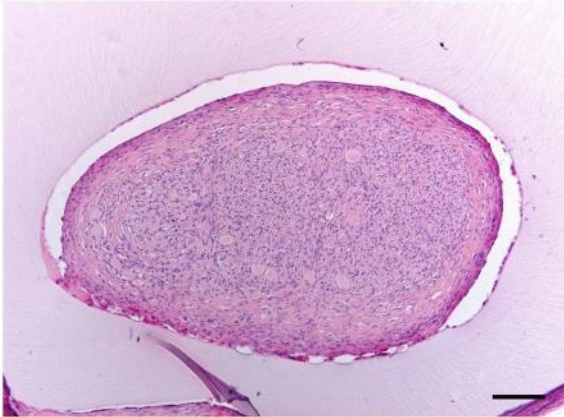
Hematoxylin & eosin

Azan Mallory

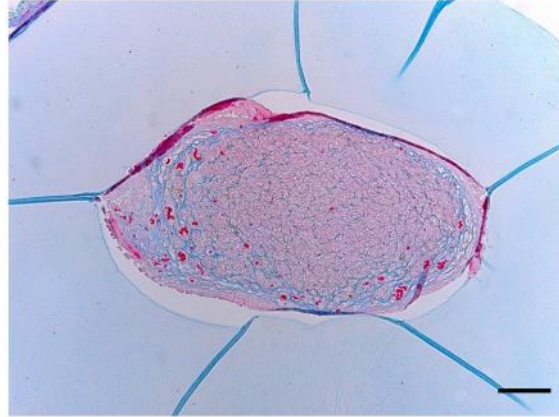
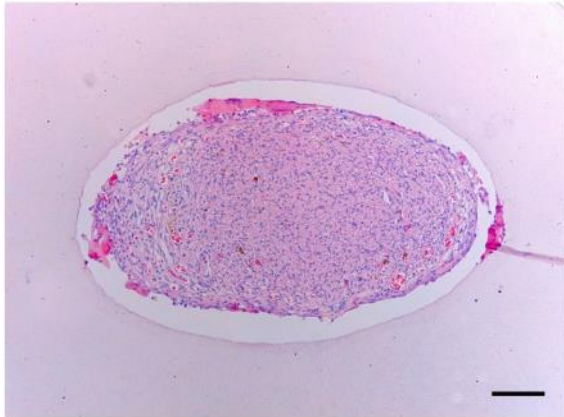
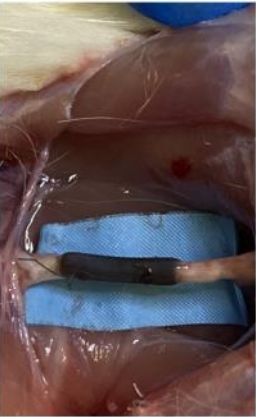
Reverse Autograft



OxPVA



OxPVA+MWCNT-S



## RISULTATI della RICERCA

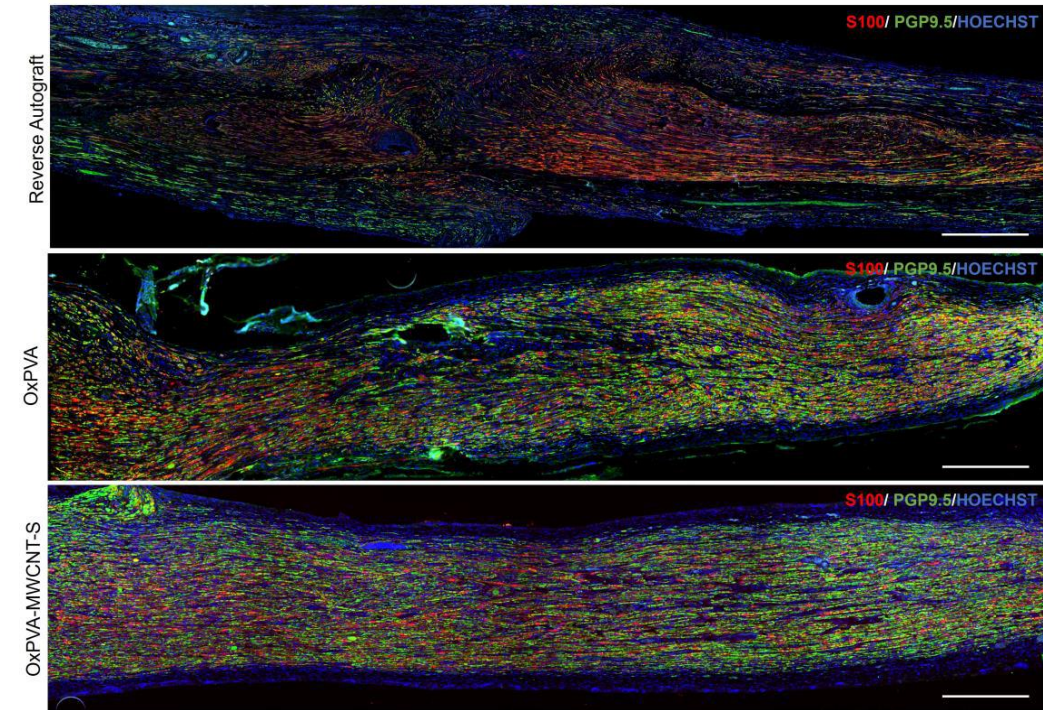
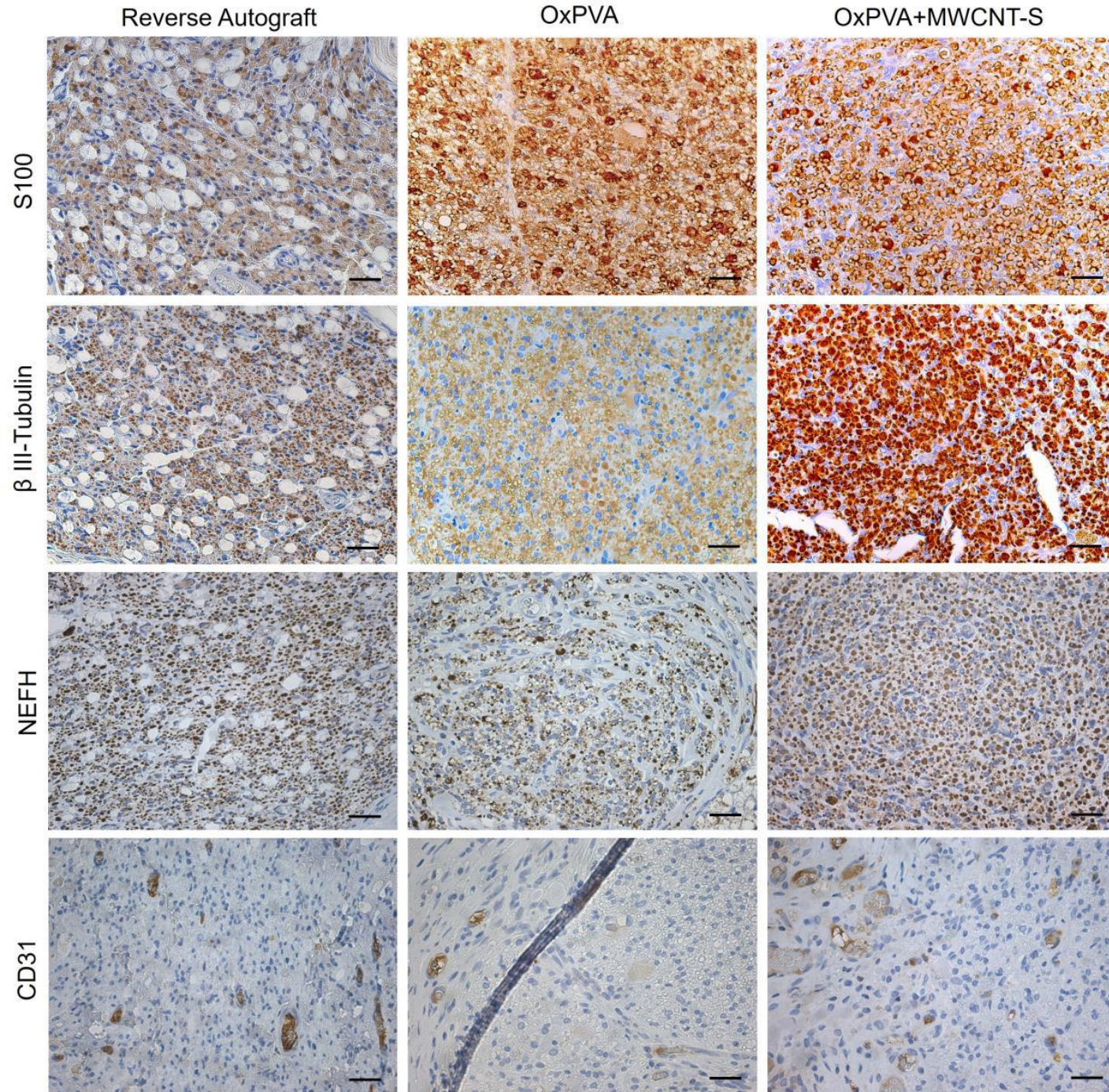
- ✓ A 6 settimane dall'intervento, il nervo sciatico è stato nuovamente esposto per l'espianto dei campioni.
- ✓ Tutti i dispositivi sono rimasti ben posizionati, non si sono degradati prematuramente e non hanno causato visibili reazioni avverse.



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



# RISULTATI della RICERCA

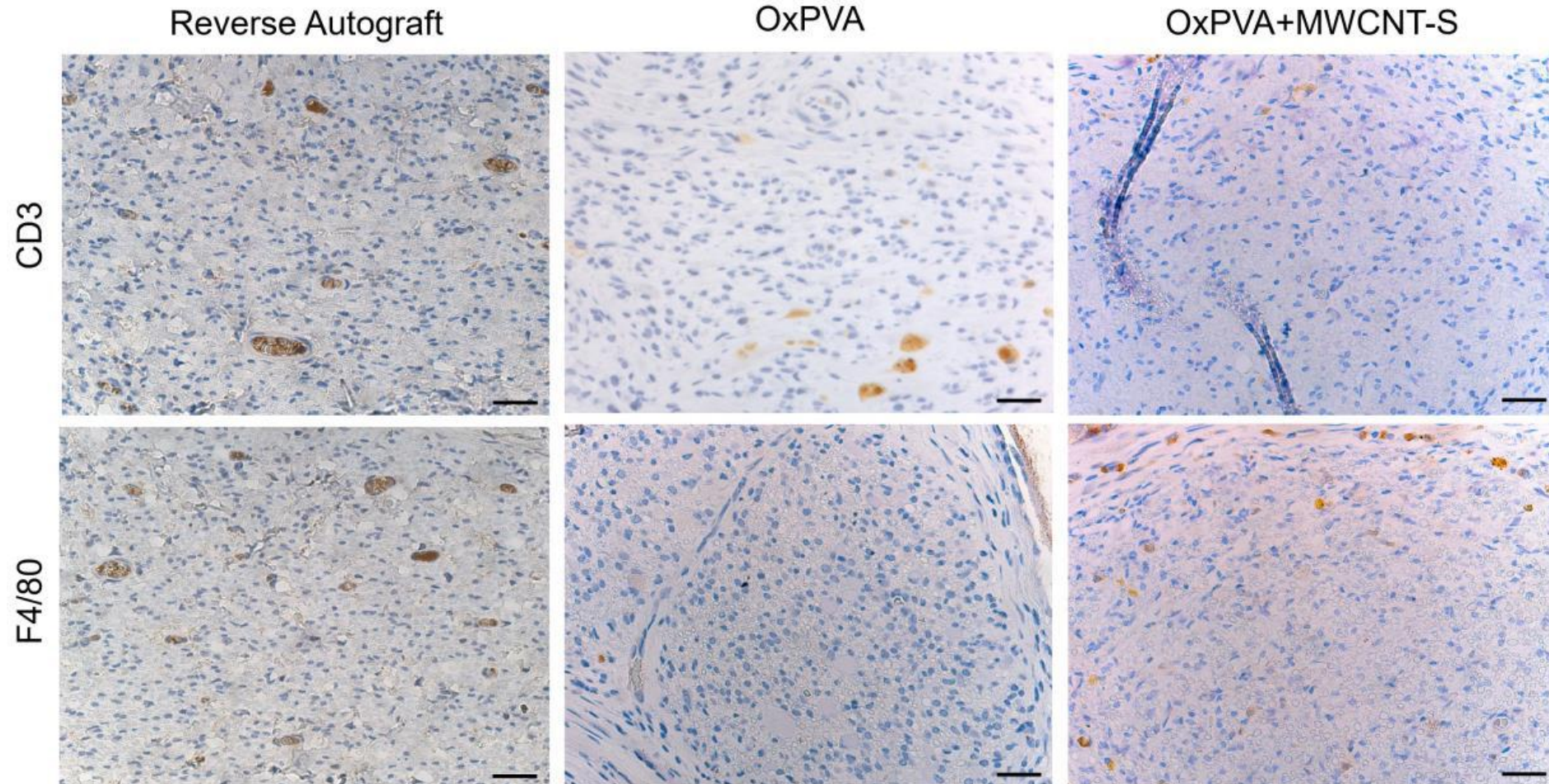


- ✓ Le analisi immunoistochimiche e immunofluorescenti mostrano cellule nervose (= **cellule di Schwann**), **assoni** e **vasi sanguigni ben rappresentati** all'interno dei condotti nervosi



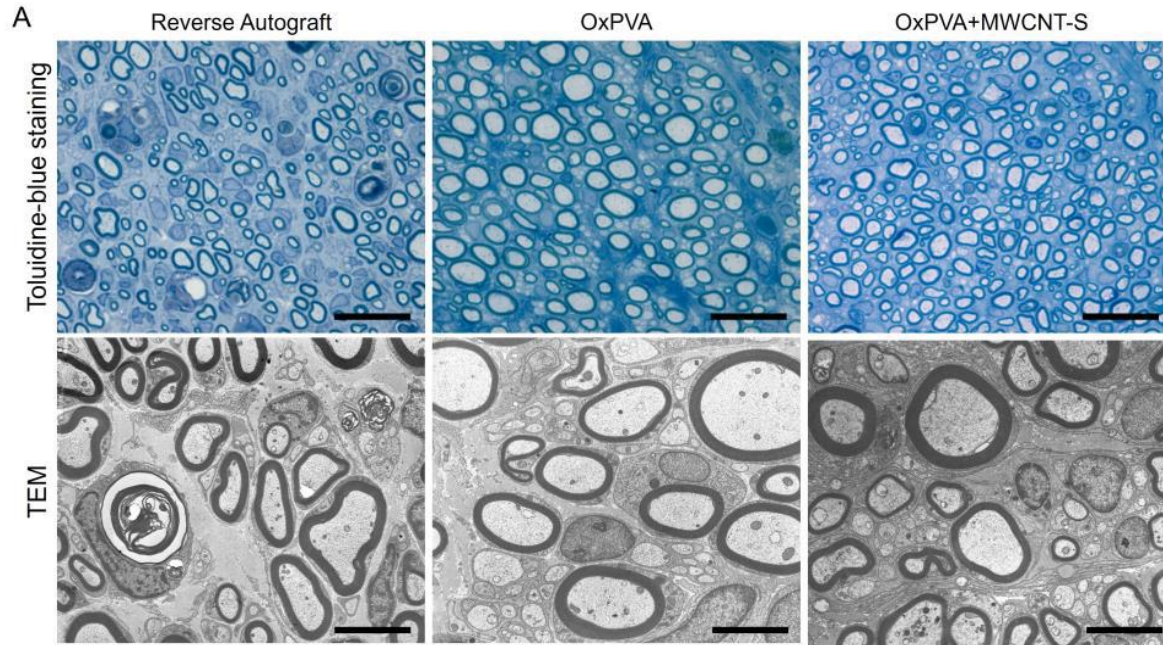
si osserva il **ricongiungimento dei 2 monconi**  
del nervo lesionato all'interno dei condotti





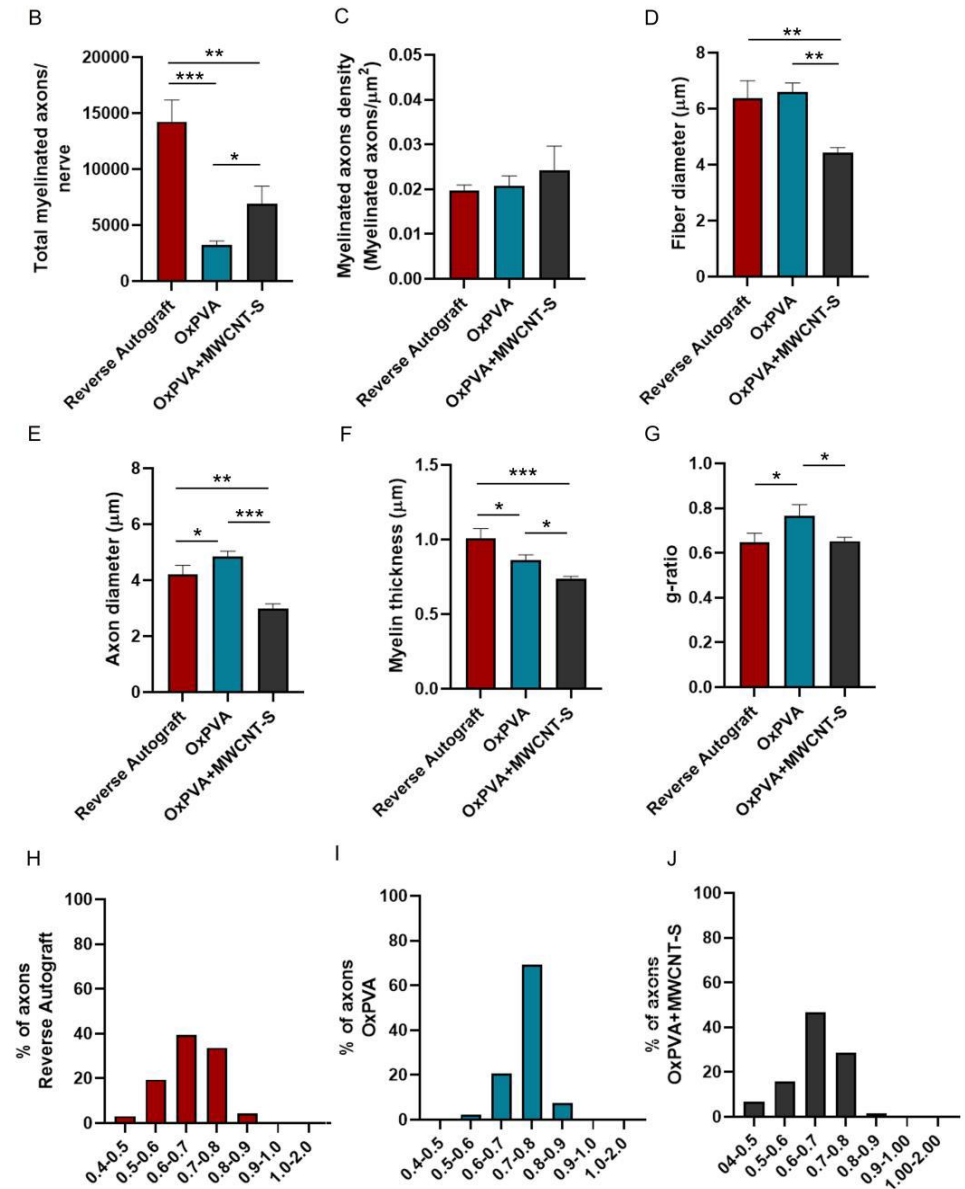
- ✓ In vivo, condotti in OxPVA e in OxPVA + nanotubi supportano la rigenerazione nervosa, **senza infiammazione significativa** (pochi linfociti CD3 positivi e pochi macrofagi F4/80 positivi).



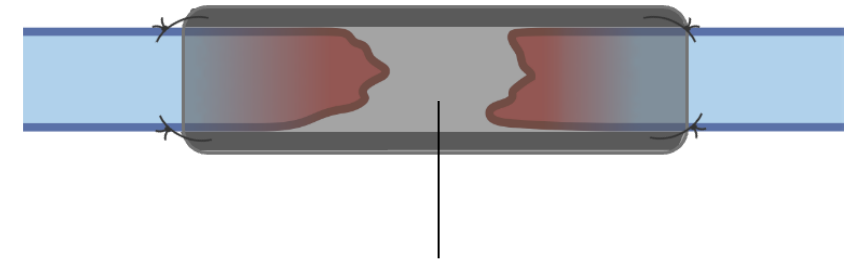


L'analisi quantitativa mostra risultati molto promettenti:

- ✓ 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'autotrapianto**, 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 elettroconduttive 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 (autotrapianto nervoso).
- I risultati indicano che questo nuovo materiale **rappresenta un passo avanti verso condotti nervosi più efficaci**, combinando idrogel e nanomateriali conduttivi.
- 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**



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!*