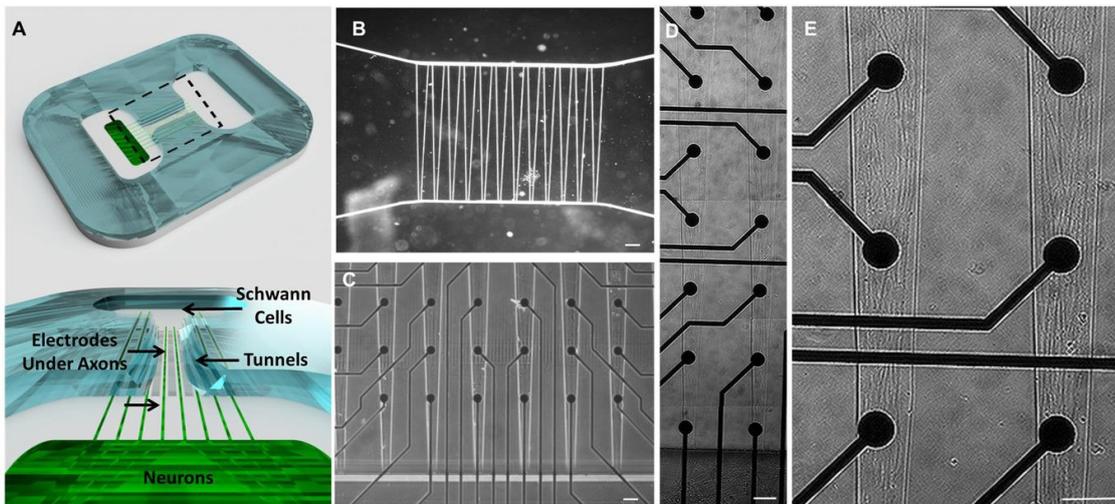


Cari Osanti,

ben trovati. In questo numero vedremo le nuove ricerche sulle neuropatie autoimmuni e gli importanti risultati dell'utilizzo delle metodologie alternative in questo campo. Passeremo poi ad un argomento che sta a cuore a milioni di persone ovvero la rigenerazione epatica; da ultimo ci soffermeremo su un modello di pompa cardiaca miniaturizzata che si presenta come innovativa e promettente.

Il futuro della ricerca per le neuropatie autoimmuni

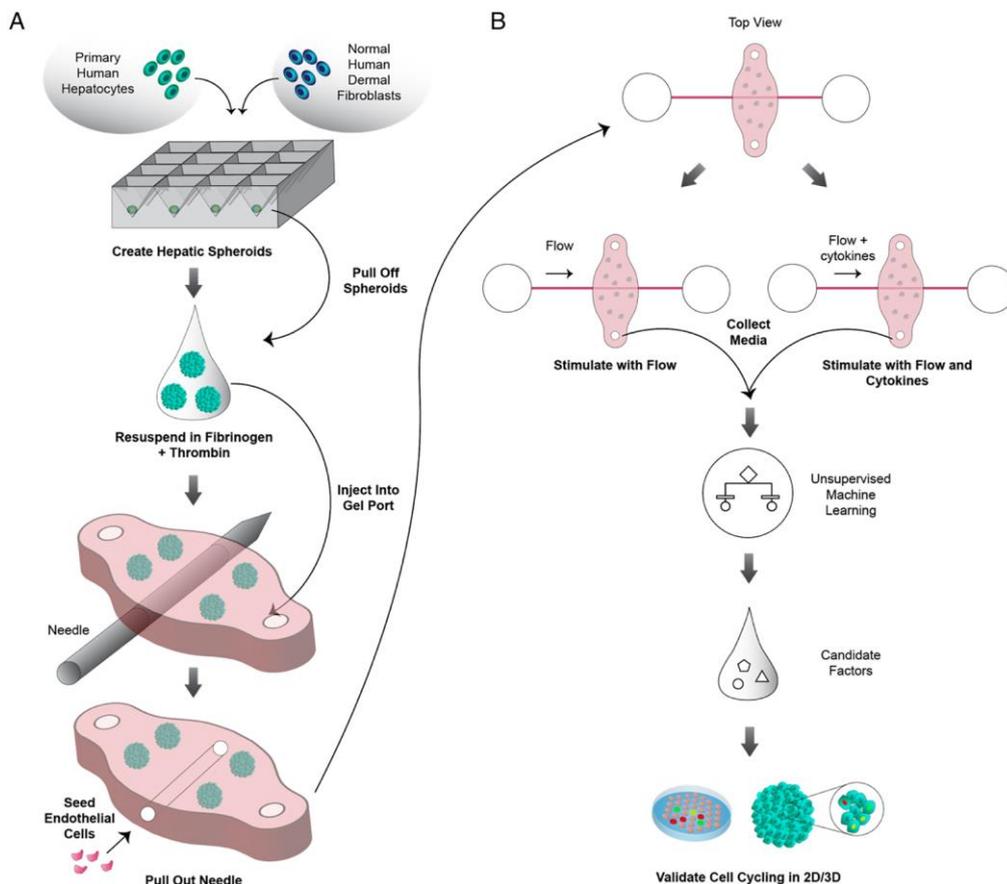


Due neuropatie autoimmuni sono rappresentate dalla MMN neuropatia multifocale motoria e dalla CIDP polineuropatia infiammatoria cronica demielinizzante. Caratterizzate da stanchezza, riduzione o assenza dei riflessi spinali e blocco nella conduzione elettrofisiologica. Se vi sono molte analogie tra le due patologie per quanto concerne la diagnosi, differiscono poi per sintomi clinici, attività elettrofisiologica e biomarker specifici. Benché considerate patologie rare esistono naturalmente modelli di studio da tempo. Si tratta di modelli animali in cui si cerca di indurre la patologia autoimmune inoculando dei preparati contenenti le proteine contenute nella mielina. **La cosa interessante è che mentre gli anticorpi si sono sviluppati sia nei conigli sia nei ratti, nessun topo ha sviluppato neuropatia periferica e soltanto in alcuni conigli si sono sviluppati i segni di malattia. Questo suggerisce che i meccanismi patogenetici siano molto più complessi di quello che si può vedere in un modello animale.** In questo studio si è dunque provveduto all'utilizzo di una metodologia alternativa e innovativa come i sistemi di organo su chip. Nel caso specifico costituito da motoneuroni derivati da cellule iPSC (staminali pluripotenti indotte) e cellule di Schwann (cellule delle mielina) coltivate su microelettrodi e trattate con anticorpi policlonali anti GM1 (ganglioside) e proteine del complemento umano purificate (è noto che il complemento ha un ruolo determinante nella lesione cellulare del nervo). Il primo step è stato quello di mettere a punto un modello per le neuriti autoimmuni, quindi si è provveduto a testare il medesimo con i sieri derivanti dalla

neuropatia multifocale e dalla polineuropatia, al fine di definire due possibili modelli di malattia. L'ultimo step che è stato anche quello più significativo, ha consentito di interrompere gli effetti della malattia mediante la somministrazione dell'anticorpo monoclonale murino in grado di inibire l'azione di una proteasi la C1S, fondamentale per l'attivazione del complemento. L'interruzione di una specifica fase si è tradotta nell'arresto delle lesioni a carico della mielina. Si tratta del primo modello su chip per la simulazione della conduzione neuronale periferica in corso di malattia rara, volto allo studio delle neuropatie demielinizzanti. **Lo studio ha evidenziato che l'inibizione di C1 si traduce in una diminuzione sia della frequenza dei potenziali d'azione sia della velocità di conduzione, e dunque dell'arresto delle lesioni a carico della mielina e a seguire della fibra nervosa. Proprio sulla scorta di questa evidenza, sono seguiti gli studi clinici in cui si testavano molecole inibitorie del C1.** Il sistema dovrebbe essere integrato negli studi futuri da componenti del sistema immunitario quali cellule T e monociti, che sappiano con certezza essere coinvolte attivamente nelle neuropatie infiammatorie, così come dovrebbe essere oggetto di studio il ruolo della barriera ematoencefalica. In ragione dell'impossibilità dei modelli animali di riproporre fedelmente i meccanismi di patogenicità e per l'impossibilità di tradurre le scoperte in terapie efficaci clinicamente, questi modelli innovativi rappresentano se opportunamente progettati la chiave di volta per la corretta interpretazione delle patologie e dei meccanismi fisiologici ad essi sottesi.

Rumsey J.W. et al. Classical Complement Pathway Inhibition in a "Human-On-A-Chip" Model of Autoimmune Demyelinating Neuropathies. *Advanced Therapeutics*. First published: 05 April 2022 <https://doi.org/10.1002/adtp.202200030>

La rigenerazione epatica, un argomento cruciale per milioni di malati nel mondo



Le malattie epatiche causano ogni anno 2 milioni di morti e sia le terapie sia le possibilità di trapianto risultano insufficienti. La rigenerazione epatica, conseguente alla divisione di epatociti maturi, è stata fino ad ora studiata esclusivamente nei modelli animali. Proprio per sopperire a questa mancanza di conoscenza è stata sviluppata una piattaforma tridimensionale denominata SHEAR (insiemi epatici strutturalmente vascolarizzati per l'analisi della rigenerazione) proprio con lo scopo di modellare le caratteristiche della rigenerazione epatica umana. Questo sistema consente di avere il controllo sulle funzioni emodinamiche al fine di simulare ciò che avviene in vivo in corso di lesione, ma anche come si realizzano i processi di rigenerazione e come rispondono i tessuti alla somministrazione di sostanze quali ad esempio le citochine. In primo luogo si è dunque provveduto ad individuare i meccanismi fisiologici alla base della rigenerazione, esaminando i resoconti che seguivano gli interventi di epatectomia, così riassunti:

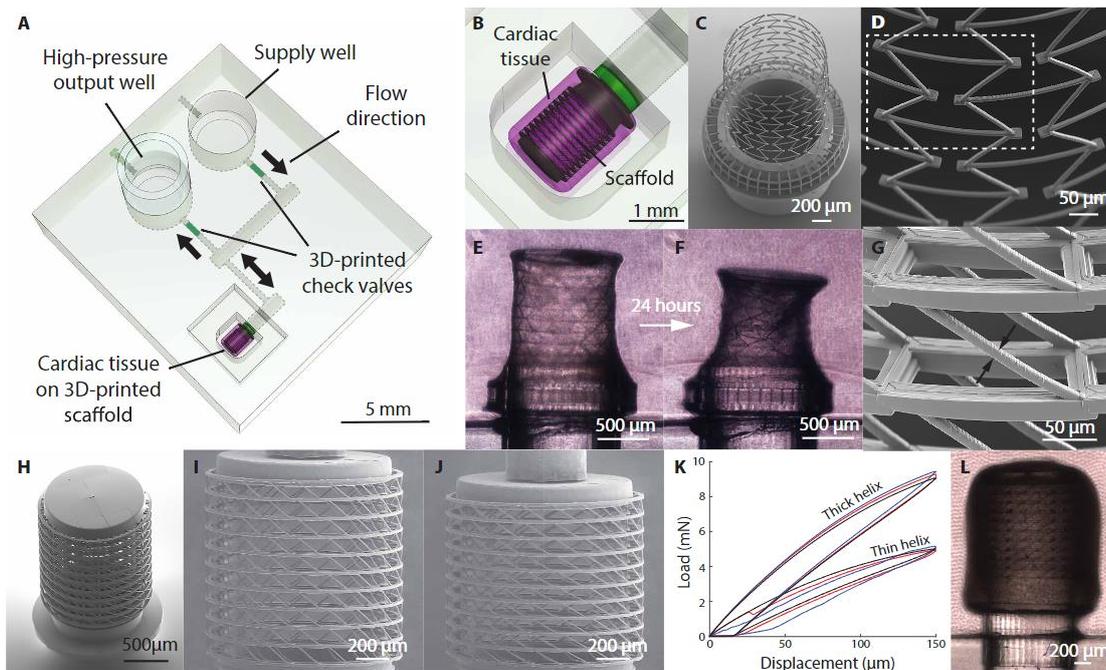
- incremento nel flusso portale;
- incremento nella circolazione di citochine e fattori di crescita;
- incremento delle interazioni paracrine tra epatociti e cellule endoteliali.

Per ricapitolare tutti questi elementi è stato elaborato un sistema microfluidico costituito da due compartimenti tra loro connessi. Un settore parenchimale incorporato in un biomateriale, nel quale scorre un comparto endoteliale con relativo lumen. Entrambi i compartimenti sono immersi nella

fibrina che ha proprietà angiogeniche e consente una comunicazione continua tra i due compartimenti. Il potenziale rigenerativo in vivo è molto difficile da riprodurre in vitro e questo studio si è concentrato proprio sulle proprietà che ne sono alla base, in quanto questo aprirebbe la strada a tutte quelle terapie che si attendono in corso di patologia epatica soprattutto se severa. **Si è così scoperto che le lesioni da taglio fisiologicamente rilevanti, determinano l'aumentata secrezione di fattori che stimolano l'angiogenesi e la rigenerazione, come ad esempio la prostaglandina E2 secreta dall'endotelio cellulare, che induce la proliferazione degli epatociti primari. Lo studio ha sicuramente il merito di aver evidenziato la stretta correlazione in essere tra il tessuto parenchimale epatico, e le cellule endoteliali; ad esempio una sostanza come l'interleuchina 1 (citochina con azione stimolante sulla proliferazione tissutale) testata sul solo comparto parenchimale solo epatociti, non ha comportato produzione di fattori proliferativi, mentre testata sul modello completo (parenchima, endotelio e flusso luminare) si è tradotta in aumentata secrezione di fattori di crescita come HGF, PGE2, VEGF-C, IL-8 e leptina.** Questo sistema consente di modellare e testare le diverse situazioni mediante la possibilità di modulare quanti-qualitativamente il flusso in atto; ad esempio modellare la situazione con o senza citochine, vagliare le conseguenze dello stress da taglio e dello stiramento endoteliale nella produzione di fattori angiocricini. I futuri modelli consentiranno una migliore messa a punto delle strutture già in uso, ad esempio al momento le cellule che rivestono il lume sono endoteliali mentre in vivo nei sinusoidi epatici sono presenti le cellule di Ito; tuttavia questo modello offre la possibilità di studiare un meccanismo, quello della rigenerazione che potrebbe dare risposta alla carenza di organi trapiantabili, alle problematiche relative alle terapie immunosoppressive, soprattutto quando prolungate nel tempo, ancora consentire lo studio della risposta epatica a epatotossine come il paracetamolo o a eventi come il calore intenso, insomma potrebbe aprire nuove frontiere terapeutiche di cui abbiamo bisogno.

Chhabra A, et al, and Sangeeta N. Bhatia. Contributed by Sangeeta Bhatia; received September 24, 2021; accepted May 18, 2022; reviewed by Stephen Duncan and Natesh Parashurama. A vascularized model of the human liver mimics regenerative responses. *Pnas* June 28, 2022 119 (28) e2115867119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2115867119>

Un modello di pompa cardiaca in miniatura in grado di replicare il ciclo ventricolare



Nonostante gli enormi passi avanti e i progressi compiuti nello sviluppo di tessuti umani 2D/3D derivati da cellule staminali pluripotenti indotte, l'organizzazione delle cellule in vitro per ricapitolare le funzioni biomeccaniche presenti in vita, è ostacolato proprio dalla difficoltà di riproporre tali meccanismi su scala micrometrica. A partire da cellule staminali pluripotenti indotte sono stati prodotti cardiomiociti che hanno poi formato la camera cardiaca volta a mimare l'attività del ventricolo. Tramite un laser a due fotoni è stato possibile elaborare sia lo scaffold miniaturizzato che supporta la contrazione del ventricolo in vitro sia la stampa delle valvole anch'esse miniaturizzate dotate di alta sensibilità per rispondere ai cambi volumetrici del flusso cardiaco. L'integrazione tramite un circuito microfluidico delle valvole e della camera ventricolare ha permesso di ricapitolare il flusso volumetrico unidirezionale in uscita dal ventricolo e ha permesso inoltre di mostrare un ciclo completo nella dinamica di contrazione ventricolare (pressione-volume). **Questo sistema ha consentito di creare un ciclo continuo di pressione/volume tanto da mimare sia la contrazione isovolumetrica del ventricolo (quando le cellule si contraggono ma la pressione non è tale da portare all'apertura delle valvole aortiche pertanto il volume rimane inalterato) e pressioni di precarico (forza di stiramento delle fibre cardiache in fase di riempimento) e postcarico (forza che le fibre cardiache devono vincere per raggiungere l'apertura delle valvole cardiache) separate. Infatti, un altro aspetto fondamentale è la presenza di un diverso gradiente di pressione tra l'input (che simula l'ingresso venoso) e il vaso di uscita (che simula il post carico arterioso), potendo così riproporre le reali dinamiche dell'attività cardiaca ventricolare.** Questo studio è solo l'inizio di un promettente futuro in cui gli studi sulla meccanica in ambito biologico, sulla robotica, sulla fisiologia, sulle scienze dei materiali si fondono per approntare nuovi sistemi su scala miniaturizzata, in grado di affrontare come mai prima le domande sul funzionamento del corpo umano e gli interrogativi sulle patologie che lo affliggono.

Michas C, et al. Engineering a living cardiac pump on a chip using high-precision fabrication. *SCIENCE ADVANCES* 22 Apr 2022 Vol 8, Issue 16. DOI: [10.1126/sciadv.abm3791](https://doi.org/10.1126/sciadv.abm3791)