

## CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DA LIQUIDO AMNIOTICO COME TERAPIA CELLULARE?

Bolda F.<sup>\*</sup>, Lanfranchi A.<sup>\*</sup>, Mattarucchi E.<sup>\*</sup>, Simoni G.<sup>†</sup>, Maggi F.<sup>‡</sup>, Grati F.<sup>‡</sup>, Pasquali F.<sup>‡</sup>, Porta G.<sup>‡</sup>, Porta F

<sup>\*</sup> Centro di Terapia Cellulare e Genica delle Oncoemopatie Infantili, Laboratorio Cellule Staminali, Dipartimento di Pediatria, Spedali Civili di Brescia, Brescia.

<sup>‡</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università dell'Insubria, Varese.

<sup>†</sup> Laboratorio TOMA Advanced Biomedical Assays, Sezione di Genetica.

**Introduzione e obiettivi:** Le cellule staminali mesenchimali (MSCs) sono precursori multipotenti capaci di differenziare in tessuto osseo, cartilagineo e adiposo. L'Osteogenesi Imperfetta (O.I.) è una malattia genetica dovuta ad una produzione difettiva di collagene di tipo I, la proteina più rappresentata nella matrice extracellulare del tessuto osseo. Studi recenti hanno riportato che il liquido amniotico è una valida fonte di MSCs, e che queste cellule possono essere un ottimo target per la correzione genetica di difetti molecolari.

Lo scopo di questo studio è stato quello di isolare MSCs da liquido amniotico e di differenziarle in osteoblasti.

**Metodi:** Le cellule utilizzate per questo lavoro sono state ricavate dal sovrannatante di colture di amniociti destinate all'analisi del cariotipo. Queste sono state coltivate in terreno specifico per MSCs per 8 settimane, analizzate in citometria a flusso e in Real time PCR per valutare l'espressione genica di specifici marcatori.

**Risultati:** Le MSCs derivanti da liquido amniotico (AFMSCs) sono state isolate, arricchite ed espanse con successo. Esse sono state analizzate per valutare la presenza di marcatori di superficie e la loro espressione genica dopo 6, 7 e 8 settimane di coltura. L'analisi citofluorimetrica ha dimostrato che queste cellule sono positive per i marcatori mesenchimali SH3, SH4, CD90, CD44 e CD29, debolmente positive per CD105 ma negative per CD45, CD34, CD25, CD31 e HLA-DR. I livelli di espressione genica degli stessi sono comparabili con i dati citofluorimetrici.

Il differenziamento osteogenico è stato indotto in ottava settimana dopo aver notato un picco di espressione dei marcatori specifici per le MSCs. Dopo 3 settimane di coltura con fattori di stimolazione specifici sono state valutate la morfologia e la capacità di depositare Sali di calcio nella matrice extracellulare usando Alizarin red-S.

**Conclusioni:** I risultati ottenuti con tecniche immunostochimiche e molecolari hanno evidenziato la presenza di MSCs multipotenti nel liquido amniotico. Questo lavoro ci ha dimostrato, inoltre, la possibilità di selezionare, espandere e differenziare le MSC ottenute da amniociti. Le AFMSC sono un grande potenziale per la terapia genica e cellulare di difetti genetici a carico di tessuti connettivi in cui un intervento precoce può essere risolutivo.

---