



SEASON ONE

18 Marzo 2021

Colture cellulari primarie da tessuti di specie suina provenienti dal macello: non solo *Replacement*

Debora La Mantia¹, Chiara Bernardini¹, Augusta Zannoni¹, Roberta Salaroli¹, Monica Forni¹

¹ DIMEVET – Servizio di Bioscienze e Biotecnologie

Background - I modelli *in vitro* che prevedono l'utilizzo di colture cellulari di origine animale sono uno dei metodi alternativi usati in laboratorio per ridurre la sperimentazione sugli animali (*Replacement*). In particolare l'utilizzo di colture primarie consente di investigare *in vitro* dinamiche con una elevata aderenza a quanto accade *in vivo* utilizzando i dati per metodi predittivi di screening (*Reduction*) o per lo studio di fenomeni fisiologici e/o patologici in tutte le specie di interesse veterinario e della medicina traslazionale consentendo di ottimizzare la sperimentazione *in vivo* (*Refinement*) [1]. E' abbastanza facile ottenere linee commerciali da roditori da laboratorio ma non altrettanto dal suino, pur riconosciuto come un eccellente modello animale [2].

Scopo del lavoro - Mettere a punto metodi di isolamento, espansione e caratterizzazione di colture primarie da tessuti di suini macellati per scopi alimentari.

Materiali e metodi - Per studi relativi alle funzioni cardiovascolari e alla risposta di attivazione endoteliale, sono state isolate cellule endoteliali (pAECs) e cellule staminali mesenchimali vascolari (pVW-MSCs) dalla parete dell'aorta mediante digestione enzimatica e coltivate in mezzo specifico di crescita endoteliale e pericitario rispettivamente. Per studi relativi al trasferimento di xenobiotici nel latte, cellule epiteliali mammarie (pMECs) sono state isolate dalla ghiandola mammaria mediante combinazione di digestione enzimatica e meccanica utilizzando un dissociatore automatico. Tutte le colture ottenute sono state espanse e caratterizzate per la presenza di marcatori specifici.

Risultati - Le colture primarie di pAECs, pVW-MSCs e pMECs sono pure, stabili e conservate nella biobanca in azoto liquido. Le pAECs presentano una forma poligonale e sono caratterizzate da positività per Fattore VIII e caderina endoteliale, confermando l'origine endoteliale. Le pVW-MSCs presentano una morfologia allungata fibroblastoide e sono positive ai marker principali di staminalità e negative al marker emopoietico ed endoteliale, confermando l'origine mesenchimale. Le pMECs mostrano la caratteristica morfologia definita a "mattonella" e sono positive per pan-citocheratina e caderina epiteliale, confermando l'origine epiteliale.

Conclusioni - Le colture primarie ottenute sono già state utilizzate in diversi approcci sperimentali [3-6] fornendo le basi per successive ricerche *in vivo*. La riproducibilità dei metodi di isolamento da noi ottimizzati consente di produrre anche numeri elevati di replicati biologici offrendo un ampio campionamento della variabilità naturale in una specie modello che per le dimensioni e per i costi delle sperimentazioni viene utilizzata abitualmente con numerosità ridotta nelle prove sperimentali portando quindi beneficio alla qualità della ricerca e alla salvaguardia degli animali utilizzati per scopi scientifici nel pieno rispetto della regola delle 3R.

Bibliografia

[1] Russel W.M.S. Burch R.L. The Principles of Humane Experimental Technique, UFAW, 1959.

- [2] Swindle M.M. et al. Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing, Vet. Pathol., 49:2, 344-356, 2012.
- [3] Zaniboni A. et al. In vitro differentiation of porcine aortic vascular precursor cells to endothelial and vascular smooth muscle cells, Am J Physiol Cell Physiol, 309:5, C320–C331, 2015.
- [4] Tubon I. et al. In Vitro Anti-Inflammatory Effect of Salvia sagittata Ethanolic Extract on Primary Cultures of Porcine Aortic Endothelial Cells, Oxid. Med. Cell. Longev., 2019:6829173, 2019.
- [5] Bernardini C. et al. Effect of hydrogen sulfide donor NaHS on porcine vascular wall-mesenchymal stem cells, Int. J. Mol. Sci., 21, 5267, 2020.
- [6] IMI ConcePTION project, WP3, <https://www.imi-conception.eu/>.

▪ La **casata** di appartenenza

[] One Health

[] Blue Growth

[X] Fundamental Sciences

[] Clinical Sciences

[] Animal Production

▪ La **tipologia** del proprio progetto

[X] Individual Research

[] Team Work

[] Travelling Scientists