

IMPIEGO DEI SOTTOPRODOTTI DELLA MACELLAZIONE DEI SUINI NELLA RICERCA BIOMEDICA

USE OF THE PIG SLAUGHTERING IN BIOMEDICAL RESEARCH

PERRONE V. ¹, GONZALEZ O. ², DI MARCO A. ², CITO G. ¹

¹ *Dipartimento di Prevenzione, Az.USL Roma 2;*

² *Laboratorio in vitro Pharmacology, IRBM SP, Pomezia*

Parole chiave: suino domestico, modello animale, barriera emato-encefalica

Key words: *domestic pig, animal model, blood-brain barrier*

Riassunto

Il suino domestico per la sua elevata biocompatibilità è sempre più considerato un valido modello per sostituire tessuti e organi dell'uomo e questa può essere altrettanto utile in numerosi ambiti di ricerca. Si riporta un'esperienza di utilizzo di cervelli di suino prelevati al macello per la coltura di cellule primarie per simulare la barriera emato-encefalica.

Abstract

The domestic pig for its high biocompatibility is increasingly seen as a valuable model to replace human tissues and organs and this can be just as useful in many areas of research. It is reported experience of the use of pig brains taken at the slaughterhouse for the cultivation of primary cells to mimic the blood-brain barrier.

INTRODUZIONE

I modelli animali rappresentano ancora un indispensabile strumento per la comprensione della patogenesi di malattie dell'uomo. In particolare il modello rappresentato dai roditori utilizzati in laboratorio, pur avendo permesso di acquisire molte informazioni in campo biologico, non è in grado di rappresentare con altrettanta attendibilità nelle ricerche che riguardano lo studio di sindromi o malattie umane (6). Da diverso tempo il suino domestico è sempre più impiegato come modello comparativo per lo studio di patologie umane viste le sue numerose affinità biologiche e fisiologiche con l'uomo. Tra questi possono essere individuati sia fattori estrinseci (è onnivoro come l'uomo, forte analogia con l'apparato cardiovascolare umano, le linee genetiche sono note e si possono evidenziare le correlazioni ereditarie) sia intrinseci (sviluppo dell'aterosclerosi spontanea, analogia delle patologie cardiache e renali con quelle dell'uomo) (1). Il modello suino trova un ulteriore e più recente impiego anche nella ricerca di nuovi farmaci e nello studio della loro efficacia e tossicità (6). Si descriverà di seguito un esempio di utilizzo di cervelli di suini domestici prelevati al macello per riprodurre *in vitro* la barriera emato-encefalica (BEE) per lo studio del suo ruolo nei meccanismi di *drug-delivery* nel sistema nervoso centrale (SNC) e lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per migliorare la qualità di vita di pazienti affetti da patologie del SNC.

Materiali e metodi

La BEE è un'unità anatomico-funzionale costituita dalle particolari caratteristiche delle cellule endoteliali che compongono i vasi del SNC ed ha principalmente la funzione di protezione del tessuto cerebrale dagli elementi nocivi presenti nel sangue permettendo tuttavia il passaggio di sostanze necessarie alle funzioni metaboliche. Quindi la presenza

della BEE può impedire alle terapie neuroriparatrici e neuroprotettive di arrivare a svolgere la loro azione farmacologica direttamente *in loco* rappresentando così un'importante sfida per il settore terapeutico. Nonostante che proprio la neurofarmaceutica rappresenti il più grande settore di crescita dell'industria del farmaco il suo progresso è rallentato dalla difficoltà di risolvere in modo efficace il problema dell'attraversamento della BEE (4).

Scelta del modello cellulare

Molte sono le linee cellulari continue derivanti da cellule umane e varie specie animali per la maggior parte di origine tumorali ma che inevitabilmente hanno perso gran parte delle caratteristiche fenotipiche rispetto alle cellule sane di origine. La loro capacità di crescita è virtualmente illimitata e possono essere utilizzate in condizioni di laboratorio per molti anni ma in tal caso si dovrà tenere conto ad ogni passaggio dell'accumulo di errori genomici e pertanto non va dimenticato che la risposta di queste cellule in determinati contesti è diversa dalla risposta che una cellula *in vivo* può dare allo stesso stimolo. Mentre la coltura di cellule primarie, pur mantenendo i limiti dell'artificialità della coltura *in vitro*, è probabilmente un modello migliore per predire una risposta più vicina a quella *in vivo* e sempre più vengono scelte dai laboratori per le loro ricerche. Le colture primarie sono prodotte coltivando cellule prelevate da organi espuntati da animali o da biopsie da donatori umani e mantenute in coltura per un periodo di poche settimane limitando così l'accumulo di aberrazioni. Tra i sistemi studiati di colture primarie provenienti da diverse specie animali le cellule cerebrali endoteliali provenienti da suini domestici mostrano le caratteristiche di BEE più vicine a quelle *in vivo*. Da non trascurare anche il fatto che, date le sue dimensioni, dal cervello di suino si ottiene una maggiore resa cellulare rispetto ai roditori da molti utilizzati.

Modalità di prelievo e trasporto

Il cervello viene prelevato dai suini il più rapidamente possibile appena effettuata la visita *post mortem*, immediatamente depresso in appositi contenitori sterili, immerso in un adeguato terreno di conservazione e quindi trasportati in contenitori autorizzati ai sensi del Reg. CE n. 1069/2009 accompagnati da un certificato sanitario rilasciato dall'autorità competente per i sottoprodotti di origine animale (SOA) da impiegare in ambito di ricerca.

Preparazione di cellule endoteliali da cervello di suino

Una volta giunti in laboratorio i cervelli vengono processati secondo il seguente protocollo sperimentale (5): dopo il lavaggio degli organi con soluzione salina si provvede alla rimozione delle meningi e della materia bianca. La materia grigia così isolata è posta in terreno idoneo e sterile per essere omogeneizzata e ulteriormente processata utilizzando cappe biologiche di classe II a flusso laminare verticale. I frammenti dei microvasi ottenuti vengono portati lentamente a -80 °C e infine conservati in azoto liquido. Le aliquote saranno in seguito scongelate e piastrate per ottenere cellule primarie endoteliali da utilizzare come sistema *in vitro* per studiare il trasporto di potenziali agenti terapeutici.

CONCLUSIONI

La ricerca biomedica può ridurre ma non certo eliminare l'impiego di modelli animali per le sue attività e tra queste primaria importanza rivestono quelle nell'ambito della neurofarmaceutica per la messa a punto di validi presidi contro le patologie del SNC dell'uomo. Di recente l'uso del suino domestico come modello animale trova sempre più spazio grazie alle sue caratteristiche di forte biocompatibilità con l'uomo e questo avviene in larga misura nella ricerca sugli xenotrapianti per ovviare alla cronica carenza di organi umani da trapiantare (3). Ma anche i suini da macello possono vedere un loro impiego

ulteriore a quello alimentare potendo fornire SOA da destinare ad attività di ricerca biomedica comportando, oltre a quello storico di presidi sanitari della prevenzione primaria, un rinnovato ruolo anche per gli impianti di macellazione. Per ultimo va sottolineato il valore etico dell'impiego di animali comunque destinati al sacrificio della macellazione che può rientrare appieno nell'approccio più moderno ed etico in sperimentazione animale conosciuto come "principio delle 3R": *replacement* (rimpiazzare), *reduction* (ridurre), *refinement* (rifornire) (2).

BIBLIOGRAFIA

1. Guarda F., Tursi M. (2002) "Il suino come modello animale per l'uomo: mito o realtà?". *Large Animal Review*, n. 2, 65-68
2. Fossati P. (2010) "Il diritto degli animali da esperimento" Torino, C.G. Edizioni Medico Scientifiche
3. Lo Monte A. I., Fiasconaro M., Di Marco V., Cuccia V., Caracappa S. (2000) "Il suino come potenziale donatore multiorgano per i trapianti sull'uomo. Rischi e prospettive" *Large Animal Review*, n. 1, 39-42
4. Pardridge W. M. (2001) "Brain drug targeting and gene technologies" *Jpn. J. Pharmacol.* Oct 87, 97-103
5. Patabendige A., Skinner R., Morgan L., Joan Abbott, N. (2013) "A detailed method for preparation of a functional and flexible blood-brain barrier model using porcine brain endothelial cells" *Brain Res.* 1521, 16-30.
6. Walters . M., Agca Y., Ganjam V., Evans T. (2011) "Animal models got you puzzled?: think pig" *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1245, 63-64