



**Cod. Progetto 5M-2019-23680239**

**Responsabile Scientifico:**

Dott.ssa Teresa Rampino

**Unità Operativa:**

Nefrologia e Dialisi

**Titolo progetto:**

Effects of hypothermic oxygenated perfusion with Hepatocyte Growth Factor loaded Extracellular Vesicles on ischemic /reperfusion damage in a pig model of kidney transplantation from donor after circulatory death: a new strategy of drug delivery to condition kidney before transplantation

**Sintesi Progetto - Abstract:**

Il trapianto di rene è il trattamento di scelta per la malattia renale cronica allo stadio terminale, ma il numero di organi disponibili per la donazione è nettamente inferiore al numero di pazienti in attesa di trapianto di rene, pertanto nuove strategie per espandere il pool dei donatori sono utilizzate. La donazione di organi marginali con criteri estesi (ECD) e la donazione dopo la morte circolatoria (DCD) sono le strategie più diffuse, sfortunatamente però l'alto tasso di mancata e ritardata ripresa funzionale del rene ne limitano l'uso. Le cellule mesenchimali stromali (MSC) sono cellule multipotenti con proprietà antinfiammatorie e immunomodulanti. Esse agiscono rilasciando vescicole extracellulari (EV), che trasferiscono proteine, lipidi bioattivi, microRNA, mRNA al tessuto danneggiato. Precedentemente in un modello di DCD in ratto abbiamo dimostrato che la somministrazione di EV durante la perfusione con la macchina ipotermica (HMP) protegge il rene dal danno ischemico preservando la macchina enzimatica deputata alla produzione di energia (catena respiratoria mitocondriale) e l'omeostasi cellulare. Inoltre è stato mostrato in modello di danno da ischemia/riperfusion (IRI) che EV promuovono la rigenerazione tubulare mediante trasferimento di HGF mRNA. Si deve considerare però che la traduzione di mRNA in proteina HGF richiede tempo ed una ben conservata macchina energetica e ribosomiale ed il rene del donatore invece è un tessuto ischemico con mitocondri e ribosomi danneggiati. Inoltre in DCD il tempo a disposizione per condizionare l'organo prima del trapianto non è lungo. Scopo del presente studio sarà valutare l'effetto della perfusione di EV caricate con la proteina HGF sul danno renale da IRI in un modello suino di trapianto di rene da DCD, presupponendo che il rilascio della proteina HGF già pronta possa prevenire il danno da IRI e facilitare la ripresa funzionale dell'organo trapiantato. Saranno studiati

tre gruppi di animali. Dopo aver indotto nei donatori una ischemia di 20 min mediante clampaggio delle arterie renali, sarà eseguita una nefrectomia bilaterale, successivamente i reni saranno perfusi con una macchina ipotermica ossigenata (HOPE) e poi trapiantati nei riceventi. I gruppi di maiali studiati si differenzieranno per il tipo di perfusione pre trapianto.

Gruppo A (controllo): 10 reni perfusi con soluzione di Belzer (BS) in HOPE per 4 ore a 4-10°C

Gruppo B: 10 reni perfusi con soluzione di Belzer (BS) addizionata con 28.5x 10<sup>6</sup> EV / rene (derivate da 3x 10<sup>6</sup> MSC) in HOPE per 4 ore a 4-10°C.

Gruppo C: 10 reni perfusi con soluzione di Belzer (BS) addizionata con 28.5x 10<sup>6</sup> EV caricate con HGF/ rene (derivate da 3x 10<sup>6</sup> MSC) in HOPE per 4 ore a 4-10°C.

Durante la perfusione saranno valutati i seguenti parametri: flusso e resistenze, pO<sub>2</sub> and pCO<sub>2</sub>, pH and lattati sul liquido di perfusione. Il danno renale sarà valutato su biopsie campionate prima (T0) e dopo 4 h (T4) dall'inizio della perfusione e al sacrificio (2, 7 giorni dopo il trapianto) mediante studi di microscopia ottica, elettronica ed immunoistochimica. Campioni di sangue saranno raccolti prima e dopo 2-7 giorni dal trapianto per valutare la funzione renale. Studi di metabolomica e proteomica saranno eseguiti sul liquido di perfusione e sangue rispettivamente.

Il nostro studio testa una nuova strategia per veicolare farmaci al rene e ci aspettiamo che:

1. Il trattamento di condizionamento migliori il danno renale, in particolare che la perfusione renale con EV caricate con HGF protegga più delle sole EV dal danno da IRI e di conseguenza migliori il recupero della funzione renale e la sopravvivenza dell'organo trapiantato
2. La nuova biotecnologia usata per veicolare HGF dia buoni risultati applicabili anche in altre malattie ischemiche.
3. Lo studio sia la base per la traslazione dal modello animale all'uomo.

**Inizio Progetto:**

01/07/2021

**Fine Progetto:**

30/06/2024

**Costo complessivo del progetto:**

98.052,28

**Totale quote 5 x mille:**

98.052,28

**Anno riferimento 5 x mille:**

2019

**Data percezione fondi 5 x mille:**

09/10/2020

**Budget**

Voce	Quota accantonata
Personale di ricerca	000,00
Apparecchiature	0,00
Materiale uso destinato alla ricerca	85.552,28
Spese di organizzazione	0,00
Elaborazione dati	2.500,00
Spese amministrative	0,00
Altro (indicare quali)	10.000,00
	98.052,28