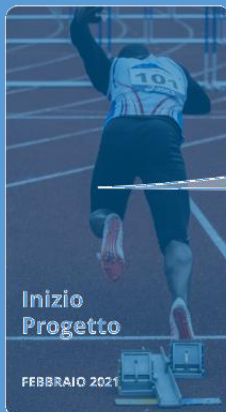


JoCare



Numero a cura di:

Laura de Girolamo

Marco Viganò

IRCCS Ospedale Galeazzi Sant'Ambrogio
Milano

PROGETTO JOCARE - Joint Cartilage Regeneration

Dopo l'interessante presentazione del progetto Ad Maiora (BSBN 1/2022), continua la rassegna dedicata a progetti di ricerca innovativi finanziati a livello nazionale o internazionale che vedono coinvolti i soci SIAGASCOT.

E' la volta del progetto JoCaRe (Joint Cartilage Regeneration), cofinanziato dal Ministero dello Sviluppo Economico nell'ambito degli Accordi di Innovazione, settore "Scienze della vita", che coinvolge 5 partner, di cui 3 centri di ricerca e 2 aziende.

Di cosa si occupa il Progetto JoCare

Il progetto Jocare, incentrato sullo sviluppo e la realizzazione di un nuovo dispositivo medico di stimolazione biofisica basata sui campi elettromagnetici pulsati capace di promuovere la rigenerazione di lesioni cartilaginee superficiali di lieve-media severità.

Recenti evidenze sperimentali, infatti, suggeriscono l'opportunità di estendere l'indicazione d'uso degli stimoli biofisici alle attività cellulari capaci di esercitare un'azione anabolica sulla cartilagine articolare promuovendone la rigenerazione e ricostituendone l'integrità.

L'ambito di applicazione in cui si inserisce questo studio è quello della "Sports Medicine", per il trattamento degli infortuni e la condro-rigenerazione, ma anche come trattamento conservativo per la "Joint Preservation". Il dispositivo sviluppato potrà essere gestito direttamente dallo sportivo e permetterà di ripetere il trattamento nel tempo. Inoltre, nell'ambito del progetto JoCare verrà sviluppata un'applicazione mobile dedicata al dispositivo che permetterà la comunicazione tra il dispositivo e lo smartphone.

Il progetto è coordinato da Ruggero Cadossi di IGEA. Il progetto JoCare vede coinvolti tre partner di ricerca: Università di Ferrara, per lo studio dei pathway metabolici che regolano senescenza e degenerazione della cartilagine articolare, IRCCS Ospedale Galeazzi Sant'Ambrogio, per lo studio degli effetti dei Campi Elettromagnetici Pulsati (PEMF, Pulsed Electromagnetic Fields) sull'ambiente articolare e l'IRCCS Istituto Ortopedico Rizzoli, per lo studio degli effetti dei CEMP in un modello animale di osteoartrosi spontanea e oltre ad IGEA il partner industriale Sinesy per lo sviluppo di comunicazioni wireless, App e tecnologie IoT (**Figura 1**).

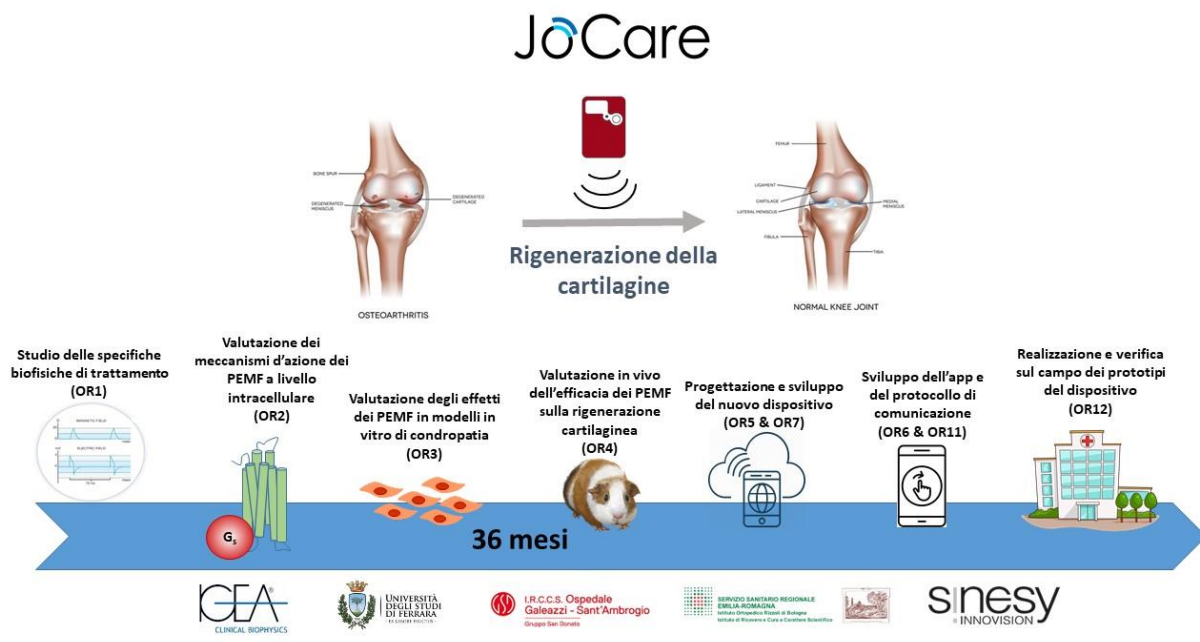


Figura 1. Progetto JoCare.

La Stimolazione Biofisica

La stimolazione biofisica consiste nell'applicazione di stimoli fisici non ionizzanti, quali ad esempio PEMF, a scopo terapeutico. I PEMF sono campi a bassa frequenza con una forma d'onda e un'ampiezza specifici. Il campo magnetico pulsato è generato tramite una bobina di filo di rame in cui circola corrente elettrica. Tale corrente è responsabile della generazione del campo magnetico pulsato, che a sua volta induce un campo elettrico indotto variabile nel tempo all'interno del tessuto esposto (**Figura 2**).

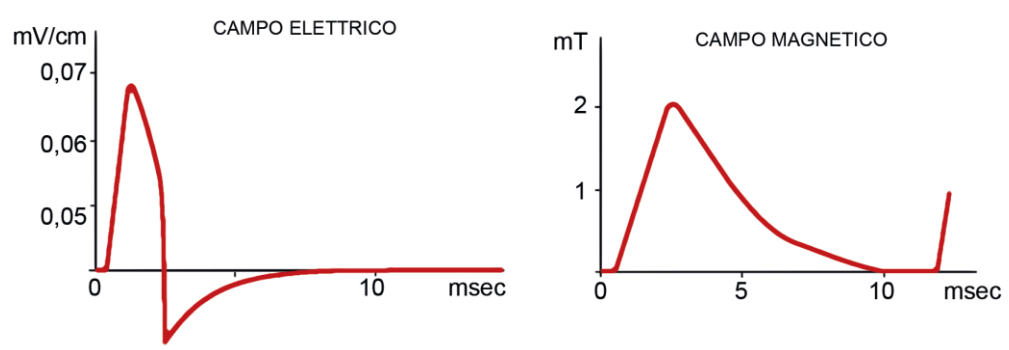


Figura 2. Rappresentazione schematica della forma d'onda del segnale PEMF utilizzato nel progetto JoCare.

I PEMF sono utilizzati per proteggere la cartilagine articolare dall'azione catabolica delle citochine pro-infiammatorie.

L'efficacia clinica della stimolazione biofisica è riconducibile in modo specifico alle caratteristiche dei segnali fisici impiegati e in questa prospettiva si può parlare di "una nuova farmacologia".

Analogamente a quanto avviene per la terapia farmacologica, dove l'efficacia terapeutica dipende dalla specificità del farmaco e dalla posologia, anche nel caso degli stimoli fisici l'efficacia terapeutica dipende dalla specificità, ossia dai parametri che caratterizzano il segnale e dal "dosaggio", ossia il tempo di trattamento giornaliero. Attraverso studi di dose-risposta è stato possibile individuare e definire con precisione i segnali fisici efficaci (**Figura 3**).

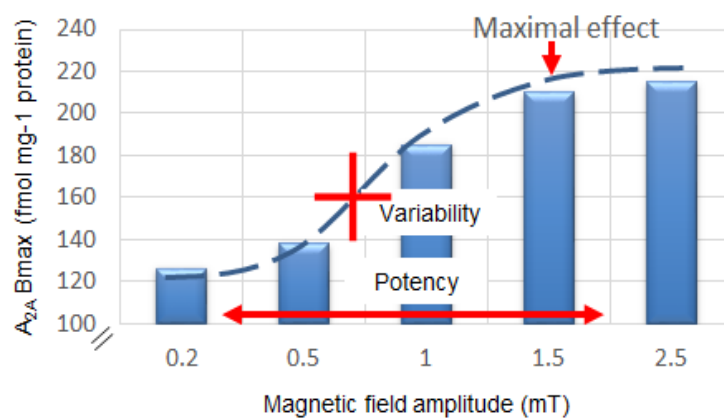


Figura 3. Effetto dose-risposta in dipendenza dall'ampiezza (mT) del campo elettromagnetico applicato.

I valori efficaci per frequenza, ampiezza e durata giornaliera del trattamento sono impiegati in modo univoco e specifico nei dispositivi medici di stimolazione biofisica per la stimolazione dell'osteogenesi e per la condroprotezione.

Razionale del progetto

La cartilagine articolare è un tessuto ipocellulare, scarsamente vascolarizzato, composto da una densa matrice di collagene e proteoglicani. Questa struttura complessa permette alla cartilagine articolare di svolgere il suo ruolo biomeccanico fornendo un basso attrito e una superficie altamente resistente all'usura sia da sforzo tangenziale che da compressione. Dall'altro lato, la natura ipocellulare e avascolare della cartilagine conferisce a questo tessuto scarse capacità rigenerative, insufficienti a riparare i danni indotti da traumi o dagli effetti catabolici di reazioni infiammatorie ad essi conseguenti. Se tali lesioni non vengono trattate, spesso progrediscono in degenerazione tissutale: la cartilagine progressivamente si assottiglia e si lacera, il tessuto osseo sottocondrale viene progressivamente esposto fino all'instaurarsi di un quadro di osteoartrosi (OA).

L'irreversibilità del danno alla cartilagine articolare è un "dogma" che la comunità medica non ha messo in discussione in passato.

Nel 1743 John Hunter scriveva "da Ippocrate ai tempi nostri la cartilagine ulcerata è un disturbo fastidioso, e una volta instaurata, non si ripara"; e ancora nel 1853 Sir James Paget scriveva "Io credo che non esistano casi nei quali la perdita di porzione della cartilagine sia stata restaurata con nuova e ben formata cartilagine permanente".

Nuove acquisizioni scientifiche hanno messo in dubbio questo "dogma". Recentemente, Murphy MP. et al. hanno dimostrato in un modello di xenotrapianto che la rigenerazione della cartilagine è un obiettivo raggiungibile ¹, mettendo in evidenza il ruolo della senescenza come componente fondamentale nello sviluppo dell'osteoartrosi (OA) e il ruolo delle cellule staminali residenti nel processo di rigenerazione della cartilagine articolare. Diversi meccanismi associati all'invecchiamento sono coinvolti nello sviluppo della senescenza cellulare e nel conseguente sviluppo di osteoartrosi, tra questi disfunzione mitocondriale, stress ossidativo e senescenza replicativa ².

L'attivazione dei recettori adenosinici A_{2A} è stata recentemente descritta come segnale in grado di contrastare sia la senescenza cellulare ³ che le alterazioni della funzionalità mitocondriale ⁴. L'iniezione intra-articolare di adenosina liposomica ha dimostrato attività mitoprotettiva in un modello murino di OA ⁴. Inoltre, recentemente è stato dimostrato che l'attivazione dei recettori A_{2A} è in grado di favorire l'attivazione dell'autofagia, che rappresenta una pathway importante per il mantenimento dell'omeostasi della cartilagine ⁵.

Per questo motivo, le ricerche farmacologiche si sono focalizzate su farmaci ad azione adenosino-agonista sperimentalmente attivi sulla rigenerazione della cartilagine. Tuttavia essi non sono ancora disponibili per uso clinico in quanto il trattamento si associa a importanti effetti collaterali negativi.

Nel 2002, il gruppo di ricerca coordinato dalla Prof.ssa Varani, ha dimostrato che i PEMF interagiscono con i recettori adenosinici: in neutrofili umani, la stimolazione con PEMF esercita un forte effetto adenosino-agonista specifico per i recettori A_{2A} e A_3 ^{6,7}. Questo effetto, mediato dall'aumento del numero di recettori stessi in membrana, determina un aumento significativo dell'AMP ciclico (cAMP) intracellulare e l'inibizione della pathway NF-kB inducendo un effetto

antinfiammatorio. Questo meccanismo di azione è stato successivamente confermato anche in condrociti e sinoviociti umani ⁸ (Figura 4).

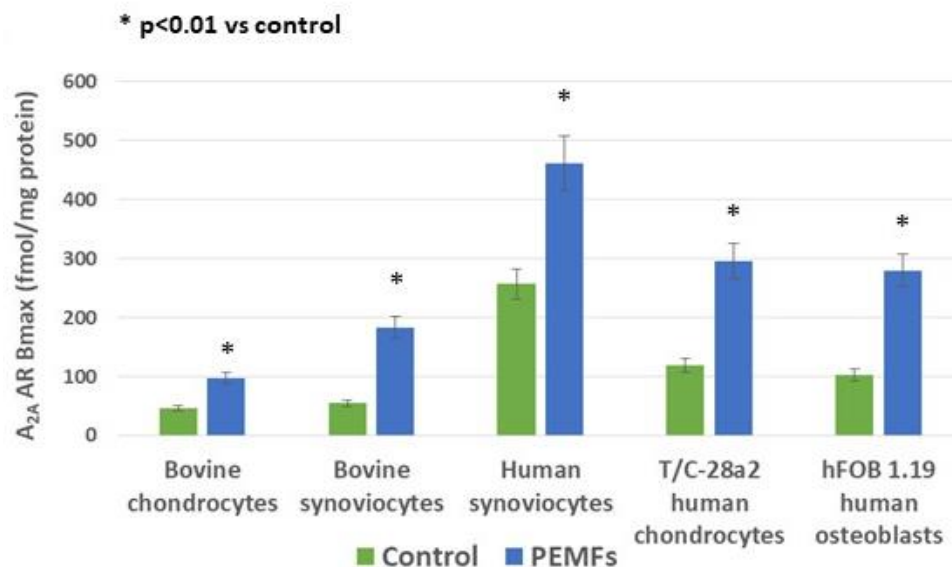


Figura 4. Densità dei recettori A_{2A} per adenosina in condrociti e sinoviociti bovini, sinoviociti umani, condrociti umani T/C-28a2 e osteoblasti umani hFOB 1.19 in assenza (barre verdi) e in presenza di PEMF (barre blu).

Sulla base del meccanismo d'azione adenosino-agonista dei PEMF e le recenti osservazioni sperimentali che hanno messo in evidenza come l'attivazione dei recettori A_{2A} per adenosina possa avere un ruolo nella regolazione della senescenza dei condrociti, nell'autofagia e nel metabolismo mitocondriale, il progetto JoCare si pone come obiettivo lo studio degli effetti della stimolazione PEMF sui pathway metabolici che regolano la rigenerazione della cartilagine articolare.

In questo contesto, risultano di particolare interesse i risultati delle ricerche condotte presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli sul modello di osteoartrosi spontanea in cavie Dunkin Hartley. Lo stimolo biofisico è stato impiegato in animali con danno alla cartilagine del ginocchio. L'analisi istologica ha dimostrato che negli animali con danno cartilagineo era possibile non solo impedire la progressione dell'OA ma anche promuovere la riparazione di piccole lesioni iniziali a carico della cartilagine articolare (Figura 5) ^{9,11}.

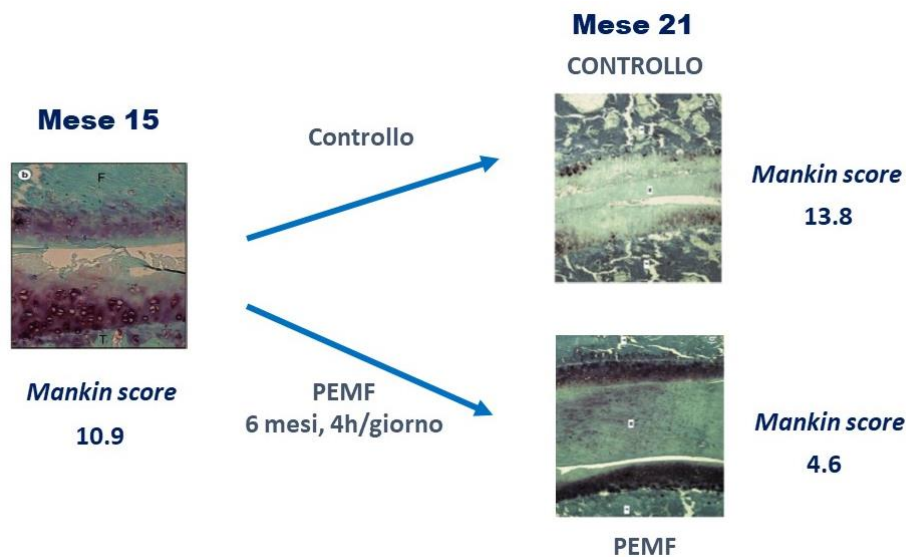


Figura 5. Analisi istologica in Dunkin Hartley stimolati e non con campi elettromagnetici pulsati.
Immagine tratta da: Fini M et al, *J. Orthop. Res.* 2005;23:899–908.

Questi risultati interpretati sulla base delle recenti acquisizioni sul ruolo delle cellule staminali residenti in articolazione e sul ruolo dei recettori A_{2A} per adenosina suggeriscono che la stimolazione biofisica possa favorire la rigenerazione della cartilagine articolare.

Obiettivi del progetto JoCare

Il progetto si prefigge di sviluppare e realizzare un nuovo dispositivo medico di stimolazione biofisica capace di promuovere la rigenerazione della cartilagine articolare.

Le condropatie, patologie che interessano la cartilagine, nello sportivo rappresentano un tema molto attuale e di grande interesse per il chirurgo ortopedico, si pensi che nel 90% degli atleti dell’NBA (National Basketball Association) si riscontrano problemi cartilaginei nel corso di risonanze magnetiche al ginocchio. Nonostante la presenza di diversi trattamenti (conservativi o chirurgici) a disposizione, i problemi della cartilagine negli sportivi rappresentano un quesito complesso ed ancora parzialmente irrisolto.

Il progetto JoCare si focalizza sul concetto di “*Joint Preservation*” intesa come tecnica in grado di prevenire e/o ritardare l’insorgenza delle patologie condrali, nell’ottica di ampliare lo spettro di intervento ad una fase in cui l’articolazione può essere ancora preservata.

In particolare, la ricerca preclinica del progetto JoCare sarà concentrata sullo studio dell’effetto dei PEMF su diverse popolazioni cellulari che compongono l’ambiente articolare. Verrà valutato l’effetto della stimolazione PEMF sulle attività metaboliche e sui pathways intracellulari coinvolti nello sviluppo dell’OA. Inoltre verrà studiata la produzione di mediatori extracellulari attraverso l’analisi del secretoma, mediante analisi ad ampio spettro quali proteomica e trascrittomica.

Presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli sarà sviluppato un modello animale adeguato allo studio della degenerazione cartilaginea che riproduca una condizione di sofferenza cartilaginea nelle fasi iniziali. Questo modello permetterà lo studio degli effetti dei PEMF sui pathways coinvolti nella degenerazione della cartilagine articolare.

Nell'insieme, la fase di ricerca pre-clinica del progetto consentirà di caratterizzare l'effetto dei PEMF sui processi biologici chiave che regolano la degenerazione cartilaginea e di identificare delle specifiche caratteristiche del segnale elettromagnetico in grado di contrastare tali processi. I parametri del segnale dei PEMF così identificati verranno generati dal nuovo dispositivo sviluppato presso i laboratori IGEA.

Il nuovo dispositivo sarà dedicato a sportivi professionisti e amatoriali con segni clinici di sofferenza cartilaginea nelle sue fasi iniziali.

Il dispositivo avrà inoltre la possibilità di collegarsi in modalità bluetooth con lo smartphone attraverso un'applicazione dedicata che verrà sviluppata dal partner di progetto Sinesy. Tramite l'applicazione mobile lo sportivo potrà consultare le schede di autovalutazione che consentono di eseguire una valutazione specifica per sede anatomica. Le schede avranno l'obiettivo di fornire informazioni allo sportivo sull'indicazione all'uso della stimolazione biofisica per il trattamento della sua sintomatologia. Tali schede verranno sviluppate in collaborazione fra i clinici ortopedici dell'Università di Ferrara, dell'IRCCS Ospedale Galeazzi Sant'Ambrogio e dell'IRCCS Istituto Ortopedico Rizzoli.

Ringraziamenti:

Un sentito ringraziamento ai partner del progetto per il contributo alla preparazione di questo articolo, ed in particolare alla Dr.ssa Simona Salati, IGEA S.p.A, IRCCS Ospedale Galeazzi-Sant'Ambrogio.

La ricerca è stata finanziata all'interno del progetto F/180007/01-05/X43 approvato dal Ministero dello Sviluppo Economico, Fondo per la Crescita Sostenibile – Accordi per l'innovazione "Scienze della vita", di cui al D.M. 5 marzo 2018 Capo II.

Decreto di Concessione n. 0000405 del 22.02.2022

Durata: 36 mesi dal 01/02/2021 al 31/01/2024

Beneficiari:

- IGEA S.p.A.
- SINESY S.R.L.
- Istituto Ortopedico Rizzoli IRCCS
- Ospedale Galeazzi S.p.A.
- Università degli Studi di Ferrara

Bibliografia

1. Murphy MP, Koepke LS, Lopez MT, Tong X, Ambrosi TH, Gulati GS, Marecic O, Wang Y, Ransom RC, Hoover MY, et al. Articular cartilage regeneration by activated skeletal stem cells. *Nat. Med.* 2020;26:1583–1592.
2. Coryell PR, Diekman BO, Loeser RF. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2021;17:47–57.
3. Ahsan MdK, Mehal WZ. Activation of adenosine receptor A_{2A} increases HSC proliferation and inhibits death and senescence by down-regulation of p53 and Rb. *Front. Pharmacol.* [Internet]. 2014 [cited 2022 Nov 30];5. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2014.00069/abstract>
4. Castro CM, Corciulo C, Solesio ME, Liang F, Pavlov EV, Cronstein BN. Adenosine A_{2A} receptor (A_{2A}AR) stimulation enhances mitochondrial metabolism and mitigates reactive oxygen species-mediated mitochondrial injury. *FASEB J.* 2020;34:5027–5045.
5. Friedman B, Corciulo C, Castro CM, Cronstein BN. Adenosine A_{2A} receptor signaling promotes FoxO associated autophagy in chondrocytes. *Sci. Rep.* 2021;11:968.
6. Varani K, Gessi S, Merighi S, Iannotta V, Cattabriga E, Spisani S, Cadossi R, Borea PA. Effect of low frequency electromagnetic fields on A_{2A} adenosine receptors in human neutrophils. *Br. J. Pharmacol.* 2002;136:57–66.
7. Varani K, Gessi S, Merighi S, Iannotta V, Cattabriga E, Pancaldi C, Cadossi R, Borea PA. Alteration of A₃ adenosine receptors in human neutrophils and low frequency electromagnetic fields. *Biochem. Pharmacol.* 2003;66:1897–1906.
8. Varani K, De Mattei M, Vincenzi F, Gessi S, Merighi S, Pellati A, Ongaro A, Caruso A, Cadossi R, Borea PA. Characterization of adenosine receptors in bovine chondrocytes and fibroblast-like synoviocytes exposed to low frequency low energy pulsed electromagnetic fields. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16:292–304.
9. Fini M, Torricelli P, Giavaresi G, Aldini NN, Cavani F, Setti S, Nicolini A, Carpi A, Giardino R. Effect of pulsed electromagnetic field stimulation on knee cartilage, subchondral and epiphyseal trabecular bone of aged Dunkin Hartley guinea pigs. *Biomed. Pharmacother.* 2008;62:709–715.
10. Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Cavani F, Setti S, Canè V, Giardino R. Pulsed electromagnetic fields reduce knee osteoarthritic lesion progression in the aged Dunkin Hartley guinea pig. *J. Orthop. Res.* 2005;23:899–908.
11. Veronesi F, Torricelli P, Giavaresi G, Sartori M, Cavani F, Setti S, Cadossi M, Ongaro A, Fini M. In vivo effect of two different pulsed electromagnetic field frequencies on osteoarthritis. *J Orthop Res.* 2014;32(5):677-85.