PROPOSTA PROGETTO DIPARTIMENTI DI ECCELLENZA

TITOLO DEL PROGETTO:

**Le cellule staminali della regione testa collo nella fisiopatologia umana: potenzialità rigenerative delle cellule mesenchimali, identificazione ed implicazioni terapeutiche delle cellule staminali tumorali.**

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA’ PROGETTUALI

Le cellule staminali stanno rivestendo un ruolo sempre più importante nella medicina moderna.

Le cellule staminali adulte hanno un ruolo ormai riconosciuto in già attuali e potenziali terapie rigenerative dei tessuti.

Le cellule staminali tumorali hanno dimostrato di poter avere un ruolo importante nella diagnosi, nell’impostazione terapeutica e nella prognosi dei tumori in particolare della regione testa collo.

L'invecchiamento comporta una serie di cambiamenti nel corpo umano tra i quali, di particolare rilevanza, la riduzione della massa ossea derivante da alterazioni del metabolismo minerale con conseguente insorgenza di malattie quali l'osteoporosi ed altre patologie

scheletriche. Le patologie del metabolismo osseo rappresentano quindi un importante target per la medicina rigenerativa. È noto che la rigenerazione ossea sia caratterizzata dall’attivazione e dal differenziamento delle Cellule Staminali Mesenchimali (MSCs) in osteoblasti. L’identificazione di molecole in grado di promuovere il differenziamento osteogenico potrebbe quindi rappresentare un ottimo rimedio terapeutico per le malattie caratterizzate da alterazioni del metabolismo osseo.

Il Resveratrolo (Res) ed il suo precursore naturale, la Polidatina (Pol), sono composti polifenolici, particolarmente abbondanti nell’uva nera, a cui è stata attribuita una serie di effetti biologici tra cui l’anti-aging. Nonostante il midollo osseo sia la fonte ampiamente riconosciuta per l’isolamento di MSCs, i tessuti dentali, rappresentano una fonte alternativa e promettente [1]. Nel caso di denti immaturi, una fonte di MSCs è rappresentata dalla gemma dentale. I risultati fino ad ora ottenuti ci inducono quindi a studiare i possibili effetti osteogenici dei composti polifenolici sul differenziamento delle DBSCs; queste cellule potrebbero costituire un’ottima strategia per rigenerare, in modo autologo, tessuto osseo *in vitro* da trapiantare nel paziente. Gli alimenti addizionati con Res e Pol, potrebbero costituire un valido approccio terapeutico per la prevenzione dell’osteoporosi o di malattie caratterizzate da ridotta massa ossea.

Il progetto studierà anche il ruolo delle cellule staminali tumorali ai fini della diagnosi, dell’impostazione terapeutica e nella prognosi dei tumori in particolare della regione testa collo.

Recenti studi hanno dimostrato che il microbioma intestinale ha un ruolo importante nella modulazione della attività degli osteoclasti e degli osteoblasti, influendo attivamente sul processo di rimodellamento osseo [2].

Oltre all’effetto anti-aging, il Res, ha un ampio spettro di attività antibatterica anti-fungina ed anti-biofilm [3]. Inoltre, studi nel modello animale hanno mostrato che la somministrazione di Res ha degli effetti regolatori sul microbioma intestinale [4].

1. Gronthos S., et al. 2000, Proceedings of the National Academy of Sciences, 97, 13625
2. Uchida Y., et al. 2018, Molecules, 23;23(7)
3. Vestergaard M, Ingmer H. 2019, Int J Antimicrob Agents, 53(6):716-723. 4. Gan Z., et al. 2019, Molecules, 28;24(7).

OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI DEL PROGETTO

Scopo del progetto è valutare se la somministrazione di Res e Pol, stimolando il differenziamento osteogenico delle MSCs, abbia un effetto anabolico sul tessuto osseo. I nostri studi preliminari hanno dimostrato che Res e Pol, se usati a basse concentrazioni, sono in grado di indurre il differenziamento osteoblastico delle DBSCs coltivate in un mezzo di

coltura osteogenico; inoltre la Pol sembra essere più efficace del Res nel determinare questo effetto. Le DBSCs saranno isolate da gemme di terzi molari di pazienti sani sottoposti ad estrazioni per ragioni ortodontiche.

Saranno esaminati i tipici marcatori di differenziamento osteoblastico, la loro analisi di espressione sarà eseguita sia a livello genetico, mediante l’utilizzo della Real Time-PCR, che a livello proteico tramite Western Blot (WB).

Saranno effettuati saggi istochimici per valutare l'espressione della Fosfatasi Alcalina (ALP), un marker del differenziamento osteoblastico, e per determinare la capacità delle DBSCs di generare noduli di matrice mineralizzata (Alizarin Red Staining), caratteristica esclusiva degli osteoblasti. Considerando che le interazioni cellula-cellula e cellula-matrice, mediate rispettivamente da caderine e integrine, sono fondamentali per la morfogenesi e l’architettura tissutale, sarà studiata l’espressione dei principali recettori coinvolti nel differenziamento osteogenico delle DBSCs trattate con Res e Pol.

Sarà dunque effettuata una caratterizzazione microscopica dei recettori maggiormente coinvolti nel commitment dei precursori mesenchimali verso il differenziamento osteogenico allo scopo di comprendere se e come il trattamento con Res e Pol possa modulare l’espressione di queste molecole adesive e, di conseguenza, influenzare il processo osteo- induttivo. L’analisi dell’espressione delle molecole adesive sarà effettuata sia con immunofluorescenza che mediante WB.

Inoltre, sarà effettuata anche una caratterizzazione delle MSCs mediante tecniche di micro- spettroscopia vibrazionale (spettroscopia Raman e FTIR) per valutare l’adozione di tali metodiche nel riconoscimento del differenziamento osteogenico. Infatti, studi precedentemente effettuati su cellule staminali embrionali hanno evidenziato la possibilità mediante FTIR di rivelare modificazioni nel contenuto proteico e lipidico associate al processo di differenziamento. Nel caso delle DBSCs, si indagherà la possibilità di identificare specifici marker spettrali associati a modificazioni biochimiche che si manifestano durante il differenziamento osteogenico.

Inoltre, al fine di valutare i potenziali effetti della somministrazione di Res sull’assetto del microbioma intestinale e le eventuali ricadute in termini di regolazione dell’omeostasi ossea, verrà saggiata l’attività antibatterica di Res nei confronti di specie batteriche fortemente rappresentate nel microbioma intestinale umano (*Lactobacillus* spp, *Bifidobacterium* spp. e *Ruminococcus* spp.).

Nel contempo il progetto si porrà come obiettivo l’individuazione di alcuni marcatori specifici delle cancer stem cells e del loro ruolo nella patogenesi dei tumori della regione testa collo.

INDICATORI PER LA VERIFICA DEL RAGGIUNGIMENTO DEGLI OBIETTIVI INTERMEDI E FINALI

Relazione trimestrale sulle attività svolte, con evidenza dei risultati progressivamente raggiunti

Presentazione periodica al Dipartimento dei risultati raggiunti (cadenza trimestrale). Pubblicazioni su riviste internazionali con revisione tra pari

Presentazione dei risultati a congressi nazionali ed internazionali, Sviluppo di protocolli sperimentali e set up di strumentazione avanzata, Deposito di brevetti e di nuove metodiche diagnostiche

COMPONENTI DEL GRUPPO DI RICERCA

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **Nome** | **Inquadramento universitario** |  | **Ruolo/attività progettuale** |
| 1 | Lorenzo Lo Muzio | P.O. | MED28 | Coordinamento scientifico; aspetti funzionali relativi |
| 2 | Portincasa Aurelio | P.O. | MED19 | Ricercatore; studio delle  potenzialità delle cellule rigenerative staminali |
| 3 | Lo Russo Lucio | P.A. | MED28 | Ricercatore; studio del ruolo delle cancer stem cell nei tumori |
| 4 | Testa Nunzio | P.A. | MED29 | Ricercatore; studio del ruolo delle cancer stem cell nei tumori |
| 5 | Giuliani Michele | P.A. | MED28 | Ricercatore; studio del ruolo delle cancer stem cell nei  tumori |
| 6 | Perna Giuseppe | P.A. | FIS07 | Ricercatore; caratterizzazione |
|  |  |  |  | delle MSCs mediante tecniche di micro-spettroscopia vibrazionale |
| 7 | Pannone Giuseppe | P.A. | MED08 | Ricercatore; studio del ruolo  delle cancer stem cell nei tumori |
| 8 | Cassano Michele | P.A. | MED31 | Ricercatore; studio del ruolo delle cancer stem cell nei tumori |
| 9 | Mori Giorgio | P.A. | BIO17 | Ricercatore; studio del ruolo delle cellule staminale nella  rigenerazione tissutale |
| 10 | Mastrangelo Filiberto | RTDb | MED28 | Ricercatore; studio del ruolo delle cellule staminale nella rigenerazione tissutale |
| 11 | Ciavarella Domenico | R.U. | MED28 | Ricercatore; studio del ruolo  delle cellule staminale nella rigenerazione tissutale |
| 12 | Parisi Domenico | R.U. | MED19 | Ricercatore; studio delle potenzialità delle cellule rigenerative staminali |
| 13 | De Lillo Alfredo | R.U. | MED28 | Ricercatore; studio del ruolo delle cancer stem cell nei  tumori |
| 14 | Posa Francesca | RTDa | BIO17 | Ricercatore; studio del ruolo delle cellule staminale nella rigenerazione tissutale |
| 15 | Arena Fabio | RTDb | MED07 | Ricercatore; studio del ruolo del microbioma intestinale nella omeostasi ossea |
| 16 | Pennella Antonio | R.U. | MED08 | Ricercatore; studio del ruolo  delle cancer stem cell nei tumori |