

CREAZIONE DI UN MODELLO *IN VITRO* DI CELLULE STAMINALI DA POLPA DENTALE PER STUDIARE GLI EFFETTI DI VIBRAZIONI MECCANICHE SU PROLIFERAZIONE E DIFFERENZIAMENTO OSTEOGENICO E PER IDENTIFICARE INDUTTORI OSTEOGENICI IN GRADO DI MIGLIORARE LA RIPARAZIONE FISIOLOGICA DEL DENTE.

Le cellule staminali mesenchimali (MSC) possiedono la capacità di proliferare e differenziarsi quando trattate con opportuni induttori. Possono inoltre essere isolate da diversi tessuti, in particolare, dalla polpa dentale. Queste cellule sono facilmente accessibili, plastiche e possono essere d'ausilio per svariate applicazioni cliniche. In particolare le MSC della polpa dei denti decidui sono caratterizzate da un migliore potenziale di proliferazione e di differenziamento rispetto a quelle derivate dal sangue periferico e dal midollo osseo. Oltre ai fattori di crescita, le cellule staminali reagiscono alla stimolazione meccanica come la *vibrazione di bassa magnitudo ed alta frequenza* (vLMHF), che può favorire l'attività anabolica osteogenica e pertanto si presta ad una vasta gamma di applicazioni terapeutiche, tra cui la riparazione o il trattamento del deterioramento osseo. La bassa invasività del trattamento vLMHF e la sua capacità di stimolare il metabolismo osseo ne lascia presupporre l'impiego in clinica ortodontica, oltre che per ridurre il dolore e facilitare il riassorbimento radicolare, anche per ridurre i tempi dei trattamenti ortodontici eseguiti applicando apparecchi fissi o allineatori.

OBIETTIVI

1) Ad oggi gli effetti biologici innescati dal trattamento *in vivo* con vLMHF sono poco conosciuti. Per comprendere meglio gli eventi cellulari coinvolti nella risposta clinica, verrà sviluppato un modello sperimentale di cellule primarie per la valutazione *in vitro* di eventuali correlazioni tra trattamenti con vLMHF e induzione osteogenica:

- produzione e validazione di un modello cellulare sperimentale semplificato basato sull'utilizzo di cellule espantate dalla polpa di denti decidui di donatori e arricchite in cellule MSC mediante tecniche di immunopurificazione. Definizione delle condizioni sperimentali per la purificazione, la coltivazione, l'arricchimento in cellule staminali, la caratterizzazione mediante analisi al FACS, l'induzione osteogenica e la valutazione del differenziamento osteoblastico;
- definizione delle condizioni sperimentali per la crio-conservazione delle MSC da tessuto pulpare e valutazione delle proprietà proliferative e dell'inducibilità in seguito a espansione *in vitro* dopo diversi periodi di congelamento;
- caratterizzazione degli effetti cellulari di cicli di trattamento *in vitro* con vLMHF. Lo studio prevede: a) la progettazione di un apposito supporto di sospensione elastica con contrappeso per applicare il dispositivo vLMHF alle colture cellulari; b) la valutazione dell'effetto delle vLMHF sulla proliferazione e sull'espressione di marcatori del differenziamento osseo mediante l'utilizzo di saggi colorimetrici; c) la valutazione dell'effetto delle vLMHF sull'induzione di trascritti implicati nel differenziamento osteogenico.

2) Traumi e infezioni possono fratturare o erodere lo strato esterno protettivo del dente, la dentina, esponendo la polpa dentaria a danni irreversibili. I dentisti usano cementi o resine per otturare le cavità, questi materiali artificiali tuttavia non si integrano perfettamente con il dente e possono degradarsi, provocando reinfezioni e conseguente asportazione dell'ulteriore parte danneggiata. Nella polpa dentale sono presenti cellule staminali che permettono di ripristinare la dentina, ma solo se le lesioni sono molto piccole. L'obiettivo del progetto è:

- l'identificazione e la caratterizzazione di molecole di origine naturale o sintetica in grado di stimolare *in vitro* la proliferazione ed il differenziamento osteogenico, al fine di identificare nuove strategie per la ricostituzione della struttura originaria del dente, molto meno esposta ai rischi di erosione rispetto alle otturazioni artificiali ora in uso.

STRUMENTAZIONI E METODI

Strumenti di base per colture di cellule primarie (incubatore a CO₂, cappa a flusso laminare, microscopio rovesciato, centrifuga clinica). Dispositivo e supporto per l'applicazione delle vLMHF alle colture in vitro. Sistemi di crio-conservazione cellulare, lettore ELISA, thermal cycler, strumentazione per gel elettroforesi e per l'acquisizione d'immagini, sistema per real-time quantitative RT-PCR, per l'analisi di espressione di geni coinvolti nella formazione e rimodellamento osseo. Saggio MTT, analisi al FACS di marcatori staminali e di differenziamento osseo, analisi con propidio ioduro del ciclo cellulare, analisi colorimetriche del rosso alizarina e della fosfatasi alcalina.

DISCIPLINE COINVOLTE

Biochimica, Biologia Cellulare e Molecolare.

GRUPPO DI LAVORO

Giordana Feriotto

Carlo Mischiati (Dipartimento di Scienze biomediche e chirurgico specialistiche)

Federico Tagliati (Dipartimento di Scienze biomediche e chirurgico specialistiche)

COLLABORAZIONI

Dott. L. Lombardo (Scuola di Specializzazione in Ortodonzia, Università di Ferrara), Prof. G. Siciliani (Scuola di Specializzazione in Ortodonzia, Università di Ferrara), Prof. F. Carinci (Dipartimento di Morfologia, chirurgia e medicina sperimentale, Università di Ferrara), Dott. F. Casciano (Centro LTTA, Università di Ferrara).