

**MINISTERO DELL'ISTRUZIONE DELL'UNIVERSITÀ E DELLA RICERCA**  
**Dipartimento per la formazione superiore e per la ricerca**  
**Direzione Generale per il coordinamento, la promozione e la valorizzazione**  
**della Ricerca**  
**BANDO "AIM" (ATTRACTION AND INTERNATIONAL MOBILITY)**

**CODICE PROPOSTA: AIM1889077-2**

**S.S.D.: BIO/17**  
**S.C.: 05/H2**

**Attività N. 2**

**S.S.D.: BIO/17**  
**S.C.: 05/H2**

**1. Area di specializzazione prevalente tra quelle relative alla SNSI**

*Salute*

**2. Sintetica descrizione dello stato dell'arte e delle collaborazioni eventualmente già in essere**

*Le principali attività svolte negli ultimi anni nel Dipartimento di Scienze Mediche Orali e Biotecnologiche (DSMOB) si inseriscono in un contesto socioeconomico in cui il progresso scientifico e culturale ha permesso l'allungamento della vita media, con un'aumentata incidenza di patologie cronico-degenerative. Quando è coinvolto l'apparato stomatognatico, si ha un peggioramento della qualità della vita, dovuto alla perdita di funzioni, tra cui quella masticatoria, che influiscono sul benessere fisico e sui rapporti sociali. Una nuova prospettiva per pazienti che necessitano di riabilitazioni post-neoplastiche, post-traumatiche o di atrofie ossee legate ai fisiologici processi di invecchiamento, è la medicina rigenerativa, la quale attraverso approcci multidisciplinari, rappresenta una piattaforma innovativa per il ripristino di funzioni e promuove i processi di guarigione e la riparazione di lesioni.*

*In questo scenario, le attuali competenze e le strategie di sviluppo del Dipartimento proponente supportano in maniera coerente gli obiettivi strategici del piano operativo in area Salute. In dettaglio, il DSMOB può documentare una comprovata esperienza nelle tematiche inerenti la traiettoria tecnologica di sviluppo a priorità nazionale quale "Medicina rigenerativa, predittiva e personalizzata". Le attività del DSMOB sono state pionieristiche nello studio dei processi di rigenerazione/guarigione tissutale, in particolare quelli del tessuto muscolo-scheletrico, attraverso lo sviluppo di costrutti ingegnerizzati, mediante l'uso di cellule staminali mesenchimali di varia origine e/o di dispositivi medici. Oggi la ricerca scientifica è focalizzata sullo studio di dispositivi con particolari caratteristiche chimiche, fisiche e geometriche che stimolino la guarigione/rigenerazione dei tessuti.*

*Molti studi hanno dimostrato che la stabilità a lungo termine di una procedura di rigenerazione dipende dalla presenza di un tessuto connettivale con componente miofibroblastica ben rappresentata. Si ipotizza che questo citotipo sia in grado di determinare la geometria tridimensionale dei tessuti molli, attivandosi in modo differenziale durante la guarigione, ma che allo stesso tempo la forma dei materiali con cui i miofibroblasti interagiscono possa influenzare il loro reclutamento e attività.*

*Le specifiche competenze in sinergia con numerose collaborazioni nazionali ed internazionali hanno portato il DSMOB a produrre più di 500 lavori pubblicati recentemente su prestigiose riviste internazionali.*

*Tra le collaborazioni in essere si evidenziano in particolare le seguenti:*

*-A Nanci, Université de Montréal, Canada*

*-J Awad Shibli, Guarulhos University, Brazil*

*-A Belém Novaes, Universidade de São Paulo, Brazil*

*-E Mijiritsky, Tel-Aviv Sourasky Medical Center, Israel*

*-Brevetto Europeo: Lipoxin A4 delivery system by a porous electrospun polymeric membrane (Domanda N:17171705.1).*

*FINANZIAMENTI pubblici e privati (finanziamento complessivo di circa euro 450.000), tra i quali:*

*-Histological and histomorphometric evaluation of bone samples retrieved from humans after the ridge preservation procedure with allograft*

*ENTE FINANZIATORE (EF): University of Geneva*

*-Effetto della sottopreparazione e maschiatura sul contatto osso-impianto e sulla stabilità implantare, attraverso uno studio istologico su costole bovine.*

*EF: IDI Evolution*

*-Maxillary Sinus Augmentation with TCP vs TCP plus Hyaluronic Acid vs deproteinized bovine bone mineral. A Histologic, Histomorphometric and clinical outcomes from a Randomized Clinical Trial*

*EF: REGEDENT AG*

*-Ridge Preservation in type II sockets: a clinical, histological, histomorphometrical study using easy-graft crystal and*

bioresorbable matrix barrier

EF: Sunstar Degradable Solutions AG

-Clinical Research AGREEMENT: Advanced oral hygiene and prediabetes

EF: Sunstar Degradable Solutions AG-

-PRIN: Cellule Staminali e Scaffold 3D: Un Biocomplesso Innovativo nella Rigenerazione Ossea

EF: MIUR

### 3. Descrizione delle attività previste

La rigenerazione e guarigione dei tessuti si avvale di diversi approcci interdisciplinari: dalla biologia computazionale alla scienza dei materiali, con supporti innovativi che ricreano il microambiente del tessuto al fine di trovare soluzioni terapeutiche che armonizzino cellule, fattori biologici e dispositivi artificiali.

Le attività previste:

Attività #1: studi in vitro che forniranno informazioni preliminari sul comportamento di popolazioni cellulari provenienti dalla cavità orale rispetto alla morfologia delle superfici implantari

Attività #2: validazione in vivo su modelli animali dei costrutti formati da cellule/impianto per lo sviluppo di dispositivi nell'ambito della medicina rigenerativa e chirurgia riabilitativa.

Le due attività integrate permetteranno un potenziamento dei rapporti tra Università e Aziende nazionali ed internazionali, al fine di creare sinergie per il trasferimento tecnologico nella rete aziendale locale e per comprendere i processi che sono alla base della rigenerazione e validarli in vivo.

Sulla base delle Attività#1 previste dal DSMOB sarà necessario il reclutamento di 1 ricercatore a tempo determinato di linea 1 "Mobilità dei ricercatori".

Attività #1

Nella prima fase le attività di ricerca prevedono la messa a punto di protocolli atti a stimolare l'attività, la proliferazione e la migrazione delle cellule coinvolte nei meccanismi di guarigione dei tessuti molli e nella rigenerazione ossea in soggetti giovani e anziani utilizzando superfici implantari con diversa micro e macromorfologia.

Questi obiettivi verranno raggiunti attraverso:

#Isolamento dei fibroblasti (hGFs, hPDLFs), miofibroblasti (G-myo, PDL-myo) e delle cellule staminali (hGMSCs, hPDLSCs) dalla gengiva e dal legamento parodontale da pazienti giovani e anziani.

#Caratterizzazione di hGFs, hPDLFs, G-myo, PDL-myo, hGMSCs, hPDLSCs. Le popolazioni cellulari saranno caratterizzate attraverso l'espressione di marker specifici usando tecniche di citofluorimetria e di immunofluorescenza.

#Analisi in vitro del costruito cellule/superficie implantare utilizzando le seguenti popolazioni cellulari: hGFs, hPDLFs, G-myo, PDL-myo, hPDLSCs, hGMSCs, co-culture di hPDLSCs+hGFs, hPDLSCs+hPDLFs, hPDLSCs+PDL-myo, hPDLSCs+G-myo, hGMSCs+hGFs, hGMSCs+hPDLFs, hGMSCs+ PDL-myo, hGMSCs+ G-myo attraverso:

-Valutazione della biocompatibilità delle superfici implantari attraverso test di citotossicità (MTT assay) da rilascio di sostanze tossiche dai materiali. Verranno effettuati test di adesione e di proliferazione cellulare sulla superficie degli impianti, in particolare verrà analizzata l'influenza della micro e macromorfologia su parametri cellulari quali l'adesione, la morfologia, l'orientamento nonché la migrazione delle cellule attraverso i transmigration, chemotaxis and scratch assay.

-Analisi morfo-funzionale dei costrutti cellule/superficie implantare attraverso studi di microscopia elettronica a scansione (SEM), microscopia elettronica a trasmissione (TEM), microscopia confocale laser (CLSM) e microscopia a forza atomica (AFM).

-Valutazione funzionale delle popolazioni cellulari attraverso il trascrittoma, secretoma e il proteoma (NGS, Maldi-TOFF).

-Analisi osservazionale della produzione di matrice extracellulare (ECM), in particolare verranno valutate la composizione, l'architettura e le proprietà fisiche della ECM insieme ai meccanismi di segnale intracellulare che guidano la meccanotrasduzione, processo chiave nei meccanismi di guarigione/rigenerazione. Il rimodellamento dell'ECM sarà analizzato anche sulla base dell'interazione Reactive Oxygen Species (ROS)/TGFβ.

-Determinazione dei meccanismi di trasduzione del segnale correlati alla produzione e al rimodellamento di ECM, all'infiammazione e al differenziamento cellulare in tutte le popolazioni prese in considerazione in termini di rigenerazione/guarigione.

-Tutti gli esperimenti verranno condotti anche con la linea cellulare di fibroblasti murini L929 (ATCC) e cellule mesenchimali staminali del midollo osseo, come controllo.

Per la realizzazione delle Attività#2 focalizzate principalmente su esperimenti in vivo si renderà necessario il reclutamento di 1 ricercatore a tempo determinato di linea 2.1 "Attrazione dei ricercatori".

Attività #2

La sperimentazione in vivo verrà effettuata su minipig/Sus scrofa domesticus (Göttingen) attualmente considerati l'alternativa più valida nel campo della ricerca biomedica poiché hanno delle similitudini con l'essere umano e consentono la replicazione sufficientemente fedele di complessi eventi pato-fisiologici. Il modello Göttingen, che potrà essere stabularizzato presso le strutture della limitrofa Facoltà di Veterinaria dell'Università di Teramo, è stato usato con successo in diversi protocolli di ricerca traslazionale e in chirurgia orale. Per valutare contestualmente la guarigione dei tessuti molli e duri si userà come modello sperimentale l'impianto dentale costituito da titanio commercialmente puro, materiale utilizzato in ortopedia, odontoiatria e in chirurgia maxillo-facciale. L'impianto presenta una porzione che si integra con il tessuto osseo e una porzione trans-mucosa intorno alla quale guariscono i tessuti molli. Per lo svolgimento dell'Attività#2 si utilizzeranno impianti "standard" e impianti di "nuova generazione" con diverse macromorfologie per valutare se il design implantare possa condizionare l'adattamento e l'attività di diversi citotipi cellulari, fondamentali nella guarigione dei tessuti molli, con particolare riguardo ai miofibroblasti in grado di determinare la loro geometria tridimensionale e quindi di assicurare un sigillo che faciliti anche la guarigione dei tessuti mineralizzati sottostanti.

Saranno anche valutati su minipig i costrutti cellule/impianti, utilizzando le seguenti popolazioni cellulari: hGFs, hPDLFs, G-myo, PDL-myo, hPDLSCs, hGMSCs, co-culture di hPDLSCs+hGFs, hPDLSCs+hPDLFs, hPDLSCs+PDL-myo,

*hPDLSCs+G-myo, hGMSCs+hGFs, hGMSCs+hPDLFs, hGMSCs+ PDL-myo, hGMSCs+ G-myo.*

*Analisi cliniche e istomorfologiche verranno effettuate in diversi tempi sperimentali. In particolare si procederà alla:*

*#Valutazione dei seguenti parametri clinici:*

- REC (recession): posizione relativa della mucosa peri-implantare rispetto alla spalla dell'implanto.*
- PPD (pocket probing depth): distanza dal margine della mucosa libera peri-implantare al fondo del solco espressa in mm e misurata su 3 siti per ciascun impianto.*
- BOP (bleeding on probing): presenza o assenza di sanguinamento al sondaggio entro 10 secondi dall'inserimento della sonda.*

*#Valutazione istologica dei tessuti duri e molli per valutare il grado di infiammazione, la percentuale di contatto osso impianto (BIC) nei vari gruppi di studio, e la guarigione dei tessuti molli, attraverso la riorganizzazione spaziale della ECM e l'orientamento delle fibre collagene nelle differenti geometrie implantari della porzione transmucosa dell'implanto.*

*#Analisi Immunoistochimica per la rilevazione della presenza di molecole coinvolte nei processi di rigenerazione ossea, angiogenesi (MVD e VEGF) e guarigione dei tessuti molli (alpha-SMactin come marker indicatore del differenziamento dei fibroblasti in miofibroblasti).*

*#Valutazione della trabecolatura tridimensionale, microstruttura, livello di mineralizzazione, porosità della struttura ossea attraverso valutazione radiologica, con Sincrotrone e con micro-CT per studiare l'architettura tridimensionale (3D) dei prelievi.*

*In sintesi le Attività#1 e #2 previste dal DSMOB porteranno allo sviluppo di nuove tecnologie spendibili nella medicina rigenerativa al fine di restituire integrità e funzionalità all'apparato stomatognatico.*

*Il modello di riferimento che si adotterà è quello del "living lab", strumento che favorisce il coinvolgimento di aziende nel processo di innovazione, portando la ricerca dal laboratorio nella vita reale, dove ricercatori e clinici, contribuiscono al miglioramento della tecnologia e del prodotto finale.*

#### **4. Aspetti di coerenza della richiesta con l'area di specializzazione prevalente**

*Il progetto proposto si inserisce molto coerentemente nell'ambito del PROGRAMMA QUADRO DI RICERCA E INNOVAZIONE (2014-2020) "ORIZZONTE 2020" al punto 2.2.3, che ha supportato a livello nazionale e regionale la definizione della smart specialisation strategy. In particolare, sulla base delle 12 aree di specializzazione indicate in Horizon 2020, il presente programma di attività, proposto in area di specializzazione Salute, va inteso in un ambito con forti interrelazioni reciproche tra salute, alimentazione e qualità della vita, settore che si identifica in una delle cinque aree tematiche di riferimento indicate nella Strategia Nazionale di Sviluppo Intelligente (SNSI) e trova una perfetta corrispondenza nelle strategie nazionali di cui al punto 5.3.3.*

*Più in particolare, le direttrici di sviluppo dell'Area Salute fanno esplicito riferimento a "Medicina rigenerativa, predittiva e personalizzata" e "Biotecnologie, bioinformatica e sviluppo farmaceutico".*

*In questo scenario quindi il progetto proposto si inserisce adeguatamente negli ambiti sopra citati che riconoscono un ruolo importante sia alla medicina rigenerativa che alle biotecnologie, contribuendo quindi a migliorare la qualità della vita offrendo migliori possibilità di cura e fabbisogno di salute.*

*Nello specifico, inoltre, tra le otto aree scientifico-tecnologiche individuate come prioritarie per il nostro Paese, l'Abruzzo pone particolare attenzione alle Scienze della Vita ed in particolare alle Biotecnologie cellulari e molecolari rimando nella tematica prioritaria della Medicina personalizzata. Pertanto, la presente proposta progettuale tramite lo sviluppo delle tecnologie abilitanti di rilevanza sistemica appartenenti alle categorie riconducibili al programma "Horizon 2020" quali le nanotecnologie, i materiali avanzati e le biotecnologie, sarà volto anche alla realizzazione degli obiettivi individuati dalla Comunità Europea nella priorità "Sfide per la società".*