

Scientific Evidence

SOSTITUTI OSSEI EQUINI ED ESPRESSIONE GENICA

L'efficacia dei sostituti ossei può essere studiata anche attraverso l'analisi dell'espressione genica da loro indotta.



Dalla Redazione Bioteck Academy

I biomateriali sono realizzati per essere utilizzati in alternativa all'osso autologo negli interventi di rigenerazione ossea. L'osso autologo è considerato l'innesto ideale perché presenta una struttura tridimensionale in grado di esercitare un efficace effetto osteoconduttivo, contiene cellule differenziate in grado di produrre nuovo tessuto e veicola al sito di impianto fattori di crescita in grado di indurre il differenziamento di cellule pre-osteogeniche in cellule osteogeniche. Tuttavia, il suo utilizzo è accompagnato da un aumento del rischio intra- e post-operatorio, nonché del disagio per il paziente. Inoltre, richiede un aumento dei tempi chirurgici e dei costi connessi all'intervento. I sostituti ossei sono molteplici, sia di origine artificiale che naturale. Tra quelli naturali, un posto di rilievo è occupato dai sostituti ossei di origine animale. Il razionale alla base dell'impiego del tessuto osseo di un altro Mammifero risiede nell'assenza di differenze significative nella struttura spaziale e nella composizione della componente minerale del tessuto osseo dei diversi Mammiferi: si suppone che, eliminati gli antigeni specie-specifici, queste caratteristiche favoriscano l'interazione del sostituto osseo con le cellule del tessuto e quindi facilitino la rigenerazione. Il processo utilizzato per eliminare gli antigeni, tuttavia, può alterare anche in modo significativo le caratteristiche del tessuto di origine. Un modo per comprendere come il sostituto osseo interagirà con l'ambiente osseo in cui sarà posizionato è studiare l'espressione genica di cellule non ancora completamente differenziate quando queste sono messe a contatto col materiale.

Materiali

Il sostituto osseo studiato nelle ricerche illustrate in questa scheda è il biomateriale di origine equina Osteoplant (Bioteck). Osteoplant viene ricavato sottoponendo il tessuto animale al processo Zymo-Teck, basato sull'impiego di miscele enzimatiche la cui composizione è calibrata per eliminare selettivamente le molecole antigeniche, conservando al contempo il collagene osseo all'interno del tessuto. La presenza di questa proteina in forma nativa permette di mantenere alcune proprietà del tessuto di origine che sarebbero altrimenti perdute eliminando il collagene; tra queste, l'elasticità e la resistenza meccanica alla compressione.

Altra caratteristica tipica del biomateriale Osteoplant è quella di essere riconosciuto in maniera del tutto fisiologica dagli osteoclasti.¹ Si ritiene che questa ultima caratteristica sia uno dei motivi per cui Osteoplant permetta la rigenerazione di quantità significative di tessuto osseo di nuova formazione, maggiori di quelle che si ottengono con sostituti ossei animali ottenuti, ad esempio, attraverso processi termici che eliminano in modo non selettivo qualunque componente organica.²⁻³

1. Perrotti V, et al. Clin Oral Implants Res, 20(1), 17-23 (2009).

2. Di Stefano DA, et al. Int J Oral Maxillofac Implants, 30(5), 1161-1167 (2015).

3. Di Stefano DA, et al. Int J Oral Maxillofac Implants, 31(2), 406-412 (2016).

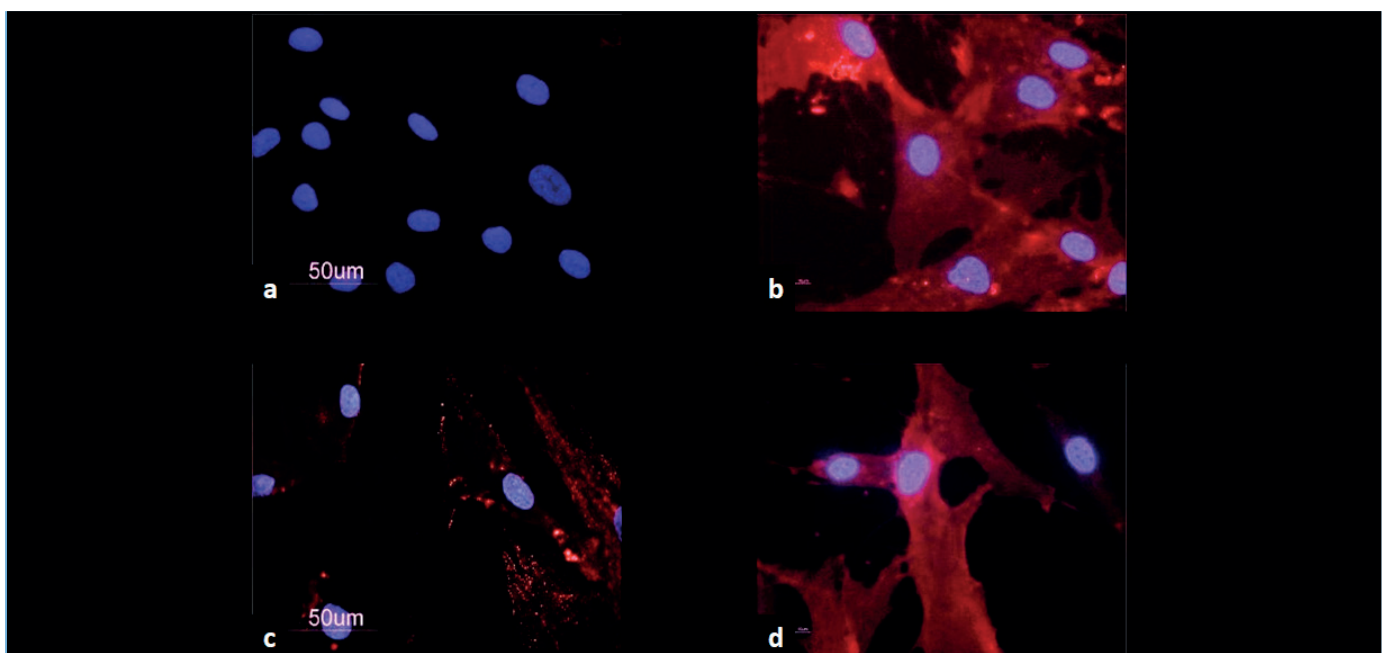


Fig. 1 – Esempio di marcatura in fluorescenza di cellule staminali estratte da sangue periferico.

I nuclei cellulari appaiono in colore violetto; le cellule appaiono positive a diversi marcatori tipici delle cellule staminali (figure b, c, d) ma non a quelli delle cellule ematopoietiche (a). Adattata da Sollazzo et al, 2010⁴.

SOSTITUTI OSSEI EQUINI ED ESPRESSIONE GENICA

L'efficacia dei sostituti ossei può essere studiata anche attraverso l'analisi dell'espressione genica da loro indotta.



Messaggi chiave

La scheda riassume il risultato di quattro ricerche eseguite *in vitro*, riguardanti l'espressione genica di quattro diverse tipologie di cellule staminali, rispettivamente prelevate da sangue periferico⁴, midollo osseo⁵, tessuto adiposo⁶ e polpa dentale⁷, nonché di osteoblasti umani primari⁵, quando queste sono state messe a contatto con Osteoplant.

La tecnica utilizzata nei quattro studi è stata simile: i ricercatori hanno dapprima prelevato le cellule di interesse, le hanno coltivate in presenza di Osteoplant e ne hanno analizzato l'espressione genica. Le cellule da sangue periferico sono state ottenute per centrifugazione di sangue periferico di donatori volontari; le cellule da midollo osseo sono state acquistate da una banca cellulare; le cellule da tessuto adiposo sono state ottenute per centrifugazione di lipoaspirati di volontari; le cellule da polpa dentale sono state ricavate da molari estratti da pazienti che avevano fornito il consenso informato.

Gli osteoblasti primari sono stati ricavati da prelievi ossei di pazienti informati. Ove necessario la purezza delle colture delle cellule staminali è stata verificata attraverso citometria a flusso, una tecnica che permette di analizzare rapidamente

migliaia di cellule, una a una, per la presenza sulla loro superficie di alcune molecole specifiche per il tipo cellulare desiderato, opportunamente marcate con sonde fluorescenti.

Dopo avere lasciato le colture cellulari a contatto con Osteoplant per un tempo opportuno (7, 15 e 30 giorni) i ricercatori hanno utilizzato la tecnica della reazione a catena della polimerasi associata alla trascrittasi inversa (RT-PCR) per misurare quantitativamente l'espressione di più geni coinvolti in diverse fasi dell'osteogenesi. Questo tipo di quantificazione fornisce un'indicazione di come potrebbero "reagire" le cellule staminali, o gli osteoblasti primari, quando l'innesto sarà impiantato.

I risultati di tutti gli studi considerati indicano che Osteoplant può favorire l'osteogenesi modulando positivamente l'espressione di un numero significativo di geni, sia nelle fasi precoci che in quelle più avanzate dell'osteogenesi.

4. Sollazzo V, et al. J Indian Soc Periodontol, 14(1), 12-17 (2010).
5. Lauritano D, et al. Eur J Infl, 10(1-S3), 89-94 (2012).
6. Brunelli G, et al. Eur J Infl, 9(3 (S)), 109-113 (2011).
7. Brunelli G, et al. Eur J Infl, 10(1 (S)), 31-35 (2012).

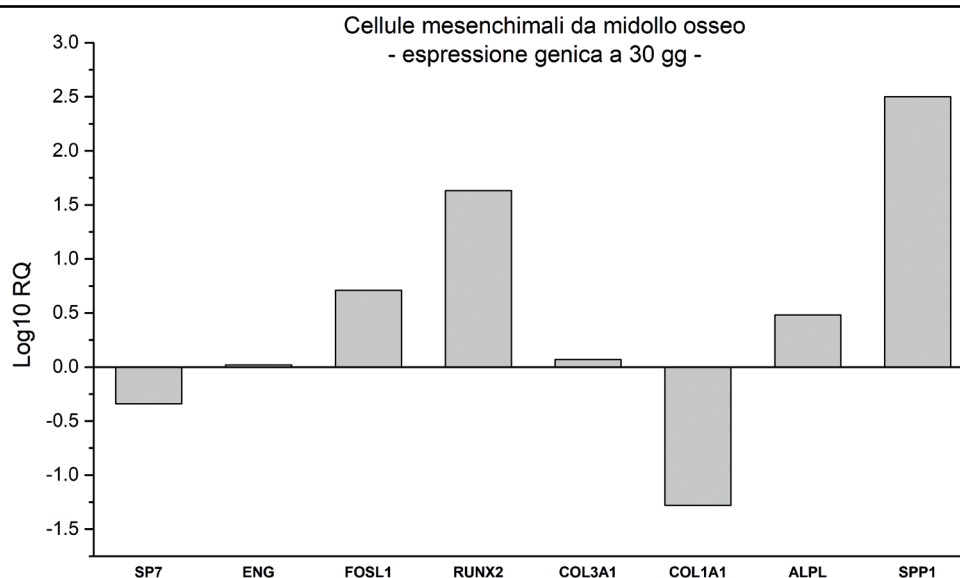


Fig. 2 – Esempio di profilo di espressione genico. Le diverse sigle (SP7, ENG etc.) indicano il gene analizzato. Una barra verso l'alto è indice dell'induzione del gene relativo (up-regulation) mentre se verso il basso indica una soppressione (down-regulation). Nel profilo illustrato Osteoplant induce maggiormente i geni RUNX2 and SPP1. La proteina codificata da RUNX2 è uno dei fattori più importanti del differenziamento osteoblastico; SPP1 codifica la proteina più rappresentata nella matrice extracellulare, dopo il collagene. Adattato da Lauritano et al, 2012⁵.



Visita www.bioteckacademy.com per altre schede cliniche e per accedere alla sempre aggiornata letteratura scientifica.