



**Dottorato in Genetica, Biologia Molecolare e Cellulare**  
Scuola di Dottorato in Scienze della Vita "Camillo Golgi" - Università degli Studi di Pavia

## **Corso Frontiere di Biologia Cellulare**

### **"Matrici extracellulari normale e patologica, nicchie e cellule staminali"**

**Docenti responsabili:** Prof.sse Isabel Freitas e Rosanna Nano, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia

**25-27 febbraio 2013**  
**Aula Grande, Botta 2**

#### **Argomento del corso:**

Il comportamento cellulare (metabolismo, proliferazione, differenziamento o staminalità, migrazione, apoptosi) non dipende solo da caratteristiche intrinseche delle cellule, ma è strettamente condizionato dall'interazione tra cellule, matrice e microambiente cellulare. Questo corso si prefigge di dare una visione integrata sia delle componenti della matrice e dei segnali che da essa scaturiscono in condizioni normali e patologiche, sia delle strutture delle membrane cellulare coinvolte nella trasduzione del segnale. Argomento del corso saranno anche le cellule staminali e l'importanza della "nicchia" per il loro mantenimento e la loro funzionalità.

#### **Programma**

##### **Lunedì 25 febbraio 2013 - ore 10.00-13.00**

Prof.ssa Isabel Freitas (Dip. di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)  
"Matrici extracellulari e matricine, segnali criptici fondamentali per il dialogo locale cellula-matrice".

##### **Lunedì 25 febbraio 2013 - ore 14.30-17.30**

Prof. Maurilio Sampaolesi (Dip. di Sanità Pubblica, Neuroscienze, Medicina Sperimentale e Forense, Università di Pavia)  
"Riprogrammazione cellulare e modificazioni epigenetiche per la rigenerazione del tessuto muscolare"

##### **Martedì 26 febbraio 2013: ore 10.00-13.00**

Prof. Maurizio Parola (Dip. di Scienze Cliniche e Biologiche; Unità di Medicina Sperimentale e Patologia Clinica, Università di Torino)  
"Transizione epitelio-mesenchima: dai meccanismi molecolari alle implicazioni per la salute e la patologia umana"

##### **Martedì 26 febbraio 2013 - ore 14.30 - 17.30**

Prof.ssa Isabel Freitas (Dip. di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)  
"Molecole di adesione, rafts lipidici e interazioni cellula-matrice"

**Mercoledì 27 febbraio 2013 – ore 10.00-11.00**

Dott.ssa Rita Maccario (Lab Immunologia e dei Trapianti / Cell Factory /Oncoematologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo)

"Meccanismi biologici di interazione delle cellule stromali mesenchimali multipotenti (MSC) con il sistema immunitario"

**Mercoledì 27 febbraio 2013 – ore 11.00-12.00**

Dott. Marco Zecca (Oncoematologia Pediatrica, Dipartimento Materno-Infantile, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo)

"Applicazioni cliniche della terapia con cellule staminali in oncoematologia pediatrica"

**Mercoledì 27 febbraio 2013 – ore 14.30-15.30**

Dott. Vittorio Rosti, (Lab. di Epidemiologia Clinica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo)

"Cellule staminali midollari: emopoiesi e non solo"

**Mercoledì 27 febbraio 2013 – ore 15.30-16.30**

Prof.ssa Rosangela Invernizzi (Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Università di Pavia)

"Rilevanza biologica e clinica di metalloproteasi e fattori angiogenetici nell'emopoiesi normale e patologica"

**Riassunto delle lezioni:**

**"Matrice extracellulare e matrichine, segnali criptici fondamentali per il dialogo locale cellula-matrice"** (Prof.ssa I. Freitas)

La matrice extracellulare è una struttura dinamica ricca di proteine multimodulari altamente glicosilate e di polisaccaridi che sorregge meccanicamente e orienta le cellule che vi poggiano ma soprattutto modula e pilota ad ogni momento il loro comportamento (metabolismo, proliferazione, differenziamento o staminalità, migrazione, apoptosi); a loro volta le cellule condizionano la composizione e dinamica della matrice. La proteolisi della matrice in situazioni normali e patologiche induce varchi che facilitano la migrazione cellulare e provoca il rilascio in soluzione nel liquido interstiziale di frammenti peptidici o la comparsa sulla superficie proteica di moduli precedentemente situati in posizione criptica, che sono riconosciuti da integrine sulla superficie cellulare comportandosi da fattori di crescita o di differenziamento. I proteoglicani e l'acido ialuronico permettono una concentrazione localizzata di tali segnali contribuendo alla diversificazione del microambiente cellulare. Il seminario fornirà una visione integrata delle componenti della matrice, delle attività proteasiche che la modificano e dei segnali (matrichine) che ne scaturiscono.

### **"Riprogrammazione cellulare e modificazioni epigenetiche per la rigenerazione del tessuto muscolare"** (Prof. M. Sampaolesi)

Le cellule staminali hanno ormai lasciato i banconi di laboratorio per raggiungere il letto del malato, nonostante che la conoscenza dei programmi di controllo che ne guidano il destino sia ancora incompleta. Prima che terapie basate sulle cellule staminali possano entrare nella pratica clinica, alcuni aspetti critici devono essere ulteriormente indagati, come la sicurezza a lungo termine, l'efficacia, la tollerabilità, ed il potenziale cancerogenetico. Il neolaureato premio Nobel 2012 Shinya Yamanaka ci ha regalato un ulteriore modello cellulare di staminalità con la sua rivoluzionaria scoperta di generare cellule staminali pluripotenti da cellule somatiche adulte. Queste cellule pluripotenti indotte, oltre che aprire nuove potenzialità terapeutiche, offrono la possibilità di studiare i meccanismi genetici ed epigenetici che sono alla base del differenziamento muscolare delle cellule staminali pluripotenti.

### **"Molecole di adesione, rafts lipidici e interazioni cellula-matrice"** (Prof.ssa I. Freitas)

I rafts lipidici sono microdomini altamente dinamici ricchi in sfingolipidi e colesterolo che si formano sul foglietto esplosivo della membrana plasmatica. I rafts accolgono diversi tipi di proteine, che possono modificare le loro dimensioni e composizione in risposta a stimoli intra- o extracellulari. Ciò favorisce interazioni proteina-proteina specifiche e l'attivazione di diverse cascate di segnalamento. I rafts/caveolae sono coinvolti nella trasduzione di segnali, traffico di membrane, risposta immune, differenziamento e proliferazione. Diversi studi dimostrano il coinvolgimento di rafts nelle interazioni delle cellule staminali con le loro nicchie. Il seminario fornirà nozioni di base sul microambiente lipidico della membrana plasmatica, sui principali processi di trasduzione di segnale modulati da recettori per segnali di crescita e differenziamento presenti nei rafts ed esempi del differenziamento indotto in cellule staminali da recettori presenti nei rafts.

### **"Cellule staminali midollari: emopoiesi e non solo"** (Dott. V. Rosti)

Il midollo osseo è classicamente considerato la sede dell'emopoiesi, cioè del processo che a partire dalle cellule staminali e dai progenitori emopoietici porta alla formazione delle cellule emopoietiche mature che circolano nel sangue periferico. Negli ultimi anni è tuttavia emerso che le cellule staminali emopoietiche sono solo alcune delle cellule staminali presenti nel midollo osseo: altri tipi particolari di cellule progenitrici sono isolabili dal midollo stesso e partecipano, insieme alle cellule emopoietiche, alla costituzione della nicchia emopoietica, l'unità anatomo-funzionale nella quale avviene l'emopoiesi. Il seminario tratterà dell'identificazione e caratterizzazione dei vari tipi di cellule staminali midollari umane, inclusi i metodi di isolamento *in vitro* delle stesse, e di come si organizzano nella nicchia emopoietica.

### **"Transizione epitelio-mesenchima: dai meccanismi molecolari alle implicazioni fisiologiche e patologiche"** (Prof. M. Parola)

La transizione epitelio-mesenchima (EMT) è un processo biologico, paradigmatico del concetto di plasticità cellulare, attraverso il quale cellule epiteliali perdono la loro polarizzazione e le strutture giunzionali, vanno

incontro a riorganizzazione del citoscheletro ed in ultimo acquisiscono un fenotipo morfologico e funzionale di cellule simil-mesenchimali. La EMT è stata originariamente descritta in corso di sviluppo embrionale, ove la migrazione cellulare ed il rimodellamento tessutale svolgono un ruolo fondamentale nel regolare la morfogenesi degli organismi superiori. In tempi recenti studi sperimentali e clinici hanno suggerito che la EMT sia in realtà anche coinvolta in condizioni fisiopatologiche quali la fibrosi d'organo e la progressione neoplastica. Il seminario è inteso a descrivere gli aspetti più rilevanti del processo di EMT, i meccanismi di signaling e gli aspetti microambientali coinvolti nell'innescò e nella regolazione del processo, nonché gli aspetti cruciali del coinvolgimento della EMT in condizioni fisiologiche ed in alcune tra le principali condizioni patologiche di interesse umano.

### **"Rilevanza biologica e clinica di metalloproteasi e fattori angiogenetici nell'emopoiesi normale e patologica" (Prof.ssa R. Invernizzi)**

I fattori angiogenetici possono influenzare la crescita e differenziazione delle cellule ematopoietiche in condizioni sia normali che neoplastiche. Le cellule ematopoietiche stesse sembrano in grado di produrre fattori angiogenetici, con effetti di regolazione autocrina o paracrina sul sistema emopoietico. Un'anomala angiogenesi sembra implicata nella patogenesi di leucemie e mielodisplasie, oltre che di tumori solidi.

Anche le metalloproteinasi (MMP) della matrice, enzimi in grado di degradare tutte le componenti proteiche della matrice extracellulare, in particolare le MMP-2 e -9, svolgono un ruolo nell'angiogenesi, favorendo la migrazione delle cellule endoteliali. Le MMP vengono secrete come proteine in forma latente e possono essere inattivate da inibitori tissutali. Molto probabilmente un alterato equilibrio tra questi enzimi ed i loro inibitori tissutali può favorire processi neoplastici quali la disseminazione tumorale, anche leucemica, e la metastatizzazione.

Durante la lezione verranno illustrati i profili di espressione di VEGF (fattore di crescita delle cellule endoteliali) ed MMP nelle cellule midollari di pazienti con sindrome mielodisplastica, anomali rispetto a quelli osservati in soggetti non emopatici, a sostegno dell'ipotesi che la produzione e il rilascio di queste proteine possa influenzare il comportamento delle cellule emopoietiche, forse attraverso l'induzione paracrina di citochine infiammatorie proapoptotiche, rivestendo anche un significato prognostico.

### **"Meccanismi biologici di interazione delle cellule stromali mesenchimali multipotenti (MSC) con il sistema immunitario" (Dott.ssa R. Maccario)**

In virtù delle loro proprietà biologiche che comprendono capacità immunomodulante, attitudine a differenziare verso molteplici linee mesenchimali, intensa attività proliferativa in vitro pur in presenza del mantenimento di capacità differenziativa e di riparo/rigenerazione tissutale, le cellule staminali mesenchimali (MSC) sono state identificate quale promettente strumento terapeutico per numerose patologie. La maggior parte degli studi sperimentali e clinici sono stati fino ad ora condotti utilizzando MSC derivate dal midollo osseo o dal tessuto adiposo, tuttavia molte altre sorgenti sono state recentemente identificate, fra cui il cordone ombelicale, la placenta ed il sangue di cordone ombelicale. Sulla base dei risultati riportati nei primi importanti

studi, era stato ipotizzato che le MSC rappresentassero un “sito” privilegiato dal punto di vista immunologico e che le loro proprietà immunomodulanti fossero particolarmente orientate in senso immunosoppressivo. Recentemente questa ipotesi è stata smentita da numerose evidenze sperimentali che dimostrano come le MSC possono attivare varie componenti del sistema immunitario e che queste cellule possono esercitare funzione sia immunosoppressiva sia immunostimolante. La lezione sarà indirizzata ad illustrare i meccanismi di interazione fra MSC e microambiente “immunologico”, con particolare riferimento agli aspetti rilevanti in ambito di approcci di terapia cellulare somatica basati sulla somministrazione di MSC.