

Modelli *ex vivo* per lo studio delle metastasi ossee

Ania Naila Guerrieri, M. Sc., PhD

Struttura Semplice di Terapie Rigenerative in Oncologia (TRO)
della Struttura Complessa Osteoncologia, Sarcomi dell'Osso e dei
Tessuti Molli e Terapie Innovative (OSOTT)
IRCCS Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna

anianaila.guerrieri@ior.it

VII CONGRESSO NAZIONALE SOCIETÀ ITALIANA DI OSTEONCOLOGIA
20 – 21 Ottobre 2022, Roma

PROGETTI DI RICERCA

“An in vitro and ex vivo model of biomimetic regenerative devices to treat bone metastases and soft tissue tumors: **BIOBOS PROJECT**”

PI: **Laura Mercatali** (IRST Meldola)

«Sviluppo e validazione di biomateriali medicati nanostrutturati per il trattamento e la rigenerazione del tessuto Osseo metastatico – **DINAMICA**»

PI fino al 10 maggio 2021: Toni Ibrahim (IOR Bologna); PI attuale: Alberto Bongiovanni (IRST Meldola)



CONTESTO CLINICO ED OBIETTIVI



- Il paziente affetto da metastasi ossee è sottoposto ad intervento chirurgico a scopo palliativo per intervenire sul dolore o sulle possibili fratture derivate dall'indebolimento del tessuto osseo metastatico;
- Obiettivo dei progetti BIOBOS e DINAMICA è abbinare una terapia antineoplastica ad approcci di medicina rigenerativa per favorire il recupero del tessuto sano contestualmente all'eliminazione delle cellule tumorali;
- Validazione *in vitro* ed *ex vivo* dei biomateriali mono- e bi-medicati prodotti.



PROGETTO BIOBOS

MATERIALI BIOMIMETICI	
	SCAFFOLD 3D A BASE DI IDROSSIAPATITE
	PASTE INIETTABILI BIOMIMETICHE A BASE DI CEMENTO CALCIO-FOSFATO CON DROGAGGIO A BASE DI STRONZIO
	TESSUTO ELETTROFILATO NANOSTRUTTURATO POLIMERICO

+ FARMACO CHEMIOTERAPICO
+ FARMACO A TARGET OSSEO

+ FARMACO CHEMIOTERAPICO
+ FARMACO ANTINFIAMMATORIO

APPLICAZIONI:

- Trattamento e rigenerazione del tessuto osseo affetto da **metastasi litica da tumore della mammella**: biomateriale A impiantato in sede chirurgica in pazienti operabili e biomateriale B iniettato in sede di radiologia interventistica in pazienti inoperabili.
- Trattamento e rigenerazione dei **sarcomi dei tessuti molli** in particolare mixofibrosarcoma (biomateriale C).

In parallelo sviluppo di un bioreattore per migliorare le condizioni di coltura e mimare sempre più il contesto fisiologico.

RUOLO DEI PARTNERS



Sintesi e caratterizzazione dei biomateriali per applicazioni nelle metastasi ossee



PI del progetto:

- Coordinatore della validazione *in vitro*
- Collaborazione nella validazione *ex vivo*



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Dip. di Ingegneria dell'Energia
Elettrica e dell'Informazione
"Guglielmo Marconi"

Progettazione e sviluppo di un bioreattore per perfusione dinamica

Dip. di Chimica "Giacomo
Ciamician"

Sintesi e caratterizzazione dei biomateriali per applicazioni nei sarcomi dei tessuti molli



Validazione *ex vivo* delle proprietà dei biomateriali

PROGETTO DINAMICA

MATERIALI BIOMIMETICI	
 A	SCAFFOLD IBRIDI COLLAGENE/IDROSSIAPATITE
 B	SCAFFOLD BIOMORFICI DI IDROSSIAPATITE CON DROGGAGGIO A BASE DI MAGNESIO E STRONZIO
 C	PASTE INIETTABILI BIOMIMETICHE A BASE DI CEMENTO CALCIO-FOSFATO CON DROGGAGGIO A BASE DI STRONZIO

+ FARMACO ANTINEOPLASTICO BIOLOGICO
+ FARMACO A TARGET OSSEO

APPLICAZIONE:

Trattamento e rigenerazione del tessuto osseo affetto da metastasi litiche principalmente da **tumori primari del rene, della mammella o altri carcinomi:**

- nei pazienti operabili impianto in sede di chirurgia (biomateriali A e B);
- nei pazienti inoperabili pasta iniettabile in sede di radiologia interventistica (biomateriale C).

In parallelo approccio *in silico* con sviluppo di un software per ottimizzare la coltura *in vitro* e predire la risposta al trattamento.

RUOLO DEI PARTNERS



Sintesi device e caratterizzazione dei biomateriali per applicazioni nelle metastasi ossee



PI del progetto:

- Coordinatore della validazione *in vitro*
- Collaborazione nella validazione *ex vivo*



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Sviluppo di un modello matematico per:

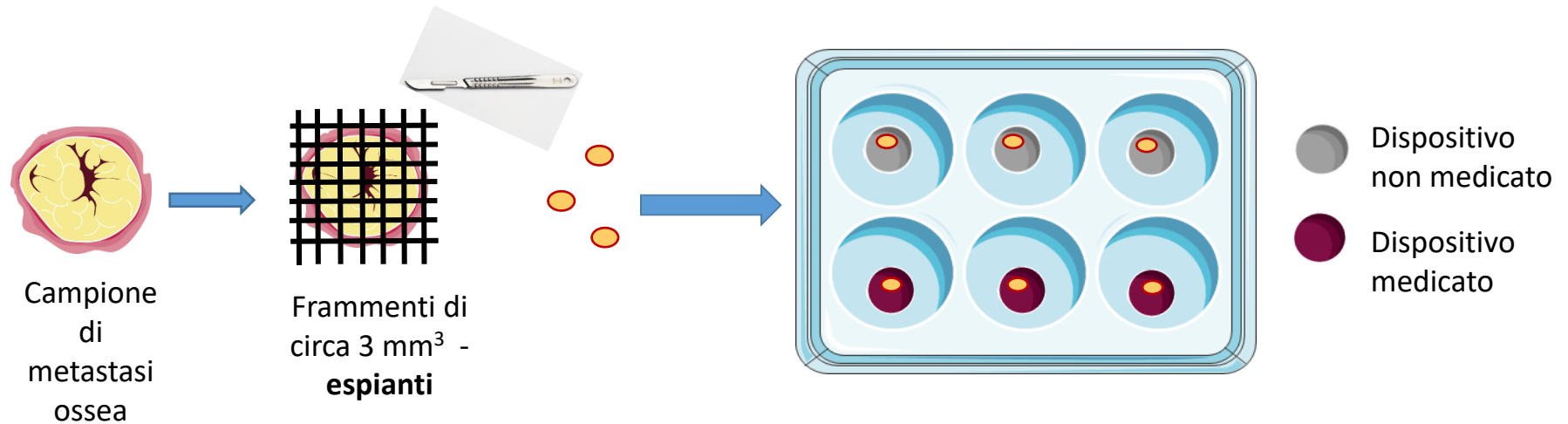
- Ottimizzazione esperimenti *in vitro*
- Predizione di risposta al trattamento



Validazione *ex vivo* delle proprietà dei biomateriali



MODELLO *EX VIVO* DI ESPIANTI DI METASTASI OSSEE DA CARCINOMA RENALE

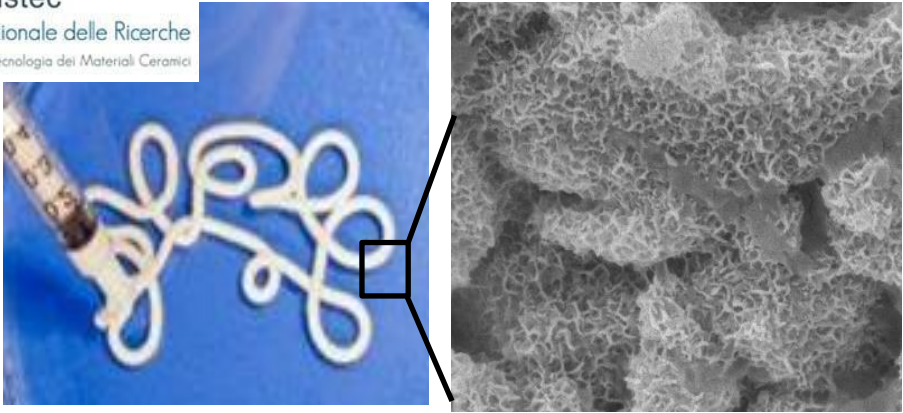
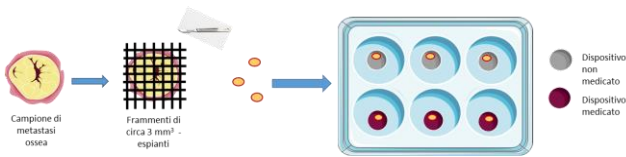


Analisi sperimentali effettuate per la validazione del modello:

- Vitalità con saggio metabolico non distruttivo;
- Necrosi con quantificazione LDH nel terreno;
- Istologia con colorazioni come ematossilina/eosina e TUNEL;
- Estrazione DNA/RNA/Proteine per analisi di espressione genica (es. geni legati ad osteogenesi, osteoclastogenesi, metabolismo tumorale, effetto di farmaci..) ONGOING

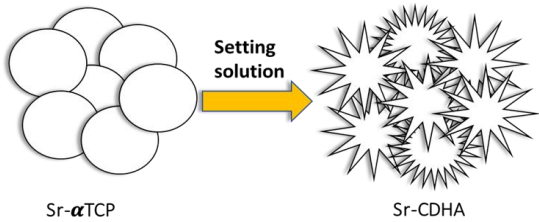


VALIDAZIONE *EX VIVO* – PROVE PRELIMINARI DI VITALITA' SUGLI SCAFFOLDS



CALCIUM PHOSPHATE-BASED CEMENT (CPC)

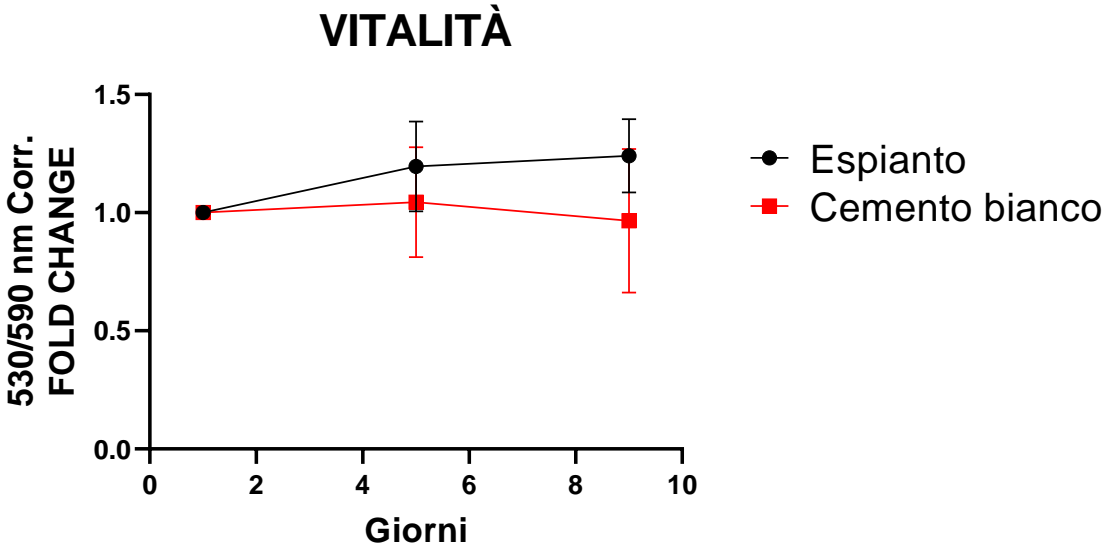
APATITIC CEMENT	
REACTIVES	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
REACTION TYPE	Hydrolysis
REACTION	$3\alpha\text{-(Ca,Sr)}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{Ca,Sr})_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$



$\text{Sr}^{2+} \rightarrow$ stimulating bone formation and reducing bone resorption (anti-osteoporotic agent)

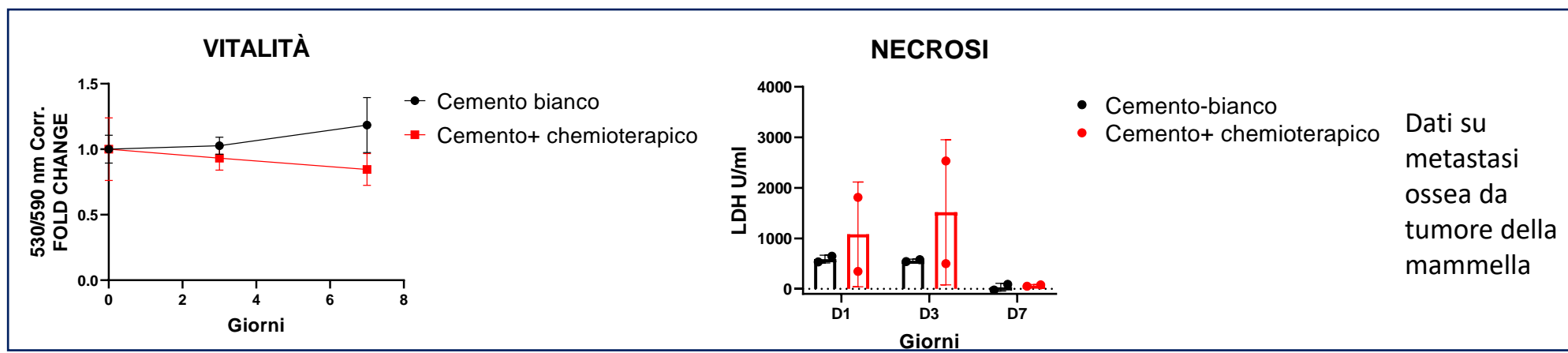
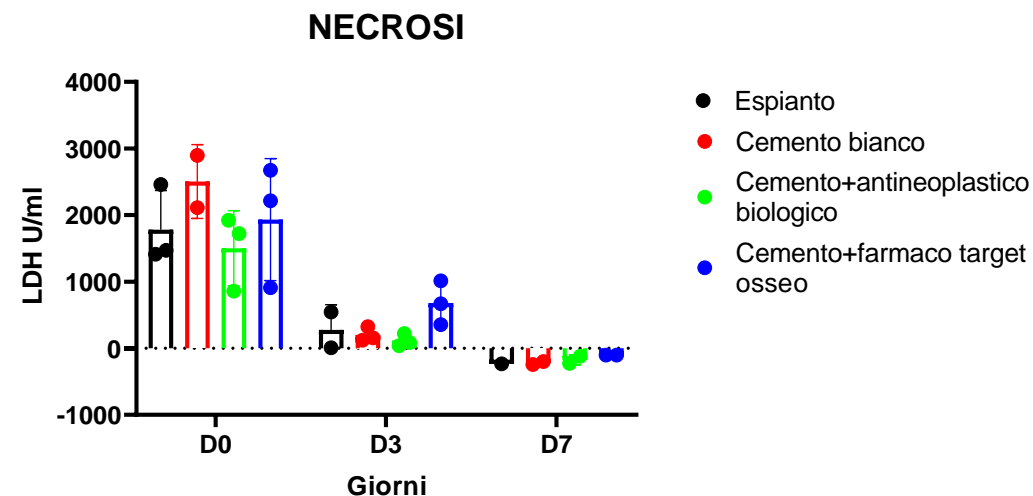
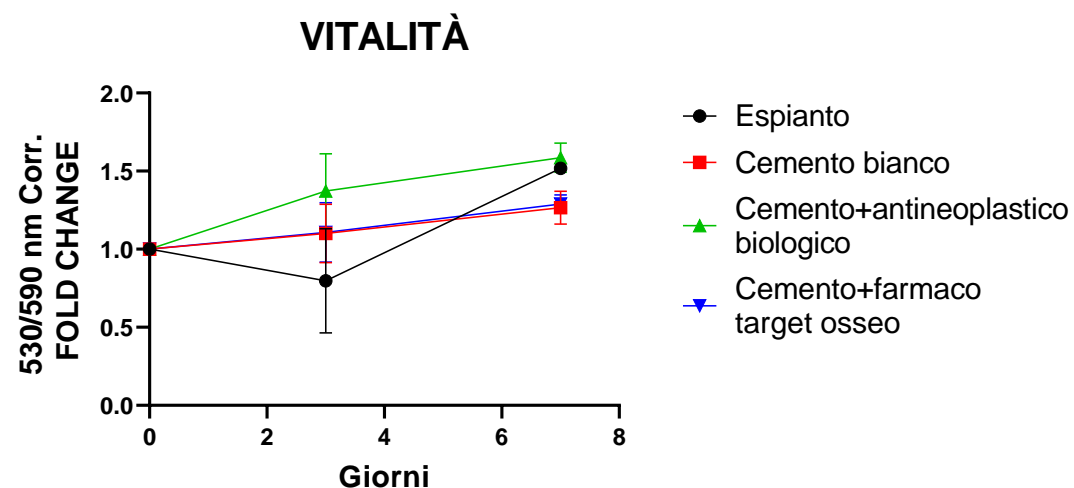
SOLID PHASE Sr-αTCP SYNTHESIS: Solid state chemical reaction at 1400°C followed by rapid quenching

LIQUID PHASE: Aqueous solution enriched with Na_2HPO_4 and sodium Alginate



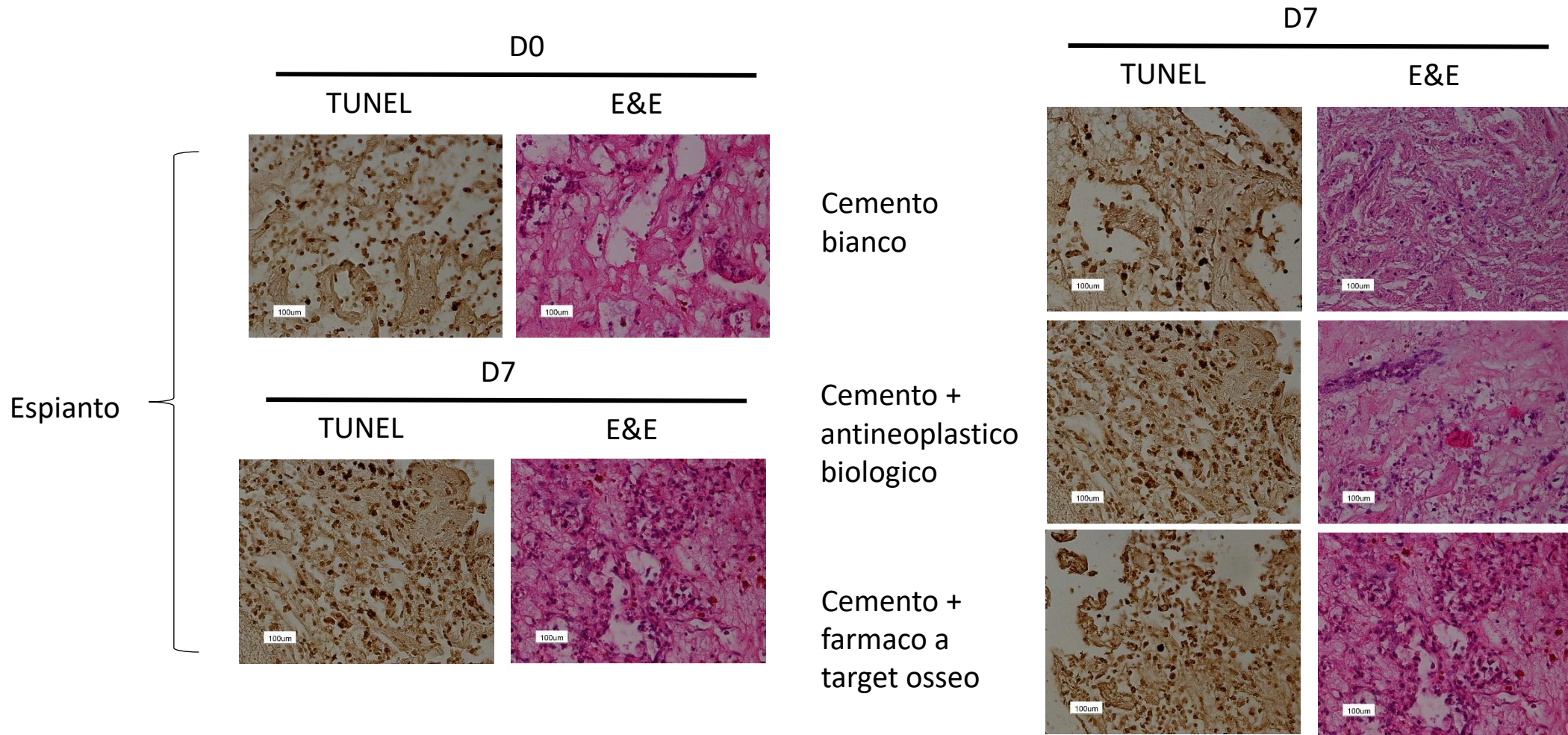
VALIDAZIONE *EX VIVO* - CEMENTI MONOMEDICATI

Vitalità con saggio metabolico – Necrosi con quantificazione LDH nel terreno



VALIDAZIONE *EX VIVO* - CEMENTI MONOMEDICATI

E&E ed apoptosi con colorazione di TUNEL



LIMITI DEL MODELLO:

- Vitalità *in vitro* degli espianti limitata nel tempo;
- Eterogeneità della massa tumorale;
- Abbondante quantità di materiale richiesta.

ASPETTI POSITIVI E POSSIBILITA':

- Utilizzo del materiale del paziente;
- Mantenimento dell'architettura 3D del tessuto;
- Valutazione dell'effetto di farmaci;
- Utilizzo di diversi saggi/tecniche per valutare un singolo aspetto biologico (es. morte cellulare o vitalità) è fondamentale;

AZIONI DI MIGLIORAMENTO:

- Utilizzo di metodi di coltura dinamica;
- «Umanizzare» sempre più il mezzo di coltura;
- Acquisto di strumentazione specifica per migliorare la produzione degli espianti.





GRAZIE PER L'ATTENZIONE!



Ania Naila Guerrieri, M. Sc., PhD

Struttura Semplice di Terapie Rigenerative in Oncologia (TRO), Responsabile Dr. Enrico Lucarelli

Struttura Complessa di Osteoncologia, Sarcomi dell'Osso e dei Tessuti Molli e Terapie Innovative (OSOTT),

Direttore **Dr. Toni Ibrahim**

IRCCS Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna

anianaila.guerrieri@ior.it