

I Premio Ricerca Isa Coghi. O.N.Da – AmgenDompé

Relazione del progetto:

“Osteoporosi e sistema cannabinoide/vanilloide: nuovi markers di malattia e nuovi target terapeutici”

Responsabile del progetto: *Dott.ssa Francesca Rossi*

Il tessuto osseo è una struttura dinamica che va incontro a continui processi di rimodellamento per tutto il corso della vita. Il meccanismo di rimodellamento è caratterizzato da fenomeni di distruzione (riassorbimento osseo) e formazione di nuovo osso (neoformazione) sostenuti rispettivamente da due gruppi di cellule: gli osteoclasti, responsabili della fase di riassorbimento, e gli osteoblasti, deputati alla neoformazione. Il mantenimento di una massa ossea costante risulta dal bilanciamento tra l'attività osteoclastica ed osteoblastica. Un'aumentata attività osteoclastica determina riduzione della massa ossea, conseguente aumento della fragilità dell'osso e quindi del rischio di frattura, problematica caratteristica dell'osteopatia metabolica più diffusa nel mondo occidentale: l'osteoporosi.

Il lavoro pregresso aveva permesso di dimostrare, con pubblicazione su rivista internazionale nel 2009, che cellule osteoclastiche in coltura ottenute dalle cellule mononucleate del sangue periferico, ovvero campioni biotipici di tessuto osseo, di volontari sani esprimono recettori vanilloidi TRPV1 funzionali, recettori cannabinoidi CB1/CB2 e gli enzimi di sintesi e catabolismo NAPE-PLD e FAAH dell'ibrido endocannabinoide/endovanilloide anandamide. E' stato inoltre dimostrato, mediante l'impiego di differenti tecniche di analisi, che gli agonisti e gli antagonisti dei recettori vanilloidi/cannabinoidi, da soli o in combinazione, sono in grado di modulare l'attività osteoclastica in vitro, suggerendo la possibilità di considerare tale classe recettoriale un nuovo bersaglio terapeutico per la cura di patologie dell'osso, quale l'osteoporosi. Per confermare e validare questi risultati preliminari e le speculazioni da essi derivate, abbiamo indagato la funzionalità e la modulazione del sistema cannabinoide/vanilloide nella condizione fisiologica di menopausa, strettamente correlata alla patologia osteoporotica. Pertanto, abbiamo arruolato 140 donne in menopausa con e senza osteoporosi, al fine di condurre esperimenti su colture primarie di osteoclasti ottenute dal differenziamento delle cellule mononucleate del sangue periferico di ogni donatrice. Ciascun soggetto arruolato ha siglato un consenso informato scritto precedentemente

approvato dal Comitato Etico della Seconda Università degli Studi di Napoli e in accordo con la Legislazione Nazionale e Comunitaria.

In questo primo anno di ricerca, attraverso un approccio multidisciplinare, abbiamo confermato e chiarito il ruolo del sistema cannabinoide nella modulazione della massa ossea. Abbiamo dimostrato che le componenti recettoriali ed enzimatiche del sistema cannabinoide/vanilloide sono espresse differentemente in osteoclasti ottenuti da donne in menopausa con o senza osteoporosi. In particolare abbiamo osservato che negli osteoclasti derivati da donne con osteoporosi, i recettori CB2 sono ipo-espresi mentre i recettori CB1 ed i recettori-canale TRPV1 sono iperespressi. Anche il marcatore di attività osteoclastica TRAP risulta iperespresso in tutte le donne in menopausa e tale aumento è correlato in maniera direttamente proporzionale al grado di osteoporosi.

Abbiamo quindi trattato gli osteoclasti in coltura con un agonista selettivo per TRPV1, la resiniferatoxina e siamo andati a valutare i livelli di TRAP, ossia di funzionalità osteoclastica, rispetto ai livelli di TRAP degli osteoclasti non trattati. Abbiamo osservato che i livelli di TRAP variavano in maniera dipendente alla concentrazione di RTX utilizzata: TRAP aumenta alle concentrazioni più basse di RTX e diminuisce alle concentrazioni più alte. Tale comportamento è caratteristico dei recettori TRPV1 che vanno incontro a desensitizzazione, ossia se stimolati persistentemente e con dosi elevate di agonista, vengono inattivati. In particolare, alla concentrazione di 5 μ M RTX si osserva un decremento significativo sia del numero degli osteoclasti che della loro attività (ossia dei livelli di TRAP). Oltretutto questa stessa concentrazione di RTX induce una massiva iper-espressione dei recettori CB2, che sarebbe critica nel minimizzare l'entrata di calcio negli osteoclasti, responsabile dell'over-attivazione osteoclastica e quindi del maggior riassorbimento osseo. Infatti il trattamento con l'antagonista CB2 AM630 aumenta sia il numero degli osteoclasti che la loro attività.

Pertanto, tale risultato, da un lato rappresenta una nuova evidenza sperimentale dell'esistenza di una interazione funzionale tra CB2 e TRPV1, dall'altro ci permette soprattutto di immaginare la possibilità di un nuovo protocollo terapeutico che preveda l'uso di agonisti TRPV1 insieme con agonisti CB2 (o antagonisti CB1) per il trattamento dell'osteoporosi o di altre patologie scheletriche legate ad un anomalo riassorbimento osseo.

Tali dati sono stati oggetto di recente pubblicazione su rivista internazionale.