

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Triennale in
Scienze Biologiche (L-13)



Riprogrammazione cellulare attraverso la pluripotenza indotta

Cellular reprogramming through induced pluripotency

Tesi di laurea di:
Florjan Jupe

Docente referente:
Prof.ssa Oliana Carnevali

Sessione: Luglio 2026
Anno accademico 2025/2026

LE CELLULE STAMINALI

Sono cellule non specializzate che hanno due caratteristiche biologiche fondamentali:

- ▶ autorinnovamento: capacità di compiere un elevato numero di divisioni cellulari mantenendo uno stato indifferenziato
- ▶ Potenza: capacità di differenziamento
 - ▶ Totipotenti
 - ▶ Pluripotenti
 - ▶ Multipotenti
 - ▶ Unipotenti

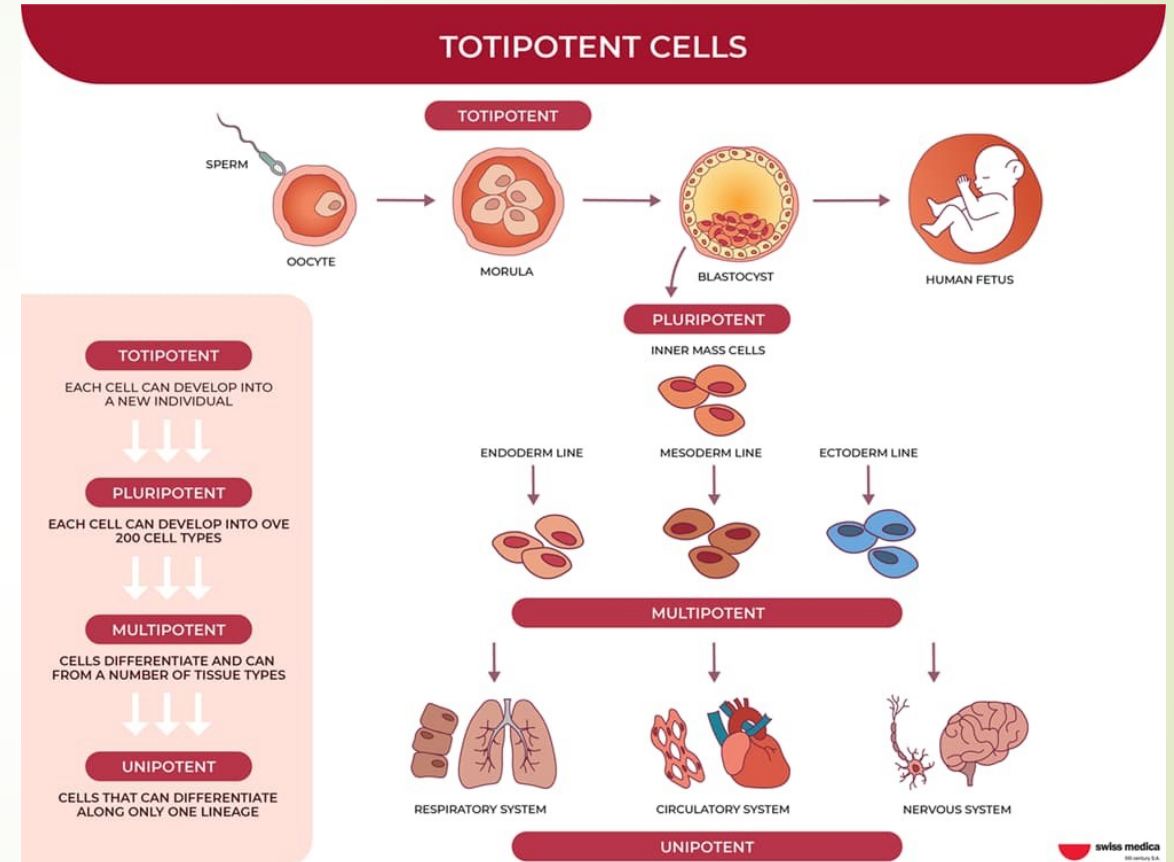


Fig.1: sviluppo e differenziamento cellula embrionale

LA RIVOLUZIONE DI YAMANAKA

Nel 2006 Shinya Yamanaka ha dimostrato che attraverso quattro fattori di trascrizione è possibile riprogrammare cellule somatiche adulte in cellule staminali pluripotenti (iPSC)



Fig.2 : Premio Nobel Shinya Yamanaka

I FATTORI DI TRASCRIZIONE (OSKM)

Oct4

fondamentale per mantenere la rete di pluripotenza genica e lo stato indifferenziato

Sox2

Collabora strettamente con Oct4 per impedire la differenziazione cellulare prematura

Klf4

Inibisce l'apoptosi e funge da ponte tra la riprogrammazione e la proliferazione

c-Myc

Oncogene che stimola il metabolismo cellulare e accelera la riprogrammazione



RIPROGRAMMAZIONE E DEDIFFERENZIAZIONE

I fattori di Yamanaka introdotti all'interno della cellula somatica la convertono in uno stato pluripotente migliorando i parametri associati all'età cellulare come la funzione mitocondriale e l'integrità dell'involucro nucleare.

Tuttavia la riprogrammazione completa porta a diverse criticità come la perdita di identità cellulare e un elevato rischio di formazione di tumori.

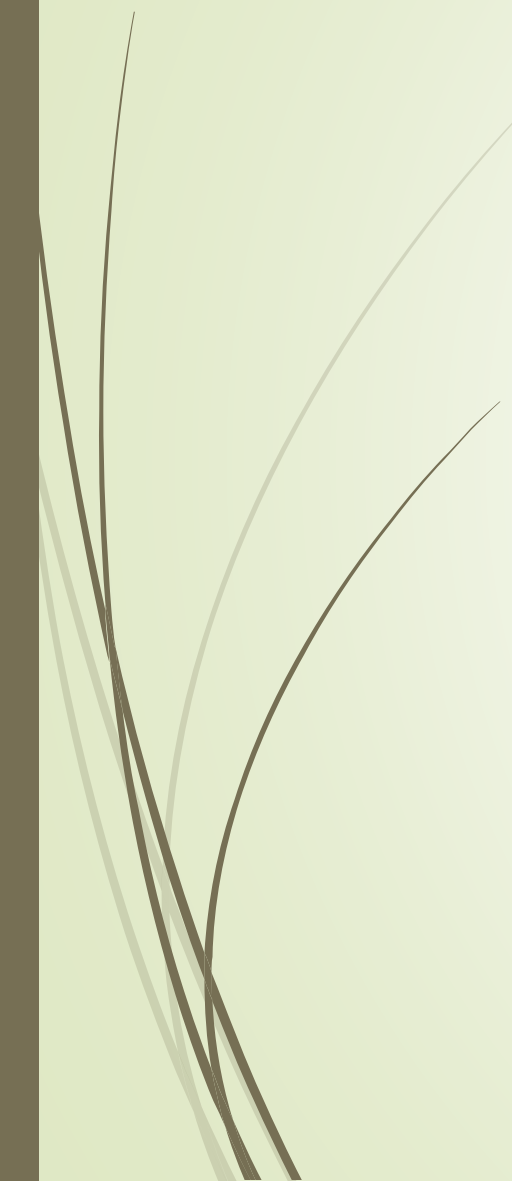
Quello della dedifferenziazione infatti è un processo anche osservato durante l'oncogenesi.





LA SOLUZIONE DELLA RIPROGRAMMAZIONE PARZIALE

Attraverso il ringiovanimento indotto da riprogrammazione (RIR) vi è un interruzione dei fattori OSKM prima che la cellula perda la propria identità somatica riportando indietro l'età epigenetica.



LA FINESTRA CRITICA

Durante il processo di riprogrammazione esiste un periodo di tempo (finestra critica) tra il 7° e il 15° giorno in cui l'età biologica della cellula crolla drasticamente, ma i geni che definiscono la sua identità originale rimangono ancora attivi e stabili. Per fare ciò la riprogrammazione non deve essere continua, ma intermittente, calibrata in base al tipo di cellula.

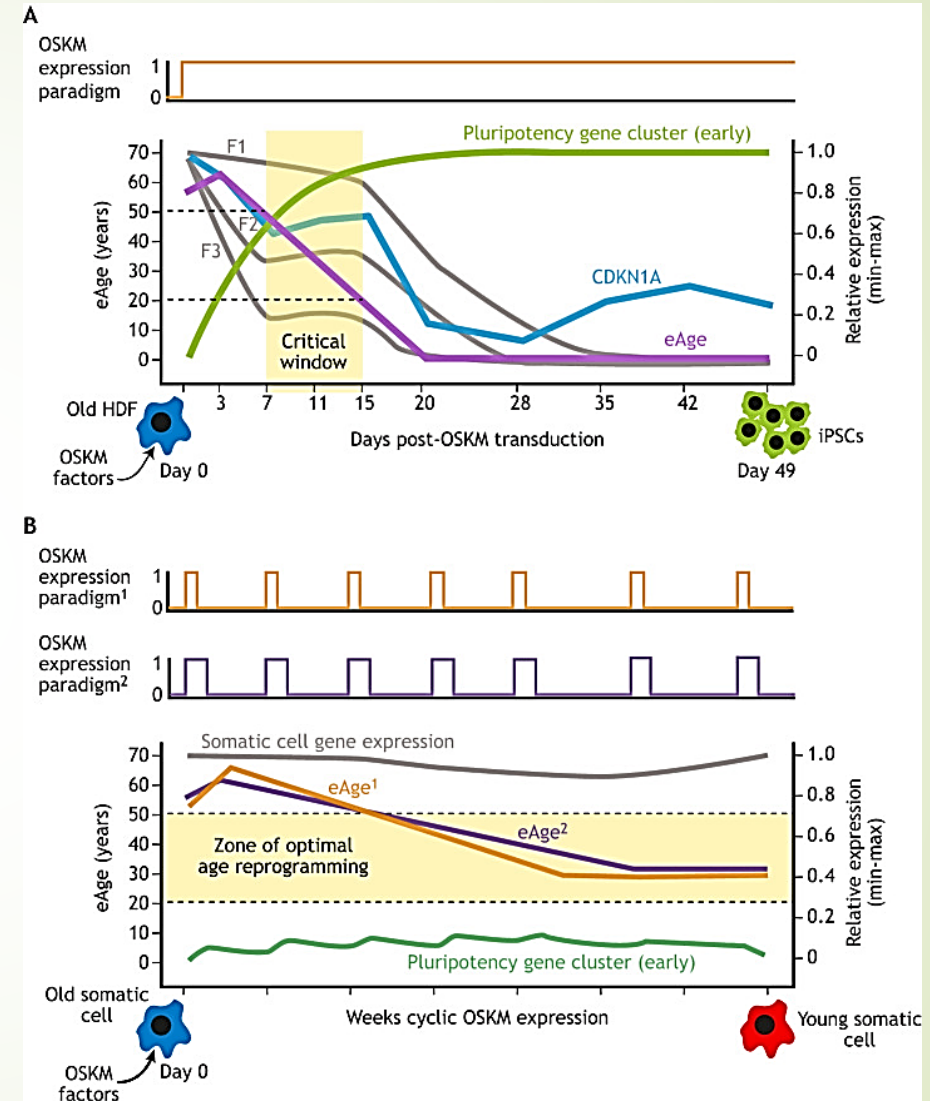


Fig. 3: grafico riprogrammazione parziale dei fibroblasti umani

FIBROBLASTI UMANI

Nei fibroblasti dermici umani (HDF) dopo il trattamento con i fattori di Yamanaka si può notare una diminuzione dell'età epigenetica* tra il 3° e 7° giorno che continua in maniera costante fino al giorno 20 quando questa si azzerà misurando una diminuzione costante di 3,8 anni per giorno.

*per il calcolo dell'età epigenetica viene usato il predittore di età multi tessutale di Horvath (orologio di Horvath) basato sulla metilazione del DNA

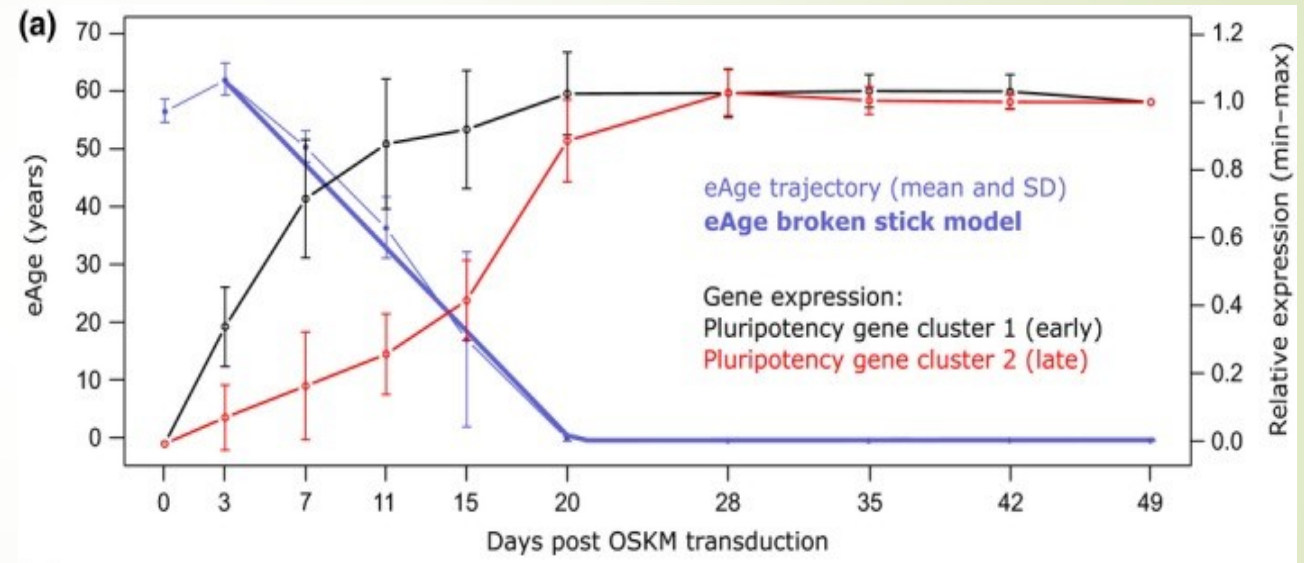


Fig. 7: riprogrammazione parziale tramite fattori OSKM di fibroblasti umani

RISULTATI SPERIMENTALI SU TOPI

- Nei topi affetti da progeria e in quelli naturalmente invecchiati la somministrazione ciclica dei fattori OSKM ha evidenziato un miglioramento della rigenerazione tissutale e un aumento dell'aspettativa di vita
- Un trattamento di 4 settimane di OSK in topi di dodici mesi ha migliorato la loro vista e abbassato l'età biologica dovuta alla metilazione del dna

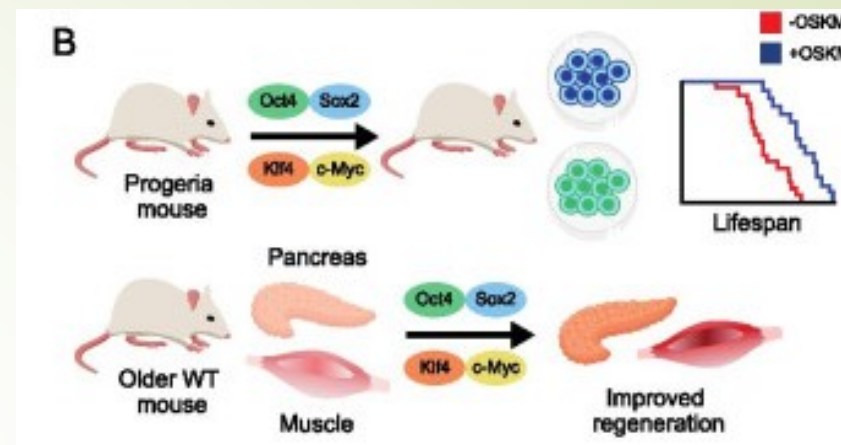


Fig. 4: sperimentazione con fattori OSKM su topi anziani e affetti da progeria

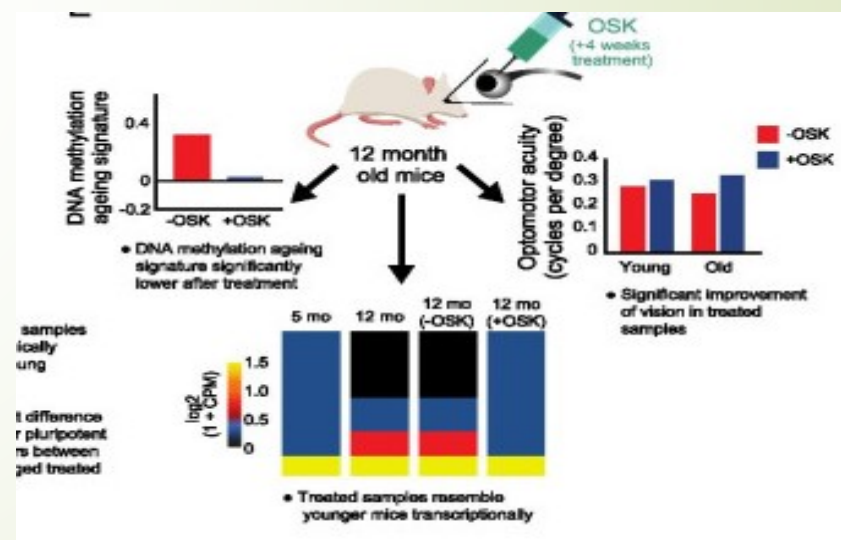


Fig. 5: sperimentazione con fattori OSK su topi anziani con vista compromessa

CAMBIAMENTI EPIGENETICI NELL'EMBRIONE PRECOCE

Durante lo sviluppo embrionale di topo nella fase di gastrulazione si ha la formazione di un panorama epigenetico repressivo globale che determina lo stato base dell'età epigenetica. Questa si basa su tre modificazioni epigenetiche repressive: H3K9me3, H3K27me3 e la metilazione di CpG. Questi repressori insieme alla proteina istonica HP1 organizzano l'eterocromatina andando a fissare un'identità cellulare. Inibendo quindi i geni che assemblano questi complessi repressivi si aumenta l'efficienza della riprogrammazione mediante fattori OSKM.

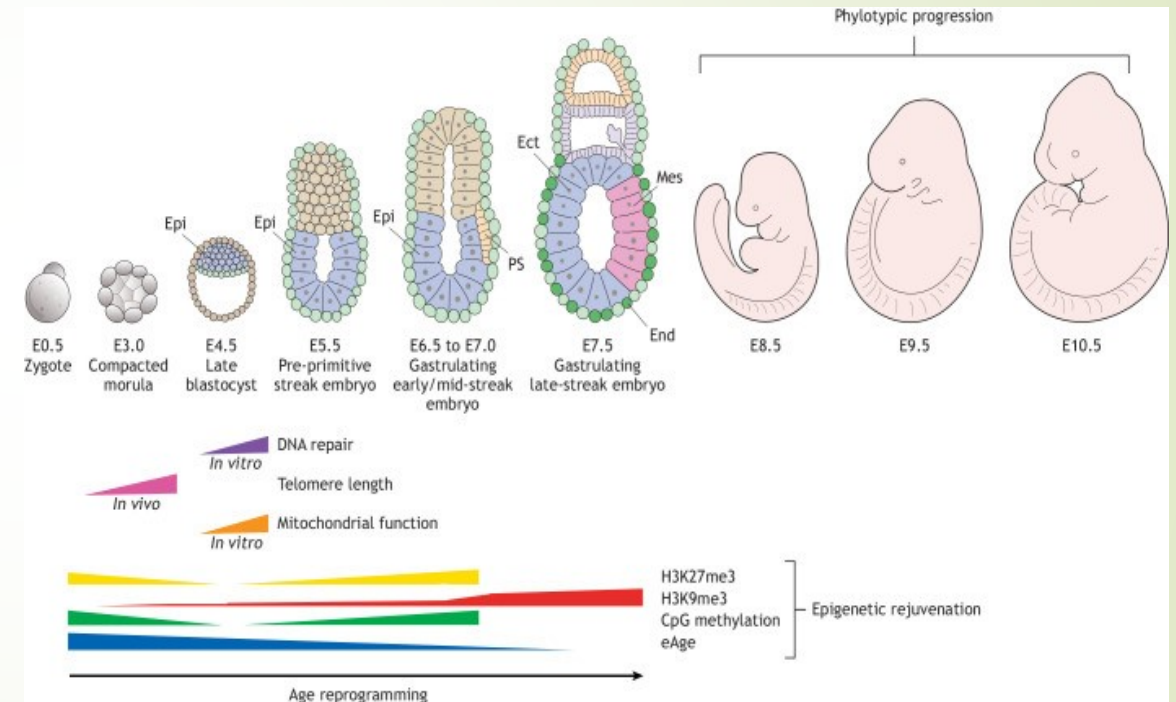


Fig. 6: sviluppo embrionale di topo



CONCLUSIONI

La riprogrammazione cellulare attraverso il ringiovanimento indotto è una tecnica innovativa che mira a ringiovanire l'età epigenetica della cellula mantenendone intatta la funzione originale ma nonostante gli ottimi risultati preliminari ci sono diverse sfide scientifiche da superare quali rischi per la salute come lo sviluppo di tumori e la stabilità dei risultati; non è ancora chiaro infatti quanto duri l'effetto del fenotipo ringiovanito e se queste cellule tendono ad invecchiare più rapidamente una volta che questo è terminato

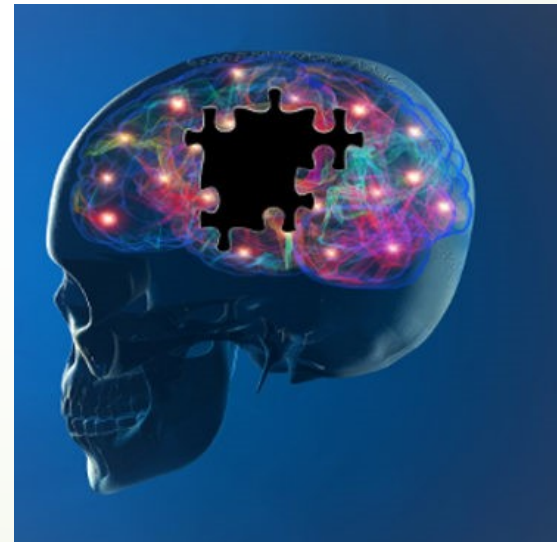
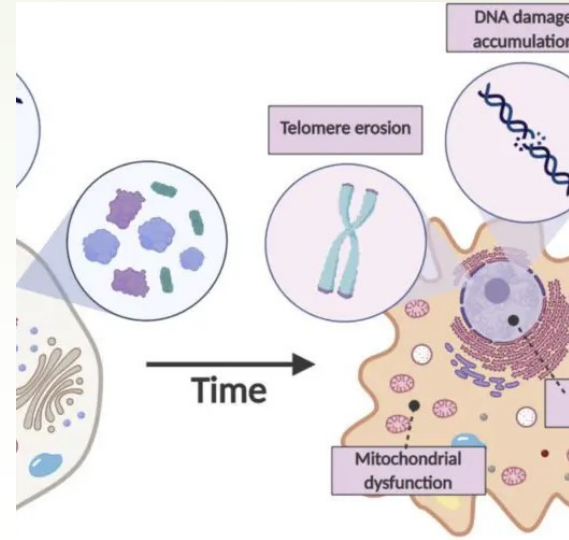
FUTURE APPLICAZIONI

Terapie cellulari
autologhe

Malattie
neurodegenerative

Estensione
healtspan

Drug discovey in
vitro





Bibliografia:

Simpson DJ, Olova NN, Chandra T. Cellular reprogramming and epigenetic rejuvenation. Clin Epigenetics. 2021 Sep 6;13(1):170. doi: 10.1186/s13148-021-01158-7. PMID: 34488874; PMCID: PMC8419998.

Singh PB, Zhakupova A. Age reprogramming: cell rejuvenation by partial reprogramming. Development. 2022 Nov 15;149(22):dev200755. doi: 10.1242/dev.200755. Epub 2022 Nov 16. PMID: 36383700; PMCID: PMC9845736.

Olova N, Simpson DJ, Marioni RE, Chandra T. Partial reprogramming induces a steady decline in epigenetic age before loss of somatic identity. Aging Cell. 2019 Feb;18(1):e12877. doi: 10.1111/accel.12877. Epub 2018 Nov 18. PMID: 30450724; PMCID: PMC6351826.

RIASSUNTO

Le cellule staminali sono caratterizzate da due proprietà fondamentali: l'autorinnovamento, ovvero la capacità di generare cellule figlie identiche mantenendo il proprio stato indifferenziato, e la potenza differenziativa, che consente loro di dare origine a diversi tipi cellulari. In particolare, le cellule staminali pluripotenti possono differenziarsi in tutti i tipi cellulari derivati dai tre foglietti embrionali. Per lungo tempo si è ritenuto che il differenziamento cellulare fosse un processo irreversibile; tuttavia, nel 2006 Takahashi e Yamanaka hanno dimostrato che cellule somatiche murine possono essere riprogrammate in cellule staminali pluripotenti indotte (induced pluripotent stem cells, iPSC) mediante l'espressione di quattro fattori di trascrizione — OCT3/4, SOX2, KLF4 e c-MYC — noti collettivamente come fattori di Yamanaka (OSKM). Questa scoperta ha rivoluzionato la biologia delle cellule staminali e ha aperto nuove prospettive per la medicina rigenerativa. Negli ultimi anni numerosi studi hanno valutato gli effetti della riprogrammazione parziale sia in vitro, principalmente su fibroblasti umani, sia in vivo, in modelli murini anziani o affetti da progeria. I risultati hanno evidenziato un miglioramento di diversi marcatori molecolari dell'invecchiamento, una riduzione dell'età epigenetica, una maggiore capacità rigenerativa dei tessuti e, in alcuni modelli, un incremento della salute e della sopravvivenza dell'organismo. Nonostante questi risultati promettenti, la riprogrammazione parziale rimane una strategia sperimentale: sono ancora necessari ulteriori studi per definirne l'efficacia a lungo termine, ottimizzare i protocolli di somministrazione e chiarire i potenziali effetti avversi, inclusi il rischio oncogenico e le conseguenze di un'eventuale perdita dell'identità cellulare. Queste scoperte tuttavia aprono le porte a importanti future applicazioni mediche quali il trattamento delle malattie neurodegenerative, terapie cellulari autologhe e un generale aumento della aspettativa di vita.