

## Pillole di Ricerca di Base

### Tracciamento dei Progenitori Mesenchimali Muscolari Durante il Processo di Riparazione delle Fratture

<https://www.ors.org/transactions/2024/272.pdf>

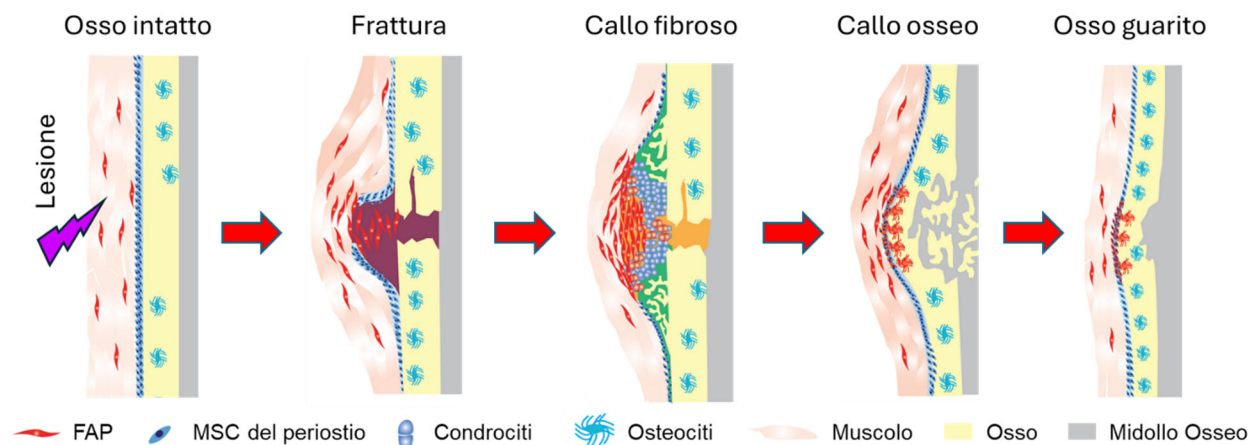
La rigenerazione ossea che avviene nel contesto del riparo di una frattura è un processo non completamente compreso, con pazienti che mostrano una guarigione inadeguata nel sito del difetto, spesso in siti non adiacenti al muscolo scheletrico. Dati recenti indicano che i progenitori fibro-adipogenici (FAP), una popolazione di cellule mesenchimali interstiziali del muscolo, provenienti dal muscolo impiantato, migrano verso i siti di guarigione e contribuiscono alla formazione di condrociti e di osteoblasti nei calli di frattura in un modello murino. Nel presente studio, gli autori hanno utilizzato Prg4-CreER, marcatore unico per le FAP, al fine di escludere il contributo di cellule dal midollo osseo e dal periostio e per tracciare *in vivo* il destino delle FAP coinvolte nella guarigione delle fratture.

Ceppi incrociati di topi Prg4-CreER e Rosa-tdTomato di due mesi di età sono stati trattati per 3-5 giorni con tamoxifene. Dopo due settimane, è stata creata una lesione tibiale, consistente in una frattura trasversale chiusa o in un difetto creato tramite perforazione (*drill-hole*) dalle dimensioni non critiche. La citometria a flusso è stata eseguita su cellule isolate dai muscoli posteriori e marcate con anticorpi  $\alpha$ -CD45 APC,  $\alpha$ -Ter119 APC,  $\alpha$ -CD31 APC,  $\alpha$ -Pdgfra Brilliant Violet 421 e  $\alpha$ -Sca1 Brilliant Violet 605. I tessuti congelati, conservati per la valutazione istologica, sono stati sottoposti a colorazione con agglutina di germe di grano e marcatura con anticorpi  $\alpha$ -Col2,  $\alpha$ -Osterix e  $\alpha$ -Perilipin.

Gli autori hanno sviluppato i topi Prg4ER/Td sulla base di dati derivanti da sequenziamento di RNA a singola cellula che indicavano l'espressione di *Prg4* da parte delle FAP. Topi di due mesi trattati con tamoxifene hanno sviluppato un segnale Td+ nella cartilagine articolare, nel tessuto sinoviale circostante e nel muscolo adiacente all'osso, mentre cellule Td+ erano assenti da tutte le superfici corticali e dal midollo. Le cellule Td+ isolate dal muscolo contenevano il  $24,0 \pm 0,8\%$  di FAP positive per Sca1 e Pdgfra, come determinato da analisi citofluorimetriche. Il numero di cellule Td+ sono successivamente aumentate nel muscolo adiacente al sito di frattura e all'interno dell'ematoma 3 giorni dopo l'induzione della lesione, indicando un danno muscolare indotto dalla frattura. Le cellule Td+ si sono trasformate in condrociti Col2+ e osteoprogenitori Osterix+ rispettivamente al 7° e al 14° giorno. Al 28° giorno, le cellule di rivestimento e gli osteociti all'interno del callo risultavano Td+, mentre a 2 mesi le cellule Td+ si localizzavano anche nell'osso corticale e nel periostio appena guariti, evento non riscontrato nei siti distali alla frattura. Al contrario, le cellule Td+ sono state osservate nel tessuto fibrotico che circondava il

sito di guarigione dei difetti *drill-hole*, mentre erano assenti dal callo e dal midollo 7 giorni dopo la lesione.

Questo lavoro presenta risultati significativi nel contesto della guarigione delle fratture e della muscolatura circostante, in particolare l'identificazione di Prg4 come marcatore unico delle FAP muscolari e la generazione di topi Prg4ER/Td per studiare il ruolo delle FAP muscolari nella rigenerazione dell'osso danneggiato. Il tracciamento delle cellule ha dimostrato un ruolo significativo delle FAP Prg4+ nella guarigione dell'osso dopo una frattura, le quali contribuiscono alla formazione di condrociti derivati dal callo e di cellule osteogeniche che si trasformano in cellule formanti osso nel tessuto rigenerato. I dati derivanti da questi studi indicano l'importanza dei progenitori mesenchimali muscolari nella riparazione ossea in virtù delle loro capacità di differenziare in cellule dell'osso corticale e periostali. Questi risultati fanno progredire il campo di conoscenza nella riparazione delle fratture, approfondendo la comprensione dell'interdipendenza tra muscolo e osso, e sottolineano la necessità di concentrarsi sulle FAP muscolari come potenziali bersagli terapeutici per le fratture che non riescono a guarire correttamente.



Thanks to Elena Della Bella and Claudia Siverino for providing this translation.

If you would like to help translate Basic Science Tips to other languages, please contact Mia Huang at [mh2467@cornell.edu](mailto:mh2467@cornell.edu).