**PROGRAMMA DI RICERCA**

**TITOLO DEL PROGETTO DI RICERCA: “Valutazione di primer terapeutici sulle performances adesive e sulle proteasi endogene della matrice organica della dentina di denti permanenti e decidui”**

L’utilizzo di materiali adesivi è una pratica di routine nella moderna Odontoiatria, sia Restaurativa che Protesica. La recente introduzione di sistemi adesivi universali, ha permesso una semplificazione delle fasi operative da un lato, e una riduzione dell’influenza dell’operatore dall’altro, permettendo di diminuire i problemi relativi ai sistemi adesivi a tre o due passaggi. Nonostante gli enormi sforzi della tecnologia dei materiali, è stato dimostrata la presenza di determinati enzimi facenti parte della categoria delle metalloproteinasi di matrice (MMPs) e delle catepsine (CT) che, una volta attivati durante le procedure di adesione, possono provocare una idrolisi del legame adesivo con conseguente fallimento prematuro del restauro. La carie secondaria è una delle principali conseguenze di questo meccanismo biologico. Al giorno d’oggi, sono state analizzate diverse soluzioni, intesi come primer terapeutici, per contrastare l’attività enzimatica della matrice organica della dentina. Di questi, la clorexidina (CHX) è stata quella maggiormente studiata e di cui sono stati riportati risultati fino a 10 anni. Tuttavia, le possibilità terapeutiche si sono allargate nel tempo, ma, a tutt’oggi, le informazioni sulla loro potenzialità su denti umani permanenti e decidui sono scarse.

Di conseguenza, l’obiettivo del presente progetto di ricerca sarà quello di valutare l’effetto di materiali con differente struttura molecolare (i.e. argento diammino fluoro, ozono, eritritolo) utilizzati come primer terapeutici su dentina di denti umani permanenti e decidui sull’efficacia del meccanismo di adesione nel breve e nel lungo termine tramite strumentazione universale a tensione, a simulazione e a trazione. L’attività enzimatica in dentina, in particolare di MMP-2, MMP-9 e CT B e K sarà valutata tramite analisi immunoistochimiche e l’impiego di microscopi elettronici ad alta risoluzione L’utilizzo di tecniche biochimiche permetterà di valutare l’effetto di diversi primer terapeutici sull’attività di MMPs all’interno degli strati ibridi di sistemi adesivi universali tramite microscopia confocale.

Il progetto di ricerca sarà basato su sperimentazioni *ex vivo* e diviso in sezioni che riguarderanno da un lato le caratteristiche meccaniche del legame adesivo in presenza o meno dei primer terapeutici testati nello studio e la caratterizzazione enzimatica dello strato ibrido dall’altro. Tutte le sperimentazioni (meccaniche, immunoistochimiche, biochimiche e di microscopia) saranno condotte a 24 h (T0) e dopo 1 anno (T12) di conservazione in saliva artificiale in un forno di laboratorio a 37 °C e 100% umidità relativa.

**PROGRAMMA DI ATTIVITÀ DELL’ASSEGNISTA**

Il programma di attività dell’assegno e il suo percorso scientifico saranno rivolti alla realizzazione del progetto di ricerca “Valutazione di primer terapeutici sulle performances adesive e sulle proteasi endogene della matrice organica della dentina di denti umani permanenti e decidui”.

Il primo obiettivo del percorso, sarà rivolto alla completa integrazione dell’assegnista nel progetto di ricerca preposto. Questo includerà da un lato un approfondimento delle informazioni presenti in letteratura, dall’altro, particolare interesse sarà rivolto all’apprendimento e gestione delle seguenti tecniche di laboratorio:

* Microscopia:

-) Utilizzo dei diversi tipi di microscopia: elettronica a scansione, a trasmissione, confocale, a luce ottica;

-) Preparazione dei campioni e loro osservazione nelle diverse tecniche di microscopia;

-) Tecnica di singola o doppia immunomarcatura;

* Biologia molecolare:

-) Tecniche di estrazione di proteine;

-) Saggi di attività enzimatica;

-) Western blot;

-) Zimografia e zimografia *in situ*.

* Strumentazione di prove su materiali:

-) Utilizzo di strumentazione ed attrezzature di prova sui materiali ad alta precisione: dalle meccaniche e trazione, a quelle di simulazione e quelle universali;

-) Utilizzo software per la valutazione statistica dei dati.

Tramite queste acquisizioni, l’assegnista potrà essere in grado di gestire autonomamente la parte sperimentale presentata nel progetto di ricerca utilizzando le conoscenze ottenute sulla microscopia elettronica a scansione, a trasmissione, tecniche di immunoistochimiche, di adesione e di statistica.

Con il fine di raggiungere l’obiettivo formativo preposto, il titolare dell’assegno di ricerca potrà trascorrere, se richiesto, periodo di formazione presso strutture di ricerca straniere.