

Descrizione dei Reparti di Biologia cellulare e Neuroscienze

Biochimica

Il reparto intende integrare metodologie sperimentali e computazionali su alcuni modelli d'interazione proteina-proteina e proteina-lipidi sui quali esistono in Istituto competenze e risorse d'eccellenza. Particolare attenzione sarà dedicata all'acquisizione delle nuove metodologie d'analisi della struttura delle proteine allo scopo di migliorare la progettazione e produzione di nuove molecole risultanti da mutazioni o dalla combinazione di specifici domini proteici. Allo scopo saranno impiegati sistemi computazionali e software dedicati allo studio della struttura delle proteine affiancate da metodologie sperimentali chimico-fisiche, biologiche, immunochimiche.

Nuovi modelli matematici saranno applicati alla descrizione di alcuni processi cellulari come reti metaboliche e trasduzioni del segnale, integrando continuamente dati sperimentali ed elaborazioni numeriche.

Fisiopatologia dei radicali

In questi ultimi 10-15 anni i radicali liberi hanno conquistato un posto di grande rilevanza in medicina. Questo interesse è legato ad alcune scoperte fondamentali, avvenute nella seconda metà del '900. Molti studi hanno dimostrato che i radicali sono prodotti negli esseri viventi non solo per "errore" o come sostanze "indesiderate" ma svolgono funzioni essenziali di messaggero con reazioni di tipo redox. Questa doppia anima - modulatori dei segnali cellulari/agenti citotossici - è oggi considerata una costante dell'attività biologica dei radicali. Gli obiettivi degli studi sulla fisiopatologia dei radicali e dello stress ossidativo nelle patologie degenerative saranno:

- Identificazione di target specifici per il radicale NO e le specie reattive da esso derivate;
- Meccanismo d'inattivazione e metabolismo di agenti pro-ossidanti e azione di agenti pro-ossidanti e riducenti sul metabolismo dei lipidi;
- Regolazione della produzione di radicali in modelli cellulari e animali rilevanti per le patologie degenerative;
- Signaling cellulare indotto da radicali e specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto: ruolo nei processi degenerativi e differenziativi;
- Lipidi quali molecole strutturali, modulatori di signaling e di espressione genica;
- Antiossidanti naturali presenti nella dieta come possibili agenti preventivi nelle patologie degenerative.

Imaging molecolare e cellulare

Con la dizione "Molecular and Cellular Imaging" viene oggi definita a livello internazionale la nuova area di ricerca biomedica che, partendo dall'informazione genomica e dai recenti progressi conoscitivi e tecnologici della biologia cellulare e dell'imaging in vivo, si propone la caratterizzazione e il monitoraggio non invasivo di meccanismi molecolari specifici di patologie tumorali e neurodegenerative, al fine di potenziare gli attuali strumenti di diagnosi, prevenzione e terapia.

In quest'area gli obiettivi futuri sono:

- L'identificazione mediante imaging e spettroscopia a Risonanza Magnetica (RM) di marcatori molecolari di patologie tumorali e neurodegenerative in vivo, come base per il potenziamento dei metodi di diagnosi, prognosi e terapia.
- Lo sviluppo a livello preclinico di metodi non invasivi di imaging di parametri funzionali e di marcatori molecolari di progressione patologica, in relazione alle caratteristiche genetiche, istopatologiche e molecolari di malattie tumorali e neurodegenerative.

- La valutazione di protocolli clinici basati sull'uso di sonde molecolari specifiche, agenti di contrasto e segnali RM per la rivelazione e il monitoraggio non invasivo in vivo di alterazioni fisiopatologiche e biochimiche associate alla patologia e alla risposta a terapie convenzionali e innovative.
- Identificazione e/o evidenziazione di molecole e/o steps responsabili del traffico cellulare di segnali, molecole ed organelli citoplasmatici e loro relazione con componenti del citoscheletro, sia a seguito di attivazione recettoriale che di contatto intercellulare con bersagli tumorali sensibili in cellule di interesse immunologico e/o patologiche.

Immunoregolazione

Lo sviluppo delle ricerche di questi ultimi anni nel settore dell'immunologia cellulare e dell'immunoregolazione ha evidenziato l'importanza di fattori solubili (in particolare citochine e chemochine) quali agenti principali coinvolti nella regolazione della risposta immune, sia in condizioni fisiologiche che patologiche. Le attuali attività comprendono progetti sui meccanismi della risposta immune ad agenti patogeni (con particolare riferimento ad HIV-1) e progetti finalizzati allo sviluppo di terapie innovative. Tali attività includono il coordinamento di un progetto europeo riguardante lo studio dei mediatori dell'immunità innata e dell'immunità acquisita e la continuazione di ricerche sull'AIDS tese soprattutto a definire i meccanismi attraverso i quali HIV-1 (o particolari proteine del virus, quali gp120 e vpr) interagiscono con cellule del sistema immune, quali principalmente cellule dendritiche (DC) e monociti/macrofagi umani. Il reparto conduce anche ricerche in modelli murini, basate sull'uso di topi knock-out (KO) per i recettori di interferone (IFN) o altri ceppi di topi (transgenici o KO) di particolare interesse, compresi topi KO per il fattore di trascrizione ICSP, che rappresentano un modello animale di particolare interesse per l'analisi del ruolo di sottotipi di DC nel controllo di infezioni virali e della crescita neoplastica. Il reparto è inoltre responsabile di un'intensa sperimentazione su modelli di topi SCID ricostituiti con cellule umane per progetti di ricerca sull'AIDS e di interesse oncologico. Tale attività, svolta da personale altamente qualificato in una "facility P3" con caratteristiche uniche in Italia, comprende collaborazioni crescenti con diversi gruppi interni ed esterni all'ISS; il gruppo è altresì coinvolto in ricerche di implementazione dei modelli stessi, che presentano applicazioni potenziali multiple in campo biomedico. Il reparto si è fatto inoltre promotore di un "progetto DNA|microarray" dell'ISS, che include anche la prospettiva di attivazione di una facility dell'ISS, con funzioni di preparazione dei "chips" e supporto all'analisi dei dati, la cui realizzazione richiederà un'adeguata valutazione del personale nell'ambito di una strategia dipartimentale.

Immunoterapia sperimentale

Il progresso recente delle ricerche nel settore dell'immunologia e delle biotecnologie ha aperto nuove opportunità allo sviluppo di strategie di immunoterapia contro i tumori ed infezioni croniche gravi nell'uomo, che meritano particolare attenzione per le potenziali ricadute sulla salute pubblica. L'attività del reparto sarà finalizzata all'attivazione di sperimentazioni cliniche innovative nel settore nell'immunoterapia, intervenendo in diverse fasi cruciali, quali: i) la preparazione di protocolli clinici basati su ricerche sviluppate in ISS; ii) il coordinamento di studi multicentrici; iii) la preparazione di reagenti speciali per uso clinico; iv) lo sviluppo e l'implementazione di metodiche di monitoraggio immunologico nel contesto di trials clinici nel settore dell'immunoterapia. Il gruppo afferente al reparto ha di recente attivato due studi clinici basati sul nuovo concetto di uso di interferone (IFN) ??come adiuvante(nella: i) vaccinazione contro l'epatite B (progetto coordinato dall'ISS e finanziato dalla Comunità Europea); ii) vaccinazione di pazienti con melanoma metastatico con peptidi da antigeni tumore-associati (progetto 1% dell'ISS in collaborazione con

l'Istituto Nazionale Tumori di Milano e l'IDI di Roma). Il coordinamento di entrambi questi studi clinici, associato con l'impegno di monitoraggio immunologico sulle cellule detritiche circolanti, rappresentano importanti attività correnti del reparto. Il gruppo è attualmente coinvolto nella preparazione di altri protocolli di studi clinici nel settore dell'immunoterapia dei tumori e nello sviluppo di tecnologie di preparazione di cellule dendritiche compatibili con l'uso clinico.

Un'attività importante del reparto consisterà nell'attivazione del Centro di terapia cellulare dell'ISS per la preparazione, in condizioni GMP, di cellule e reagenti per studi clinici che, almeno in una prima fase, saranno orientati nel settore dell'immunoterapia dei tumori e di infezioni croniche gravi.

Malattie rare

Le malattie rare, pur essendo rare come singole condizioni, sono molto numerose e pertanto rappresentano una significativa porzione delle patologie umane (circa il 10%). Nel complesso costituiscono un ampio ed eterogeneo gruppo di malattie (circa 6000 secondo l'OMS), accomunate dalla bassa prevalenza nella popolazione (5 casi per 10.000 abitanti nella popolazione europea secondo i criteri adottati dall'UE).

I problemi sanitari connessi a questo gruppo di malattie umane derivano dalle scarse conoscenze scientifiche per la comprensione delle loro basi eziologiche e patogenetiche. Conseguentemente, vi sono gravi carenze e ritardi nello sviluppo di strumenti diagnostici (precoci ed efficienti), di terapie innovative (farmacologiche, cellulari e geniche) e strategie riabilitative. Pertanto, i principali problemi sanitari derivanti malattie rare richiedono di:

- sviluppare programmi di ricerca sulla eziopatogenesi, su eventuali fattori di predisposizione, sui marcatori diagnostici precoci, sulle terapie adeguate;
- attivare una rete di sorveglianza per le malattie rare, centrata su il Registro Nazionale esistente;
- promuovere e realizzare programmi nazionali ed internazionali di ricerca di base, clinica e socio-sanitaria.

Al reparto è assegnato il coordinamento del progetto europeo "Network of Public Health Institution on Rare Diseases (NEPHIRD)" saranno messi a punto modelli di studio epidemiologici a livello europeo, studi sulla qualità di vita dei soggetti con malattia rara e indicatori di sanità pubblica.

Metabolismo ed endocrinologia molecolare e cellulare

Verranno studiati i meccanismi biochimici, molecolari e cellulari alla base di patologie endocrino-metaboliche e di malattie dello sviluppo che rivestono particolare rilievo socio-sanitario per l'elevata frequenza con cui si manifestano nella popolazione e per le sequele cronico-degenerative che determinano.

Le complicanze vascolari del diabete e la sindrome plurimetabolica verranno affrontati mediante: a) studio dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della disfunzione endoteliale, che rappresenta la lesione chiave della vasculopatia diabetica, mediante l'utilizzo di modelli sperimentali in vitro e in vivo; b) studio del ruolo dell'iperglicemia nella regolazione del rimodellamento del tessuto adiposo, e quindi nello sviluppo dell'obesità, in corso di sindrome plurimetabolica.

L'ipofunzione tiroidea verrà approfondita con lo studio: a) dei meccanismi biochimici e molecolari che regolano la risposta autoimmune organo-specifica con particolare attenzione all'interazione tra autoanticorpi organo-specifici e citochine immunomodulanti; b) i fattori di rischio per le malformazioni associate all'ipotiroidismo congenito e la valutazione dell'insorgenza di IC in gravidanze multiple; c) gli effetti dell'esposizione ad Endocrine Disruptor Chemicals ad azione tireostatica.

Attualmente, per la genetica molecolare dei difetti congeniti dello sviluppo, l'interesse è rivolto principalmente a: identificazione e

caratterizzazione funzionale degli eventi molecolari alla base delle sindromi di Noonan, cardiofaciocutanea e Costello; comprensione delle cause molecolari dell'ipotiroidismo congenito primario isolato e associato ad altre malformazioni congenite. Particolare interesse è rivolto allo studio del significato funzionale delle mutazioni nel gene PTPN11 e del loro ruolo nella patogenesi e progressione leucemica.

Coordinamento del Registro Nazionale Ipotiroidi Congeniti (D.P.R. 9/07/1999, G.U. 170 del 22/07/99) corredato da Banca Biologica e del Registro Nazionale degli Assuntori di GH (DM del 29/11/93; G.U. 290 del 11/12/03).

Neurobiologia molecolare

Saranno studiati, a livello molecolare, particolari complessi multiproteici di membrana che partecipano all'organizzazione strutturale e funzionale dei contatti specializzati tra neuroni, tra le cellule gliali e lamina basale o, ancora, tra cellule gliali e cellule endoteliali a livello della barriera emato-encefalica. Complessi simili al complesso di proteine associate alla distrofina (DPC), inizialmente identificato nel muscolo scheletrico in quanto coinvolto in numerose distrofie muscolari, sono presenti nel sistema nervoso. Tali complessi stabiliscono una connessione diretta tra matrice extracellulare e citoscheletro. Nell'ottica della duplice funzione dei DPC di stabilizzazione della membrana e di partecipazione ai meccanismi di trasduzione dei segnali cellulari ed attraverso l'allestimento di modelli cellulari (colture primarie di ippocampo, granuli cerebellari e neuroni retinici) ed ex vivo (preparazioni sinaptosomiali, fettine ippocampali), saranno inoltre, studiati i segnali molecolari che vengono attivati nei processi neurotossici con particolare riguardo alla malattia di Alzheimer, alla tossicità mediata da amminoacidi eccitatori, e alle patologie neurodegenerative retiniche. L'obiettivo sarà la comprensione dei meccanismi patogenetici del danno neuronale e la sperimentazione in vitro di agenti neuroprotettivi. Alterazioni nel trasporto e nel processamento di proteine di membrana possono sia interferire con i corretti meccanismi di trasduzione dei segnali cellulari sia contribuire alla formazione di peptidi neurotossici. Tale fenomeno appare di notevole rilevanza nella malattia di Alzheimer, dove l'alterato metabolismo della beta amiloide dà inizio o contribuisce alla patogenesi della malattia.

Neuroscienze comportamentali

Le neuroscienze neurocomportamentali studieranno:

- La vulnerabilità psicofisica e stress: analisi delle interazioni fra sistema nervoso, sistema endocrino e sistema immunitario nella risposta allo stress, e ruolo regolativo delle neurotrofine. Studio dei fattori di rischio socioambientale per l'insorgenza di comportamenti devianti in età adolescenziale e giovanile. Validazione di agenti terapeutici innovativi, perfezionati attraverso l'utilizzo di appropriati modelli animali di stress psicosociale acuto/cronico (e/o attivi sulla percezione del dolore), per lo studio di fenomeni di plasticità comportamentale e relative basi neurali. Valutazione dell'impatto di stimoli stressanti di diversa natura, intensità e durata quali fattori di rischio per lo sviluppo di alcune patologie psichiatriche, per esempio forme depressive e dissociative. Utilizzo di modelli transgenici per patologie psichiatriche.
- I modelli sperimentali di danno cerebrale precoce, di sindromi di ritardo mentale o disturbi attenzionali/cognitivi nel bambino: analisi dei fattori di rischio e studio dei meccanismi patogenetici. Selezione di indicatori precoci di danno con potenziale trasferibilità clinica, sia a livello comportamentale che biochimico, tali da consentire (i) la valutazione preclinica di trattamenti neuroprotettivi e/o di riabilitazione nel modello animale, (ii) l'individuazione di condizioni a rischio per lo sviluppo di disturbi comportamentali e cognitivi in relazione a patologie umane a elevato impatto sociosanitario (encefalopatia ipossica/ischemica, sindromi di ritardo mentale a base genetica e non, ADHD,

schizofrenia). Tale attività di ricerca potranno, con le opportune integrazioni, riflettersi nella stesura di linee-guida.

- I modelli sperimentali su primati non umani per lo studio del ruolo dei fattori sociali nello sviluppo dei processi cognitivi.
- La neurotossicologia e teratologia comportamentale: analisi degli effetti avversi sullo sviluppo neurocomportamentale di xenobiotici di varia natura.
- L'adeguamento a livello nazionale degli standard di animal care per la riduzione delle condizioni stressanti o dolorose per il soggetto animale sperimentale, con estensione alla tutela del benessere psicofisico di animali da reddito. Etica della sperimentazione su primati non umani e contributi alla rielaborazione della legislazione europea in merito.

Le neuroscienze comportamentali sono sostenute da metodi di analisi statistica complessi per variabili di tipo comportamentale sia in sperimentazione clinica che in modelli animali e dai futuri sviluppi che riguarderanno:

- La caratterizzazione dei criteri per il miglioramento della qualità del dato sia nella sperimentazione animale che nella sperimentazione clinica.
- Lo sviluppo di tecniche biostatistiche per l'ottimizzazione del disegno sperimentale e per l'analisi dei dati raccolti in sperimentazione animale e clinica riguardanti lo studio della patogenesi e delle potenziali terapie di specifiche patologie neurologiche e psichiatriche ad eziologia multifattoriale.

Patologie neurologiche, degenerative e infiammatorie

Il reparto svolge attività di ricerca indirizzata alla comprensione dei meccanismi patogenetici, all'individuazione di nuove procedure o marker diagnostici, ed allo sviluppo di approcci terapeutici innovativi nel campo delle malattie degenerative ed infiammatorie del sistema nervoso. L'attività di ricerca è suddivisa in quattro diverse aree:

Cellule gliali e loro ruolo nelle patologie neurodegenerative.

Studio delle cellule gliali (microglia, astrociti e oligodendrociti) come cellule effettrici o bersaglio nei meccanismi di patogenesi delle malattie neurodegenerative, di malattie neurologiche su base auto-immunitaria o ipossico-ischemiche. Definizione dei meccanismi molecolari alla base dei processi di attivazione microgliale, in grado di sostenere una risposta infiammatoria locale anche in assenza di infiltrato di cellule immunitarie ematiche, per lo sviluppo di strategie di intervento farmacologico specifiche ed integrate al fine di promuovere le attività gliali neuroprotettive e di prevenire gli effetti citotossici, legati ad una protratta ed eccessiva risposta della microglia. Encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) o malattie da prioni.

Ricerca di fattori endogeni o esogeni diversi dalla proteina prionica (PrP) coinvolti nell'eziopatogenesi delle TSE. Identificazione e caratterizzazione di ceppi circolanti in Italia di TSE umani ed animali. Basi molecolari di amiloidogenesi della PrP. Meccanismo di trasporto dell'agente infettivo dalla periferia al SNC. Meccanismo d'azione di farmaci anti-prioni. Sviluppo di nuove metodiche diagnostiche (incluso tecniche di imaging) e di amplificazione della PrP in vitro. Sviluppo di nuove tecniche per inattivare i prioni. Misura della dose infettiva minima di BSE in grado di infettare i primati per via orale. Valutazione del rischio di trasmettere la BSE all'uomo attraverso il consumo di pesci alimentati con mangimi infetti da BSE.

Malattia di Alzheimer e altre demenze.

Analisi dei geni coinvolti nella patogenesi della malattia di Alzheimer e nelle demenze frontotemporali. Analisi del rapporto genotipo-fenotipo della malattia. Ricerca di potenziali fattori di rischio. Regolazione dell'espressione dei geni coinvolti nell'Alzheimer (meccanismi genetici ed epigenetici). Meccanismo di deposizione dell'amiloide in diversi tipi cellulari. Modelli animali e cellulari per la definizione dei meccanismi molecolari della patologia.

Malattie infiammatorie e demielinizzanti del sistema nervoso centrale.

Studi in modelli animali e su tessuto cerebrale umano autoptico dei meccanismi immunopatogenetici implicati nella cronicizzazione del processo

neuroinfiammatorio nella sclerosi multipla, con particolare attenzione al ruolo svolto da mediatori solubili (citochine/chemiochine) e da cellule presentanti l'antigene (microglia/cellule dendritiche). Sviluppo di nuove terapie immunomodulatorie e neuroprotettive in modelli preclinici di sclerosi multipla. Definizione dei meccanismi molecolari che sottendono i processi di demielinizzazione e rimielinizzazione. Studi sulla funzione di un gene, MLC-1, implicato in una forma rarissima di leucodistrofia, la leucoencefalopatia megalencefalica.

Terapia genica e cellulare

In questi ultimi anni, si è assistito ad un grande sviluppo di tecnologie per il trasferimento di geni in sistemi cellulari e per il trasferimento di strategie di terapia cellulare alla sperimentazione clinica. In tale contesto, è opportuno mantenere e finalizzare un complesso di ricerche, condotte in istituto in questo settore, inerenti sia lo sviluppo di nuovi vettori e metodiche per il trasferimento di geni in cellule sia lo sviluppo di strategie di terapia cellulare innovative.

Obiettivi del reparto sono:

- La ricerca pre-clinica volta alla identificazione e alla valutazione in appropriati modelli sperimentali di strategie di immunoterapia per il trattamento di pazienti oncologici.
- Sviluppo di metodologie di trasferimento genico per la terapia di patologie sia genetiche che acquisite.
- Ricerca pre-clinica volta alla identificazione dei meccanismi di controllo della proliferazione e della differenziazione in cellule primarie umane con possibili applicazioni cliniche in patologie sia genetiche che acquisite.
- Attività regolatoria a supporto della Commissione per la sperimentazione di Fase I/II di cui al DPR 439.