

La ricerca è stata indirizzata a comprendere se il profilo d'idrofobicità relativo alla sequenza amminoacidica potesse rivelare le somiglianze della struttura primaria tra proteine che, pur avendo una struttura 3D molto simile, possiedono sequenze amminoacidiche con identità non superiori al 20%. A questo scopo è stato sviluppato un software applicativo basato su un algoritmo che allinea due proteine sulla base del loro profilo d'idrofobicità. L'applicativo, chiamato PROFALIGN, è inoltre in grado di fare allineamenti locali e riuscendo ad individuare i domini con più alta corrispondenza.

Fisiopatologia dei radicali

L'attività 2004 è stata focalizzata allo studio della reattività in sistemi biologici e dei meccanismi di "signaling" del perossinitrito (ONOO-), un ossidante fisiologico derivato dalla reazione tra i radicali ossido nitrico (NO) e superossido (O₂⁻). La conoscenza della biochimica delle specie reattive dell'azoto è alla base di molte strategie terapeutiche miranti a rallentare o prevenire le patologie degenerative. In questo anno abbiamo dimostrato che: (1) il perossinitrito modifica selettivamente alcuni residui amminoacidici (Tyr, Trp) della lipoproteina LDL, una reazione inibita da antiossidanti polifenolici a struttura catechinica e dai polifenoli contenuti nel vino rosso; (2) l'emoglobina ossigenata reagisce con i nitriti formando intermedi radicalici e nitrotirosine, una reazione non osservata con il radicale NO; (3) il perossinitrito è in grado di ossidare l'acido ialuronico [M1] attraverso la formazione di radicali del polisaccaride, primo passo verso la degradazione della molecola e può contribuire alla progressione dell'artrite reumatoide, patologia su base infiammatoria ad eziologia ignota; (4) specie reattive dell'azoto con attività nitrosante e nitrante si formano a livello gastrico quando i nitriti della saliva incontrano il pH acido. I nitriti della saliva producono a pH acido ossidi di azoto potenzialmente tossici insieme al radicale NO che, a livello gastrico, svolge importanti attività fisiologiche (vasodilatazione, attività antimicrobica, produzione del muco, motilità gastrica); (5) il perossinitrito inibisce l'attività della fosfatasi 1 alfa attraverso la fosforilazione in tirosina mediata dalle src chinasi.

Imaging molecolare e cellulare

Le attività del Reparto nel 2004 sono state principalmente indirizzate alla caratterizzazione di parametri di imaging molecolare mediante risonanza magnetica (RM) in vitro ed in vivo e di imaging cellulare mediante tecniche di microscopia a fluorescenza, allo scopo di identificare nuovi indicatori di patologia, con particolare riguardo a malattie tumorali e neurodegenerative. In particolare è stato studiato: il ruolo dei derivati dal metabolismo della fosfatidilcolina (PC) come "fingerprint" di progressione tumorale di carcinomi umani dell'ovaio e del colon-retto, al fine di

promuovere lo sviluppo di metodi innovativi di imaging non-invasivo in vivo; l'espressione, localizzazione subcellulare e attivazione dell'enzima fosfolipasi C PC-specifica nella progressione tumorale e nella stimolazione di cellule del sistema immunitario.

Nel campo della diagnostica oncologica, è proseguito uno studio multicentrico non-randomizzato, coordinato dall'ISS a livello nazionale e svolto presso oltre venti Centri oncologici italiani, volto a definire il ruolo dell'imaging RM nella diagnosi precoce del carcinoma mammario in soggetti ad alto rischio genetico (completamento degli iter diagnostici di primo round).

Infine, utilizzando tecnologie RM ad altissimo campo (16.4 T) sono state determinate composizione e struttura di b-glucani di *C. albicans* ad attività immunomodulatoria.

Per la sicurezza dell'impiego di apparecchiature RM, in campo clinico-diagnostico, è stato validato un nuovo metodo per la determinazione quantitativa dell'interazione del campo magnetico con dispositivi cardiovascolari.

Immunoregolazione

Nel 2004 sono state svolte le seguenti attività

- 1) uno studio clinico di fase I-II per la valutazione dell'efficacia di una vaccinazione contro antigeni di melanoma in associazione a chemioterapia. Lo studio, eseguito presso l'IFO "Regina Elena" e il Policlinico di Tor Vergata, ha già concluso l'arruolamento della maggior parte dei pazienti e completato l'analisi di una parte dei parametri ematochimici e immunologici previsti;
- 2) uno studio della combinazione di chemioterapia e immunoterapia in modelli animali. Questo progetto, svolto utilizzando tumori impiantati nel topo;
- 3) uno studio dell'effetto di interferon di tipo I (IFN) come adiuvante nella vaccinazione contro antigeni virali e tumorali;
- 4) uno studio sugli effetti immunomodulatori della gp120 di HIV-1 in cellule dendritiche. In un modello di cellule dendritiche generate da monociti in presenza di GM-CSF e IL-4 è stato dimostrato che l'interazione della gp120 ricombinante con cellule dendritiche ne determina alterazioni funzionali e maturazione aberrante;
- 5) la valutazione del ruolo potenziale del nuovo antigene tumorale BORIS. E' stata svolta la prima fase di caratterizzazione delle proprietà immunogeniche del "cancer-testis" BORIS per la valutazione del suo potenziale uso come target per trattamenti immunoterapeutici di neoplasie come il cancro del seno, del polmone, della prostata ed alcuni tumori ematologici.

Sono state avviate collaborazioni con l'NIH (Dr. Marincola) per lo sviluppo di piattaforme innovative di DNA microarray per la rilevazione rapida di polimorfismi in citochine, recettori di

citochine e geni coinvolti nelle vie di trasduzione del segnale di citochine allo scopo di identificare markers predittivi della suscettibilità alle malattie, della risposta ai vaccini e dell'outcome clinico in pazienti con differenti patologie, incluso il cancro.

Immunoterapia Sperimentale

Attività di coordinamento di progetti e di organizzazione, gestione e monitoraggio di studi clinici.

Progetto dimostrativo "Evaluation of the adjuvant activity of IFN-alfa in vaccination strategies against HBV" (IFN-alfa and HBV vaccine) (V Programma Quadro CE) per la valutazione in due studi clinici dell'attività adiuvante di IFN-alfa nella vaccinazione contro HBV in soggetti sani e in pazienti emodializzati.

Progetto di ricerca finalizzata 2003 (durata 24 mesi): "Carcinoma del colon-retto: marcatori prognostici e strategie terapeutiche su base immunologica".

Completamento delle attività di monitoraggio dello "Studio clinico di fase I/II per la valutazione dell'effetto adiuvante di Interferone-alfa nella vaccinazione di pazienti affetti da melanoma stadio IV con i peptidi MART-1:26-35(27L) e gp100:209-217(210M)" (IFNaMV1), coordinato dal Dott. F. Belardelli ed effettuato presso l'Istituto Nazionale per lo studio e la Cura dei Tumori di Milano (Dott. G. Parmiani) e l'Istituto Dermatologico dell'Immacolata (IDI) di Roma (Dott. E. Bonmassar).

Disegno, preparazione del protocollo e organizzazione, in collaborazione con il reparto di Immunoregolazione, dello "Studio clinico per la valutazione delle interazioni tra chemioterapia e immunoterapia di pazienti affetti da melanoma" (DTIC-IFNa-MV), coordinato dal Dott. E. Proietti e in corso di svolgimento presso l'Istituto Regina Elena - Polo Oncologico (Prof. F. Cognetti) e l'Università di Tor Vergata (Dott. M. Roselli) (Pazienti reclutati: 7 dei 12 previsti, di cui 5 hanno completato il protocollo e 2 sono in corso di trattamento).

Organizzazione del convegno "International Meeting on Cancer Vaccines", che si è svolto all'Istituto Superiore di Sanità il 19-20 aprile 2004.

Attività brevettuale.

Attività finalizzata alla registrazione o prosecuzione/estensione di brevetti, riguardanti: a) metodi di preparazione di cellule presentanti l'antigene (APC) mediante uso di IFN di tipo I (US 09/845042-WO 02/088328; EP 02290994.9-WO 03/089629); b) utilizzo di IFN di tipo I come adiuvante di vaccini (EP 01830261.2-CWO 02/083170); c) particelle chimeriche da virus vegetali come veicolo di antigeni (IT RM000327-EP167530A2); d) un nuovo antigene associato al carcinoma del colon-retto (US 60/512,040- PCT/EP2004/12087).

Attività scientifica.

Valutazione degli effetti di interferone-alfa (IFN-alfa) utilizzato come adiuvante di vaccini nell'ambito degli studi clinici di vaccinazione: a) di pazienti con melanoma (studio IFNaMV1); b) di soggetti sani o emodializzati contro HBV.

Studi pre-clinici per la valutazione dell'efficienza di cellule dendritiche generate in presenza di IFN-alfa (IFN-DC) (secondo il metodo oggetto del brevetto US 09/845042-WO 02/088328) come adiuvanti cellulari di vaccini terapeutici contro il cancro o infezioni croniche gravi. Studi di caratterizzazione degli effetti precoci di IFN-alfa sul differenziamento di monociti umani in APC.

Attività finalizzate allo sviluppo e validazione di procedure GMP per la preparazione di IFN-DC per uso clinico, a seguito del trasferimento presso il reparto di una metodologia sviluppata dall'industria IDM (licenziataria del brevetto US 09/845042-WO 02/088328) e utilizzata in studi clinici.

Studi di caratterizzazione immunologica di un nuovo antigene (COA-1) associato al carcinoma del colon retto (CRC) riconosciuto sotto forma di epitopo immunogenico associato alle molecole MHC di classe II.

Malattie Rare

Nel corso del 2004 il Reparto ha continuato e sviluppato le seguenti attività:

- a) Identificazione di aberrazioni genetiche in tumori rari (tumori pancreatici endocrini non secernenti); tali tumori presentano una grande eterogeneità genetica, sia in termini di amplificazioni che di delezioni.
- b) Caratterizzazione molecolare dei meccanismi patogenetici nella sindrome di Nijmegen, una malattia rara caratterizzata da difetti nei pathway di risposta al danno al DNA. Sono stati analizzati gli end-point legati alla radiosensibilità cellulare e alla riparazione delle DSBs (mediante uno specifico saggio di elettroforesi in campo pulsato), congiuntamente all'espressione basale di proteine coinvolte nei pathways di riparazione delle DSBs o nell'attivazione per fosforilazione di specifici substrati che giocano un ruolo nei checkpoint del ciclo cellulare e nella riparazione.
- c) Caratterizzazione di sequenze endogene genomiche: è stata effettuata un'ampia disamina circa i fattori endogeni ed esogeni che contribuiscono alla modulazione dell'espressione di queste sequenze nell'organismo.
- d) Controllo esterno di qualità dei test genetici: è stato completato il quarto trial nazionale che ha visto la partecipazione di 87 laboratori pubblici che effettuano diagnosi molecolare e citogenetica, sia prenatale che post-natale.
- e) Aggiornamento e mantenimento del Registro nazionale malattie rare (istituito mediante D.M. 279/2001) e collegamento con la rete nazionale delle malattie rare.

f) Aggiornamento e mantenimento del sito web dedicato alle malattie rare (<http://www.malattierare.iss.it>); il sito fornisce una guida per operatori sanitari, cittadini, pazienti e Associazioni dei pazienti e familiari alle problematiche delle malattie rare (dalla definizione, alla modalità di compilazione della Scheda del registro, alle Associazioni di patologie rare, ecc.).

g) Collaborazione con la Conferenza Stato - Regioni per il coordinamento ed il monitoraggio delle attività assistenziali sulle malattie rare. Il Reparto partecipa attivamente alle Riunioni della Conferenza Stato-Regioni, inoltre ha recentemente realizzato un database per la elaborazione e valutazione di Schede per specifiche malattie rare candidate all'inclusione del D.M. 279/2001.

Metabolismo ed Endocrinologia Molecolare e Cellulare

L'attività di ricerca del Reparto è stata diretta allo studio dei meccanismi biochimici, molecolari e cellulari coinvolti nell'eziopatogenesi delle patologie endocrino-metaboliche e dello sviluppo. In particolare sono state sviluppate le seguenti tematiche:

- Lo studio delle risposte cellulari correlate al metabolismo del glucosio in eccesso, dal quale è emerso che l'alto glucosio "" in grado di modificare mediatori, secreti dai preadipociti, i quali hanno un ruolo nei processi di proliferazione, apoptosi e differenziamento.
- Lo studio dei meccanismi endogeni di immunosoppressione nella risposta autoimmune organo-specifica, dal quale è emerso che nelle tireopatie autoimmuni gli autoanticorpi a specificità tiroidea sono in grado di trasportare in circolo citochine immunosoppressive.
- Lo studio degli effetti sulla funzionalità tiroidea dell'esposizione a Interferenti Endocrini, che ha messo in evidenza come l'effetto tireostatico di alcuni pesticidi largamente usati in agricoltura possa essere dovuto all'induzione di una risposta autoimmune tiroide specifica.
- Lo studio delle basi molecolari dell'ipotiroidismo congenito, dal quale è emerso che mutazioni a carico del gene NKX2-5 possono essere coinvolte nell'eziologia di questa frequente patologia neonatale. E' proseguita l'attività di raccolta di materiale biologico per la creazione di una banca del DNA per questa stessa patologia.
- Lo studio delle basi molecolari della sindrome di Noonan e della rilevanza clinica delle mutazioni somatiche del gene PTPN11 con ruolo oncogenico. Le ricerche hanno portato ad una prima caratterizzazione funzionale delle mutazioni del gene PTPN11, hanno dimostrato l'origine paterna delle mutazioni responsabili della sindrome di Noonan originate durante la gametogenesi e hanno confermato l'attività oncogenica promossa da specifiche mutazioni somatiche di PTPN11, estendendo il contributo di queste ultime alla leucemia linfoblastica acuta.

Per ciò che riguarda l'attività istituzionale del Reparto, è proseguita l'attività di sorveglianza relativa Registro degli Assuntori dell'Ormone della Crescita e al Registro Nazionale degli Ipotiroidi Congeniti per il quale è stato anche organizzato il workshop annuale con la partecipazione di tutti i Centri di Screening e Follow up operanti sul territorio nazionale.

Neurobiologia Molecolare

E' proseguita, nel sistema nervoso centrale, l'identificazione delle proteine associate alla distrobrevina, una componente del complesso multiproteico distrofina-distroglicano, e la caratterizzazione biochimica e cellulare dell'interazione della distrobrevina con chinesina e con la subunità regolatoria della proteina chinasi A. Sono stati studiati i meccanismi neurotossici coinvolti nella malattia di Alzheimer, per mezzo dell'utilizzo di co-culture astrociti-neuroni e di modelli animal; è stata altresì studiata la plasticità sinaptica ed analizzata l'attivazione di segnali intracellulari attivi in condizioni fisiologiche o patologiche, quali ischemia, epilessia e malattia di Huntington o indotte da stress ossidativo.

Sono stati studiati i meccanismi di riparo del DNA ed in particolare dei "double strand breaks" (DSB) in cellule neuronali al fine di valutare la potenzialità dei neuroni post mitotici di riparare il danno cellulare in situazioni patologiche e di effettuare il riarrangiamento del DNA durante lo sviluppo neuronale.

L'analisi del ruolo delle proteine chinasi MAPK/ERK, la cui attivazione è correlata con la epilettogenesi, in fettine combinate di ippocampo e corteccia entorinale di roditori, hanno evidenziato i meccanismi fisiologici, che intervengono nella genesi, nella propagazione e nella modulazione della scarica epilettica.

Sono stati preparati animali transgenici, esprimenti, selettivamente nelle cellule del Purkinje del cervelletto, il dominio E della Sinapsina Ia di ratto, al fine di caratterizzare il ruolo della Sinapsina Ia nei meccanismi di rilascio di neurotrasmettitore, specificamente nella sinapsi cellule del Purkinje-nuclei profondi.

Neuroscienze comportamentali

Analisi delle basi neurobiologiche di comportamenti animali mediante l'utilizzo di ceppi murini transgenici (alfa GDI, p66Shc, PSD 95, Reeler, R6/2, TG2576).

Utilizzo di ambienti arricchiti per primati e roditori, finalizzato a ricerche per la riduzione dello stress psicofisico in soggetti mantenuti in cattività e all'analisi neurobiologica dei fattori proteici che nel sistema nervoso centrale regolano i meccanismi di coping allo stress.

Validazione di modelli animali di transizione adolescenziale per lo studio: i) di comportamenti devianti e la vulnerabilità all'abuso di sostanze; e ii) di sindromi di iperattività/impulsività conseguenti a sofferenza ipossica neonatale, con analisi dell'efficacia modulatoria di variabili socio-ambientali e/o agenti psicoattivi.

Valutazione del fenotipo comportamentale di modelli murini di patologie neurodegenerative, quali la malattia di Alzheimer e la corea di Huntington, e di un modello di encefalopatia ipossico-ischemica.

Schematizzazione dei metodi di analisi dei dati comportamentali, oggetto di una serie di capitoli di prossima pubblicazione nei Current Protocols in Toxicology.

Attività crescente di espressione di pareri, di docenza e di diffusione al pubblico generale su temi di rapporto uomo/animale e altri aspetti di tipo zooantropologico. In collaborazione con il Settore Attività Editoriali e l'Ufficio Relazioni Esterne si è interagito con insegnanti e scolaresche al fine di captare talenti precoci e contrastare la "crisi di vocazioni" per le discipline scientifiche di base a livello di iscrizioni universitarie.

Patologie Neurologiche Degenerative e Infiammatorie

Nell'area di ricerca delle cellule gliali e malattie neurodegenerative, sono proseguiti gli studi relativi ai meccanismi recettoriali che controllano l'attivazione microgliale e la risposta infiammatoria da queste sostenute nel corso di patologie neurodegenerative. Abbiamo dimostrato la presenza del recettore nicotinico alfa7 in colture microgliali e studiato gli effetti della sua attivazione da parte di agonisti specifici, quali la nicotina. I nostri risultati suggeriscono un ruolo anti-infiammatorio del sistema colinergico come già proposto per gli organici periferici (De Simone et al., J. Neuroinflam. 2005). Sono proseguiti gli studi riguardanti la caratterizzazione della risposta di cellule microgliali in coltura alla stimolazione dei recettori metabotropici sensibili ai nucleotidi extracellulari (recettori P2Y): è stata analizzato il profilo di espressione con tecniche di western blot e RT-PCR e l'attività funzionale, valutandone la capacità di indurre movimenti di Ca^{2+} intracellulare (Visentin et al., in preparazione). Sono inoltre proseguiti gli studi su modelli animali e clinici per l'individuazione di marker infiammatori utili per il trattamento e il monitoraggio del decorso clinico di patologie quali Sclerosi multipla, malattia di Alzheimer, CJD e ipossia perinatale (Combrinck et al., JNNP in press; Greco et al., 2004).

Sono inoltre stati svolti i seguenti studi in pazienti con sclerosi multipla (SM) e modelli sperimentali correlati. Gli studi neuropatologici su pazienti con SM sono proseguiti nel 2004 con l'obiettivo di chiarire il significato patogenetico delle strutture simil-linfodi (follicoli B ectopici) da noi recentemente identificate nelle meningi di tali pazienti; in parallelo, sono stati avviati studi in

modelli animali mirati ad interferire con la formazione di tali strutture nel cervello in corso di infiammazione.

Nel 2004 inoltre è stato inoltre completato uno studio in vitro e in situ sul ruolo dei recettori purinergici nella migrazione degli oligodendrociti. Considerata l'importanza di queste cellule nei processi di rimielinizzazione nelle lesioni demielinizzanti di SM.

Nell'ambito delle encefalopatie spongiformi trasmissibili (EST) è stato effettuato uno Studio dell'efficienza di decontaminazione degli agenti delle EST mediante alta pressione. Ed inoltre l'analisi dell'amiloidogenesi nelle EST mediante spettrometria di massa; l'applicazione dell'amplificazione della proteina prionica patologica per la diagnosi preclinica delle EST umane e animali; studio del ruolo delle cellule follicolari dendritiche, della cicloossigenasi e della prostaglandina E2 in modelli animali di EST umana; studio del metabolismo della PrP in un modello cellulare che trattiene la PrP cellulare nel reticolo endoplasmatico; studi sul ruolo fisiologico e patologico del gene MLC-1.

Inoltre nel 2004 sono iniziati esperimenti per comprendere il ruolo fisiologico di MLC-1, un gene implicato in una rara forma ereditaria di leucodistrofia, la leucoencefalopatia megalencefalica con cisti subcorticali, ed espresso in astrociti del sistema nervoso centrale. Il gene MLC-1 è stato trasfettato (sia transientemente che stabilmente) in linee primarie e tumorali di cellule gliali umane ed è stata studiata la localizzazione cellulare della proteina codificata.

Sono stati analizzati pazienti affetti da Alzheimer sia nella sua forma sporadica (SAD) che familiare (FAD), oltre a soggetti neurologicamente sani, in una popolazione geneticamente isolata, quale quella della Sardegna. I risultati dell'analisi genetica condotta dal nostro gruppo, ha consentito di identificare una nuova mutazione sull'esone 4 della PSEN2, in un pedigree familiare che presentava una storia di demenza, da cinque generazioni. L'analisi genetica della sequenza della PSEN2 ha mostrato una sostituzione C>T sull'esone 4, nella seconda posizione del codone 85 (A85V). La sostituzione è stata da noi individuata in quattro fratelli ed in due giovani familiari, mentre è risultata assente in 180 individui (100 soggetti di controllo ed ottanta pazienti MA), dimostrando di non essere un polimorfismo comune.

Terapia Genica e Cellulare

Attività istituzionali.

- Ispezioni effettuate per l'Agenzia Italiana del Farmaco.
- Analisi di dossier per la valutazione della qualità delle sperimentazioni di fase I per terapia cellulare e genica
- Preparazione di linee guida per la Terapia Genica e la Terapia Cellulare.

Attività scientifica.

- Caratterizzazione dei meccanismi di controllo della proliferazione cellulare e della "self-replicazione" in cellule staminali, progenitori e precursori emopoietici.
 - a. caratterizzazione dei meccanismi di controllo della proliferazione in precursori della serie eritroide in cellule primarie umane da parte di fattori di crescita emopoietici (SCF, IL-3, Eritropoietina, IL11, Tpo ecc.) e di ormoni metabolici (glucorticoidi, estrogeni o analoghi dell'insulina);
 - b. valutazione dell'attività di composti inibitori delle Istonedacetilasi (HDAC) sulla riattivazione della trascrizione dei geni globinici in cellule eritroidi primarie da soggetti normali e da pazienti con beta- Talassemia e caratterizzazione della specificità di espressione delle HDAC nella linea differenziativa eritroide.
- Studio dei meccanismi di controllo, da parte della proteina Nef di HIV-1, dell'attività della NADPH ossidasi, un enzima chiave nella sorveglianza immunologica delle cellule fagocitarie. I risultati dimostrano che Nef è in grado di inibire l'attività dell'enzima NADPH ossidasi e suggeriscono fortemente che fattori solubili, in particolare l'interleukina-10, potrebbero mediare tale inibizione.
- Generazione di un ceppo di topi 129 "wild-type" (129 wt) o KO per il recettore di IFN di tipo I (129 IFNARIKO) entrambi transgenici per l'oncogene di ratto Her-2/neu. Obiettivo di tale attività è di valutare il ruolo del sistema IFN di tipo I nell'insorgenza e nella progressione del carcinoma della mammella che si sviluppa spontaneamente nei topi transgenici per l'oncogene Her-2/neu.
- Valutazione di un gammaherpesvirus murino (MHV-68) ricombinante per IFN-alfa come vaccino in grado di proteggere contro l'infezione latente a lungo termine stabilita dal virus MHV-68 "wild type" (manoscritto in preparazione).

Ematologia, oncologia e medicina molecolare

Il dipartimento svolge attività di ricerca in Ematologia ed Oncologia, ed in alcune aree delle malattie renali e cardiovascolari, delle neuroscienze e delle malattie genetiche. Diversi progetti di ricerca sono focalizzati sulle cellule staminali post-natali purificate ed sui meccanismi molecolari, biochimici e cellulari che controllano la loro proliferazione e differenziazione. In particolare, la ricerca è focalizzata sulle cellule staminali ematopoietiche e neurali, con lo studio di modelli preclinici di trapianto di cellule staminali a scopo terapeutico nelle malattie degenerative cardiovascolari. Sono anche attivamente studiati i meccanismi oncogenici nei tumori solidi e nelle leucemie, sia a livello fenotipico che molecolare e funzionale. Altri progetti vertono sui meccanismi molecolari nelle malattie genetiche (emoglobinopatie e malattie lisosomiali), lo "switch" dell'emoglobina, le basi molecolari dell'arteriosclerosi, le ricerche in medicina trasfusionale ed in medicina di laboratorio, lo studio dei markers diagnostici nelle nefropatie.

In diverse aree di ricerca il Dipartimento funge da centro di coordinamento di Programmi di ricerca nazionali e di collaborazione internazionale, che comprendono unità operative intra- ed extramurali: in particolare, il Programma Nazionale sulle Cellule Staminali, il Programma Oncotecnologico ed i Programmi Italia-USA sulla Farmacogenomica Oncologica e sulla Terapia dei Tumori.

Il Dipartimento partecipa alla valutazione delle sperimentazioni di fase I, in particolare nel settore emato-oncologico, ed espleta controlli di qualità su sangue ed emoderivati. Infine, svolge attività di coordinamento e controllo del Servizio Trasfusionale Nazionale ed è responsabile del Registro nazionale e regionale del sangue e del plasma.

La strategia del Dipartimento sarà basata sull'interazione sinergica tra i Reparti e le diverse attività istituzionali. Verranno quindi potenziati gli interscambi tecnico-scientifici tra progetti di ricerca limitrofi, anche afferenti a Reparti diversi. Queste interazioni tecnicospicientifiche saranno ovviamente estese agli altri Dipartimenti dell'ISS e ai laboratori extramurali, anche sulla base dei Programmi di ricerca nazionale ed internazionale coordinati dal Dipartimento. Sotto un altro profilo, le competenze acquisite in base alle attività di ricerca forniranno il supporto necessario per un migliore espletamento dei compiti dipartimentali di controllo, consulenza e formazione, in modo da ottenere una interazione sinergica tra queste attività istituzionali.

Resoconto Attività 2004:

Il Dipartimento ha coordinato diversi Programmi di Ricerca Scientifica Nazionali ed Internazionali, in particolare il Programma Cooperativo Italia-USA sulla Terapia dei Tumori, il Programma

Nazionale sulle Cellule Staminali, il Programma Italia-USA di Oncologia (microRNA e Sequenze antisenso; Oncoproteomica) ed infine il Programma Oncotecnologico.

Il Reparto di Cellule Staminali ed Endotelio ha condotto una serie di studi preclinici che hanno dimostrato che cellule CD34+KDR+ isolate dal sangue cordonale possono riparare il miocardio e i muscoli scheletrici se iniettati dopo l'evento ischemico. Queste cellule, di cui sono state precedentemente descritte le potenzialità emangioblastiche, si sono dimostrate efficaci nel curare l'ischemia sperimentale attraverso la formazione di nuovi vasi e di nuovo tessuto muscolare o miocardico. E' da sottolineare che sono stati attivati dei progetti innovati sulla funzione dei geni codificanti per microRNA, che svolgono tra l'altro una funzione chiave nella regolazione dell'ematopoiesi normale e neoplastica.

Il Reparto di Biotecnologie Oncologiche ed Ematologiche ha definito gli eventi precoci del segnale generato dai recettori di morte nelle cellule ematopoietiche e prodotto conoscenze innovative nel campo dei meccanismi apoptotici delle cellule staminali neurali normali e neoplastiche. Sono stati inoltre effettuati studi rilevanti sulla maturazione dei megacariociti con possibili implicazioni nella patogenesi dei disordini piastrinici. Infine è stato dimostrato che i carcinomi della mammella, della vescica e della prostata producono interleuchina-4, la quale agisce come fattore autocrino di crescita tumorale e di resistenza alla chemioterapia.

Il Reparto di Oncologia Medica ha effettuato durante il 2004 il saggio dell'"Extreme Drug Resistance" su più di 200 casi di carcinomi dell'ovaio e su circa 80 casi di carcinoma della cervice uterina. I risultati ottenuti hanno consentito di determinare il profilo di chemioresistenza in queste due neoplasie e di iniziare uno studio clinico di fase III. Inoltre sono stati effettuati una serie di studi basati sull'impiego in oncologia di TRAIL, di inibitori del proteosoma, di immunotossine e dell'arsenico. Infine è stata studiata l'attività dei fattori trascrizionali PLZF e Ets-1 nell'ematopoiesi normale e neoplastica.

Il Reparto di Oncologia Molecolare ha effettuato studi molecolari e funzionali sul ruolo dei geni omeotici (HOX) nella regolazione della proliferazione e del differenziamento cellulare, con particolare attenzione a melanomi e leucemie. E' stato dimostrato il ruolo oncosoppressivo del fattore di trascrizione PLZF nelle cellule melanocitiche. Inoltre sono stati attivati una serie di progetti paralleli sui microRNA (miR) e sulle cellule staminali embrionali murine.

Nel Reparto di Emoglobinopatie ed Ematopoiesi è stato dimostrato un ruolo chiave del recettore kit e del suo ligando KL nella regolazione dello "switch" perinatale (HbF -> HbA). Simili studi sono in corso per riattivare l'HbF nei soggetti beta-talassemici. Nell'ambito della megacariocitopoiesi è stato evidenziato che mTOR costituisce un elemento chiave durante il processo di endomitosi.

Infine è stato osservato che in vitro le cellule staminali neurali possono produrre muscolatura liscia ma apparentemente non cellule ematopoietiche.

Il Reparto di Biochimica e Biologia Molecolare Clinica ha svolto attività di ricerca e controllo nei settori della diagnostica delle anemie emolitiche degli emoderivati applicando nuovi protocolli per la diagnosi delle anemie emolitiche allo studio di 223 pazienti con deficit di glucosio-6 fosfato deidrogenasi (G6PD) e 106 con difetti congeniti delle proteine di membrana. Sono state descritte due nuove mutazioni del gene della G6PD ed una nuova anomalia della proteina di membrana 4.1 R associata ad acantocitosi e sindrome neurodegenerativa.

Nell'ambito dell'attività di coordinamento che il Reparto di Metodologie Trasfusionali svolge in tema di autosufficienza e sicurezza del sangue è proseguito il monitoraggio dell'approvvigionamento e del fabbisogno di emocomponenti nel paese. Inoltre sono stati preparati due programmi di emovigilanza, un aspetto della sicurezza del sangue reso obbligatorio dalla Direttiva 2002/98/CE, per la raccolta dei dati di sorveglianza sulle malattie infettive trasmissibili con la trasfusione (SMITT) e per la notifica degli errori e delle reazioni avverse alla trasfusione (PETRA). Infine sono proseguiti gli studi in vivo sulla megacariocitopoiesi e si è definito il ruolo del VEGF sul differenziamento delle cellule dendritiche.

Nel Reparto di Fisiopatologia delle Malattie Genetiche è stato sviluppato lo studio dei meccanismi patogenetici alla base delle malattie genetiche lisosomiali. Nella malattia di Gaucher sono stati definiti gli effetti che le specifiche mutazioni della glucosilceramidasi hanno sulle proprietà funzionali dell'enzima. Nella malattia di Niemann-Pick tipo C è stato dimostrato in che modo l'accumulo di colesterolo impedisce la degradazione di glucosilceramide. Questo tipo di ricerca potrà migliorare gli interventi di terapia enzimatica, permettendo di elaborare protocolli di trattamento correlati alle specifiche mutazioni.

L'attività del Reparto di Fisiopatologia delle Malattie Renali e Patologie Correlate nel 2004 si è sviluppata nell'ambito delle proprietà biochimiche e biofisiche dei leucociti circolanti e dello stress ossidativo nei pazienti in trattamento emodialitico extracorporeo. Queste ricerche hanno permesso di verificare l'effetto di differenti strategie dialitiche, di valutarne eventuali associazioni con lo stato di salute cardiovascolare dei pazienti e di ipotizzare l'importanza dei soluti uremici nelle geni dello stress ossidativo.

Nel corso del 2004 il Reparto di Lipidi ed Arteriosclerosi ha svolto attività di ricerca su patologie genetiche, infettive e cronico-degenerative che originano o inducono alterazioni del metabolismo dei lipidi ematici e cellulari. Sono stati condotti studi innovativi su ipertrigliceridemie, ipercolesterolemie e ipoalfa-lipoproteinemie familiari. E' stata sviluppata una tecnica che semplifica l'analisi dei riarrangiamenti del gene del recettore LDL. Sono proseguiti gli studi sui

meccanismi che regolano l'assorbimento intestinale del colesterolo, quelli sull'ossidazione lipidica, sul ruolo dei chilomicroni e dei loro remnants nello sviluppo della lesione ateromastica e quelli che valutano gli effetti indotti dalle radiazioni ionizzanti e dai campi magnetici nelle patologie tumorali. Infine, è stato identificato un possibile "pathway" patobiologico per la mielofibrosi idiopatica, un disordine mieloproliferativo cronico ad eziologia ancora sconosciuta, causato da un difetto della cellula staminale, associato ad alterazioni specifiche dell'interazione tra megacariociti e neutrofili. La correzione farmacologica di queste interazioni "cura" la mielofibrosi nell'animale e apre nuove prospettive per lo sviluppo di una terapia efficace nell'uomo.

Farmaco

La missione del Dipartimento del Farmaco è centrata sulla valutazione di qualità, sicurezza, efficacia e appropriatezza d'uso dei medicinali utilizzati per curare e prevenire le malattie dell'uomo. Attraverso la ricerca intramurale nei settori più innovativi della farmacologia sperimentale e la collaborazione con i centri più qualificati - nazionali ed internazionali - di ricerca di base e clinica vuole potenziare la ricerca traslazionale su nuovi farmaci e terapie innovative.

Il Dipartimento partecipa, con l'attività dei propri esperti, ai lavori di numerosi organismi nazionali ed internazionali, tra cui l'Agenzia Italiana del Farmaco e l'EMA.

Resoconto Attività 2004:

In accordo con gli organi istituzionali dell'ISS, il Ministero della Salute, l'Agenzia del Farmaco e le Autorità Sanitarie Regionali, il Dipartimento del Farmaco ha coordinato Progetti di ricerca di grande impatto per la sanità pubblica ed è stato impegnato in numerose attività di controllo.

Attività di ricerca

Queste le principali attività di ricerca condotte dal Dipartimento:

- Meccanismi di farmacoresistenza che rendono le cellule tumorali non più suscettibili al trattamento chemioterapico. Il team di lavoro ha effettuato ricerche su terapie innovative di base tecnologica per la diagnosi, cura e prevenzione delle neoplasie e delle patologie dovute ad agenti trasmissibili.
- Malattie associate all'invecchiamento, ai fattori cellulari di longevità, alla citofarmacologia e alla farmacologia del differenziamento cellulare oltre all'osservazione dell'effetto immunomodulante di proteine virali e farmaci antiretrovirali.
- Individuazione e valutazione della modulazione farmacologica dei fenomeni neurodegenerativi con particolare riguardo al ruolo degli endocannabinoidi nella regolazione della funzionalità striatale in modelli sperimentali di Corea di Huntington,
- Identificazione e registrazione di alterazioni indicative di immunotossicità in studi di tossicità di tipo regolatorio.
- Sintesi di molecole non peptidiche attive sul recettore della nociceptina, nell'ambito della ricerca dedicata all'interpretazione delle basi molecolari, cellulari e fisiopatologiche dei processi di traduzione dei segnali biologici che hanno rilevanza in terapia clinica e nello sviluppo di nuovi farmaci

- Trattamento farmacologico delle patologie cardiovascolari e oncologiche
- Coordinamento del Registro Nazionale dei bambini con sindrome da iperattività e deficit di attenzione.
- Efficacia dei farmaci per il trattamento dei disturbi cognitivi e del comportamento
- Coordinamento del Progetto Nazionale per la Sorveglianza sul Trattamento Antiretrovirale in Gravidanza e il monitoraggio dell'impiego di nuovi farmaci antivirali.
- Studio della Terapia Antiretrovirale Intermittente
- Progetto Inibitori dell'Integrasi dell'HIV
- Coordinamento Progetto dedicato alla Prevenzione della trasmissione materno-infantile del virus HIV nei paesi in via di sviluppo.
- Coordinamento del Progetto Nazionale per la Formazione del personale delle discoteche ai fini della prevenzione dell'uso tra i giovani di sostanze stupefacenti e psicotrope.
- Studio delle proprietà immunomodulanti delle sostanze d'abuso ad uso ricreazionale (exctasy e cannabis) e del ruolo dei disturbi sessuali nell'indurre i giovani all'abuso di sostanze psicotrope.
- Analisi delle nuove sostanze nel doping attraverso lo studio dei biomarcatori indiretti di ormoni ricombinanti (eritropoietina e ormone della crescita).
- Sviluppo di nuovi interventi e nuove strategie per il trattamento, lo studio e la terapia della degenerazione miocardica nell'insufficienza cardiaca
- Ricerche avanzate sulla funzione cardiaca e del rimodellamento ventricolare da sovraccarico emodinamico.
- Il Dipartimento è stato inoltre impegnato in una partnership internazionale con il National Institute of Health (NIH) nel coordinamento della ricerca intesa ad approfondire le conoscenze nel campo delle terapie oncologiche, cardiovascolari, anti-infettive e neurodegenerative.

Attività di controllo

Il Dipartimento del Farmaco, insieme alle Istituzioni Pubbliche, nazionali e internazionali, ha sviluppato programmi dedicati alla valutazione delle caratteristiche chimiche e della purezza dei medicinali incluse le specialità, i prodotti generici, i medicinali magistrali e officinali e quelli derivati dalle piante medicinali, dei presidi medico-chirurgici e dei prodotti cosmetici; ha svolto il monitoraggio delle sperimentazioni cliniche sull'uomo per i farmaci di nuova istituzione, è attivo nel settore della farmacovigilanza e della farmacosorveglianza sui medicinali dopo la loro immissione in commercio. Il Dipartimento ha realizzato accertamenti sperimentali per la verifica

della qualità dei medicinali allestendo strategie per combatterne la contraffazione e ha coordinato la segnalazione dei difetti e delle reazioni avverse e ha effettuato inoltre controlli ispettivi sull'osservanza delle norme di buona pratica di laboratorio (GLP) e di fabbricazione (GMP).

Provvede inoltre al coordinamento del Segretariato della Farmacopea Ufficiale Italiana che, in quanto Ente deputato alla definizione degli standard di qualità dei prodotti medicinali e delle sostanze usate nella loro fabbricazione, è anche punto di riferimento nazionale per il Segretariato della Farmacopea Europea.

Con l'Osservatorio su Fumo, Alcool e Droga il Dipartimento si propone di informare i cittadini sui danni relativi all'uso e abuso di tali sostanze per migliorare la conoscenza delle terapie disponibili; provvede alla messa a punto di linee-guida e protocolli terapeutici e svolge studi su qualità della vita e farmacoeconomia.

Altre attività

Nell'anno 2004 il Dipartimento del Farmaco ha organizzato convegni e workshop su temi strategici di sanità pubblica.

Al 1° Congresso del Dipartimento, tenutosi dal 14 al 15 Settembre, a cui hanno partecipato importanti rappresentanti della comunità scientifica e della ricerca, si è parlato di vantaggi e limiti della sperimentazione clinica e dei fattori genetici che influenzano la risposta ai farmaci, di stato dell'arte sulle ricerche cardiovascolari innovative, di "Farmaci, invecchiamento e longevità" oltre che di attualità e prospettive della ricerca sul cancro. Nel Primo Forum EDCTP sono stati invitati i maggiori esperti internazionali nella lotta alle malattie della povertà (HIV, TB e malaria) operanti in questo ambito in Africa.

Al Convegno Internazionale sui microbicidi si è discusso di nuove strategie terapeutiche per la prevenzione della trasmissione sessuale da HIV.

Tutela della salute nelle attività sportive e la lotta al doping, Tabagismo e Servizio Sanitario Nazionale, questi gli argomenti di due Convegni Nazionali curati dal Dipartimento che ha anche coordinato il Meeting Internazionale su Farmaci e salute mentale.

Di protezione solare e raggi ultravioletti si è discusso considerando gli effetti dell'esposizione indiscriminata o eccessiva al sole.

In collaborazione con l'Agenzia italiana del Farmaco, AIFA, il Dipartimento ha organizzato un incontro sulla qualità dei medicinali in cui si è parlato di valutazione, dinamica evolutiva della Farmacopea, qualità dei medicinali biologici e biotecnologici.