

- messa a punto e validazione di metodi per la determinazione di inquinanti in aria ambiente e in emissioni industriali, in collaborazione con altri enti di ricerca, normatori e unificatori, nazionali e internazionali;
- studio di indicatori di percezione dei rischi ambientali, per la definizione di modelli di comunicazione del rischio finalizzato alla prevenzione e riduzione dell'esposizione.

Reparto Igiene delle acque interne

Il Reparto cura le seguenti attività:

- studio e valutazione dei rischi igienico-sanitari relativi alla qualità microbiologica, chimica e chimico-fisica delle acque da destinare e destinate al consumo umano, delle acque superficiali e profonde, delle acque reflue urbane e industriali anche in relazione al loro riutilizzo, delle acque di impianti a uso ricreativo, dei materiali risultanti da dragaggi e rinascimenti;
- studio della ricrescita microbica e della cessione di microinquinanti nelle acque distribuite mediante reti acquedottistiche;
- elaborazione e valutazione di metodi analitici dei parametri chimici e microbiologici delle acque potabili, con assicurazione e controllo di qualità dei laboratori interessati, ai sensi delle normative vigenti;
- applicazione di biotecnologie e bioinformatica al rischio microbiologico nelle acque;
- tassonomia molecolare di virus e batteri;
- interventi relativi alle emergenze idriche.

Reparto Igiene degli ambienti di vita

Il Reparto cura le seguenti attività:

- studio e valutazione dell'esposizione a inquinanti di evidente impatto sulla salute umana prodotti nell'ambito di attività lavorative, domestiche e di altre attività svolte negli ambienti di vita;
- caratterizzazione delle fonti emissive dovute ai diversi processi di combustione e ai processi evaporativi e loro interazione con la qualità dell'aria indoor;
- studio del ruolo delle caratteristiche microclimatiche indoor in relazione al benessere e all'esposizione della popolazione ad agenti inquinanti;
- definizione e controllo delle sorgenti di rischio chimico;
- studio e valutazione dell'esposizione a microinquinanti chimici di alcune categorie di lavoratori in ambito urbano;
- interventi per la valutazione dell'esposizione chimica del personale ISS nell'ambito dell'attività lavorativa e professionale;
- collaborazione con altri enti per l'applicazione di normative per il miglioramento della qualità dell'aria indoor;
- messa a punto di metodologie di campionamento e di tecniche di indagine analitica per la caratterizzazione di inquinanti anche in traccia;
- studio e messa a punto di metodi matematici e statistici di tipo previsionale.

Reparto Meccanismi di tossicità

Il Reparto svolge le seguenti attività:

- studio e valutazione degli aspetti bio-tossicologici associati alla esposizione a sostanze chimiche naturali e di sintesi, attraverso l'individuazione dei loro effetti avversi a breve e lungo termine e del loro meccanismo di azione;
- studio dei processi di assorbimento, biotrasformazione e tossicocinetica;
- individuazione di biomarcatori di esposizione, effetto e suscettibilità;
- studio degli effetti combinati e delle interazioni tra sostanze chimiche e con agenti fisici in esposizioni multiple;
- sviluppo di metodologie in vitro applicabili come metodi alternativi a studi meccanicistici e loro introduzione in ambito regolatorio;
- identificazione di gruppi di popolazione a rischio per patologie ad eziologia ambientale per caratteristiche genetiche e/o acquisite, utilizzando modelli sperimentali avanzati e tecniche analitiche e di biologia molecolare ad alta specificità e sensibilità;
- valutazioni e pareri nel settore del rischio tossicologico.

Reparto Qualità ambientale ed ittiocoltura

Il Reparto cura le seguenti attività:

- studio della correlazione tra la qualità igienico sanitaria dell'ittiofauna in allevamento e il suo impatto con l'ambiente mediante indagini chimiche, chimico-fisiche, batteriologiche, virologiche, algali e tossicologiche;
- identificazione dei fattori di rischio ambientale e umano legati alle attività e alle terapie utilizzate negli impianti di piscicoltura;
- localizzazione degli impianti sul territorio mediante tecnologie GPS e trasposizione degli stessi su mappe georeferenziate;
- valutazione della qualità delle acque con metodi cartografici (GIS);
- controllo della qualità delle acque afferenti agli impianti di piscicoltura;
- controllo dell'impatto ambientale e delle variazioni apportate alla fauna bentonica, anche destinata ad uso alimentare, dall'azione di tossine algali, e dai farmaci utilizzati negli impianti;
- monitoraggio delle ittiopatologie e studio di nuove metodologie per la produzione di vaccini che garantiscano una lunga protezione anticorpale.

Reparto Qualità degli ambienti acquatici e delle acque di balneazione

Il Reparto cura gli interventi legati alle seguenti attività e studi:

- sorveglianza, prevenzione e previsione del rischio associato alla balneazione;
- destino nell'ambiente acquatico e significato sanitario di pesticidi e metaboliti, composti ad attività endocrina e farmaci;
- indagini di ecotossicologia: studio degli effetti di contaminanti singoli o in miscela; messa a punto, applicazione e validazione di test. Definizione di standard di qualità ambientali: acque superficiali, biota, sedimenti;
- studio delle implicazioni sanitarie associate ai fenomeni eutrofici e a carenze idriche;
- uso sostenibile delle risorse: salute degli ecosistemi, bacini idrografici, indici e indicatori di qualità ecologica.

Reparto Sostanze e preparati pericolosi

Il Reparto svolge le seguenti attività:

- valutazione del rischio per l'uomo e per l'ambiente di sostanze e preparati pericolosi;
- gestione dell'inventario nazionale delle sostanze chimiche;
- funzioni in qualità di unità di notifica per le nuove sostanze chimiche;
- valutazione del rischio di sostanze chimiche ad alto volume di produzione;
- classificazione di pericolo di sostanze e preparati;
- esecuzione di indagini analitiche e controlli su prodotti chimici venduti al dettaglio e su problematiche legate al sovradosaggio di sostanze chimiche;
- gestione dell'archivio dei preparati pericolosi;
- gestione e controllo delle attività dei centri antiveleni nazionali;
- individuazione dei presidi medico chirurgici disinfestanti e classificazione dei presidi disinfestanti;
- studio degli aspetti tecnici relativi all'applicazione della normativa sui biocidi.

Reparto Suolo e rifiuti

Il Reparto svolge le seguenti attività:

- individuazione dei fattori di rischio e della potenziale esposizione della popolazione connessi alla gestione dei suoli contaminati e dei rifiuti;
- elaborazione di criteri con cui effettuare la valutazione del rischio-specifica;
- individuazione dei meccanismi di diffusione della contaminazione;
- confronto e messa a punto di metodiche analitiche per la ricerca di inquinanti dei suoli e di sostanze pericolose nei rifiuti;
- individuazione di contaminanti e relativa definizione di concentrazione limite;
- individuazione del rischio connesso a rilasci di sostanze pericolose dai rifiuti;
- individuazione e valutazione dei rischi igienico-sanitari per la popolazione in ogni fase di gestione dei rifiuti (raccolta, trasporto, stoccaggio, recupero, smaltimento);
- gestione dei rifiuti generati all'interno dell'ISS (pericolosi e non; radioattivi, assimilabili ai rifiuti urbani, ecc.) a seguito delle attività di ricerca e controllo.

Reparto Tossicologia genetica

Il Reparto cura le seguenti attività:

- valutazione dell'attività mutagena e genotossica di agenti chimici ambientali in sistemi sperimentali in vitro e in vivo;
- studio dei meccanismi di mutagenesi;
- valutazione degli effetti tossici e genotossici di sostanze chimiche ambientali sulla linea germinale;
- analisi di biomarcatori di esposizione, suscettibilità ed effetto in popolazioni umane esposte ad agenti genotossici ambientali;
- attività consultiva ai fini della identificazione e caratterizzazione del rischio di effetti genotossici e di danni trasmissibili.

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA CELLULARE E NEUROSCIENZE

Il Dipartimento si occupa dello studio delle malattie genetiche, endocrino-metaboliche, neurologiche (con particolare riguardo alle malattie rare) e delle immunoterapie

L'attività di ricerca, intervento e formazione del Dipartimento è dedicata a patologie e nuovi mezzi terapeutici, individuati come prioritari dal Piano Sanitario Nazionale (PSN), quali le malattie nervose e mentali, le malattie endocrino-metaboliche ad elevato impatto socio-sanitario e dell'età evolutiva, le malattie genetiche rare, l'immunoterapia dei tumori. L'attività di ricerca del Dipartimento svolge una funzione di supporto per la sorveglianza degli eventi patologici sul territorio e l'individuazione di fattori di rischio familiari e/o ambientali anche mediante il coordinamento di specifici Registri Nazionali per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento di numerose patologie. I progetti di ricerca in corso, con numerose collaborazioni nazionali e internazionali sono oltre 70. Tra questi vi sono numerosi studi tra i quali: lo studio dei processi patogenetici e riparativi della malattia di Alzheimer; lo studio della vulnerabilità psico-fisica allo *stress*; gli studi sulla BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) e sulle malattie umane ad essa correlate; lo studio della fisiopatologia dello *stress* ossidativo nelle malattie degenerative e quello dei meccanismi di crescita e regressione dei tumori. Il Dipartimento ha il compito di valutare la qualità dei prodotti per terapia genica e terapia cellulare. Al Dipartimento fa capo la rete europea sulle malattie rare.

Resoconto attività 2005

La missione del Dipartimento consiste nello studio delle malattie genetiche, endocrino-metaboliche e neurologiche, con particolare riguardo alle malattie rare, e delle immunoterapie.

L'attività di ricerca, intervento e formazione del Dipartimento è dedicata a patologie, quali le malattie nervose e mentali, le malattie endocrino-metaboliche ad elevato impatto socio-sanitario e dell'età evolutiva, le malattie rare, allo sviluppo di nuovi mezzi terapeutici e all'immunoterapia dei tumori.

Tale attività di ricerca svolge una funzione di supporto per la sorveglianza degli eventi patologici sul territorio e l'individuazione dei fattori di rischio familiari e/o ambientali anche mediante la gestione di appositi registri nazionali per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento di alcune patologie (Registro Nazionale della malattia di Creutzfeld-Jakob e sindromi correlate; Registro Nazionale dell'ipotiroidismo congenito; Registro Nazionale degli assuntori dell'ormone della crescita; Registro Nazionale delle malattie rare; Registri Nazionali dei farmaci orfani Salagen, Somavert, Zavesca, Aldurazyme, Carbaglu, Ventatis, Busilvex, Lysodren, Wilzin, Glivec, Trisenox e Fabrazyme).

Particolarmente significativi nell'ambito della direzione del progetto di ricerca finalizzata "Sviluppo di nuove strategie di immunoterapia e terapie combinate contro i tumori", è stato lo 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. È stato, altresì, completato nello "Studio clinico di fase I/II per la valutazione dell'effetto adiuvante di Interferone-alfa nella vaccinazione di pazienti affetti da melanoma stadio IV" il monitoraggio

necessario presso l'Istituto Nazionale per lo studio e la Cura dei Tumori di Milano e l'Istituto Dermopatico dell'Immacolata di Roma.

I progetti di ricerca in corso, con numerose collaborazioni nazionali e internazionali, sono oltre 70. Tra questi vi sono: lo studio dei processi patogenetici della malattia di Alzheimer; lo studio della vulnerabilità psicofisica allo *stress*; allo studio di disordini e patologie dello sviluppo neurocomportamentale umano in età evolutiva; gli studi sulla malattia di Creutzfeld-Jakob e sindromi correlate; lo studio della fisiopatologia dello *stress* ossidativo nelle malattie degenerative; lo studio dei meccanismi di crescita e regressione dei tumori mediante tecniche di *imaging* e spettroscopia a risonanza magnetico nucleare, i cui risultati hanno consentito il varo di un progetto di interesse nazionale "Valutazione comparativa multicentrica di tecniche di mammografia a risonanza magnetica e di *imaging* convenzionale nella diagnosi precoce di tumori mammari in soggetti a rischio genetico"

Descrizione dei reparti

Reparto Biochimica

Meccanismi patogenetici delle immunodeficienze primitive

Le patologie oggetto di studio sono state l'Immunodeficienza Comune Variabile (ICV) e la Sindrome Linfoproliferativa Autoimmune (ALPS). In particolare, sono stati condotti studi riguardanti:

- L'omeostasi T cellulare in pazienti affetti da ICV, malattia che comprende un gruppo eterogeneo di sindromi, ancora non ben differenziabili tra loro, ad eziologia sconosciuta, in cui può essere presente un difetto combinato del comparto B e T cellulare. I dati da noi ottenuti suggeriscono un ruolo chiave svolto dal compartimento T cellulare nella patogenesi di questa immunodeficienza primitiva e la necessità di considerare questo aspetto per una classificazione della malattia in gruppi più omogenei di pazienti.
- L'apoptosi T linfocitaria in pazienti affetti da ALPS, immunodeficienza caratterizzata da un difetto dell'apoptosi Fas-indotta. Nell'ambito di questo progetto è stato inoltre condotto uno studio *in vitro* sulla suscettibilità dei linfociti umani all'apoptosi indotta da un anti-folato, la pirimetamina (pyr), e sui meccanismi molecolari responsabili dell'effetto proapoptotico di questo farmaco. I risultati ottenuti suggeriscono che: 1) il trattamento di pazienti affetti da ALPS con pyr induce un aumento dell'apoptosi Fas-indotta associato a un miglioramento del quadro clinico e dei parametri ematologici in assenza di significativi effetti collaterali; 2) la pyr è in grado di indurre apoptosi dei linfociti attivati attraverso una cascata enzimatica che almeno in parte è comune a quella attivata dalla stimolazione di Fas (es. caspasi 8 e caspasi 10) ma senza coinvolgere il recettore di per sé. Sulla base di questi risultati stiamo effettuando studi *in vitro* per valutare l'effetto proapoptotico della pyr in malattie autoimmuni caratterizzate da una aumentata e cronica proliferazione linfocitaria (i.e. sindrome di Sjogren) e più in generale l'attività antitumorale del farmaco su linee non linfocitarie. A riguardo, risultati preliminari ottenuti in vitro in linee cellulari umane di melanoma, sia primitive che metastatiche indicano che la pyr sia in grado di indurre livelli significativi di apoptosi e un arresto della fase S del ciclo cellulare con conseguente inibizione della crescita cellulare, suggerendo un potenziale ruolo terapeutico della pyr nel trattamento del melanoma.

A *latere* di questa linea di ricerca principale sono stati condotti studi *in vitro* sulla modulazione dell'apoptosi da parte degli inibitori delle proteasi (IP) e sui meccanismi responsabili dell'effetto proapoptotico di questa classe di farmaci.

Approcci di proteomica e biologia computazionale

Precedentemente è stato sviluppato un *software* applicativo, denominato PROFALIGN, in grado di allineare due sequenze proteiche in base al loro contenuto idrofobico. Poiché le somiglianze sono definibili in termini quantitativi è possibile stabilire una graduatoria di somiglianza tra le diverse zone individuate da PROFALIGN. L'idea è che se due proteine non hanno omologia di sequenza ma hanno una stessa struttura 3D il contenuto di idrofobicità tra le due proteine deve essere conservato almeno nei punti importanti per il *folding*. Si è scelto di verificare questa ipotesi sul dominio SH3 sul quale i dati sperimentali sono numerosi ed esaustivi. Dei nove residui idrofobici importanti nel *folding* proteico PROFALIGN è stato capace d'individuare cinque, dimostrando che l'ipotesi iniziale ha una qualche validità.

Caratterizzazione strutturale e funzionale di immunomarcatori proteici correlati con il carcinoma del colon-retto. Il marcatore in oggetto di studio è stato l'antigene COA-1 che precedentemente è stato prodotto e purificato per produrre anticorpi. Gli anticorpi sono stati utilizzati per visualizzare la sintesi e il *processing* dell'antigene sia in cellule normali che in linee derivate del carcinoma del colon retto.

Ruolo del colesterolo nel processo di fusione del virus Sendai

In uno studio precedente era emerso che l'attività fusogena del virus Sendai era compatibile fino a un'estrazione del 96% del colesterolo mentre un'abolizione progressiva dell'attività fusogena risultava quando si tentava di estrarre il colesterolo residuo. È attualmente in corso uno studio volto a definire il ruolo di questo *pool* di colesterolo. Particolarmente importante sarà definire se esista un legame diretto ai domini di transmembrana delle glicoproteine del virus Sendai.

Reparto 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 studi effettuati nel 2005 sulla fisiopatologia dei radicali e dello *stress* ossidativo sono stati:

- Meccanismi biochimici e di *signaling* del perossinitrito (ONOO-), un ossidante fisiologico derivato dalla reazione tra i radicali ossido nitrico (NO) e superossido (O₂⁻). In questo anno abbiamo dimostrato che il trattamento con perossinitrito di eritrociti umani induce la formazione di marcatori cellulari caratteristici della senescenza e dell'apoptosi.
- Effetti dell'inserzione di acidi polinsaturi nelle membrane cellulari, caratteristica di alcune patologie neurodegenerative a carattere demielinizzante del sistema nervoso centrale (i.e., l'adrenoleucodistrofia). Abbiamo osservato che questi acidi grassi sono in grado di promuovere la produzione di NO e O₂⁻, di ridurre i livelli di glutatione e di indurre l'attivazione di chinasi correlate con il *signaling* cellulare; questi effetti possono essere inibiti in presenza di antiossidanti.
- Produzione di specie reattive dell'azoto con attività nitrosante/nitrante a livello gastrico quando i nitriti della saliva incontrano il pH acido dello stomaco. I nitriti della saliva producono a pH acido ossidi di azoto potenzialmente tossici insieme all'NO che, a livello

gastrico, svolge importanti attività fisiologiche (vasodilatazione, attività antimicrobica, produzione del muco, motilità gastrica). Abbiamo evidenze che alcuni antiossidanti presenti in alimenti ricchi in polifenoli riducono la produzione di specie potenzialmente tossiche e possono favorire le attività fisiologiche dall'NO sopra riportate.

- Ad oggi sono stati poco studiati i meccanismi che regolano l'attività delle varie forme del cotrasportatore K/Cl, ma numerosi lavori evidenziano che l'attività di questi canali è dipendente sia dalla fosforilazione in serina/treonina e/o in tirosina sia dallo stato *redox*. Negli eritrociti, dove è espressa una isoforma del cotrasportatore (*volume-sensitive* KCC1), abbiamo dimostrato che la sua attività è elevata in seguito a trattamento con agenti ossidanti quali il perossido di idrogeno, l'etilmaleimide o il perossinitrito. Abbiamo inoltre dimostrato che la stimolazione indotta dal perossinitrito è SH-dipendente e fosfatasi-indipendente.

Reparto *Imaging* molecolare e cellulare

Nell'ambito degli obiettivi istituzionali del Reparto, nel 2005 sono stati condotti studi sperimentali nelle seguenti aree di ricerca:

Identificazione di segnali di Risonanza Magnetica (MR) come biomarcatori di progressione tumorale, a fini di diagnosi, prognosi e monitoraggio terapeutico.

Nell'era della post-genomica è ormai evidente che, oltre all'analisi di espressione genica e allo studio dell'attività proteica, è necessario caratterizzare le alterazioni metaboliche proprie della cellula tumorale, come possibili marcatori di progressione neoplastica ed *endpoint* di risposta a terapie mirate.

Il carcinoma ovarico è una patologia a bassa incidenza la cui curabilità è ancora limitata a causa della difficoltà di diagnosi in fase precoce e dell'insorgenza di meccanismi di farmaco-resistenza. È quindi necessario sviluppare metodi di *imaging* non invasivo per una diagnosi più tempestiva, per il monitoraggio della risposta al trattamento e per l'identificazione precoce di possibili ricadute. La spettroscopia a risonanza magnetica (MRS) in alta risoluzione consente la valutazione di profili metabolici cellulari con possibilità di distinguere tessuti tumorali da tessuti sani e ha quindi una elevata potenzialità diagnostica non invasiva. Presso il Reparto sono state per la prima volta identificate, tramite MRS, importanti alterazioni metaboliche a carico del ciclo della fosfatidilcolina (PC), durante la progressione del carcinoma ovarico umano, da cellule epiteliali della superficie dell'ovaio sano a varianti cellulari immortalizzate, a linee di carcinoma di tipo sieroso, isolate e stabilizzate da tumori solidi o ascitici.

I risultati ottenuti sul significato di segnali MRS di metaboliti della PC come nuovi marcatori di progressione tumorale, hanno stimolato nuove ricerche di biologia cellulare volte a 1) stabilire le relazioni tra alterazioni spettrali e attività enzimatiche nelle vie di biosintesi *de novo* e catabolismo della PC, in relazione all'attivazione di *pathway* di trasduzione del segnale, in carcinomi di origine epiteliale (ovaio, mammella, colon-retto); 2) approfondire il ruolo della fosfolipasi PC-specifica (PC-PLC) in questi tumori e in popolazioni linfocitarie responsabili della risposta immunitaria. In tale contesto, utilizzando metodi di microscopia a scansione laser, sono stati condotti studi su espressione, localizzazione sub-cellulare, *trafficking* e attività enzimatica della PC-PLC in cellule ovariche normali, immortalizzate e tumorali e in cellule di carcinoma mammario. È stato inoltre dimostrato il ruolo regolatorio della PC PLC nell'espressione di recettori specifici che mediano il macchinario citolitico e nei processi litici mediati da sottopopolazioni linfocitarie ad attività citotossica. È stato inoltre dimostrato che la PC-PLC regola l'espressione e quindi la funzione del recettore CD16 responsabile della citotossicità mediata da anticorpi.

A livello preclinico, sono stati sviluppati modelli sperimentali di carcinoma ovarico (sc e ip) nel topo SCID, per il monitoraggio non invasivo mediante MR dell'evoluzione della patologia *in vivo*.

Utilizzando opportuni modelli cellulari e animali abbiamo avviato uno studio per valutare il significato di parametri MR in relazione alla crescita di tumori sperimentali e alla risposta al trattamento con un farmaco innovativo, ST-DS2323, in corso di sperimentazione. ST-DS2323 rappresenta il capostipite di una serie di composti che mostrano un'attività di inibizione della β ossidazione mitocondriale attraverso l'azione di blocco di un enzima specifico. Studi preliminari, hanno evidenziato un'azione di questo farmaco sul blocco della crescita tumorale: a) *in vitro* su cellule di *Lewis lung* carcinoma e b) nel modello murino *in vivo* ottenuto dall'inoculo delle stesse cellule in topi C57Bl/6J.

Sono stati, inoltre, effettuati studi sull'attività dell'antagonista (LY341495) dei recettori mGlu2/3 in un modello di glioma ottenuto dall'inoculo di cellule U87MG in topi nudi. I dati hanno suggerito la potenzialità dell'uso dell'antagonista LY341495 nel trattamento dei gliomi sperimentali.

Sono state infine messe a punto tecniche di ^{31}P MRS localizzata per il monitoraggio non invasivo del pH extracellulare in *xenograft* di melanomi umani in topi SCID, in relazione alla risposta terapeutica di omeprazolo, inibitore delle pompe protoniche.

A livello clinico, è proseguito il *trial* multicentrico italiano (1998-2007) coordinato dall'ISS per la valutazione comparativa di metodi MRI a contrasto dinamico e *imaging* convenzionale nella diagnosi precoce del carcinoma mammario in soggetti ad alto rischio genetico. L'arruolamento (oltre 450 unità) e le attività diagnostiche sono in corso presso venti Centri italiani, secondo criteri e protocolli concordati, confrontabili con quelli adottati in altri paesi in Europa e nel Nord America.

Inoltre, sulla base delle esperienze acquisite su cellule di tumori di origine epiteliale, è stato attivato uno studio combinato di analisi spettrali ^1H MRS *in vivo* su pazienti affette da carcinoma mammario e analisi *ex vivo* basate sulla tecnica dell'angolo magico (^1H MAS-MRS) su campioni biotipici delle stesse lesioni, in relazione alla caratterizzazione di parametri istopatologici e morfologici di tali reperti (coll. con il Policlinico San Donato, MI).

Sviluppo e valutazione di metodi e protocolli basati sull'uso di bioprobe, agenti di contrasto e segnali RM nel monitoraggio non invasivo dell'evoluzione e della risposta a terapie di patologie neurodegenerative.

Le odierne tecniche MR ad alto campo oggi rappresentano potenti strumenti di diagnosi e monitoraggio non-invasivo della evoluzione di patologie del SNC.

Nell'ambito del Progetto di ricerca "*EU Prion MR Diagnostics*", coordinato dal Prof. B. Barbiroli Univ. Bologna, sono proseguiti studi di valutazione sulle potenzialità della MRI nel monitorare *in vivo* processi patogenetici associati a encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) in roditori. È stata inoltre avviata la progettazione di nuovi biomarcatori fluorurati e di agenti di contrasto coniugati con gadolinio per la possibile rivelazione selettiva di depositi di prione patologico in modelli animali di TSE.

È stato condotto uno studio sugli effetti metabolici rivelati mediante ^1H MRS *in vivo* in diverse aree cerebrali (corteccia prefrontale, striato e nucleo *accumbens*) in ratti adulti esposti a metilfenidato durante l'adolescenza. Alterazioni persistenti nei livelli di alcuni metaboliti rilevanti ai fini del controllo dello stato bioenergetico e dell'attività sinaptica sono state messe in relazione a modifiche comportamentali.

Aspetti di sicurezza nell'uso di apparecchiature RM ad uso clinico.

È stato messo a punto un nuovo metodo per la misura dell'interazione del campo magnetico con dispositivi cardiovascolari (valvole cardiache e *stent*). Con il suddetto metodo sono state

analizzate le interazioni di un campo magnetico a 4.7 T con le valvole cardiache più frequentemente usate nella clinica.

Caratterizzazione strutturale di polisaccaridi isolati dal patogeno fungino *Candida albicans*.

Sono stati effettuati studi NMR ad alto e altissimo campo (9.4 e 16.4 T) per la caratterizzazione strutturale di frazioni ottenute da digestione enzimatica (beta-glucanasi) di glucani isolati dalla parete cellulare di *C. albicans*, in relazione alle proprietà immunomodulatorie e antigeniche di tali preparati, per il possibile sviluppo di vaccini ad uso umano.

Reparto Immunoregolazione

Il Reparto di Immunoregolazione svolge attività di ricerca e di consulenza. La ricerca prevede lo svolgimento di progetti di studio, svolti principalmente in modelli animali, sui meccanismi della risposta immune ad agenti infettivi, sui meccanismi della risposta immune ai tumori, per la definizione di nuove strategie terapeutiche contro infezioni virali e tumori con particolare riferimento ai vaccini e ai meccanismi di potenziamento della loro efficacia. L'attività di consulenza viene svolta nell'ambito della valutazione di nuovi protocolli terapeutici basati su terapia genica e terapia cellulare.

Nel corso del 2005 sono stati portati avanti i seguenti progetti:

- *Studi sulla regolazione dell'espressione di IFN- γ in macrofagi murini*
Gli studi svolti utilizzando un modello di macrofagi peritoneali murini in condizioni "resting" hanno permesso di caratterizzare l'IL-2 come un nuovo fattore in grado di regolare positivamente la produzione di IFN- γ in queste cellule.
- *Studi sugli effetti immunomodulatori della gp120 di HIV-1 in sottopopolazioni di cellule dendritiche*
Lo studio comparativo svolto in un modello di cellule dendritiche generate da monociti (MDDC) in presenza di GM-CSF e IL-4 così come di cellule dendritiche mieloidi MDC) e plasmacitoidi (PDC) isolate dal sangue di donatori sani ha evidenziato una diversa risposta (misurata come produzione di IFN- α e CC-chemochine) a componenti di superficie di HIV-1 nelle diverse popolazioni cellulari suggerendone pertanto un ruolo diverso nella risposta all'infezione da HIV-1
- *Studi sugli effetti immunomodulatori della Vitamina D3 in sottopopolazioni di cellule dendritiche*
In un modello di cellule dendritiche generate da monociti in presenza di GM-CSF e IFN- γ ed esposte alla vitamina D3 all'inizio della coltura (monociti) o al momento dell'induzione della maturazione con LPS (dendritiche mature), gli studi condotti hanno dimostrato che questo ormone riduce significativamente la capacità migratoria e immunostimolatoria delle MDDC. È stato dimostrato, inoltre, che il differenziamento di monociti a cellule dendritiche, stimolato da diversi cocktail di citochine, correla con un'aumentata espressione del fattore di trascrizione IRF-4 e che in presenza di Vitamina D3 l'espressione di questo fattore è soppressa.
- *Studi sulle interazioni cellule dendritiche e linfociti T g/d*
È stata dimostrata l'esistenza di un circuito attivatorio bi-direzionale tra cellule dendritiche generate da monociti e cellule T gd attivate con fosfo-antigeni, mediato da fattori solubili e molecole co-stimolatorie.

- *Studi sul ruolo del fattore di trascrizione ICSBP nel differenziamento e nell'attività funzionale di sottopopolazioni di cellule dendritiche*
È stato analizzato il ruolo di ICSBP nel controllo dell'*uptake* di antigeni in cellule dendritiche e loro presentazione a linfociti CD4+, e le proprietà tollerogeniche di cellule dendritiche da topi ICSBP *knockout*.
- *Identificazione di epitopi immunogenici dell'antigene tumorale BORIS*
Esperimenti condotti parallelamente nel modello murino dei topi transgenici per HLA-A2 umano e in PBMC da donatori sani HLA-A2+ hanno permesso di identificare un peptide della proteina BORIS capace di indurre una risposta CD8+ specifica rilevata con saggi ELISPOT e di citotossicità.
- *Sviluppo di una piattaforma per lo studio della genomica mediante microarray*
In questo ambito, l'impegno è stato finalizzato prevalentemente per il raggiungimento di due obiettivi prioritari: i) Completare l'allestimento del Centro di Ricerca Interdipartimentale dei *Microarrays* (CRIM). ii) Utilizzare questa metodologia nella diagnosi, prognosi e risposta a trattamenti terapeutici in pazienti con malattia oncologica o virale. A questo scopo sono state avviate una serie di collaborazioni internazionali con centri clinici e di ricerca di punta in questo campo a livello europeo e internazionale.
- *Immunoterapia dell'infezione da HIV-1 basata sull'uso di cellule dendritiche autologhe generate da monociti coltivati in presenza di IFN-α*
Studi condotti *in vitro* e nel modello "hu-PBL-SCID mouse", hanno dimostrato che le IFN-DC sono superiori alle DC generate in presenza di IL-4 e GM-CSF nell'indurre *cross-priming* di linfociti CD8+ contro antigeni esogeni di HIV-1.
- *Studi di patogenesi su cellule dendritiche e infezione da HIV.*
DC ottenute da monociti CD14+ trattati con GM-CSF/IFN-α e GM-CSF/IL-4 sono state caratterizzate per l'espressione di marcatori cruciali per l'interazione con HIV.
Topi hu-PBL-SCID inoculati i.p. con DC autologhe infettate *in vitro* con HIV-1 hanno mostrato che le IFN-DC producevano meno virus libero e mostravano scarsa capacità di trasmettere l'infezione a PBMC attivati.
- *Studio degli effetti sinergici antitumorali della combinazione di chemio e immunoterapia*
Nel corso del 2005 sono stati chiariti alcuni dei meccanismi coinvolti. È stato dimostrato che la somministrazione *in vivo* di ciclofosfamide in topi portatori di tumore determina un *homing* selettivo di linfociti T e B immuni nel tessuto tumorale e che questo fenomeno è legato alla induzione, da parte del chemioterapico, di citochine omeostatiche.
- *Studio dell'effetto adiuvante di IFN alfa/beta in un modello murino di vaccinazione influenzale*
Osservazioni condotte nel corso di questo anno hanno mostrato che l'effetto adiuvante dell'interferon alfa/beta nella vaccinazione influenzale nel topo si manifesta anche quando il vaccino è somministrato per via intranasale. Inoltre, somministrato i.m., l'IFN alfa ricombinante risulta molto più efficace del naturale ed è in grado di incrementare le risposte anticorpali anche in topi vecchi e immunodepressi.

Reparto Immunoterapia sperimentale

L'attività del Reparto è finalizzata all'attivazione di sperimentazioni cliniche innovative nel settore nell'immunoterapia, intervenendo in diverse fasi cruciali, quali:

- la preparazione di protocolli clinici basati su ricerche sviluppate in ISS;

- il coordinamento di studi multicentrici;
- la preparazione di reagenti speciali per uso clinico;
- lo sviluppo e l'implementazione di metodiche di monitoraggio immunologico nel contesto di *trial* clinici nel settore dell'immunoterapia.

Le attività svolte nel 2005, possono essere così sintetizzate.

- *Attività di coordinamento di progetti e di organizzazione, gestione e monitoraggio di studi clinici*
 - Progetto “*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. Nell'ambito della sperimentazione in soggetti sani, sono stati condotti studi sulle risposte umorali e cellulari alla vaccinazione, e sono stati analizzati i profili di espressione genica nelle cellule del sangue periferico. I risultati definitivi di entrambi gli studi saranno disponibili entro la fine del 2006.
 - Coordinamento delle attività dell'ISS nell'ambito del progetto “EUROCAN + PLUS” – promosso dallo IARC e finanziato dalla CE – finalizzato all'implementazione del coordinamento della ricerca europea sul cancro, con particolare riferimento all'immunoterapia e ai vaccini antitumorali.
 - 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)”, coordinato da questo Reparto ed effettuato presso l'Istituto Nazionale per lo studio e la Cura dei Tumori di Milano e l'Istituto Dermatologico dell'Immacolata di Roma (manoscritto inviato per la pubblicazione e altro manoscritto, riguardante i risultati sui profili di espressione genica mediante tecnologie *microarrays* su PBMC da pazienti vaccinati, in fase di preparazione.
- *Organizzazione di convegni.*
 - Workshop “Microarray technologies in clinical oncology: potential and perspectives”, ISS, 30 giugno 2005.
- *Attività scientifica*
 - Studi preclinici 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 (N. 2 manoscritti inviati).
 - Completamento degli studi di 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) e utilizzata in studi clinici. Tale attività e la parallela valutazione comparativa delle proprietà delle IFN-DC con DC di riferimento, sono finanziate nell'ambito del progetto “*Therapeutic Cancer Vaccines*” (2004-2007), coordinato da IDM e finanziato dalla UE (VI Programma Quadro), che ha l'obiettivo di ottimizzare i protocolli e standardizzare le condizioni per la preparazione di vaccini antitumorali basati su DC e di avviare uno studio comparativo di vaccinazione di pazienti con carcinoma della prostata con l'antigene EpCAM caricato su DC o formulato in liposomi.
 - Studi di caratterizzazione e valutazione del ruolo immunologico e/o diagnostico del nuovo antigene COA-1 associato al carcinoma del colon retto (CRC). I risultati

ottenuti hanno l'immunogenicità dell'antigene COA-1 su cellule di pazienti a vario stadio di malattia e hanno evidenziato la localizzazione cellulare e il processamento dell'antigene stesso in cellule tumorali o normali (n. 2 manoscritti in preparazione).

- *Attività relative all'attivazione del Centro di Immunoterapia Clinica Sperimentale (CICS)*
 - Sono stati finalizzati i lavori per l'imminente apertura del centro per la preparazione di cellule umane per studi clinici sperimentali di immunoterapia. Al contempo è iniziata la definizione di un sistema di Assicurazione di Qualità che garantisca, in ottemperanza alle richieste delle autorità regolatorie quali il Ministero della Salute ed EMEA, la realizzazione di prodotti cellulari conformi alle specifiche stabilite in base alla Norme di Buona Fabbricazione (GMP), mediante la definizione di procedure operative standard (SOP), metodi di fabbricazione (*batch record*), metodi analitici e, in generale, di tutto il sistema di garanzia necessario all'ottenimento di prodotti.

Reparto Malattie rare

Il Reparto svolge attività di ricerca indirizzata alle malattie rare, dalla prevenzione alla sorveglianza, alla diagnosi e al trattamento.

In particolare, vengono effettuati studi finalizzati alla comprensione dei meccanismi patogenetici, con l'individuazione di nuovi *marker* diagnostici e la verifica dell'appropriatezza diagnostica nei seguenti casi:

- analisi molecolare di tumori rari con l'obiettivo di identificare le alterazioni cromosomiche e i *marker* coinvolti nello sviluppo e la progressione dei tumori;
- nell'ambito Progetto europeo "*Reprotect*" è stato identificato un set preliminare di 244 geni coinvolti nell'espressione/regolazione dell'*Androgen Receptor*, inclusi i geni coinvolti nello sviluppo/progressione dei tumori androgeno-dipendenti, come il tumore della prostata;
- "*screening*" di mutazioni per geni coinvolti nel mantenimento della stabilità del genoma e nella riparazione dei danni radio-indotti in pazienti diagnosticati come *Nijmegen-like*; abbiamo individuato due nuovi casi riferibili a un quadro clinico *NBS-like* con sensibilità alle radiazioni ionizzanti, non riconducibili ad alterazioni in geni/proteine coinvolti nel mantenimento della stabilità del genoma;
- per il controllo esterno di qualità nei test genetici è stato effettuato il IV *trial* nazionale con 89 laboratori pubblici; sono stati effettuati controlli per: citogenetica prenatale e postnatale (compresa l'oncologica); fibrosi cistica, beta-talassemia, sindrome dell'*X*-fragile la poliposi adenomatosa del colon (gene APC);
- controllo esterno di qualità in genetica molecolare a livello europeo mediante la partecipazione al progetto EQUAL: oltre alle attività pratico-scientifiche previste dal progetto, è stato organizzato un corso europeo teorico pratico.

Le attività del Registro Nazionale Malattie Rare (DM 279/2001, GU del 12 luglio 2001, n. 160 – Serie Generale), sono state:

- ricezione, archiviazione e elaborazione di dati della rete nazionale malattie rare;
- prevenzione primaria: coordinamento del *Network* Italiano Acido Folico che ha realizzato e diffuso a livello Nazionale la "Raccomandazione per la riduzione del rischio di difetti congeniti";
- elaborazione delle "Linee guida multidisciplinari per l'assistenza integrata alle persone con sindrome di Down e alle loro famiglie";

- studi *ad hoc* “Indagini sull’accessibilità e qualità dell’assistenza socio-sanitaria alle persone con malattia rara”;
- aggiornamento dell’allegato 1 del DM 279/2001 presso il Tavolo Interregionale per il coordinamento e il monitoraggio delle attività assistenziali per le malattie rare, presso la Conferenza Permanente Stato Regioni.

Nell’ambito del progetto europeo “*Network of Public Health Institutions on Rare Diseases*” (NEPHIRD) sono state effettuate le seguenti attività:

- revisione sistematica degli studi epidemiologici effettuati a livello europeo sulla *miastenia gravis* e la sindrome Cornelia de Lange, per confrontare le stime di incidenza e/o prevalenza e conoscere meglio la storia naturale della malattia;
- indagine sulla qualità e accessibilità dei servizi socio-sanitari nelle persone con *miastenia gravis*, neurofibromatosi, sindrome di Rett e sindrome di Prader Willi, in Italia, Francia, Spagna, Romania e Inghilterra;
- studio per la valutazione della Qualità della Vita nei pazienti con neurofibromatosi e *miastenia gravis* in Italia e Svezia e correlazione con le misure cliniche.

Reparto 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 di alcune malattie dello sviluppo e di patologie endocrino-metaboliche di particolare rilievo socio-sanitario. In particolare sono state sviluppate le seguenti tematiche:

- Basi molecolari della sindrome di Noonan e di alcune malattie dello sviluppo ad essa correlate. Gli studi hanno condotto all’identificazione di mutazioni germinali nel proto-oncogene KRAS come nuovo evento molecolare associato a forme severe della sindrome di Noonan. Le ricerche hanno inoltre portato alla caratterizzazione funzionale delle mutazioni del gene PTPN11 responsabili della sindrome di Noonan e della sindrome Leopard. Infine, hanno permesso di delineare la rilevanza clinica e biologica di una classe di mutazioni somatiche dello stesso gene con ruolo oncogenico.
- Basi molecolari dell’ipotiroidismo congenito. Da queste ricerche è emerso che mutazioni a carico di geni della famiglia NK2 sono coinvolte nella patogenesi dell’ipotiroidismo congenito. È inoltre proseguita l’attività di raccolta di materiale biologico per la creazione di una banca del DNA per questa patologia.
- Ipofunzione tiroidea. L’attività di ricerca ha riguardato prevalentemente: 1) il completamento di un’ampia indagine epidemiologica finalizzata all’individuazione dei più importanti fattori di rischio per l’ipotiroidismo congenito, dimostrando l’origine multifattoriale della patologia; 2) l’avanzamento degli studi finalizzati alla valutazione degli effetti sulla funzione tiroidea dell’esposizione a sostanze chimiche di sintesi presenti nell’ambiente; 3) lo sviluppo di studi finalizzati a stabilire il ruolo degli autoanticorpi organo-specifici nelle più importanti malattie endocrine su base autoimmune (diabete tipo 1 e tiroidite).
- Complicanze del diabete. In questo ambito, sono stati approfonditi gli aspetti patogenetici legati al ruolo del glucosio in eccesso 1) nella patogenesi del danno vascolare in modelli animali (topi *knock-out* per GAL3 resi sperimentalmente diabetici o a dieta ad alto contenuto lipidico) e 2) nella regolazione dell’accumulo di massa grassa, attraverso lo studio di modelli cellulari di iperglicemia. Tali studi hanno permesso di dimostrare che l’alto glucosio è in grado di interferire con i processi di rimodellamento sia a livello del

tessuto adiposo che di quello vascolare, interferendo con diversi mediatori implicati in questi processi.

L'attività istituzionale ha riguardato i due Registri afferenti al Reparto. Per il Registro degli Assuntori dell'Ormone della Crescita è stata effettuata la completa informatizzazione delle schede di segnalazione e l'attuazione delle direttive del Ministero della Salute-AIFA. Relativamente al Registro Nazionale degli Ipotiroidi Congeniti, è stata attuata la sorveglianza della patologia ed è stato effettuato l'aggiornamento dei dati di incidenza della stessa, sia a livello nazionale che regionale. Per entrambi i Registri sono stati organizzati *workshop* in cui sono intervenuti i Centri operanti sul territorio nazionale.

Reparto Neurobiologia molecolare

L'attività del Reparto nell'anno 2005 ha riguardato:

- L'attività di ricerca volta a caratterizzare il ruolo funzionale del complesso di proteine associato alla distrofina (DPC) nel sistema nervoso ha portato nel corso dell'anno ad acquisire alcuni importanti risultati. Attraverso studi di doppio ibrido nel lievito, sono stati individuati nuovi *partner* molecolari della distrobrevina, una delle componenti del DPC, che hanno consentito di formulare nuove ipotesi sul ruolo di questa proteina nei meccanismi di trasporto intracellulare e di *signalling*. In particolare i) abbiamo dimostrato, mediante tecniche di biochimica, di biologia cellulare e di risonanza plasmonica di superficie, che la distrobrevina interagisce direttamente con la chinesina, un motore molecolare tra i più importanti. Sono stati identificati i domini d'interazione tra le due molecole, ed è stato messo in evidenza il ruolo di regolazione del trasporto intracellulare da parte della fosforilazione; ii) abbiamo inoltre identificato la subunità regolatoria della proteina chinasi A quale *partner* molecolare della distrobrevina, e dimostrato che quest'ultima è una AKAP (*PKA anchor protein*). I nostri risultati suggeriscono per le distrobrevine un nuovo ruolo di piattaforme molecolari, in grado di organizzare proteine segnale coinvolte in processi cellulari diversi; iii) è stato valutato il ruolo del distroglicano, un componente centrale del DPC, durante il rimodellamento sinaptico in un modello sperimentale di neurodegenerazione (neuroni gangliari simpatici di ratto sottoposto ad assotomia) e durante le alterazioni dell'adesione cellula-matrice extracellulare che avvengono nei tumori cerebrali umani (glioblastomi).
- I risultati della ricerca, sullo studio delle alterazioni funzionali e molecolari del recettore GABAB, in modelli genetici di epilessia con assenze, dimostrano nei ratti geneticamente epilettici (WAG/Rij) una ridotta funzionalità dei recettori GABAB che è associata a una variazione dei livelli di espressione delle sue subunità e una alterata distribuzione nei neuroni piramidali degli strati profondi della neocorteccia. Lo studio focalizzato sul ruolo della DNA-PK nella degenerazione neuronale e nelle alterazioni della plasticità sinaptica condotti in animali di controllo ed in animali mutanti per la DNA-PK (topi *scid*), suggeriscono che i fenomeni di plasticità neuronale risultano compromessi nei topi *scid*, indicando un ruolo della DNA-PK nei disturbi cognitivi tipici delle demenze. La ricerca sul ruolo di TrkA e del fattore di trascrizione Sp3 nella patogenesi del cheratocono, la più comune tra le distrofie corneali, ha dimostrato nelle cornee di pazienti l'assenza di TrkA e la disregolazione tra le isoforme corta e lunga di Sp3, indicando che la repressione trascrizionale di TrkA svolge un ruolo chiave nella patologia.
- Lo studio, focalizzato sulla sperimentazione *in vitro* di biomateriali per uso oftalmologico, ha dimostrato che il modello cellulare proposto (colture primarie di retina di ratto) è in grado di evidenziare eventuali effetti dannosi di sostanze utilizzate come sostituti artificiali del corpo vitreo ed è quindi in grado di selezionare i composti destinati

alle prove *in vivo*, riducendo l'impatto della sperimentazione animale. L'utilizzo di colture cellulari di retina ha inoltre permesso di comprendere i meccanismi molecolari di neuroprotezione di sostanze naturali, come la curcumina, con attività antiossidante ed antinfiammatoria. Sono proseguite le ricerche relative al ruolo del canale del cloro CLIC 1 nella neurotossicità indiretta indotta da stimolazione con beta amiloide di cellule microgliali. In particolare è stato dimostrato che il blocco di tale canale, mentre ostacola la formazione di specie potenzialmente neurotossiche, come NO, non deprime la fagocitosi microgliale di beta amiloide, preservando l'effetto di "scavenging".

- Lo studio dei meccanismi di *signaling* correlati alla formazione di specie radicaliche dell'azoto e dell'ossigeno e l'identificazione di possibili bersagli molecolari modificati dai processi ossidativi nelle patologie su base neurodegenerativa alla terminazione sinaptica hanno dimostrato, in un modello di tossicità dello striato indotto da acido chinolino, modello sperimentale della malattia di Huntington, i) una modulazione del *pattern* di fosfotirosine, ii) una significativa riduzione dell'attività fosfatase, iii) un incremento dell'attività delle proteine chinasi c-src e lyn. I risultati ottenuti suggeriscono che l'acido chinolinico possa regolare l'attività di chinasi della famiglia di src attraverso la formazione di specie radicaliche attive (ossido nitrico) e/o overattivazione dei recettori glutamatergici (NMDA).

Reparto Neuroscienze comportamentali

L'attività del Reparto di Neuroscienze neurocomportamentali nell'anno 2005 ha riguardato:

- la vulnerabilità psicofisica e lo *stress*: analisi delle interazioni fra sistema nervoso, neuroendocrino e neuroimmunitario nella risposta allo *stress* e ruolo regolativo delle neurotrofine, particolarmente per aspetti emotivi calibrati su esperienze precoci. Studio dei fattori di rischio e di protezione, legati all'ambiente sociale precoce (*stress* da deprivazione materna postnatale), per l'insorgenza di comportamenti devianti in età infantile, adolescenziale e adulta. Validazione di agenti terapeutici innovativi, perfezionati attraverso l'utilizzo di appropriati modelli animali di *stress* psicosociale acuto o cronico, per lo studio di fenomeni di plasticità comportamentale e relative basi neurobiologiche. 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. Utilizzo di topi geneticamente modificati come modelli per patologie psichiatriche e neurologiche quali la corea di Huntington (topi R6/2), la malattia di Alzheimer (topi PS301, topi p66Shc *-/-*, topi APP-SWE Tg2576), i disturbi dello spettro autistico e schizofrenico (topi mutanti *reeler* B6C3Fe) e la sindrome di Down (DYRK1A *overexpressing*);
- i modelli sperimentali di danno cerebrale precoce, di sindromi di ritardo mentale o disturbi attentionali/cognitivi nel bambino i) ulteriore caratterizzazione di un modello di encefalopatia ipossico-ischemica nel ratto con particolare attenzione a indici di alterate risposte emozionali sia in età neonatale che in età adulta; ii) individuazione di condizioni a rischio per lo sviluppo di disturbi emozionali e cognitivi in relazione a patologie umane a elevato impatto sociosanitario (sindromi di ritardo mentale a base genetica e non, ADHD, schizofrenia, depressione, autismo). Tali studi sono stati condotti utilizzando modelli animali, quali ratti con lesione precoce del sistema colinergico cerebrale, ratti in età adolescenziale valutati per sindromi di iperattività/impulsività a seguito di trattamento con farmaci psicostimolanti e/o cannabinoidi, e identificazione di modifiche durevoli di metabolismo ed espressione genica in aree cerebrali specifiche. Tali attività di ricerca si

sono riflesse nella stesura di linee-guida (p.es. OCSE) e in attività di diffusione culturale in ambito socio-sanitario;

- la neurotossicologia e teratologia comportamentale: analisi degli effetti avversi sullo sviluppo neurocomportamentale dell'esposizione pre e postnatale a xenobiotici di varia natura (contaminanti ambientali a riconosciuta o potenziale attività neuroendocrina, quali l'atrazina e il clorpirifos, o farmaci antiretrovirali), utilizzando sia indici di alterazioni comportamentali nelle fasi più precoci dello sviluppo, sia parametri comportamentali sessualmente dimorfici nel roditore adulto;
- i modelli sperimentali su primati non umani per lo studio del ruolo dei fattori sociali nello sviluppo dei processi cognitivi;
- valutazione 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 degli animali da reddito e d'affezione. Etica della sperimentazione su primati non umani e contributi alla rielaborazione della legislazione europea e internazionale in merito;
- la caratterizzazione dei criteri per il miglioramento della qualità del dato nella sperimentazione animale e clinica;
- la standardizzazione dei metodi statistici per l'analisi dei dati raccolti in sperimentazione animale (in particolare per lo studio delle alterazioni comportamentali precoci e in età adulta) e in sperimentazione clinica.

Reparto Patologie neurologiche, degenerative e infiammatorie

L'attività del Reparto nell'anno 2005 ha riguardato:

- *Cellule gliali e loro ruolo nelle patologie neurodegenerative.*
 - Meccanismi recettoriali coinvolti nella regolazione del processo di attivazione microgliale.
L'individuazione dei meccanismi molecolari evocati da questi recettori potrebbe consentire l'identificazione di nuovi bersagli farmacologici per il trattamento delle patologie neurodegenerative su base infiammatoria.
 - Marcatori dello *stress* ossidativo per la diagnosi/prevenzione del danno ipossico-ischemico del neonato.
In quest'anno di attività è stato possibile dimostrare in un gruppo di circa 70 neonati, che i livelli di isoprostano sono aumentati in seguito parto naturale rispetto a parti per taglio cesareo.
 - Marcatori di danno infiammatorio e ossidativo in patologie neurologiche infiammatorie e degenerative.
In quest'anno è stato completato uno studio su 25 pazienti affetti da malattia di Alzheimer: abbiamo dimostrato che in questi pazienti le difese antiossidanti periferiche sono ridotte e positivamente correlate sia alla capacità cognitiva che alla sopravvivenza del paziente.
 - Ruolo delle interazioni neuroni-glia nei processi di neurogenesi nell'adulto.
Abbiamo osservato che la sopravvivenza dei progenitori neuronali generati dopo l'insulto epilettico, è positivamente associata ai livelli di prostaglandina E2 (PGE2), di citochina TNFalfa e neurotrofina BDNF.
- *Encefalopatie spongiformi trasmissibili (TSE) o malattie da prioni.*
 - Ricerca di fattori diversi dalla proteina prionica (PrP) coinvolti nell'eziopatogenesi delle TSE.