

pazienti, ecc.) e costruito specifici strumenti informatici per la gestione dei dati raccolti per giungere alla elaborazione di documenti di consenso.

- Sensibilità chimica-multipla: A causa della mancanza di una definizione di caso e di percorsi diagnostico-terapeutici condivisi dalla comunità scientifica sulla sensibilità chimica multipla (complessa sindrome caratterizzata da una serie di segni e sintomi ad eziopatogenesi non ben definita), le Regioni, il Ministero della Salute hanno richiesto al CNMR di attivare un Gruppo di lavoro *ad hoc* per giungere a una definizione di caso condivisa e possibilmente alla proposta di protocolli diagnostico-terapeutici. Il CNMR ha condotto le seguenti attività:
 - raccolta della letteratura;
 - suddivisione delle voci bibliografiche nei seguenti settori;
 - analisi del materiale bibliografico;
 - elaborazione di un documento di sintesi;
 - realizzazione di un sito web riservato ai componenti del gruppo di lavoro (<http://www.cnmr.iss.it/scm/admin/home.asp>)
- Assicurazione di qualità e standardizzazione dei test genetici: il progetto, operativo sin dal 2001 e coordinato dal CNMR, coinvolge, su partecipazione volontaria, laboratori pubblici italiani che eseguono test diagnostici di genetica molecolare (per Fibrosi Cistica, Beta Talassemia, Sindrome dell'X-Fragile, Poliposi Adenomatosa del Colon), e citogenetica (diagnosi prenatale, postnatale costituzionale e oncologica). Ad oggi sono stati eseguiti cinque programmi di controllo, uno per ciascun anno e coinvolge 80 laboratori partecipanti dal 2001 al 2006, distribuiti su tutto il territorio nazionale. Ai laboratori partecipanti al controllo esterno di qualità per la genetica molecolare il CNMR invia aliquote di DNA validato, accompagnate da informazioni tecniche e cliniche. Per la citogenetica i laboratori inviano all'ISS immagini di metafasi e cariotipi, insieme al referto originale di un caso analizzato in diagnosi prenatale, e/o postnatale e/o oncologica. Si è completato il quinto turno di controllo e il CNMR sta provvedendo alla organizzazione del workshop annuale (maggio 2007) al quale parteciperanno i responsabili e i coordinatori del progetto, esperti nazionali e internazionali (EMQN) e tutti i laboratori partecipanti.

Nell'ambito dell'assicurazione di qualità dei test genetici, il CNMR collabora attivamente nel processo di armonizzazione internazionale con la *Organization for Economic Co-Operation and Development* (OECD), l'*European Commission* (EC) e con il *Network* di eccellenza Eurogentest.

Nel biennio 2004-2006 il CNMR è stato partner del progetto Europeo “*EQUAL: Multi-National External Quality Assay (EQA) programmes in Clinical Molecular Diagnostic based on Performance and Interpretation of PCR assay methods including dissemination and training*”; tale progetto si è basato su attività di Controllo Esterno di Qualità in PCR qualitativa (EQUAL-qual), quantitativa (EQUAL-quant) e sequenziamento (EQUAL-seq), al fine di individuare e indicare le cause degli errori nell'esecuzione dei test e, quindi, di migliorare la qualità nell'uso delle metodologie eseguite nei laboratori di diagnostica molecolare. Nell'ambito di questo progetto abbiamo collaborato nell'attività EQUAL-qual e nell'organizzazione di un corso teorico-pratico svolto presso il nostro Istituto.

- Attività riguardante i farmaci orfani: il CNMR partecipa alle attività del Comitato per la Designazione dei Prodotti Medicinali Orfani (COMP) che, in seno all'Agenzia Europea di Valutazione dei Medicinali (EMA), ha principalmente il compito di esaminare le domande per l'assegnazione della qualifica di medicinale orfano. Inoltre, il CNMR ha attivato il Registro Nazionale Farmaci Orfani per realizzare un sistema sorveglianza post-marketing per i farmaci orfani autorizzati dall'EMA e rimborsati dal Sistema Sanitario

Nazionale (SSN). A tal fine, il Registro predispone, raccoglie, verifica ed analizza le schede sulla diagnosi e sul follow up, inclusi gli effetti avversi, dei pazienti in trattamento con tali farmaci.

Il CNMR partecipa al *Network* di eccellenza “*Task Force in Europe for Drug Development for the Young (Teddy)*” per sviluppare e diffondere documenti e linee guida sui medicinali per malattie rare nei bambini. In questo ambito il CNMR ha recentemente organizzato, un Workshop internazionale su “*Epidemiological methods to define incidence, prevalence and mortality of rare diseases affecting the young*” al fine di elaborare strategie per la raccolta di dati epidemiologici validi sulle malattie rare.

- Formazione degli operatori sanitari, informazione ai cittadini l’attività di formazione rivolta a ricercatori e operatori socio-sanitari, si realizza attraverso Corsi, Workshop, Convegni e Congressi nazionali e internazionali. I temi trattati, per specifici gruppi di malattie, sono relativi a recenti progressi nella ricerca scientifica, sanità pubblica e attività clinico-assistenziali. L’attività di informazione ai cittadini è svolta attraverso la realizzazione e diffusione di documenti divulgativi.

Dal 2006 il CNMR ha attivato il Servizio Informazioni, con operatori e risorse dedicate, che forniscono informazioni a medici, cittadini, ecc.

- Collaborazione con le associazioni dei pazienti: il CNMR svolge diverse attività in collaborazione con le associazioni di pazienti, quale la realizzazione nel sito web www.iss.it/cnmr di una sezione dedicata alle associazioni di pazienti all’interno della quale è disponibile un database contenente informazioni utili su associazioni nazionali e internazionali (indirizzi web, recapiti, ecc.). Inoltre, ha realizzato progetti di ricerca scientifica sull’accessibilità e qualità dei servizi sanitari.
- Medicina narrativa: il nostro Centro ha avviato, in collaborazione con un gruppo di Associazioni, il progetto “Malattie Rare e Medicina Narrativa” che prevede la raccolta di “storie di malattia” come modo per comprendere le persone nel proprio contesto, mettere a fuoco bisogni e nuove strategie di intervento e promuovere una cultura di partecipazione nei soggetti coinvolti dalle malattie rare. Al momento sono pervenute un totale di 63 storie e 5 disegni.
- Collaborazioni internazionali: il CNMR collabora attivamente sulle tematiche inerenti le MR e i farmaci orfani a livello europeo con:
 - “*Rare Disease Task Force*”, istituita dal 2004 dalla Commissione Europea; EMEA, attraverso la partecipazione al COMP;
 - i Paesi europei partecipanti al progetto NEPHIRD (*network* europeo di istituzioni pubbliche impegnate sulle malattie rare): è un progetto finanziato dalla Commissione Europea, coordinato dal CNMR, per la condivisione di esperienze e strategie di sanità pubblica;
 - E-Rare (un *network* di istituzioni pubbliche europee finanziate dalla Commissione Europea per sviluppare programmi di ricerca transnazionali sulle MR).

A livello internazionale collabora con: *Office for Rare Diseases* (NIH-USA), *Office of Orphan Products Development* (FDA-USA), Organizzazione Mondiale della Sanità e OECD.

- E-Rare: E-Rare è un *network* di nove partner, istituzioni pubbliche o di ricerca, responsabili dello sviluppo o gestione di programmi di ricerca sulle malattie rare in otto diversi Paesi. L’obiettivo generale di E-Rare è quello di ottimizzare la ricerca sulle malattie rare creando possibilità per promuovere la collaborazione tra diversi ricercatori/clinici e tra diversi istituti in ambito europeo. In particolare, gli obiettivi prevedono l’instaurazione di collaborazioni tra diversi Paesi/partner; la limitazione della frammentazione nel campo della ricerca sulle malattie rare e la promozione di approcci

multidisciplinari; l'armonizzazione e la coordinazione dei diversi programmi di ricerca nei Paesi partecipanti al progetto; lo sviluppo e la promozione di politiche e priorità di ricerca comuni; l'aumento della competitività dell'Europa, rispetto ad altri Paesi del mondo, relativamente alla ricerca su malattie rare. Il CNMR è responsabile del *Work Package "Survey on national programmes and strengthening the knowledge on rare diseases programmes"*. In questo contesto ha condotto un *survey* sui diversi programmi di ricerca in ciascun Paese partner del progetto e, nei prossimi anni, sarà impegnato nella valutazione di programmi di ricerca in Paesi al di fuori della CE (Canada, USA, Giappone e Australia).

- Il sito web: le attività del CNMR sono descritte nel sito www.iss.it/cnmr, il cui obiettivo principale è di fornire elementi informativi sulle malattie rare e i farmaci orfani, realizzando un canale interattivo tra ricercatori, operatori sanitari, istituzioni e Associazioni dei pazienti e familiari.

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:

- Cause molecolari della sindrome di Noonan (SN) e di alcune malattie dello sviluppo ad essa correlate. Gli studi hanno condotto all'identificazione dei geni KRAS e SOS1 quali nuovi geni-malattia della SN. Queste scoperte hanno individuato nella disregolazione della via di trasduzione del segnale promosso dalle proteine RAS il meccanismo patogenico di questa malattia dello sviluppo. Gli studi genetico-molecolari, biochimici e di *modeling* molecolare condotti su PTPN11, il gene mutato più frequentemente nella SN, hanno inoltre fornito importanti informazioni sulla prevalenza, sulle relazioni genotipo-fenotipo e sulla diversità di queste mutazioni, e sul loro ruolo funzionale. Questi studi hanno inoltre consentito di delineare la rilevanza clinica e biologica di una classe di mutazioni somatiche dello stesso gene con ruolo oncogenico. L'attività di ricerca è stata infine rivolta alla caratterizzazione molecolare della sindrome di Costello, una malattia dello sviluppo clinicamente correlata alla SN, e all'analisi dell'origine parentale e dello spettro fenotipico delle mutazioni del gene HRAS.
- Basi molecolari dell'ipotiroidismo congenito (IC). I primi risultati di queste ricerche suggeriscono che mutazioni a carico di geni della famiglia NKX2 siano coinvolte nella patogenesi dell'IC. È inoltre proseguita l'attività di raccolta di materiale biologico per la creazione di una banca del DNA per questa patologia.
- Per ciò che riguarda lo studio dell'ipofunzione tiroidea, l'attività di ricerca ha riguardato fondamentalmente: i) lo studio dell'eziologia dell'IC che ha portato all'identificazione di aree ad altissima incidenza diffuse su tutto il territorio nazionale, suggerendo il ruolo importante che i fattori di rischio ambientali (es. carenza nutrizionale di iodio) possono svolgere nell'eziologia della patologia; ii) lo studio degli effetti sulla funzione tiroidea dell'esposizione ad "interferenti endocrini" i cui risultati preliminari, ottenuti in modelli murini, hanno dimostrato l'azione tireostatica di pesticidi organofosforici con importanti implicazioni per la salute umana; iii) l'avanzamento di studi finalizzati a stabilire il ruolo degli autoanticorpi organo-specifici e delle cellule T regolatorie nelle malattie endocrine su base autoimmune ad elevato impatto socio-sanitario (tiroidite e diabete tipo1).

- L'attività di ricerca sui meccanismi delle complicanze vascolari del diabete ha seguito diverse linee di studio sul ruolo del metabolismo del glucosio in eccesso: i) sulle lesioni vascolari aterosclerotiche e renali, dimostrando che la dislipidemia induce danno vascolare attraverso i prodotti avanzati della glicazione e che il danno glomerulare è legato al sistema TGF- β /GLUT1; ii) sulle interazioni neurogliali-vascolari nella retinopatia diabetica, l'alto glucosio attiva il sistema renina-angiotensina neuro-gliale, che potrebbe a sua volta mediare il danno microvascolare; iii) sulla funzione preadipocitaria, l'alto glucosio modifica mediatori che regolano il rimodellamento della massa grassa. È in corso una collaborazione con il CNEPS che coordina il progetto IGEA sull'applicazione del modello di gestione integrata nel diabete tipo 2, con la partecipazione alla commissione che stabilirà le linee guida di riferimento nazionale per l'attuazione del piano di prevenzione nazionale.

Infine, l'attività istituzionale ha riguardato i due registri afferenti al Reparto il Registro degli Assuntori dell'Ormone della Crescita e il Registro Nazionale degli Ipotiroidi Congeniti (RNIC). Per il primo, nel corso del 2006 sono state organizzate riunioni di lavoro finalizzate all'attuazione della piattaforma informatica relativa alle segnalazioni delle prescrizioni di ormone somatotropo. L'attività relativa al RNIC ha riguardato la sorveglianza della patologia sull'intero territorio nazionale e l'attività di ricerca relativa a studi di tipo eziologico. Per entrambi i Registri sono stati organizzati workshop in cui sono intervenuti i Centri operanti sul territorio nazionale.

Reparto Neurobiologia molecolare

Nel corso dell'anno 2006 sono proseguiti gli studi sul ruolo funzionale del complesso di proteine associate alla distrofina (DPC) nel sistema nervoso, nell'ipotesi di un suo possibile coinvolgimento in disfunzioni neuronali e nel deficit cognitivo che spesso si riscontra associato a distrofie muscolari. In particolare, sono state identificate e caratterizzate a livello biochimico e cellulare le interazioni della distrobrevina, un componente del DPC, con: i) la subunità regolatoria della proteina chinasi A (PKA) permettendo di evidenziare un nuovo ruolo della distrobrevina come AKAP (*A Kinase Anchoring Protein*), in grado di organizzare chinasi e fosfatasi e connettere complessi multiproteici di membrana a meccanismi di trasduzione del segnale dipendente da PKA. È stato dimostrato che la fosforilazione della beta-distrobrevina è associata alla regolazione della sua interazione con il motore molecolare chinesina; ii) la pancortina, una proteina coinvolta nello sviluppo e nel differenziamento neuronale, e iii) la disbindina, una proteina presente alla sinapsi, coinvolta nella biogenesi degli organelli e codificata da un gene considerato uno dei geni di suscettibilità per la schizofrenia. I risultati ottenuti indicano che la distrobrevina è una proteina *scaffold* sinaptica che, attraverso una molteplicità d'interazioni molecolari, è in grado di svolgere un ruolo multifunzionale in cellule del sistema nervoso.

Sono stati, inoltre, caratterizzati i determinanti molecolari dell'interazione tra le subunità alfa e beta del distroglicano, il componente del complesso DPC che connette proteine della matrice extracellulare al citoscheletro e la cui espressione è alterata in tumori cerebrali quali il glioblastoma puntiforme.

Nell'ambito dello studio sui modelli *in vitro* delle malattie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer e di Parkinson, è stata studiata la calcitonina, una proteina che ha caratteristiche analoghe alla beta-amiloide nella formazione di aggregati. I risultati indicano che la calcitonina forma oligomeri simili a quelli osservati per beta-amiloide e alfa-sinucleina, e che, in membrane modello, presenta strutture morfologiche caratteristiche di proteine amiloidi. Sono

in corso studi sulle proprietà neurotossiche della calcitonina in colture neuronali. Nel progetto sulle malattie neurodegenerative della retina, oltre a proseguire nello studio sulla biocompatibilità dei sostituti artificiali del vitreo e sulla neuroprotezione da *Curcuma longa*, è stata attivata una collaborazione sulla retinopatia diabetica allo scopo di identificare i meccanismi cellulari patogenetici, e le sostanze inibitrici potenzialmente protettive. In un altro modello sperimentale di neurodegenerazione sono stati studiati gli effetti dell'acido chinolinico, una neurotossina che nel ratto determina un marcato e ben noto danno neurodegenerativo, considerato un modello sperimentale "patogenetico" di corea di Huntington. L'acido chinolinico agisce a livello postsinaptico direttamente sul recettore NMDA, inducendo la formazione del radicale NO $\cdot$, e potenziando così la risposta eccitotossica. Mediante studi elettrofisiologici e biochimici effettuati su fettine di striato, abbiamo osservato che la fosforilazione in tirosina di una subunità del recettore NMDA, considerata un marker della funzionalità recettoriale glutammatergica, correla con l'attivazione delle chinasi della famiglia di src dipendente dal NO.

Nel proseguimento dello studio sul ruolo della DNA-PK (*DNA-dependent protein kinase*) nella degenerazione neuronale e nella plasticità sinaptica si è osservato, utilizzando fettine di ippocampo di topi di controllo e di topi mutanti per la DNA-PK (topi scid), che i fenomeni di plasticità neuronale sono compromessi nei topi mutati, suggerendo un nuovo ruolo per questa chinasi nell'induzione e nel mantenimento della long-term potentiation (LTP). Sono inoltre proseguiti gli studi in modelli genetici di epilessia con assenze, per chiarire i meccanismi molecolari alla base delle alterazioni funzionali e molecolari del recettore GABAB. Nello studio del ruolo della timosina b4 nel sistema nervoso centrale come agente protettivo e differenziativo sono state utilizzate cellule staminali neurali embrionali di topo indotte mediante vettori lentivirali, a sovraespressione o a riduzione dell'espressione della timosina b4. I risultati indicano che questo peptide ha un ruolo sulla proliferazione delle cellule staminali e modifica l'organizzazione del citoscheletro, influenzando la morfologia cellulare durante il differenziamento.

Mediante tecniche biochimiche, immunologiche e di spettrometria di massa, sono stati identificati i residui di Bcl-2 fosforilati da p38 MAPK. La caratterizzazione del significato biologico di tali eventi ha dimostrato che la fosforilazione di Bcl-2 (S87 e T56) è sempre associata ad una diminuzione dell'attività antiapoptotica della proteina.

Reparto Neuroscienze comportamentali

Nel 2006 sono proseguiti i vari filoni di ricerca tradizionali del gruppo, che vanno da studi epidemiologici su malattie neuropsichiatriche, in particolare durante lo sviluppo, ad analisi sperimentali degli aspetti che agenti neurotossici (es. clorpirifos e atrazina) esercitano sul normale profilo neuroendocrino e comportamentale.

Lo studio dei fattori di rischio durante le varie fasi dell'adolescenza, ha evidenziato elementi psicobiologici responsabili di pattern comportamentali di accentuata vulnerabilità, per esempio all'assunzione di farmaci di abuso.

Per quanto riguarda l'analisi di fenomeni di stress e *coping*, è stato individuato il ruolo patogenetico esercitato da ambienti caratterizzati da elementi fisici o sociali tali da modificare il sistema nervoso centrale e il comportamento fin nell'individuo adulto. Tali regolazioni di livelli di espressione centrale di neurotrofine giocano un ruolo importante, come evidenziato da alcuni risultati particolarmente promettenti.

Nel complesso, tali studi sono finalizzati, assieme all'analisi fenotipica di ceppi murini mutanti e transgenici, a migliorare le condizioni di benessere psicofisico negli animali da esperimento e, in forma crescente, nelle specie da affezione e da reddito. Sono state condotte regolari attività formative nel settore dell'etologia, della psicobiologia, della psichiatria

biologica e della neuropsichiatria infantile, con un graduale coinvolgimento degli elementi più giovani del Reparto, attivamente impegnati nella diffusione della cultura scientifica e tecnologica a livello nazionale e internazionale.

Sono state elaborate linee guida nazionali e internazionali per la teratologia comportamentale e vari aspetti di bioetica applicata, assieme ad alcuni primi elementi di valutazione e autovalutazione secondo principi scientometrici consolidati.

Il sito istituzionale del Reparto ha preso maggiore consistenza, e si sono intensificate le attività di referaggio e l'espressione di pareri su temi di sanità pubblica sia per le malattie del SNC e del comportamento sia per temi di veterinaria e di conservazione della biodiversità animale.

Reparto Patologie neurologiche, degenerative e infiammatorie

Nel corso del 2006, sono proseguite le attività di ricerca riguardanti:

- Meccanismi immunopatogenetici coinvolti nella sclerosi multipla (SM) mediante analisi neuropatologiche su tessuto cerebrale autoptico da pazienti con SM.
- Sviluppo di approcci terapeutici atti ad interferire con la risposta umorale intratecale in modelli preclinici di SM.
- Patogenesi molecolare di una rara leucodistrofia ad esordio infantile, la leucoencefalopatia megalencefalica con cisti subcorticali.
- Avviato il progetto integrato europeo “*Neuroprotective strategies for multiple sclerosis*” (NeuroproMiSe).
- Individuato un nuovo fenotipo clinico di Malattia di Alzheimer associato alla mutazione sul gene della Presenilina 2 (A85V).
- Allestimento di modelli di animali transgenici, portatori di mutazioni causali per lo sviluppo di approcci terapeutici attraverso l'elaborazione di molecole attive sulla g-secretasi.
- Meccanismi recettoriali coinvolti nella funzionalità e sopravvivenza delle cellule gliali per identificare bersagli farmacologici per il trattamento delle patologie infiammatoria neurodegenerative e demielinizzanti.
- Marcatori di danno infiammatorio e ossidativo in patologie neurologiche infiammatorie del neonato e dell'adulto.
- Ruolo delle interazioni neuroni-glia nei processi di neurogenesi nell'adulto.
- Determinazione quantitativa degli allotipi di PrPTSE che si depositano nel tessuto cerebrale di roditori eterozigoti con scrapie.
- Caratterizzazione di ceppi di TSE umane e animali mediante trasmissione in arvicole.
- Dimostrazione dell'efficacia e della ripetibilità delle alte pressioni/temperature sui materiali di origine bovina.
- Identificazione di PrPTSE nei muscoli di roditori con BSE a tempi precoci dopo l'infezione.
- Sviluppo di un nuovo protocollo per validare i metodi di rimozione degli agenti delle TSE dal sangue.

Reparto Terapia genica e cellulare

L'attività scientifica del reparto di Terapia genica e cellulare si articola su studi di base concernenti la regolazione della proliferazione e del differenziamento cellulare in cellule primarie umane *in vitro*.

Un settore dell'attività di ricerca del reparto si è focalizzato sullo sviluppo di modelli cellulari per lo studio del differenziamento *in vitro*, in particolare concentrandosi su cellule eritroidi umane primarie e su cellule megacariocitarie (linea cellulare 32DTpo murina, geneticamente omologa ai cloni già descritti eritroidi, mastocitari, granulocitari e macrofagici).

In particolare si è analizzata l'interazione del recettore per l'eritropoietina con i recettori per i glucocorticoidi e per gli estrogeni e della regolazione dei geni dell'emoglobina fetale da parte di nuove classi di inibitori delle HDAC.

Nello stesso tempo è proseguita la caratterizzazione delle implicazioni fisiopatologiche della mutazione GATA1^{low} nel differenziamento delle cellule staminali murine e nello sviluppo di mielofibrosi nel topo durante l'invecchiamento.

Tali studi si sono focalizzati sui meccanismi fisiopatologici che portano all'insorgenza di mielofibrosi e ai meccanismi legati alla mobilitazione delle cellule staminali emopoietiche.

Inoltre, si è proseguito lo 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 con tempi e modalità diverse sia di inibire che di indurre l'attività dell'enzima NADPH ossidasi. Mentre l'inibizione appare mediata da fattori solubili, in particolare l'interleukina-10, l'attivazione sembra invece il risultato di interazioni di Nef con elementi intracellulari della traduzione del segnale capaci di perturbare i normali meccanismi di controllo dell'enzima.

Infine una linea di ricerca sviluppata nel reparto di Terapia genica e cellulare si è focalizzata su studi di caratterizzazione di cellule dendritiche generate da monociti umani in presenza di IFN-alfa (IFN-DC). I risultati hanno evidenziato che le IFN-DC esprimono livelli di molecole coinvolte nel processamento dell'antigene, specificamente delle subunità dell'immunoproteasoma, e nella presentazione di epitopi associata a molecole HLA di classe I più elevati rispetto a quelli espressi da DC immature e paragonabili a quelli riscontrati in DC mature. Inoltre, l'attività proteolitica di proteasomi isolati da IFN-DC si è dimostrata complessivamente superiore rispetto a quella di proteasomi derivati da DC immature o mature. Infine, le IFN-DC caricate con cellule tumorali apoptotiche si sono dimostrate efficienti nella "cross-presentazione" di antigeni tumore-associati a linfociti T CD8⁺ autologhi.

DIPARTIMENTO DI EMATOLOGIA, ONCOLOGIA E MEDICINA MOLECOLARE

Il Dipartimento svolge attività di ricerca in ematologia e oncologia, e 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 e 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 e in medicina di laboratorio, lo studio dei marker 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 e 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 tecnico-scientifiche saranno ovviamente estese agli altri Dipartimenti dell'ISS e ai laboratori extramurali, anche sulla base dei Programmi di ricerca nazionale e 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 2006

– *Cellule staminali ed endotelio*

La nostra attività sperimentale è focalizzata nella dimostrazione di una sovrapposizione, totale o parziale, fra la cellule CD34 con espressione dei tre recettori endoteliali KDR, Flt1 e Tie2. Abbiamo inoltre isolato da midollo osseo umano di donatori sani la cellula staminale mesenchimale CD146 capace di proliferare per due mesi e di differenziare in osteoblasti, condrociti, adipociti e stroma di supporto ematopoietico. Sono iniziate ricerche sui microRNA, che svolgono un importante ruolo di regolazione dell'espressione genica a livello postrascrizionale.

– *Emoglobinopatie ed ematopoiesi*

Uno studio sul sangue di cordone ombelicale prelevato dalla 35^a alla 41^a settimana di gestazione ha permesso di dimostrare il ruolo chiave del complesso c-kit/KL nello *switch*

perinatale HbF→HbA. Parallelamente, una buona riattivazione dell'HbF associata ad un notevole incremento dell'attività proliferativa, è stata ottenuta nei progenitori eritroidi isolati da pazienti β -talassemici aprendo così la strada a possibili studi pre-clinici nelle β -emoglobinopatie.

— *Metodologie trasfusionali*

Sono proseguiti gli studi in tema di autosufficienza e sicurezza del sangue (monitoraggio della raccolta, produzione e distribuzione del sangue e degli emocomponenti attraverso il Registro Nazionale e Regionale del Sangue e del Plasma). Il sistema di Emoscambio tra Regioni carenti e Regioni eccedenti, gestito dal Reparto, ha permesso di realizzare, insieme ai responsabili regionali, una previsione dei fabbisogni annuali di sangue e una intesa su possibili compensazioni tra regioni non autosufficienti e regioni eccedenti. Prosegue l'attività di sorveglianza sulle malattie infettive trasmissibili con la trasfusione di sangue ed è in corso un aggiornamento della valutazione del rischio residuo di trasmissione di malattie infettive con la trasfusione in Italia. Il sistema di emovigilanza per il monitoraggio degli eventi avversi e degli errori trasfusionali ha permesso l'elaborazione del primo rapporto nazionale italiano. L'attività del reparto è stata anche volta al monitoraggio dei consumi di plasmaderivati sul territorio nazionale, in particolare albumina, IgVena e fattori della coagulazione, alla valutazione di dossier relativi a nuove AIC e a variazioni tipo I e II nazionali ed europee. È proseguita l'attività di ispezione alle officine di produzione di materie prime. È stato attivato il Registro nazionale delle coagulopatie congenite. L'attività sulle cellule ematopoietiche prosegue con studi che hanno dimostrato la capacità delle cellule CD34+ orientate in senso megacariocitario di ripristinare la componente piastrinica in topi NOD/SCID trapiantati.

— *Biochimica e biologia molecolare clinica*

Utilizzando un protocollo analitico, a tre livelli di indagine, per l'analisi molecolare del deficit di G6PD: i) sono state confermate le frequenze alleliche delle quattro varianti di G6PD maggiormente rappresentate in Italia, Mediterranea 63%, Seattle 15%, A- 5%, Union 1%; ii) è stata stimata la frequenza della variante Chatam 3%; iii) sono state individuate mutazioni rare (varianti Ube e Radlowo) in soggetti di origine italiana; iv) sono state caratterizzate tre nuove varianti molecolari dell'enzima: G6PD Lazio nt130 GCC-ACC; G6PD Veneto nt1021 GTC-TTC; G6PD Calabria nt751 GAT-ATT. È stato definito un protocollo diagnostico e di monitoraggio clinico per la sferocitosi ed ellissocitosi ereditarie con il quale sono stati esaminati circa 420 pazienti inviati da Centri ematologici e pediatrici del Lazio e Abruzzo per diagnosi e caratterizzazione dei difetti molecolari. Sono stati analizzati pazienti affetti da una rara forma di neuroacantocitosi ed è stato messo in evidenza per la prima volta un difetto della proteina 4.1R della membrana eritrocitaria ed è stato ipotizzato un ruolo della 4.1R nel regolare la stabilizzazione dei recettori AMPA sulla superficie dei neuroni. È stato effettuato uno studio del danno ossidativo nell'anemia falciforme (SCD) che ha preso in esame il profilo ematologico, il profilo coagulativo di base, la presenza di fattori genetici trombofilici, il danno ossidativo eritrocitario e il profilo emoreologico per valutare i fattori di rischio che predispongono alle crisi vaso-occlusive. È inoltre proseguita l'attività di *Batch Release* dei prodotti medicinali emoderivati (DM 22/04/1996), sono stati sottoposti a controllo di stato n. 258 lotti di emoderivati, di cui 127 di albumina umana, 124 di fattori della coagulazione e inibitori plasmatici e 7 di plasma virus inattivato. Sono stati esaminati dossier di *Plasma Master File* ai fini della certificazione EMEA e dell'approvazione AIFA per il mercato nazionale. È stata condotta inoltre attività ispettiva "GMP" presso Officine Farmaceutiche per la produzione di farmaci emoderivati e materie prime.

— *Oncologia medica*

L'attività scientifica del reparto è stata indirizzata verso vari filoni di ricerca: i) continuazione dell'attività laboratoristica di supporto allo studio clinico controllato di fase III basato sul test dell'*extreme drug resistance* in pazienti affette da carcinoma ovarico; ii) studio dell'interazione della catena beta del recettore dell'interleuchina-3 con il recettore 2 del VEGF; iii) analisi del ruolo e dei meccanismi molecolari attraverso i quali alcuni miR regolano il differenziamento ematopoietico; iv) ruolo del fattore di trascrizione PLZF e di alcuni miR nel controllo dell'espressione del recettore dell'SDF-1alfa CXCR4 in cellule emopoietiche normali e leucemiche; v) studio dell'effetto del triossido d'arsenico sull'ematopoiesi normale; vi) studio della sensibilità dei blasti leucemici e delle cellule primarie di carcinoma ovarico agli inibitori del proteosoma, a peptici mimetici di Smac/Diablo e ad alcuni triterpenoidi sintetici (CDDO); vii) analisi dei trascritti del gene della ferroportina in cellule eritroidi umane; viii) analisi dell'espressione e dei meccanismi di regolazione del recettore 2 della transferrina in cellule tumorali umane.

— *Oncologia molecolare*

Gli studi sviluppati nell'ambito del Reparto sono indirizzati verso la comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell'oncogenesi. Recentemente l'analisi dei profili di espressione genica mediante *microarray* si è concentrata su una famiglia di RNA non codificanti, i microRNA (miR). I progetti si sono focalizzati sull'analisi di tessuti umani normali durante lo sviluppo ontogenetico e sul confronto tra tessuti normali e neoplastici. Nell'ambito dei diversi sottoprogetti abbiamo dimostrato: i) il ruolo funzionale del miR-133 nell'ipertrofia cardiaca, svolto attraverso la deregolazione delle proteine RhoA, Cdc42 e NelfA; ii) il ruolo tumorigenico dei miR-221 e -222 in cellule di melanoma umano, attraverso l'abrogazione dell'espressione genica di specifici geni target coinvolti nella melanogenesi e nella regolazione del ciclo cellulare; iii) il ruolo che svolge il miR-10 nel processo differenziativo neurale nel modello del teratocarcinoma umano, in relazione a geni ad espressione correlata, tra cui in particolare il gene HOXD4. Infine, nell'ambito di uno studio sulla regolazione dell'autoreplicazione nelle cellule staminali murine (cES), fase importante per comprendere il ruolo delle cellule staminali nella insorgenza e nella progressione tumorale, è stato analizzato il ruolo svolto dalla fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI3K) mediante l'utilizzo di un inibitore specifico.

— *Biotecnologie oncologiche ed ematologiche*

Il Reparto ha svolto ricerche traslazionali in ambito di ematologia e oncologia. In particolare, sono stati definiti i meccanismi alla base della resistenza farmacologica delle cellule ematopoietiche preleucemiche. Simili studi sono stati effettuati nei tumori della tiroide, per i quali è stato individuato una possibile strategia terapeutica molto efficace basata sull'impiego di inibitori del proteasoma. Parallelamente sono stati condotti degli studi sulle cellule staminali dei tumori cerebrali, del colon e del polmone, per le quali sono state effettuate delle richieste brevettuali da parte dell'ISS. Questi studi hanno consentito di ottenere dei modelli preclinici di estremo rilievo che permetteranno di accelerare la scoperta e la validazione di nuove e più efficaci terapie antitumorali. Infine sono stati condotti degli studi sull'impiego delle cellule staminali neurali per la terapia delle malattie neurodegenerative che hanno affiancato il lavoro istituzionale costituito dalla formulazione di pareri su proposte di legge o sulla validità di procedure terapeutiche in ambito di cellule staminali.

— *Fisiopatologia delle malattie genetiche*

Il Reparto ha concentrato le sue ricerche sulla fisiopatologia di un gruppo di malattie genetiche, le malattie lisosomiali. In particolare sono stati studiati a livello biochimico e

molecolare alcuni casi di malattia di Gaucher dovuti a mutazioni dell'enzima glucosilceramidasi (GCasi) o a mutazioni del suo attivatore proteico, la saposina (Sap) C. È noto che la malattia di Gaucher presenta una grande eterogeneità fenotipica. La più comune mutazione della GCasi, la N370S, può infatti provocare sia sintomatologie gravi che stati asintomatici. I nostri studi più recenti hanno dimostrato che la ridotta funzionalità della N370S GCasi dipende da una alterata affinità dell'enzima mutato per le membrane lisosomiali dove risiedono i suoi attivatori, cioè la Sap C e i fosfolipidi anionici. Sono stati inoltre identificati recentemente nel nostro laboratorio tre casi di malattia di Gaucher causati da distinte mutazioni nel gene della Sap C. I nostri studi hanno evidenziato che questi casi non solo differivano nelle mutazioni ma anche nel livello di Sap C residua e nella stabilità dell'enzima GCasi. I nostri risultati hanno inoltre fornito importanti informazioni sulle alterazioni dei meccanismi cellulari conseguenti a specifiche mutazioni della Sap C o della GCasi. Tali informazioni potranno essere di aiuto nella ricerca di nuovi approcci terapeutici per il trattamento della malattia di Gaucher.

— *Lipidi ed Arteriosclerosi*

Il Reparto ha proseguito gli studi sulla eziopatogenesi dell'aterosclerosi e del danno vascolare, la regolazione dell'omeostasi cellulare del colesterolo e dei trigliceridi, specie nelle fasi post prandiali. Impulso è dato alla ricerca sulle basi cellulari e molecolari delle dislipidemie primarie e secondarie che conducono ad un accumulo di lipidi neutri nelle arterie (arteriosclerosi) e/o nel fegato (steatosi), finalizzati allo sviluppo di terapie innovative. Le potenzialità terapeutiche ipolipidizzanti e immuno-regolatorie degli n3-PUFA sono stati testati nella iperlipidemia animale e in pazienti con fibrosi cistica. È iniziata la validazione di terapie biofisiche per la cura della steatosi, fibrosi e la cirrosi epatica. Si è valutata la aterogenicità dei *remnants* dei chilomicroni e delle LDL nelle fasi post prandiali e la loro modificazione mediante neutraceuciti. Si è approfondito il ruolo di nuovi geni complementari nello sviluppo dell'ipercolesterolemia familiare omozigote (FH) e in quella autosomica recessiva (ARH). Inoltre, sono stati analizzati gli effetti delle radiazioni ionizzanti a diverse dosi e farmaci antitumorali per esaminare i meccanismi alla base della risposta delle cellule tumorali ai trattamenti antineoplastici. A tale scopo sono state utilizzate colture cellulari di tipo convenzionale, rappresentate dalle linee cellulari tumorali stabilizzate *in vitro* cresciute in *monolayer* e in sospensione, e sistemi avanzati tumorali multicellulari tridimensionali (sferoidi) di differente istotipo. In particolare, è stata studiata la capacità di tali trattamenti di indurre morte cellulare per apoptosi, necrosi o catastrofe mitotica. Mediante tecniche di metabolomica, utilizzando la Risonanza Magnetica Nucleare protonica ad alta risoluzione (1H-NMR), sono stati infatti identificati *marker* strutturali, funzionali e metabolici lipidici e non, correlati con i vari tipi di morte cellulare. Sono anche stati condotti studi per valutare il ruolo svolto dalle interazioni cellula-cellula in sferoidi diversamente compattati sulla resistenza alle suddette radiazioni. È stata inoltre effettuata l'analisi della distribuzione spaziale dell'ipossia in sferoidi di cellule tumorali mediante tecniche di *Imaging* Molecolare (microscopia due fotoni) e lo studio degli effetti dell'ipossia sulla risposta alle radiazioni ionizzanti e/o farmaci antitumorali. Infine, sono stati studiati gli effetti delle radiazioni non ionizzanti (campi magnetici sinusoidali a 50 Hz) sulle proprietà invasive di sferoidi di osteosarcoma.

— *Fisiopatologia delle Malattie Renali e Patologie Correlate*

L'attività del Reparto si è sviluppata nell'ambito di due linee di ricerca. La prima, dedicata allo studio delle alterazioni funzionali e strutturali indotte in cellule circolanti

dall'esposizione al DEHP – plastificante largamente utilizzato nei dispositivi per uso biomedico (DEHP) e che si accumula nel sangue di pazienti uremici sottoposti a trattamento emodialitico cronico –, ha consentito di dimostrare che questo xenobiotico diffonde nelle membrane cellulari alterandone le proprietà biofisiche e provocandone un aumento della permeabilità ai cationi. Nel corso del 2006 sono state avviate collaborazioni con il centro di microscopie avanzate dell'Istituto di Fisica dell'Università Cattolica e con il laboratorio di Biofluorimetria dell'Università di Roma "La Sapienza" con lo scopo di analizzare mediante, rispettivamente, microscopia a fluorescenza a due fotoni e microscopia a forza atomica/ottica in campo prossimo, la topografia di membrana di leucociti umani e come questa viene eventualmente alterata dalla presenza del plastificante. La seconda linea di ricerca, dedicata allo studio dello stress ossidativo in pazienti uremici in trattamento sostitutivo della funzione renale, ha consentito di dimostrare la inattendibilità di alcuni noti marcatori di stress ossidativo quando utilizzati nel paziente uremico nonché l'importanza dello stato di ossidazione dei tioli plasmatici quale meccanismo patogenetico dell'iperomocisteinemia e, potenzialmente, della patologia cardiovascolare nello stesso paziente. Infine, è stata intrapresa una collaborazione con il *Department of Physics, University of Illinois at Urbana-Champaign* (USA) per lo studio dell'interazione di nanoparticelle fluorescenti con macromolecole biologiche. L'attuazione dello studio, perfezionato da un *Material Transfer Agreement* sottoscritto contestualmente, è ancora in fase preliminare.

Descrizione dei reparti

Reparto Biochimica e biologia molecolare clinica

Nel settore della diagnostica medica, diverse attività mirano a migliorare la sicurezza di qualità dei metodi applicati e degli strumenti utilizzati nei laboratori ematologici, e più in generale nella medicina di laboratorio. Questo obiettivo sarà perseguito attraverso:

- lo studio dei fattori genetici, molecolari e biochimici che sono alla base di talune anemie ereditarie (es. carenza di G6PD);
- l'individuazione di parametri diagnostici e l'elaborazione di protocolli diagnostici e di monitoraggio clinico;
- la partecipazione ad azioni europee per la definizione di standard di qualità in medicina di laboratorio;
- l'organizzazione di programmi di valutazione esterna di qualità;
- l'attività come laboratorio di riferimento in settori specialistici nell'ambito di reti internazionali;
- la certificazione di materiali di riferimento e di controllo.

Reparto Biotecnologie oncologiche ed ematologiche

Un importante settore di attività del Dipartimento concerne la comprensione dei processi fisiologici e patologici che regolano la morte cellulare. L'avanzamento delle ricerche sull'apoptosi costituisce un obiettivo primario della ricerca biomedica di base e traslazionale, in particolare per le malattie oncologiche e per quelle degenerative. Le acquisizioni derivanti dagli studi sull'apoptosi verranno utilizzate per lo sviluppo di approcci biotecnologici e terapeutici innovativi. In oncologia si ha per obiettivo la morte delle cellule tumorali, evitando di

danneggiare cellule e tessuti normali. Lo sviluppo di strategie citotossiche per i tumori chemio-resistenti è associato allo studio di terapie di supporto per gli organi più suscettibili agli effetti tossici della chemioterapia e della radioterapia. Nelle malattie degenerative vengono studiate delle terapie che prevedano il blocco o il rallentamento della distruzione tissutale in associazione alla terapia cellulare rigenerativa mediante cellule staminali.

Reparto Cellule staminali ed endotelio

L'attività di ricerca sarà focalizzata sulle cellule staminali post-natali, che rappresentano uno strumento prezioso per lo sviluppo di terapie rigenerative, attraverso la purificazione, la caratterizzazione funzionale, l'espansione *ex vivo* e il trapianto dei diversi tipi di cellule staminali. In particolare, le cellule staminali ematopoietiche e/o precursori endoteliali hanno già consentito lo sviluppo di modelli preclinici innovativi nella terapia di affezioni cardiovascolari di grande rilievo (es. infarto del miocardio, ischemia degli arti periferici). Le cellule staminali mesenchimali, inoltre, hanno potenzialità terapeutiche assai vaste, soprattutto nelle malattie genetiche e degenerative dei tessuti a derivazione mesodermica e specificamente di quelli dell'apparato locomotore (muscoli scheletrici, ossa e cartilagini). Infine, le cellule staminali neurali sono oggetto di profondo interesse, per lo sviluppo di modelli terapeutici preclinici nelle patologie genetiche e neurodegenerative acute e croniche. In fase embrionale le cellule staminali tessuto-specifiche derivano da cellule staminali multipotenti associate alle cellule endoteliali. In fase post-natale, diversi tipi di cellule staminali sono caratterizzati dall'espressione di marker endoteliali (es. recettori 1 e 2 del VEGF): i fenomeni di interconnessione fenotipica e funzionale tra cellule staminali ad endoteliali saranno oggetto di indagini *in vitro* e *in vivo*.

In parallelo sono cominciati dei nuovi progetti su una classe di geni identificata di recente, i microRNA (miR), che svolgono un importante ruolo di regolazione dell'espressione genica a livello post-trascrizionale. In particolare verranno analizzati l'espressione, la regolazione e la funzione di alcuni microRNA (miR) specifici, implicati in processi di proliferazione e differenziamento cellulare fisiologico e patologico, nonché i loro eventuali geni bersaglio.

Reparto Emoglobinopatie ed ematopoiesi

Verranno studiati i meccanismi di controllo dell'espressione dei geni dell'emoglobina umana, con riferimento sia allo *switch* perinatale da emoglobina fetale ad emoglobina adulta, sia alla riattivazione dei geni globinici gamma in fase adulta mediante induttori chimici o il fattore di crescita SCF (ligando del kit). L'utilizzo clinico di questo fattore potrebbe consentire di sviluppare nuovi approcci terapeutici per le beta-emoglobinopatie (beta-talassemia, anemia falciforme) in quanto l'aumento delle catene gamma negli eritroblasti riduce lo sbilanciamento nella sintesi delle catene alpha/non-alpha con miglioramento del quadro clinico. Verranno altresì proseguiti gli studi sulle basi molecolari e cellulari dell'ematopoiesi, in particolare utilizzando metodologie di purificazione dei progenitori e colture di differenziazione e maturazione unilinea degli stessi.

Reparto Fisiopatologia delle malattie genetiche

Nel campo della medicina sperimentale verrà sviluppato lo studio dei meccanismi patogenetici alla base delle malattie genetiche con particolare attenzione alle malattie lisosomiali. Le più recenti ricerche sulla biologia dei processi degradativi lisosomiali sono

culminate nella messa a punto di vari trattamenti per le malattie lisosomiali quali la terapia enzimatica sostitutiva (infusioni periodiche dell'enzima mancante) e la terapia da riduzione del substrato (uso di inibitori per ridurre la sintesi dei prodotti accumulati). Queste terapie che si sono dimostrate estremamente efficaci su numerosi pazienti offrono un esempio concreto di come la ricerca biologica e molecolare possa dare risultati concreti a livello di diagnosi e trattamento. Rimangono comunque varie problematiche irrisolte come la possibilità di intervenire a livello del sistema nervoso centrale e del sistema osseo; non si è riusciti inoltre a trovare ancora le condizioni per attuare una efficace terapia genica. Per aprire la strada a nuovi approcci terapeutici verranno quindi studiati i processi cellulari coinvolti nelle singole malattie genetiche e verranno identificati a tutti i livelli i fattori che modulano tali processi. Verranno inoltre aggiornate e ottimizzate le metodiche di diagnosi biochimica e molecolare che costituiscono il prerequisito di ogni intervento. Una intensa attività di formazione contribuirà infine a divulgare le nuove acquisizioni nell'ambito della diagnosi e del trattamento delle malattie genetiche.

Reparto Fisiopatologia delle malattie renali e patologie correlate

Il settore di intervento sarà focalizzato sulle patologie renali, a fini di ricerca, prevenzione e formazione. In particolare, verrà perseguito lo studio delle alterazioni cellulari, biochimiche, genetico-molecolari che sono alla base del danno renale, con l'intento di identificare nuovi indicatori di danno più sensibili, specifici e precoci di quelli attualmente in uso. Inoltre il monitoraggio di pazienti in dialisi permetterà di delineare le condizioni più idonee a contrastare l'insorgenza di patologie correlate al tipo di trattamento dialitico. Tale attività verrà svolta in collaborazione con i centri di dialisi ospedalieri, anche con l'intento di pervenire alla elaborazione di linee-guida ed alla creazione di banche-dati.

Reparto Lipidi ed arteriosclerosi

Il Reparto svolge attività di studio e consulenza nel settore delle malattie genetiche e degenerative caratterizzate da alterazioni della omeostasi e del trasporto intercellulare dei lipidi.

In particolare:

- Studio delle basi molecolari di dislipidemie genetiche quali: ipercolesterolemie, ipertrigliceridemie e ipoalfalipoproteinemie, finalizzato alla diagnostica e allo sviluppo di terapie innovative per queste patologie.
- Studio del ruolo dei lipidi circolanti sulla risposta infiammatoria e immunitaria di macrofagi e neutrofili in relazione allo sviluppo della lesione ateromasica e al danno vascolare.
- Studio *in vivo* e *in vitro* delle priorità ipocolesterolemizzanti e anti-aterosclerotiche di lipidi, antiossidanti e sostanze naturali.
- Sviluppo di modelli cellulari tridimensionali per lo studio dei meccanismi alla base dell'insorgenza e progressione dei tumori e la valutazione dell'efficacia dei trattamenti antineoplastici.
- Identificazione di biomarcatori idonei alla diagnostica delle dislipidemie genetiche, delle vasculopatie e allo studio dei processi di apoptosi e necrosi in vari modelli cellulari.
- Sviluppo di modelli *in vitro*, alternativi ai modelli *in vivo*, per lo studio delle patologie dovute ad alterazioni nell'assorbimento, trasporto o metabolismo dei lipidi e per la valutazione delle proprietà dei biomateriali in relazione alla loro potenziale citotossicità.

- Consulenza diagnostica in relazione ad alterazioni rare del metabolismo lipidico quali: beta-sitosterolemie, malattie di Tangier, *Fisheye disease*, sindrome da ritenzione dei chilomicroni.

Pareri per autorizzazione in deroga agli art. 8 e 9 del DL.vo del 27/01/1992 in relazione a ricerche sulle alterazioni patologiche del metabolismo lipidico a livello cellulare e circolatorio.

Reparto Metodologie trasfusionali

Un aspetto rilevante dell'attività del Dipartimento riguarderà le metodologie trasfusionali, attraverso ricerche innovative nei settori della sicurezza e autosufficienza del sangue, la promozione dello sviluppo tecnologico, la definizione e l'attivazione di un sistema di emovigilanza nazionale (articolato a livello locale e regionale), il raggiungimento dell'autosufficienza nazionale del sangue e dei suoi prodotti (coordinamento interregionale, emanazione di linee-guida, attività di formazione), l'implementazione di un sistema di garanzia di qualità nei servizi trasfusionali (attività di formazione).

Reparto Oncologia medica

Nell'area oncologica medica si rileva la necessità di promuovere lo sviluppo di terapie oncologiche mirate, sia nel quadro degli attuali trattamenti chemioterapici, sia per quanto concerne lo sviluppo di trattamenti mirati contro alterazioni molecolari oncospecifiche (es. Glivec STI571 per l'inibizione della tirosinchinasi del recettore kit nella leucemia mieloide cronica). Sul primo aspetto, verrà valutata la rilevanza clinica del saggio *in vitro* della *extreme drug resistance* delle cellule neoplastiche, al fine di ottimizzare la scelta tra le diverse opzioni chemioterapiche, inizialmente nel carcinoma dell'ovaio e della mammella. In questi trial multicentrici, il Reparto svolgerà l'attività laboratoristica, interagendo con i diversi Centri oncologici clinici coinvolti nel trial specifico. Sul versante farmacogenomico, verranno proseguite le indagini sulle anomalie funzionali dei recettori dei fattori di crescita (es. IL-3, Flt3 ligando, VEGF) nelle leucemie acute. Inoltre, in base alle risultanze degli studi di *microarray* oncologici e degli studi di oncoproteomica, verranno sviluppate le terapie anti-neoplastiche mirate contro alterazioni molecolari specifiche dei diversi tipi di tumore (es. tirosinchinasi di recettori di fattori di crescita). Queste indagini di farmacogenomica verranno condotte dapprima *in vitro* e quindi in modelli preclinici *in vivo*.

Reparto Oncologia molecolare

In questo settore saranno sviluppate ricerche di base, con l'obiettivo principale di contribuire all'analisi dei meccanismi molecolari alla base dell'oncogenesi. Lo studio comprenderà diversi modelli tumorali con particolare attenzione a melanomi e leucemie. Attualmente sono in corso studi molecolari e funzionali sul possibile ruolo di talune famiglie geniche coinvolte nell'embriogenesi e, più in generale, nella regolazione della proliferazione e del differenziamento cellulare, quali per esempio i geni omeotici (HOX). Molto utili in tal senso si sono rivelati i profili di espressione genica analizzati mediante la tecnica del *microarray*. Il confronto tra cellule neoplastiche e corrispondenti controparti normali, effettuato mediante analisi comparativa basata su programmi informatici specifici, ha già consentito, e sicuramente ancora consentirà in futuro, l'identificazione di geni selettivamente modulati nel programma genetico della cellula neoplastica.

In parallelo sono cominciati dei nuovi progetti su una classe di geni identificata di recente, i microRNA (miR), che svolgono un importante ruolo di regolazione dell'espressione genica a livello post-trascrizionale. In particolare verranno analizzati l'espressione, la regolazione e la funzione di alcuni microRNA (miR) specifici, implicati in processi di proliferazione e differenziamento cellulare fisiologico e patologico, nonché i loro eventuali geni bersaglio.

Un'altra linea di ricerca consiste nella caratterizzazione del programma genico responsabile della proliferazione e differenziamento di cellule staminali embrionali (cES) murine. Le cES derivano direttamente dalla "*Inner Cell Mass*" dell'embrione di topo e sono un sistema ideale per comprendere i meccanismi molecolari che controllano il ciclo cellulare mitotico di cellule con caratteristiche tumorigeniche. La capacità delle cES di generare teratocarcinoma, dopo inoculo in un sito ectopico nel topo, è un fenomeno molto peculiare poiché le cES sono geneticamente normali, a differenza della maggior parte delle cellule neoplastiche la cui crescita sembra essere associata a specifiche lesioni genetiche di oncogeni o geni tumore-soppressore. Questo studio potrebbe essere di primaria importanza nella comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della formazione di tumori originati da "cellule staminali tumorali".