

– *Diagnostica oncologica*

Sono stati consolidati i risultati di uno studio nazionale, osservazionale, prospettico e non randomizzato (ISS-HIBCRIT, 2000-2008) per l'analisi comparativa dell'accuratezza diagnostica di metodi di mammografia, ecografia e risonanza magnetica a contrasto dinamico nella diagnostica precoce di tumore mammario in donne ad alto rischio genetico-familiare. Questo studio è stato condotto presso 20 Centri italiani (502 donne arruolate, 1.596 sessioni diagnostiche multimodali; 3,2 round/donna; 52 casi di tumore). È stato inoltre attivato sul territorio nazionale un Network di sorveglianza multimodale di donne ad alto rischio genetico-familiare di tumore mammario, basato sull'uso integrato di consulenza genetica, visita senologica, mammografia, ecografia e MRI a contrasto dinamico. Il Network, tuttora in espansione, attualmente comprende 31 Centri italiani e utilizza criteri e protocolli concordati a livello nazionale per l'arruolamento e i percorsi diagnostici. In tale contesto, è stata realizzata in ISS una infrastruttura informatica per la raccolta centralizzata (in forma anonima) dei dati di arruolamento e screening.

– *Malattie neurodegenerative e neurocomportamentali*

È stato completato uno studio di *imaging* farmacologico mediante *imaging* a risonanza magnetica (Ph-MRI) su ratti adolescenti e adulti trattati con metilfenidato. È stato inoltre avviato uno studio preliminare di fattibilità per l'identificazione di nuovi biomarker dell'evoluzione della malattia di Alzheimer mediante analisi dei profili spettrali NMR di campioni sierici e PBMC (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*) da pazienti.

– *Altre ricerche condotte in collaborazione con altri Reparti e Dipartimenti ISS*

Caratterizzazione mediante metodi NMR del *signaling* del perossinitrito in eritrociti umani; caratterizzazione di un anticorpo monoclonale umano (scFv) diretto contro l'enzima citosina deaminasi, per un modello di GDEPT/ADEPT; caratterizzazione del ruolo del sistema rodamina-tioredossina e composti allilici dello zolfo nell'apoptosi di cellule tumorali; espressione e localizzazione subcellulare di una proteina coinvolta nella patogenesi della sindrome di Noonan; distribuzione cellulare della proteina 14-3-3 *wild type* e delle sue isoforme mutate in *Giardia duodenalis*. È stato infine completato uno studio di caratterizzazione strutturale di glucani isolati dalla parete cellulare di *C. albicans*.

Reparto Immunoregolazione

Obiettivi principali dell'attività di questo Reparto sono la caratterizzazione dei meccanismi molecolari e cellulari che regolano la risposta immunitaria e il ruolo di loro possibili alterazioni nella patogenesi di malattie infettive, neoplastiche, infiammatorie e autoimmuni.

– *Studi sugli effetti immunomodulatori di HIV-1 e della sua glicoproteina di superficie gp120 in macrofagi*

Lo studio completato e pubblicato nel corso dell'anno ha portato all'identificazione di una nuova cascata di trasduzione del segnale attivata dalla gp120 di HIV-1 e responsabile dell'induzione della secrezione di CCL2. Questa cascata comprende l'attivazione, CCR5 mediata, della fosfolipasi C fosfatidil-colina-specifica, che è a sua volta coinvolta nella produzione di CCL2 mediata da NF-κB. Sono stati inoltre condotti studi sull'attivazione mediata da gp120 di alcuni membri della famiglia delle fosfolipasi C fosfatidil-inositolo-specifiche e sul ruolo da esse svolto nella produzione di chemochine indotta da gp120. Abbiamo inoltre continuato i nostri studi sul ruolo della CCL2 endogenamente prodotta dai macrofagi nella modulazione dell'infezione da HIV-1 caratterizzandone gli effetti sulla regolazione dell'espressione di fattori dell'ospite, in particolare membri della

famiglia APOBEC, importanti per la resistenza/suscettibilità all'infezione da HIV-1 dei monociti/macrofagi.

- *Studi sulla regolazione dell'espressione di chemochine in monociti/macrofagi e cellule dendritiche (DC)*

Gli studi condotti hanno portato all'identificazione di nuovi meccanismi di cooperazione tra i ligandi dei recettori Toll (TLR) in grado di regolare positivamente o negativamente l'espressione di citochine e chemochine. In monociti/macrofagi abbiamo osservato che la CCL1 è regolata in maniera peculiare da alcuni ligandi di TLR, e che il tipo di regolazione dipende sia dallo stato differenziativo della cellula che dalla particolare combinazione dei diversi ligandi. Sono inoltre in corso studi sul ruolo svolto da altre chemochine endogenamente prodotte dal monocita/macrofago, quali la CCL2, nella regolazione dell'espressione di CCL1. Studi analoghi condotti in DC hanno evidenziato l'esistenza di un complesso circuito regolatorio, innescato da particolari combinazioni di ligandi TLR in grado di controllare l'espressione di CCL2 e di IL-12 e di polarizzare la risposta immunitaria verso il tipo Th1. Abbiamo inoltre studiato gli effetti di ligandi di TLR sull'espressione di microRNA, e il potenziale ruolo che questi nuovi regolatori dell'espressione genica svolgono sulla cascata di eventi innescata dai ligandi TLR, e che culmina nella produzione di citochine e chemochine.

- *Studio sul ruolo di lipidi bioattivi nell'infezione di HIV-1 di cellule del sistema immunitario*
Abbiamo analizzato il possibile coinvolgimento di una nuova famiglia di immunoregolatori presenti nei fluidi biologici, i lipidi bioattivi, nel controllo della replicazione di HIV-1 trovando un effetto potenziante sulla replicazione virale in macrofagi umani ma non in linfociti T CD4⁺ dello stesso donatore. Abbiamo osservato che tale diversità di effetti potrebbe essere ricondotta ad un *pattern* di espressione complementare dei recettori specifici di tali molecole nei due tipi cellulari. Studi sui meccanismi molecolari coinvolti nella regolazione del ciclo di HIV-1 da parte di lipidi bioattivi sono attualmente in corso.

- *Studi sull'interazione reciproca tra DC e linfociti T*
Sono stati condotti studi volti alla caratterizzazione degli effetti di HIV-1 sul *cross-talk* DC/linfociti T γ δ precedentemente descritto dal gruppo. I risultati ottenuti indicano che l'esposizione al virus delle DC interferisce con la loro capacità di stimolare la proliferazione e la produzione di citochine Th1 in linfociti T γ δ autologhi in risposta ai fosfoantigeni. Reciprocamente, i linfociti attivati inducono maturazione fenotipica delle HIV-DC che però non si associa a secrezione di IL-12. Abbiamo parallelamente osservato che l'esposizione delle DC al terreno condizionato di linfociti T CD4⁺ infettati da HIV ne modifica la suscettibilità all'infezione, rendendole permissive ai ceppi di HIV-1 T-tropici.

- *Studi sui fattori coinvolti nel differenziamento e attivazione di DC*
Gli studi completati e pubblicati nel corso dell'anno messo in evidenza la capacità del GM-CSF di indurre il differenziamento dei monociti a DC funzionalmente attive in assenza di altri fattori di crescita o citochine.

- *Studi sulla regolazione da citochine dell'attività fagocitica dei macrofagi*
Gli studi svolti hanno evidenziato che l'IFN- β è in grado di inibire l'espressione in superficie del recettore del mannosio (MR) durante il differenziamento dei monociti a macrofagi. L'effetto inibitorio dell'IFN- β si esplica a livello della sintesi della proteina e non del trasporto alla membrana e coinvolge meccanismi di regolazione post-trascrizionale. È stato inoltre osservato che l'azione inibitoria dell'IFN- β su MR e

sull'attività fagocitica è transitoria e reversibile e può essere contrastata da una successiva esposizione dei macrofagi a IL-3.

- *Studi sugli effetti immunomodulatori della lattoferrina bovina (bLf)*
Studi volti a definire gli effetti della bLf sul differenziamento/attivazione di DC umane hanno dimostrato che questo composto interferisce con la maturazione di tali cellule indotta da ligandi TLR. La diminuita produzione di citochine polarizzanti risulta associata ad una diminuita risposta di tipo Th1. Al contrario, le bLf-DC maturano se stimulate con CD40L, suggerendo una certa specificità del blocco maturativo verso segnali derivanti dalla stimolazione dei TLR. Abbiamo inoltre avviato uno studio volto a caratterizzare le relazioni tra infiammazione e regolazione dell'omeostasi del ferro in monociti e macrofagi umani. I risultati preliminari ottenuti suggeriscono che la bLf è in grado di modulare l'espressione di alcuni componenti implicati nel metabolismo del ferro quali il recettore per la transferrina e STAT3, il fattore trascrizionale responsabile per l'induzione dell'epcidina.
- *Studi sull'utilizzo della tecnologia degli RNA interferenti per la manipolazione della risposta immune mediata dalle DC*
Nel corso di quest'anno abbiamo effettuato una dettagliata caratterizzazione delle conseguenze fenotipiche e funzionali del silenziamento di STAT3, con particolare attenzione al suo ruolo nella risposta delle DC a stimoli immunogenici, quali i ligandi di TLR. Abbiamo osservato una riproducibile diminuzione, in assenza di STAT3, della capacità delle DC di produrre la citochina anti-infiammatoria IL-10 in risposta a stimoli immunogenici. Un'ulteriore caratterizzazione delle cellule silenziate, e della loro risposta a stimoli tollerogenici è tuttora in corso.
- *DC-ATLAS*
Nell'ambito del network di eccellenza DC-THERA, finanziato dalla comunità europea e volto al trasferimento delle conoscenze di genomica, proteomica e bioinformatica, nonché quelle derivanti dalla biologia cellulare molecolare e modelli preclinici, in applicazioni terapeutiche, siamo stati chiamati a partecipare come *curators* alla nuova iniziativa DC-ATLAS. Questa iniziativa ha come obiettivo la creazione di una banca dati che raccoglie tutti i dati generati specificamente in DC relativi alle vie di trasduzione di segnali importanti nella fisiologia di queste cellule, e in particolare le vie metaboliche responsabili della maturazione delle DC, e quelle relative all'interazione delle DC con altre cellule del sistema immunitario. Questa banca dati sarà uno strumento importante per l'individuazione di marcatori per la diagnostica e l'immunoterapia di malattie neoplastiche e infettive. Abbiamo contribuito all'iniziativa curando la via di traduzione del segnale innescata dalla stimolazione del TLR3.
- *Modulazione dell'attività pro-infiammatoria della gliadina da parte del decapeptide P10 e della vitamina D₃*
Nell'ambito di un gruppo interdipartimentale recentemente costituitosi in ISS, abbiamo avviato un nuovo progetto di ricerca, volto: i) alla caratterizzazione dell'attività pro-infiammatoria della gliadina, l'agente eziologico della celiachia in soggetti geneticamente predisposti, in monociti/macrofagi e diversi modelli di DC umane, e ii) all'individuazione di eventuali strategie "protettive" nei confronti di questo stato infiammatorio. A tale riguardo abbiamo valutato il potenziale inibitorio di un decapeptide P-10 e della vitamina D₃, la cui attività immunomodulatoria sulle DC è oggetto di studi da parte del nostro gruppo da diversi anni. In esperimenti preliminari abbiamo osservato che un digesto peptico-triptico della gliadina induce produzione di CCL2 in DC, e che questa produzione

è parzialmente inibita dal decapeptide P10. È interessante che un leggero effetto inibitorio del decapeptide P10 è stato osservato anche sulla produzione di CCL2 indotta da LPS, suggerendo che il potenziale immunomodulatorio di questo peptide si estenda anche ad altri stimoli attivatori per le DC.

- *Studi sul ruolo del tessuto adiposo nella regolazione dell'infiammazione e della risposta immune*

Gli studi svolti hanno permesso di caratterizzare mediante analisi al FACS e immunoistochimica le cellule del sistema immunitario in biopsie di grasso omentale di individui normopeso, sovrappeso e obesi sia diabetici che non. I risultati ottenuti evidenziano la presenza di DC nel tessuto adiposo e suggeriscono l'esistenza di differenze, sia di tipo qualitativo che quantitativo, nella loro distribuzione tissutale in pazienti obesi, affetti o meno da diabete, rispetto a pazienti normopeso che sono oggetto di ulteriori studi.

Reparto Immunoterapia sperimentale

Attività di ricerca anno 2008.

- *Studi pre-clinici per la valutazione dell'efficienza di cellule dendritiche generate in presenza di IFN-alfa (IFN-DC) (secondo il metodo oggetto del brevetto US N. 09/845 042, attualmente in condizione di brevettabilità) come adiuvanti cellulari di vaccini terapeutici contro il cancro o infezioni croniche gravi*
 - valutazione nel modello xenochimerico hu-PBL-SCID della risposta cellulare umana indotta dall'immunizzazione con IFN-DC autologhe caricate con la proteina idiopica VK3-20 di linfomi/leucemie a cellule B frequentemente espressa in linfomi B non-Hodgkin HCV-associati;
 - valutazione dell'induzione *in vitro* e *in vivo* (modello hu-PBL-SCID) della risposta cellulare verso la proteina E7 di HPV 16 (papilloma virus umano – *Human Papilloma Virus*) attraverso IFN-DC caricate con proteina ricombinante o VLP (*Virus-Like Particles*) esprimenti E7;
 - studio della capacità di IFN-DC di indurre la polarizzazione TH1 e la risposta TH17 di linfociti CD4 *naïve* (manoscritto in preparazione).
 - studi comparativi tra IFN-DC e DC di riferimento delle funzioni di *antigen-uptake/processing*, di *cross-presentation* e *cross-priming*, con particolare riferimento all'analisi delle vie intracellulari e della compartimentalizzazione degli antigeni solubili (come OVA o E7 di HPV) o veicolati da VLP con particolare riferimento alla capacità di mediare la *cross-presentation* di antigeni assunti da cellule apoptotiche e di indurre il *cross-priming* di linfociti T CD8⁺ specifici;
 - analisi del segnale LOX-1/IFN di tipo I nel IFN-DC (manoscritto sottomesso per la pubblicazione);
 - studio dell'espressione di microRNA in IFN-DC.
- *Studio della capacità adiuvante di IFN di tipo I e del ruolo degli antigeni Psts-1 e HBHA in protocolli vaccinali per la tubercolosi (TB) (progetto CE 7° PQ – HOMITB)*
- *Studi in modelli umani o murini del ruolo dei fattori di trascrizione IRF-1 e IRF-8, regolati dal sistema IFN di tipo I, con particolare riferimento a:*
 - ruolo di IRF-1 nella regolazione del differenziamento e dell'attività di cellule T regolatorie umane;

- analisi del ruolo di IRF-8 nel controllo dell'*uptake* di antigeni tumorali in cellule dendritiche e loro presentazione a linfociti CD8⁺;
- studio della crescita, e della sua modulazione da parte di farmaci epigenetici selezionati, di cellule di melanoma B16 in topi IRF-8 KO;
- studio del ruolo di IRF-8 e delle popolazioni di cellule dendritiche da esso controllate nell'infezione da *Mycobacterium tuberculosis* e in strategie vaccinali per la TB.
- *Studi preclinici per la valutazione del ruolo del nuovo cancer testis antigen BORIS:*
Messa a punto di tutti gli approcci utili per lo sviluppo del progetto (PCR, qPCR, *Western Blot*, confocale, trasfezione con BORIS di linee cellulari target e di cellule dendritiche; allestimento della colonia di topi HHD transgenici per HLA-A2, utile per completare gli esperimenti di caratterizzazione di epitopi immunogenici di BORIS; studio della modulazione di BORIS da parte di farmaci epigenetici selezionati (apicidina, depsipeptide) e/o agenti convenzionali (taxoli) in linee di carcinoma mammario.
- *Progetti afferenti al Laboratorio di Ricerca dei Microarrays (LaRiM):*
 - ultimazione della validazione dei chip umani (34,580 70mer oligos della banca genomica umana della Operon Version 3.0);
 - completamento del progetto “*New therapeutics selective for TNF receptor subtypes and humanized animal models*” (Integrated Project FP6);
 - completamento del progetto “*Development of a novel approach in hazard risk assessment of reproduction toxicity by a combination and application of in vitro, tissue and sensor technologies*” (Integrated Project FP6 EC);
 - studio di profili di espressione genica in linee cellulari da carcinoma renale trattate con farmaci utilizzati in studi clinici;
 - studi per la messa a punto di chip specifici per patogeni vegetali;
 - studi finalizzati allo sviluppo di una nuova piattaforma di *microarray* per analizzare la presenza di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) nei geni codificanti citochine e proteine ad esse correlate nel DNA di pazienti coinvolti in protocolli di immunoterapia.
- *Studi volti a valutare il possibile utilizzo del modello di infezione virale del virus murino MHV68 allo studio di fenomeni neurodegenerativi potenzialmente correlati alle infezioni erpetiche nell'uomo.*
- *Ultimazione delle attività propedeutiche all'autorizzazione del laboratorio GMP FaBioCell alla produzione di farmaci cellulari (convalida degli impianti, della strumentazione, del personale e del Sistema di Qualità necessario alla gestione delle attività di produzione e controllo qualità).*

Reparto Malattie infiammatorie e demielinizzanti del sistema nervoso

Nel corso del 2008, sono proseguite le attività di ricerca e di coordinamento scientifico di progetti nazionali e internazionali da parte di diversi membri del Reparto:

- *Coinvolgimento dl virus di Epstein-Barr nella eziopatogenesi della sclerosi multipla: da “se” a “come”*
Progetto finanziato dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla. Nel 2008 sono state avviate ricerche in collaborazione con diversi gruppi di ricerca italiani (Ospedale S. Andrea, Istituto Neurologico C. Mondino di Pavia, IRCCS Fondazione S. Lucia, “Sapienza” Università di Roma) e con la *UK MS Tissue Bank* presso l'*Imperial College London*, mirate a chiarire il ruolo di EBV nella eziopatogenesi della SM attraverso

un'analisi più estesa e accurata della presenza di RNA e proteine virali e/o delle risposte immunologiche virus-specifiche e di marcatori biologici nel sangue periferico, nel fluido cerebrospinale e in tessuto cerebrale post-mortem da pazienti con SM. È stata inoltre completata un'analisi sull'associazione tra presenza di depositi di EBV in tessuto cerebrale post-mortem da pazienti con SM e livelli di CXCL13, una chemiochina responsabile del reclutamento di cellule B, nel liquor post-mortem degli stessi casi.

- *Meccanismi molecolari coinvolti nell'effetto rimielinizzante del TNF: espressione e attività funzionale del recettore 2 del TNF in oligodendrociti, astrociti e microglia*

Progetto finanziato dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla. L'analisi delle vie di segnalazione indotte dall'attivazione del recettore del TNF di tipo 2 (TNFR2) in cellule microgliali, mediante la tecnica dei *microarray*, ha portato all'identificazione di fattori con attività anti-infiammatoria e neuroprotettiva. Lo studio della regolazione di questi fattori da parte di citochine infiammatorie ha inoltre contribuito a definire il ruolo del sistema TNF/TNFR2 nel controllo della risposta microgliale durante l'infiammazione.

- *Pathophysiological role of MLC1, a protein involved in megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts (MLC)*

Progetto finanziato dall'ELA *Fondation de Recherche*, Francia. Al fine di comprendere il ruolo fisiologico della proteina MLC1 e il suo coinvolgimento nella leucoencefalopatia megalencefalica, una rara leucodistrofia ad esordio infantile, sono proseguiti gli studi biochimici delle interazioni tra MLC1 e il complesso distrofina-distroglicano nelle membrane cellulari degli astrociti e la ricerca di interattori di MLC1 mediante tecniche di *pull-down*, *two-hybrid system* e proteo mica.

- *Innovative approaches to the study of induction/repair of DNA oxidative damage in models of neurodegenerative diseases: molecular basis and identification of possible therapeutic targets*

Ex art. 56 L 289/2002. Progetto Ministero della Salute. Nel corso del 2008, sono stati selezionati e caratterizzati i tessuti cerebrali patologici nei quali verrà analizzata l'espressione dell'enzima hMTH1 coinvolto nel controllo del livello di ossidazione del DNA.

- *Immunopathology and imaging of multiple sclerosis lesions*

Progetto ITALIA-USA - Area F. In collaborazione con il *National Institute of Neurological Disorders and Stroke* (NINDS) degli NIH, abbiamo avviato uno studio combinato di neuropatologia e risonanza magnetica in tessuto cerebrale post-mortem da pazienti con SM al fine di correlare le immagini ottenute in risonanza con i dati di istopatologia e immunoistochimica.

- *Ricerca di marcatori diagnostici per le malattie neurodegenerative e di nuovi target per le risposte al trattamento farmacologico*

Ricerca Finalizzata 2005. È stato completato uno studio neuropatologico sull'espressione di un fattore neurotossico e pro-infiammatorio della famiglia del TNF (TWEAK) e del suo recettore Fn-14 in relazione al danno gliale e neuronale associato alle lesioni cerebrali e alla presenza di accumuli intracerebrali di cellule B/plasmacellule infettate con EBV.

- *EU COST Action Neurinfnet "Inflammation in Brain Disease"*

Il Reparto ha contribuito alle attività di questa *COST Action* in qualità di vice-coordinatore del *Management committee* e di leader del Workgroup "*Triggers*" promuovendo e organizzando incontri e iniziative didattiche, in parte in collaborazione con il Progetto Integrato NeuroproMiSe.

Reparto Metabolismo ed endocrinologia molecolare e cellulare

L'attività di ricerca del Reparto nel 2008 è stata diretta allo studio dei meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nella leucemogenesi e nella patogenesi della sindrome di Noonan e di malattie dello sviluppo clinicamente correlate, di patologie endocrino-metaboliche di particolare rilievo socio-sanitario.

— *Disregolazione funzionale di JAK1 nelle leucemie linfoblastiche acute*

L'attività di ricerca è stata diretta all'identificazione di nuovi eventi molecolari coinvolti nella leucemogenesi. Le ricerche condotte hanno portato alla scoperta del coinvolgimento dell'attivazione aberrante di JAK1, una proteina ad attività tirosin-chinasica implicata nel controllo della proliferazione e differenziamento dei precursori della linea linfoide, nella patogenesi della Leucemia Linfoblastica Acuta (LLA). Più precisamente, è stato dimostrato che mutazioni somatiche del gene JAK1 si riscontrano in circa il 20% dei pazienti adulti con LLA delle cellule T, sono responsabili di una iperattivazione della chinasi che ha importanti conseguenze su diverse vie di traduzione del segnale (iperattivazione delle proteine ERK, AKT STAT) e sono associate a prognosi infausta. Queste mutazioni sono riscontrate solo raramente nei casi pediatrici di queste forme leucemiche. La scoperta pone le basi per lo sviluppo di approcci farmacologici diretti a inibire l'attività catalitica di questa chinasi nella cura delle LLA.

— *Sindrome di Noonan e malattie correlate*

Gli studi condotti hanno contribuito in maniera sostanziale ad una più approfondita comprensione dei meccanismi molecolari responsabili della disregolazione funzionale di SHP2 alla base della patogenesi della sindrome di Noonan. SHP2 è una proteina citoplasmatica ad attività tirosin-fosfatase che agisce come trasduttore del segnale modulando positivamente la via di segnalazione intracellulare mediata dalle proteine RAS. L'attività sperimentale, attraverso l'uso di diversi approcci biofisici, biochimici e di *modeling* molecolare, ha consentito di dimostrare che le mutazioni di PTPN11, il gene codificante per SHP2, alterano la funzione della fosfatasi mediante meccanismi alternativi. Questi possono consistere in una ridotta stabilità della conformazione cataliticamente inattiva della proteina, una aumentata affinità di legame della fosfatasi con proteine partner implicate nella via di traduzione del segnale o un sostanziale cambiamento nella specificità di legame con tali partner.

Nell'ambito di studi collaborativi internazionali, sono state inoltre completate ricerche finalizzate alla caratterizzazione funzionale delle mutazioni di PTPN11 responsabili della sindrome LEOPARD utilizzando la *D. melanogaster* come modello animale, e alla caratterizzazione molecolare di condizioni sindromiche clinicamente correlate alla sindrome di Noonan.

— *Ipofunzione tiroidea*

Al fine di contribuire ad una più approfondita conoscenza delle caratteristiche dei bambini affetti da ipotiroidismo congenito (IC), e in considerazione del fatto che il basso peso alla nascita rimane a tutt'oggi la principale causa di morbidità nella prima infanzia, è stato attivato uno studio finalizzato alla stima della frequenza e alla caratterizzazione dei bambini *Small for Gestational Age* (SGA) con diagnosi di IC permanente reclutati nel Registro Nazionale degli Ipotiroidi Congeniti. I risultati preliminari ottenuti hanno evidenziato una frequenza dei bambini SGA nella popolazione di ipotiroidi congeniti significativamente più elevata rispetto a quella osservata nella popolazione neonatale

italiana (3,3% vs 2,3%), confermando un maggior rischio di IC nei bambini SGA rispetto ai bambini *Adequate for Gestational Age* (AGA).

Nell'ambito della linea di ricerca relativa agli effetti sulla funzione tiroidea dell'esposizione ad "Interferenti Endocrini", è stato attivato uno studio su modello *in vivo* finalizzato a verificare gli effetti a breve e lungo termine sulla funzione tiroidea dovuti all'esposizione pre- e post-natale a etilentiourea (metabolita tireostatico dei pesticidi Etilenbisditiocarbamati largamente utilizzati in agricoltura). A tale scopo sono state impiegate dosi di esposizione comparabili a quelle rilevate nella popolazione generale. I risultati preliminari ottenuti hanno dimostrato che, nonostante le basse dosi utilizzate, effetti tireostatici sono rilevabili sia durante la gravidanza che nella generazione F1 in età adulta (PND60-70). È stato inoltre attivato uno studio di tipo epidemiologico finalizzato alla valutazione, nella popolazione generale, del possibile ruolo dell'esposizione a pesticidi (esposizione attraverso l'alimentazione) nell'eziologia delle patologie tiroidee. A tale scopo è stato avviato il reclutamento di un campione rappresentativo della popolazione rurale e urbana del Comune di Maddaloni, un'area della provincia di Caserta caratterizzata da attività agricole intensive. Su tutti i soggetti è prevista la valutazione dei marcatori di esposizione, di suscettibilità e di effetto.

Sono inoltre proseguiti gli studi finalizzati a stabilire il ruolo della citochina immunosoppressiva TGFβ1, quale marcatore di infiammazione nella fase che precede (pre-diabete) la diagnosi clinica di diabete tipo 1. In particolare, si è concluso uno studio condotto nel modello murino di diabete tipo 1 (topo NOD) e in bambini diabetici in cui è stato dimostrato che fluttuazioni sieriche della citochina riflettono il corso dell'insulite nella storia naturale della patologia.

— *Complicanze vascolari del diabete*

L'attività sperimentale è stata focalizzata sullo studio delle alterazioni di specifiche molecole di segnale correlate al sistema renina-angiotensina indotte dal *milieu* diabetico a livello retinico, con particolare riferimento alla patogenesi del danno neuro gliale e ha evidenziato il ruolo di queste attivazioni nei segnali di sopravvivenza neuronale, evidenziando la necessità di stabilire le fasi di sviluppo del danno retinico in corso di diabete al fine di attuare un più efficace approccio terapeutico.

Nell'ambito delle alterazioni metaboliche determinate dall'iperglicemia, è stata messa a punto una metodica di valutazione dei livelli di prodotti avanzati della glicazione (AGE) in pazienti diabetici, al fine di identificare un marker di complicanze applicabile sulla popolazione a rischio.

Inoltre è in corso una collaborazione con il CNEPS nell'ambito del Progetto IGEA (Integrazione, GEstione e Assistenza per la malattia diabetica) che ha come obiettivo l'implementazione di un modello di assistenza di tipo gestione integrata per la prevenzione delle complicanze del diabete mellito di tipo 2, che ha prodotto un documento di indirizzo sull'applicazione del modello di gestione integrata di questa patologia e un documento relativo ai requisiti informativi necessari a tale fine, distribuito alle Regioni e agli operatori interessati.

— *Attività di sorveglianza*

Per ciò che riguarda l'attività di sorveglianza svolta nel Reparto, è proseguita l'attività di controllo nel settore endocrino-metabolico attraverso il coordinamento di due registri nazionali di patologia e dell'Osservatorio Nazionale per il Monitoraggio della Iodoprofilassi in Italia.

In particolare, i dati raccolti nel Registro Nazionale degli Ipotiroidi Congeniti hanno consentito di stimare un'incidenza della malattia pari a 1 caso su 2.400 nati vivi,

confermando un trend di incidenza in continuo aumento negli ultimi anni. Per ciò che riguarda l'attività di monitoraggio della iodoprofilassi in Italia, e grazie alla collaborazione con i Centri di Screening della Regione Lombardia, Marche e Calabria, sono stati analizzati i dati relativi ai valori di TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*) allo screening, quale marcatore biologico dello stato di iodocarenza di una popolazione, dei nati in queste Regioni nei due anni precedenti all'introduzione della iodoprofilassi nel nostro Paese (legge del 21 marzo 2005) e nei due anni successivi. I dati preliminari ottenuti hanno consentito di verificare che le tre Regioni esaminate sono ancora caratterizzate da una lieve carenza nutrizionale di iodio, confermando la necessità di supportare ulteriormente la campagna d'informazione per l'utilizzo del sale iodato presso la popolazione affinché il programma di iodoprofilassi sia efficace in termini di riduzione di patologie legate alla carenza nutrizionale di iodio (gozzo, ipotiroidismo congenito, disordini neurologici minori). Infine, l'attività condotta nell'ambito del Registro Nazionale degli Assuntori dell'Ormone della Crescita ha portato allo sviluppo di una scheda di segnalazione web da utilizzare, in base della normativa vigente, per la comunicazione, al Registro stesso e alle autorità regionali, delle prescrizioni di ormone somatotropo.

Reparto Neurobiologia molecolare

Il Reparto si occupa di:

- *Malattie rare e neurobiologia del complesso DGC (Dystrophin-associated Glycoprotein Complex)*

Sono proseguiti gli studi volti a chiarire le interazioni e il ruolo dei complessi di proteine associati alla distrofina nel sistema nervoso, in situazioni fisiologiche e patologiche, nell'ipotesi di un suo possibile coinvolgimento in disfunzioni neuronali e nel deficit cognitivo spesso associato a distrofie muscolari congenite.

- al fine di identificare i residui fosforilati da PKA della beta distrobrevina sono state espresse e fosforilate *in vitro* diverse regioni della distrobrevina, questo ha permesso di restringere ai primi 50 amino acidi della regione N-terminale il sito di fosforilazione che regola il legame della distrobrevina con chinesina; questa regione potrebbe contenere inoltre una seconda regione di legame per la subunità regolatoria R1a, che caratterizzerebbe la distrobrevina come una *dual AKAP*;
- si è iniziato a studiare: i) il ruolo della distrobrevina e nell'organizzazione sinaptica usando come modello sperimentale il ganglio cervicale superiore di topo in condizioni normali e dopo assotomia; ii) le sue modifiche in un modello di distrofia muscolare congenita caratterizzata da alterazioni neuronali (topi $dy^{2j/2j}$) sia nel tessuto muscolare sia nel tessuto nervoso;
- sono proseguiti gli studi di caratterizzazione dell'interazione tra b-distrobrevina e iBRAFF, una proteina della famiglia delle *HMG-domain proteins* la cui espressione annulla gli effetti del repressore neuronale REST e avvia il programma di differenziamento neuronale. Poiché proteine che interagiscono tra loro sono con ogni probabilità coinvolte negli stessi processi biologici, utilizzando tecniche di biochimica e di biologia molecolare e cellulare, abbiamo ottenuto evidenze che suggeriscono che la distrobrevina potrebbe avere un ruolo significativo nella neurogenesi;
- sono stati ottenuti dati che indicano un coinvolgimento di componenti del DGC nella stabilizzazione e organizzazione di MLC1 una proteina transmembrana espressa principalmente negli astrociti le cui mutazioni sono responsabili di una malattia

genetica rara (leucoencefalopatia megalencefalica con cisti). Lo screening di una libreria di cDNA da cervello umano attraverso la tecnica del doppio ibrido nel lievito effettuato utilizzando l'estremità amino terminale di MLC1 come proteina "esca" ci ha permesso di identificare una dozzina di proteine partner di MLC1. Sono in corso esperimenti *in vitro* e *in vivo* per caratterizzare le interazioni, e chiarirne il significato funzionale.

— *Malattie neurodegenerative: modelli in vivo e in vitro*

- È proseguito lo studio su modelli di retinopatia diabetica, sia *in vitro*, sia *in vivo*. I risultati ottenuti dall'analisi del *signaling* associata al sistema renina-angiotensina (RAS) in espianti retinici coltivati in un *milieu* diabetico hanno mostrato che condizioni di alto glucosio *up-regolano* il recettore 1 per l'angiotensina, attivano sia la tirosinchinasi *src* che proteine segnale e fattori di trascrizione. Alcuni segnali erano dipendenti da RAS ma non l'attivazione della glia di Muller. In linea con l'attivazione di segnali di neuroprotezione non abbiamo osservato apoptosi o danno sinaptico.
- Si è concluso lo studio sulla neurotossicità della proteina amiloide calcitonina, che ha mostrato come le cellule neuronali risultino più sensibili al danno indotto dalle specie oligomeriche, rispetto a cellule colture primarie o linee cellulari di diversa istogenesi. La maggiore suscettibilità è stata messa in relazione al diverso contenuto in *raft* della membrana plasmatica dei neuroni maturi. Il relativo manoscritto è in fase di preparazione.
- Prosegue lo studio della tossicità degli aminoacidi a catena ramificata su colture neuronali primarie di ippocampo e corteccia e sui modelli *in vitro* di neurotossicità e neuroprotezione sulla retina.
- Sono proseguiti gli studi volti a chiarire i meccanismi di *signaling* correlati alla modulazione dell'attività delle chinasi (*src* e *lyn*) della famiglia di *src* in un modello sperimentale di Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) di tipo familiare umano, topi transgenici SOD1/G93A(+) in fase avanzata o presintomatica. Questa classe di chinasi, considerate target specifici dello stato redox intracellulare è coinvolta nella funzionalità recettoriale glutammatergica (NMDA, AMPA) che nella SLA è notevolmente alterata. I risultati ottenuti indicano che sia nella corteccia cerebrale che nel midollo spinale dei topi mutati l'attività di *src* aumenta così come la fosforilazione di specifici substrati di *src* che potrebbero essere coinvolti nella neurodegenerazione.
- Per lo studio delle alterazioni funzionali delle membrane plasmatiche neuronali, che rappresenta un punto importante per la ricerca dei meccanismi patogenetici della Niemann-Pick di tipo C (NPC), sono stati utilizzate fettine di ippocampo e colture ippocampali primarie derivanti da topi NPC^{-/-} e topi di controllo per valutare le proprietà elettrofisiologiche. Nel loro insieme i risultati ottenuti indicano che la trasmissione sinaptica eccitatoria è fortemente alterata nel modello animale della malattia Niemann-Pick di tipo C da noi utilizzato, supportando l'importanza di tali meccanismi nell'insorgenza dei disturbi neurologici associati con la patologia umana.
- Sono proseguiti gli studi sull'azione neuroprotettiva della timosina β_4 , un piccolo peptide capace di influenzare i delicati equilibri di polimerizzazione dell'actina citoscheletrica. I nostri studi indicano che la riduzione dei livelli di Tb4 nelle cellule staminali neurali embrionali murine, promuove il differenziamento verso un fenotipo neuronale, portando ad un aumento significativo dei neuroni in coltura. Inoltre, i neuroni che si sviluppano possiedono un maggior numero di neuriti, significativamente più estesi, a formare una rete elaborata di connessioni. Le cellule staminali neurali esprimenti ridotti livelli di Tb4, sono state quindi trapiantate *in vivo*

- in un modello murino di lesione spinale, consentendo un recupero significativo dell'attività locomotoria.
- A livello molecolare sono proseguiti gli studi sulle modificazioni (nitrazioni e fosforilazioni) indotte dal perossinitrito alle terminazioni sinaptiche. In particolare abbiamo identificato mediante MALDI-ToF i diversi peptidi contenenti le tirosine nitate e fosforilate della sinaptofisina, una proteina delle vescicole sinaptiche, e dimostrato che solo quando è fosforilata la sinapsina è in grado di legare e attivare la proteina chinasi *src*. La presenza di fosfotirosine o di nitro tirosine potrebbe regolare in condizioni fisiopatologiche le interazioni della sinaptofisina con altri componenti delle vescicole sinaptiche e delle proteine coinvolte nella formazione dei complessi macromolecolari che regolano il rilascio e la funzionalità sinaptica. In uno studio in collaborazione è stato il ruolo svolto dalle chinasi della famiglia di *src* nella risposta cellulare innescata dall'induzione della proteina Nef del Virus HIV-1 trasfettata in cellule macrofagiche U937. I risultati hanno dimostrato che l'induzione di Nef regola l'attività della NADPH ossidasi e la produzione di superossido, attraverso l'attivazione delle chinasi *src* (*hck*, *lyn* e *c-src*) e PI3K.
 - Sono proseguiti gli studi sul ruolo della *DNA-dependent protein kinase* una serina/treonina chinasi essenziale per il riparo delle rotture a doppio filamento del DNA nella degenerazione neuronale e nella plasticità sinaptica. Si è valutata l'ipotesi che la significativa diminuzione dei livelli proteici della DNA-PK osservata nella corteccia di pazienti affetti dalla malattia di Alzheimer (AD) si correla con una ridotta attività di riparo del DNA e che DNA-PK possa essere un potenziale biomarcatore per la diagnosi e per il monitoraggio della progressione dell'AD. A tal fine è stato condotto uno studio pilota che ha evidenziato come sia necessaria l'analisi di un numero ampio di campioni al fine di ottenere dati statisticamente significativi che ha permesso la messa a punto di protocolli per la quantificazione relativa e assoluta della DNA-PK mediante tecniche di spettrometria di massa nei lisati cellulari totali o frazionati direttamente di PBMC senza necessità di arricchire i campioni mediante tecniche di immunoprecipitazione. Questo risultato prospetta la possibilità di effettuare lo screening dei campioni provenienti dai pazienti AD in modo rapido, poco dispendioso e a partire da una quantità limitata di proteine.

Reparto Neurologia sperimentale

Nel corso del 2008 sono proseguite le seguenti attività di ricerca:

- *Meccanismi recettoriali coinvolti nella funzionalità e sopravvivenza delle cellule gliali al fine di identificare bersagli farmacologici per il trattamento delle patologie infiammatorie neurodegenerative e demielinizzanti*
- Recettori purinergici P2Y in colture microgliali: sono proseguiti gli studi riguardanti la correlazione fra funzionalità ed eventi mitocondriali e lo stato di attivazione microgliale, prendendo in considerazione due aspetti: la modulazione dell'espressione della proteina mitocondriale UCP2 (*Un-Coupling Protein 2*), che è risultata diminuire in seguito ad attivazione di tipo "pro-infiammatorio" (LPS); la capacità degli specifici sottotipi P2Y di promuovere l'aumento di Ca^{2+} nella matrice mitocondriale, che è risultata maggiore per i recettori attivati dall'ADP (P_2Y_{12} e P_2Y_1), e sensibile allo stato di attivazione per quanto riguarda i recettori sensibili all'UTP/UDP (P_2Y_2 , P_2Y_6) (De Nuccio *et al*, submitted). Nel complesso si avvalora l'ipotesi di un ruolo svolto dalla componente mitocondriale nella determinazione dello stato funzionale della microglia.

- Recettori nucleari PPAR-g, in oligodendrociti: sono proseguiti gli studi riguardanti il ruolo del recettore nucleare PPAR-g nella protezione dal danno ossidativo e nella promozione della mielinizzazione in colture di oligodendrociti. In particolare, in seguito all'attivazione di tale recettore si è evidenziato una aumentata espressione di SOD2 e UCP2, rispettivamente responsabili della degradazione dello ione superossido e della diminuzione della sua produzione da parte dei mitocondri. Inoltre, si è osservata un'aumentata capacità da parte dei mitocondri di regolare la propagazione di onde citoplasmatiche di Ca^{2+} , conosciute come eventi promuoventi la mielinizzazione.
- Recettori per l'acetilcolina nella sopravvivenza, proliferazione e differenziamento di oligodendrociti di ratto, in collaborazione con il Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo, "Sapienza" Università di Roma. I risultati ottenuti suggeriscono che il trattamento colinergico potrebbe influenzare lo sviluppo degli oligodendrociti *in vitro* prevenendone la maturazione in cellule formanti mielina e promuovendo il mantenimento delle cellule in uno stato di proliferazione.
- *Marcatori di danno infiammatorio e ossidativo in patologie neurologiche infiammatorie del neonato e dell'adulto*
 - misurazione dei livelli di isoprostano nel plasma ottenuto dal sangue cordonale umano come indice di eventi di sofferenza fetale o perinatale, con particolare riguardo a nascite bi e trigemine, in collaborazione con il Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova;
 - misurazione dei livelli di isoprostano come indice del danno assonale nella sclerosi multipla, in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze, "Sapienza" Università di Roma;
 - valutazione della capacità anti-ossidante plasmatica (come indice di vulnerabilità o protezione individuale all'insulto di tipo ossidativo, in relazione al declino cognitivo dei soggetti) e di marcatori del danno cerebrale di tipo ossidativo (isoprostani, proteine) nel liquido cerebro-spinale di pazienti con moderato deficit cognitivo (MCI) o affetti da malattia di Creutzfeldt-Jakob;
 - misurazione dei livelli di isoprostano e capacità anti-ossidante plasmatica in un modello transgenico di morbo di Alzheimer in collaborazione con il Dipartimento del Farmaco (ISS) e l'*Institute of Neuroscience, Autonomous University of Barcelona* (Spagna).
- *Ruolo dell'infiammazione e dell'attivazione microgliale nella regolazione della neurogenesi*

Questi studi, condotti proseguendo la collaborazione con il Dipartimento di Biologia Cellulare e dello Sviluppo, "Sapienza" Università di Roma, hanno come obiettivo l'identificazione dei fattori molecolari responsabili degli effetti anti-neurogenici o pro-neurogenici esercitati dalla microglia in condizioni di attivazione acuta e cronica, rispettivamente, riportati in precedenza dal nostro gruppo. I risultati ottenuti nel corso di quest'anno definiscono un nuovo ruolo per la citochina interleuchina 1-alfa (IL-1a), una delle citochine pro-infiammatorie più fortemente indotte in microglia in seguito a stimolazione acuta e down-regolate in seguito a stimolazione cronica, quale importante modulatore del destino differenziale delle cellule staminali/progenitrici neurali.
- *Modelli animali per lo studio dei fattori predisponenti ai processi di neurogenerazione*
 - studio sui fattori di protezione dallo stress ossidativo in un modello animale (topi p66shc-/-), in collaborazione con il Reparto Neuroscienze Comportamentali, Dipartimento BCN;

- studio sui fattori di rischi per le malattie neurodegenerative quali l'ipertensione arteriosa, in collaborazione con Neuromed (Pozzilli, Isernia);
- studi sul ruolo dello stress ossidativo e dell'attivazione microgliale in un modello funzionale di morbo di Parkinson (lesione bilaterale con 6OH-dopamina), in collaborazione con il Dipartimento del Farmaco e il Dipartimento BCN prevista dal programma di ricerca ex art. 56 L 2004;

Reparto Neuroscienze comportamentali

Il Reparto di Neuroscienze comportamentali, istituito nel 2004 (su un impianto istituzionale del 1990), è costituito da sei unità di personale a tempo indeterminato e da cinque unità di personale a tempo determinato. L'attività scientifica copre un vasto spettro di tematiche di tipo psicobiologico, con particolare enfasi su aspetti ontogenetici.

Il Direttore del Reparto, oltre a coordinare direttamente e di concerto vari progetti di ricerca, è attualmente Presidente della Società Italiana di Etologia (sito Internet: <http://w3.uniroma1.it/sie/>), nell'ambito della quale promuove un indirizzo verso temi di psichiatria biologica. È inoltre membro della commissione per la ricerca dell'Accademia Nazionale dei Lincei (sito Internet: <http://www.lincoi.it/>). Il Reparto partecipa regolarmente a commissioni di Dottorato internazionali, e alla formazione di studenti dottorali italiani e stranieri. Nell'ambito del Programma Accademia dell'*Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats* (ICREA), partecipa alla selezione per posizioni privilegiate a docenti delle Università Catalane. Nel complesso, dunque, il Reparto partecipa a programmi nazionali e internazionali di valutazione scientometrica e di trasformazione strutturale e funzionale di istituzioni scientifiche nazionali e internazionali.

L'attività di formazione è tradizionalmente vivace. Ospita regolarmente studenti tesisti e dottorandi da vari Paesi europei, oltre a organizzare, su base settimanale, seminari formativi aperti a un limitato numero di uditori esterni. Alcuni studenti di un liceo scientifico romano trascorrono regolarmente un breve stage formativo.

Un impegno importante riguarda il perfezionamento delle linee guida nazionali e internazionali (OCSE) per l'etologia e vari aspetti di bioetica applicata. Esercita più di recente una costante azione d'indirizzo nazionale per le attività di *pet-therapy* in Italia. Effettua regolare attività di espressione di pareri sulle richieste di autorizzazione in deroga, secondo il DL.vo 116/1992 sull'impiego degli animali nella sperimentazione biomedica per roditori e primati. Quest'anno di discussione della nuova Direttiva Europea ha visto il Reparto impegnato a livello nazionale e internazionale nella duplice attività di coordinamento a livello europeo (soprattutto per la Primatologia), anche finalizzato al progetto EATRIS, e di promozione della cultura delle "3 R" a livello nazionale.

Sono attivi (VI FP) i progetti europei INTELLIMAZE (sito Internet: <http://www.intellimaze.eu/forum/>) e STARFLAG (sito Internet: <http://angel.elte.hu/starling/>).

Riguardo, infine, all'attrazione di risorse extra murali risulta per la progettualità del Reparto un numero di 18 proposte di Progetti *pending* (sotto valutazione), di cui 11 nazionali e sette internazionali.

Ulteriori informazioni sulle tematiche di ricerca sono disponibili sul sito Internet "NeCo": <http://www.iss.it/neco/>.

Nel 2008 sono proseguite le ricerche tradizionali, dall'analisi dei fenomeni di stress e *coping* (esteso ad ambienti estremi quali microgravitazionale spaziale e Antartico), agli studi epidemiologici e sperimentali su malattie neuropsichiatriche (inclusa la depressione associata al Parkinson), in particolare durante lo sviluppo. Sempre nell'ambito dei disordini neuropsichiatrici sono proseguiti studi su modelli murini transgenici (sindrome di Rett, corea di

Huntington, autismo infantile), anche in collaborazione con gruppi di ricerca intramurali, nazionali e internazionali. Infine, lo studio dei fattori di rischio presenti durante l'adolescenza ha ulteriormente caratterizzato specifici elementi psicobiologici responsabili di *pattern* comportamentali devianti e di accentuata vulnerabilità (farmaci di abuso).

Sono proseguite le ricerche sul ruolo patogenetico esercitato da ambienti caratterizzati da elementi fisici o sociali tali da modificare il sistema nervoso centrale (SNC) e il comportamento nell'adulto, dove i livelli di espressione di *Nerve growth factor* (NGF) e *Brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) variano in funzione di esperienze precoci. Tali ricerche riguardano anche pazienti affetti da disturbi dell'umore e da varie patologie a carattere depressivo, soprattutto la depressione c.d. atipica.

È progredita l'attività di standardizzazione delle tecniche automatizzate per la caratterizzazione fenotipica di ceppi murini mutanti e transgenici. Si sono estese le attività mirate a migliorare le condizioni di benessere psicofisico negli animali da esperimento (roditori e primati) e nelle specie da affezione e da reddito. Sono state condotte regolari attività di formazione, aggiornamento e prevenzione nel settore dell'etologia, della psicobiologia, della psichiatria biologica, della neuropsichiatria infantile (Corsi di formazione ISS: 15-16 maggio 2008 – “Salute della donna e del bambino, aspetti clinici e sperimentali dell'esposizione all'alcol”; 7-8 novembre 2008, in collaborazione con il Dipartimento di Medicina Sperimentale, “Sapienza” Università di Roma – “Nozioni di strategia individuale per la stesura di un lavoro scientifico internazionale. Come, dove, quando”; 4-5 dicembre 2008 – “Terapie e Attività Assistite in Italia: attualità, prospettive e proposta di linee guida”), con un graduale coinvolgimento degli elementi più giovani del Reparto, attivamente impegnati nella storiografia scientifica e nella divulgazione della cultura tecnico-scientifica a livello nazionale e internazionale.

Il sito istituzionale ha preso ulteriore consistenza, in particolare per la *pet-therapy* e la formazione universitaria e post-universitaria. Si sono intensificate attività finalizzate a ottenere fondi da Agenzie nazionali e internazionali, e la formulazione di pareri su temi di sanità pubblica sia per malattie dell'SNC e del comportamento (inclusa la sindrome di Rett, una malattia rara), sia per temi di veterinaria e di conservazione della biodiversità. Il Reparto ha avuto finanziato un progetto “Under 40” (Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali) su un innovativo modello di Sindrome da deficit di attenzione e iperattività (*Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder*, ADHD).

Reparto Neurotossicologia e neuroendocrinologia

Il Reparto di Neurotossicologia e neuroendocrinologia, istituito nell'aprile del 2008, è costituito da tre unità di personale a tempo indeterminato e da due unità di personale a tempo determinato.

L'attività sperimentale del Reparto è incentrata sullo sviluppo di modelli di rischio neurotossicologico e neuroendocrino, riferibili ad aspetti di salute pubblica di notevole impatto a livello europeo e mondiale, in particolare per quanto riguarda: i) il ruolo dei fattori ambientali e la loro interazione con il background genetico nella eziologia dei disordini comportamentali e psichiatrici in età evolutiva e nella vulnerabilità a patologie neurodegenerative in età adulta e nell'invecchiamento, e ii) i rischi per la salute materno-infantile rappresentati dagli agenti chimici con attività di interferenti endocrini. Nel nuovo Reparto sono presenti competenze consolidate in biostatistica che consentono l'estensione dell'attività sperimentale condotta su modelli animali ai dati clinici ed epidemiologici ottenuti attraverso il monitoraggio di popolazioni a rischio nell'ambito di progetti nazionali e transnazionali (azione concertata europea HENVINET e progetto ISS/CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) su

effetti metilmercurio nei vaccini; collaborazioni con l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma, e con l'IRCCS Stella Maris di Pisa) e la collaborazione a registri per patologie neuropsichiatriche in età evolutiva (ADHD). L'attività istituzionale del Reparto consiste nella valutazione delle pratiche di autorizzazione in deroga alla sperimentazione animale, e più in generale in attività volte ad adeguare a livello nazionale gli standard di *animal care* per la riduzione delle condizioni stressanti o dolorose per il soggetto animale sperimentale. Tali competenze vengono anche impiegate per contributi alla rielaborazione della legislazione europea in merito, soprattutto nell'ambito del progetto EATRIS.

Resoconto attività 2008:

- Valutazione degli effetti del pesticida organofosforico clorpirifos su parametri comportamentali e neuroendocrini in modelli murini. Sono stati evidenziati effetti relativi alla maturazione dei comportamenti sociali e delle risposte emozionali, in associazione con alterazioni nei livelli di neuropeptidi ipotalamici e della funzionalità e morfologia tiroidee. Questi studi dimostrano per la prima volta che i pesticidi organofosforici esplicano, oltre alla loro nota azione neurotossica sulla trasmissione colinergica, un'attività da interferenti endocrini, anche nel caso di esposizioni a basse dosi e comparabili con l'esposizione umana. Su questi temi, è stato organizzato un convegno in ISS sulle tematiche di salute connesse all'esposizione ad interferenti endocrini, mirato a costruire una rete di eccellenza italiana.
- Caratterizzazione di modelli genetici murini di Disturbi dello Spettro Autistico, nell'ambito del progetto ISS-NIH. In particolare, nel corso degli esperimenti condotti nel 2008 presso il *Laboratory of Behavioral Neuroscience* del *National Institute of Mental Health* (NIMH) di Bethesda sono state evidenziate alterazioni nelle caratteristiche spettrografiche delle vocalizzazioni emesse da topi BTBR (un modello putativo di autismo) che potrebbero essere considerate indicatori comportamentali di un deficit nella comunicazione sociale, utilizzabili per saggiare anche in fasi precoci dello sviluppo l'eventuale efficacia di terapie innovative con potenziale valore traslazionale.
- Studio del ruolo protettivo della idrolasi hMTH1 nella neurodegenerazione (corea di Huntington) e nei processi di senescenza indotti da stress ossidativo, tramite la caratterizzazione neurocomportamentale di un modello murino transgenico con elevata espressione di hMTH1 e di topi transgenici R6/2 che esprimono Huntingtina mutata (finanziamento Telethon, Progetto malattie Neurodegenerative).
- Attività preparatoria del trial clinico nell'ambito del progetto "ADCARE" (AIFA) relativo all'impiego di farmaci antipsicotici nella demenza di Alzheimer; compilazione di una prima analisi descrittiva del registro ADHD nell'ambito di un progetto AIFA relativo alla valutazione degli effetti collaterali di metilfenidato e atomoxetina nei bambini ADHD.
- Partecipazione alla elaborazione di linee guida EU (*European Environment and Health Strategy*, Piano d'Azione 2004-2010; Azione Concertata HENVINET) e OCSE (*Developmental Neurotoxicity Testing Guidelines*). Partecipazione al Working Group 2 del WP8 del Progetto EATRIS, relativo ai temi della sperimentazione e del benessere animale nell'ambito di infrastrutture europee per la medicina traslazionale.
- Attività di formazione dirette al personale del Servizio Sanitario Nazionale e a studenti universitari e postuniversitari e agli studenti delle scuole superiori con un progetto mirato alla diffusione della cultura scientifica (Finanziamento MUR n. Q28).

Reparto Terapia genica e cellulare

Le attività di ricerca del Reparto si svolgono sulle seguenti linee:

- *Regolazione della cellula staminale*
Fenotipo indotto da ridotta espressione di GATA-1 (topi GATA-1^{low}). È stata identificata una regolazione alternativa del gene GATA-1 nella milza indicando una possibile interazione microambiente cellula staminale.
- *Differenziazione eritroide*
Si sono proseguiti gli studi sull'effetto dei corticosteroidi ed estrogeni sulla regolazione delle fasi terminali del differenziamento eritroide in cellule primarie. È stata identificata un'alterazione della regolazione in cellule derivata da pazienti affetti da *Polycythemia Vera*. È stata identificata la presenza del recettore R2 di TRAIL sulla superficie degli eritroblasti e l'assenza delle altre isoforme e del ligando.
- *La proteina Nef di HIV-1 nel controllo dell'attività della NADPH ossidasi*
La proteina Nef di HIV-1 occupa un ruolo primario nella patogenesi e nell'evoluzione dell'AIDS interferendo con l'attività delle cellule del sistema immunitario innato. Recentemente abbiamo dimostrato che Nef è in grado di indurre la fosforilazione e la migrazione in membrana della subunità citosolica della NADPH ossidasi p47^{phox} mediante l'attivazione di alcune chinasi della famiglia Src (Hck, Lyn e c-Src) e della PI3K.
- *Sviluppo di progetti di formazione e networking per le strutture italiane coinvolte nella produzione di prodotti medicinali avanzati*
Questa attività si è concretizzata nella preparazione di cinque corsi per gli addetti alla produzione di prodotti medicinali avanzati svoltosi in ISS.
- *Sviluppo del RIBBO, Rete Italiana delle Bio-Banche Oncologiche*
Progetto finanziato dalla ACC per la formazione di una rete nazionale. Questa attività si è concretizzata nel 2008 nella preparazione di una relazione sulla situazione e nella programmazione di attività supporto della rete. Una di queste si è concretizzata nella stesura di un modello di consenso informato standard per la donazione di campioni biologici per ricerca presentato al Comitato Misto della Presidenza del Consiglio per l'adozione e la pubblicazione.