

Titolo Progetto di ricerca:

## **Dalla scienza dei materiali allo sviluppo di nuovi dispositivi per la diagnosi e la cura di patologie associate all'invecchiamento**

### **KRONOS**

#### **A.2 Aree tematiche**

Indicare in quale delle aree tematiche rientra il Progetto di Ricerca:

- 1. Agroalimentare
- 2. Energia – Ambiente (ivi incluso il programma europeo sul clima 2020)
- 3. Salute
- 4. Manifatturiero Avanzato (ivi compresi Beni Culturali)

#### **A.3 Luogo di realizzazione del Progetto di Ricerca**

Indicare il Comune/i dove sarà realizzato il Progetto di Ricerca.

Pavia

#### **A.4 Durata del Progetto di Ricerca**

Indicare la durata di realizzazione del Progetto di Ricerca in numero di mesi complessivo.

18

#### **A.7 Contesto di riferimento, motivazione e problematica affrontata**

Indicare le principali problematiche a cui il Progetto di Ricerca vuole rispondere e le soluzioni ipotizzate per raggiungere gli obiettivi del Programma. Illustrare il vantaggio della/e soluzione/i tecnologica/e proposta/e (fornire una descrizione sintetica dello stato attuale dello sviluppo nel campo tecnico-scientifico trattato, il valore "innovativo" aggiunto del Progetto di Ricerca rispetto all'esistente, la trasferibilità del progetto in altri contesti e esemplari

Il cancro e le patologie degenerative da deposizione di proteine, quali le patologie neurodegenerative, rappresentano categorie nosologiche di crescente impatto socio-economico, perché strettamente legate al rapido processo di invecchiamento della popolazione. Queste patologie propongono alla scienza medica nuove sfide che devono essere affrontate con approcci sempre più multidisciplinari e che prevedano il contributo di scienze diverse quali la genetica, la chimica, la fisica e la medicina. Il nostro progetto di ricerca è fortemente caratterizzato da un approccio multidisciplinare che si svilupperà verso tre principali obiettivi:

- 1) comprensione delle basi molecolari dei meccanismi patogenetici;
- 2) messa a punto di nuove metodologie per la diagnosi precoce (identificazione di fasi della malattia sensibili ai farmaci);
- 3) sviluppo di nuovi farmaci e ottimizzazione di nuovi approcci terapeutici razionalizzati sulle basi molecolari delle malattie.

Le malattie mieloproliferative e le malattie degenerative da deposizione di proteine amiloidi di cui ci occuperemo sono due categorie nosologiche che nascono da meccanismi patogenetici apparentemente assai diversi tra loro, ma rappresentano due prototipi di patologie chiaramente legate ai processi di invecchiamento. Mentre per la prima patologia vi è una approfondita conoscenza sulle anomalie cellulari responsabili della malattia, nel secondo caso le conoscenze più approfondite riguardano le anomalie strutturali e funzionali delle proteine che si depositano nei tessuti. Il gruppo che propone il progetto include ricercatori che hanno una lunga tradizione di ricerca su queste malattie e che hanno contribuito in modo fondamentale a livello internazionale a definirne le cause e le possibili terapie (Merlini & Bellotti N Engl J Med 349(6):583-96 2003) (Cazzola M et al Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2008:166-75.). Il progetto è organizzato in 5 macrosettori di attività (Figura 1) in cui sono raccolte le varie attività clinico-biologico-molecolari e tecnologiche.

Per le due patologie in esame esiste un'ampia casistica clinica e una collezione di tessuti e fluidi biologici che in questi anni sono stati raccolti e catalogati in un banca di tessuti. I tre gruppi clinici (macrosettori 1 e 2 - Figura 1) guidati dal Prof Giampaolo Merlini, dal Prof Mario Cazzola e il Prof Carlo Balduini sono responsabili di registri nazionali delle malattie e partecipano a reti di centri europei ed extraeuropei per la raccolta di casistica e validazione di nuovi approcci diagnostici e terapeutici (vedi allegato delle collaborazioni internazionali). Lo studio clinico di queste due patologie sta generando specifiche problematiche che devono essere affrontate sul piano molecolare. La rete di laboratori collegati all'interno del progetto comprende esperti in aspetti della genetica, biologia strutturale, biochimica, fisiopatologia, ed istopatologia di questo tipo di malattie (macrosettore 3 Figura 1) e ricercatori dei settori chimico, fisico e ingegneristico di grande esperienza nello studio dei biomateriali e nella preparazione di dispositivi analitici adattabili a problematiche biologiche (macrosettore 4 Figura 1). Lo studio della casistica clinica con approcci

molecolari la disponibilità di nuove tecnologie analitiche e la possibilità di manipolare a livello atomico nuovi materiali renderà possibili avanzamenti significativi sul piano della diagnostica e terapia che verranno principalmente sviluppati da ricercatori del settore clinico e farmacologico (macrosettore 5 Figura 1).

La rete di ricercatori di tutti i settori lavorerà con i gruppi clinici nell'affrontare le principali problematiche che rendono così gravi e scarsamente curabili questo tipo di patologie. In particolare, per quanto riguarda le malattie mieloproliferative associate alle mutazioni dei JAK2 già ampiamente caratterizzate da Cazzola e coll. (J Clin Oncol. 2009, 27:754-62) si potrà verificare la relazione tra mutazioni geneticamente trasmesse, fenotipo clinico e risposta alle terapie. Inoltre studi simili riguarderanno le mutazioni del gene *TET2* (cromosoma 4q24) e del gene *CBL* (cromosoma 11q23.3) in cui abbiamo recentemente scoperto mutazioni responsabili della trasformazione neoplastica. Per quanto riguarda invece le patologie da deposizione amiloide (malattie neurodegenerative e amiloidosi sistemiche) le problematiche che saranno affrontate e che appaiono di più difficile soluzione riguardano i meccanismi della sofferenza cellulare indotta dalle proteine aggregate, la suscettibilità individuale a questo tipo di malattie e la identificazione di farmaci capaci di ripristinare l'omeostasi proteica e di inibire l'autoaggregazione dei peptidi amiloidi.

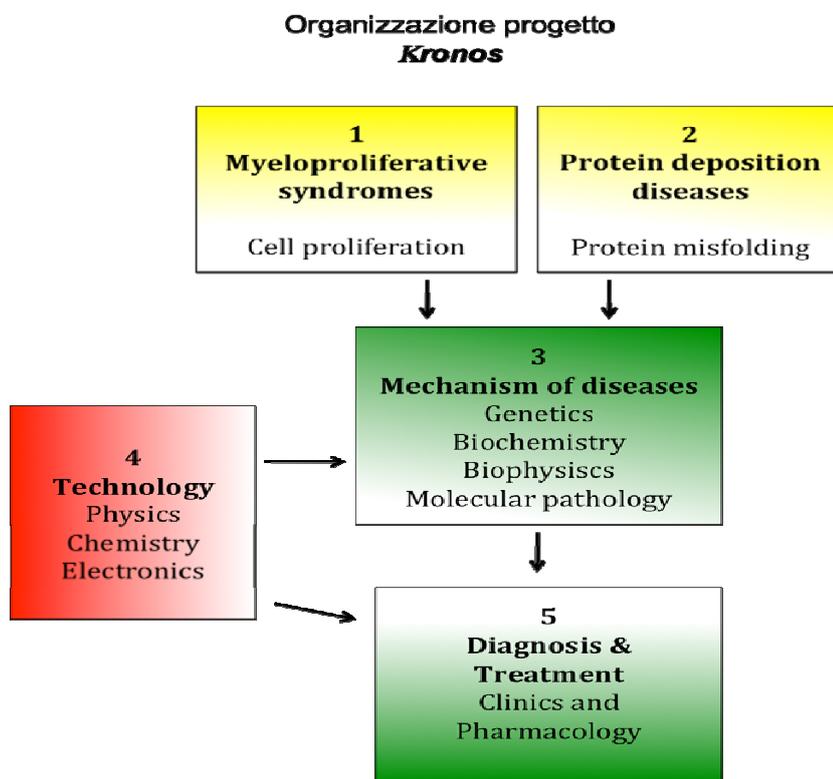


FIGURA 1

### A.8 Obiettivi e finalità del Progetto di Ricerca

Descrivere gli obiettivi generali e specifici del Progetto di Ricerca evidenziando: lo scenario complessivo di riferimento nell'ambito del quale il Progetto di ricerca trova la sua giustificazione; le motivazioni che hanno portato a proporre la realizzazione del Progetto di Ricerca la coerenza del Progetto di ricerca con le finalità del Bando e le priorità programmatiche regionali; gli elementi di innovatività del Progetto di ricerca.

Il progetto si propone obiettivi a livello: i) di ricerca fondamentale e sviluppo sperimentale e, ii) di alta formazione di ricercatori.

#### *i) ricerca fondamentale e sviluppo sperimentale.*

Per quanto riguarda le malattie mieloproliferative associate alle mutazioni del gene JAK2 già ampiamente caratterizzate da Cazzola e coll. e dei geni TET2 e CBL. Il progetto si pone l'obiettivo di verificare la relazione tra mutazioni geneticamente trasmesse, fenotipo clinico e risposta alle terapie. Si prevede di allestire un sistema di identificazione delle mutazioni che garantisca elevata efficienza e sensibilità (i.e. dispositivi fotonici in collaborazione con gruppi Patrini e Degiorgio) si studieranno geni associati all'invecchiamento cellulare specificamente isolati dalle cellule neoplastiche (gruppo Giulotto) e il ruolo del microambiente midollare (gruppo A Balduini) nell'annidamento e proliferazione delle cellule neoplastiche. La costruzione di sistemi, *in vitro*, che mimano l'ambiente tissutale si potrà avvalere delle competenze dei gruppi chimici (gruppi Pallavicini, Mustarelli) per la predisposizione di dispositivi bio-compatibili e di sensori

capaci di monitorare, in tempo reale, modifiche delle caratteristiche chimico fisiche dell'ambiente extracellulare. Gli studi sulla relazione molecolare tra tipo di mutazioni e fenotipo clinico e risposta alla terapia si potranno avvalere delle competenze di biologia strutturale (gruppo Binda) e di farmacologia (gruppo Lanni) che si focalizzeranno sugli effetti delle mutazioni sulla struttura e funzione della proteina JAK.

Per quanto riguarda le patologie associate alla deposizione di proteine amiloidi a livello cerebrale (patologie neurodegenerative) ed extra-cerebrale (patologie amiloidi) è nostro obiettivo affrontare il problema della selettività tissutale dei depositi patologici, comprendere il meccanismo di tossicità cellulare degli aggregati solubili e insolubili, studiare la suscettibilità individuale a queste patologie e studiare nuovi farmaci che inibiscano l'aggregazione proteica patologica.

La caratterizzazione proteomica e biochimica del materiale patologico naturale (gruppo Bellotti) verrà associata alla caratterizzazione con metodi di microscopia ad alta risoluzione quali il microscopio a forza atomica (gruppo Patrini e Mustarelli), l'immunocitochimica ultrastrutturale e la microscopia correlativa elettronico/confocale (gruppo Ricci-Solcia). Questi studi hanno l'obiettivo di ottenere le informazioni necessarie a ricostruire, *in vitro*, modelli in cui l'aggregazione delle proteine patologiche avvenga in condizioni simil-fisiologiche. La ricostruzione di modelli *in vitro* in cui studiare il processo di aggregazione si avvarrà delle competenze biochimiche nel campo della matrice extracellulare normale e patologica (gruppi Forlino- A. Balduini). Mediante l'utilizzo di modelli cellulari *in vitro* sviluppati dai progenitori emopoietici del sangue periferico verrà valutata la possibilità di normalizzare l'emopoiesi in eccesso o in difetto dei malati con malattie mieloproliferative mediante molecole dirette contro specifici bersagli molecolari. Ciò mira a sviluppare un approccio terapeutico "personalizzato" basato su sistemi *in vitro* capaci di predire la risposta in vivo del singolo paziente. Verrà valutata l'efficacia sia di farmaci già impiegati in altre condizioni patologiche che di composti innovativi identificati sulla base delle loro caratteristiche molecolari (gruppo Ca. Balduini)

Questi sistemi possono essere considerati dei veri bio-reattori per la crescita delle fibrille amiloidi e sono essenziali all'obiettivo di comprendere le condizioni chimico-fisiche permissive della fibrillogenes e scoprire farmaci capaci di inibire il processo. Allo sviluppo dei bioreattori e dei sensori necessari al monitoraggio di parametri chimico-fisici quali viscosità, pH, pressione, forza ionica etc contribuiranno con le proprie competenze e tecnologie i laboratori di chimica generale (gruppo Pallavicini) e chimica fisica (gruppo Mustarelli). Il processo aggregativo potrà essere studiato con tecniche di chimica analitica ad alta sensibilità e risoluzione (gruppo De Lorenzi). Uno degli obiettivi fondamentali del progetto riguarda la identificazione di fattori che accelerano il processo di invecchiamento o che rendano le cellule più sensibili alle patologie da accumulo proteico. Questi obiettivi saranno specificatamente perseguiti attraverso lo studio del coinvolgimento della proteina P53 nello sviluppo della malattia di Alzheimer (gruppo Lanni) e la caratterizzazione di aspetti funzionali del metabolismo telomerico nelle cellule esposte a materiale amiloide (gruppo Giulotto). La comprensione dei meccanismi di questo tipo di malattia richiede modelli di studio complessi e un obiettivo del progetto consiste nella messa a punto di modelli cellulari e tissutali di malattia. In particolare verrà caratterizzato il modello piastrinico della secrezione del peptide Abeta amiloide (gruppo Torti) e un modello di *Caenorabditis* che esprime proteine amiloidi globulari quali b2-microglobulina e transtiretina (gruppo Bellotti). Un ultimo obiettivo del progetto consiste nella definizione del meccanismo di citotossicità delle proteine amiloidi in diversi tipi cellulari e con diverso grado di differenziamento, avendo già dimostrato una diversa sensibilità di alcuni tipi cellulari agli effetti degli aggregati solubili di queste proteine (gruppo Garagna, Ricci-Solcia) investigando in dettaglio, per esempio, se e come un diverso intervento/efficienza dei meccanismi protettivi fisiologici cellulari di autofagia e proteolisi sia lisosomiale che extralisosomiale (sistema ubiquitina-proteasoma) svolga un ruolo in questa diversa sensibilità.

#### *ii) Alta formazione di ricercatori*

L'obiettivo primario dei percorsi avanzati di formazione che verranno istituiti nell'ambito del progetto è quello di avviare i giovani selezionati verso iniziative didattico-scientifiche in grado di integrare le competenze-esperienze maturate nel cammino di formazione a livello di dottorato di ricerca. Lo strumento adottato a tale scopo è l'attribuzione di assegni di ricerca. I giovani ricercatori verranno selezionati mediante concorso pubblico secondo le regole vigenti e svolgeranno la loro attività di ricerca nell'ambito delle tematiche di interesse del progetto stesso. Parte delle risorse finanziarie del progetto verrà dedicata al sostegno delle attività di ricerca-formazione utilizzando i seguenti strumenti: i) costituzione e ampliamento di una rete internazionale di collaborazioni (vedi parte finale del progetto; ii) soggiorno a Pavia di esperti qualificati italiani e stranieri chiamati a collaborare alle attività didattiche e di ricerca; iii) soggiorni all'estero dei giovani ricercatori presso le i laboratori della rete; iv) organizzazione di workshop e seminari di formazione (vedi WP5). Ci si attende che al termine del percorso formativo i giovani ricercatori abbiano conseguito un significativo arricchimento del loro bagaglio culturale ed abbiano maturato una elevata competenza ed autonomia nell'ambito delle tematiche di ricerca affrontate. Ci si attende inoltre che le attività formative previste conducano ad una maggiore attitudine agli approcci interdisciplinari ed alla valutazione della ricerca nell'ambito del contesto socio-economico del territorio.