

Piano di Sviluppo e Coesione del Ministero della Salute 2014-2020
Piano operativo salute - Traiettorie 4 "Biotecnologia, bioinformatica e sviluppo farmaceutico"
Progetto Pharma-HUB - Hub per il riposizionamento di farmaci nelle malattie rare del sistema nervoso in età pediatrica
codice identificativo T4-AN-04

Progetto Pharma-HUB

Hub per il riposizionamento di farmaci nelle malattie rare del sistema nervoso in età pediatrica

Obiettivo Specifico 3 (OS3). Messa a punto di una piattaforma per la validazione dei farmaci su sistemi in vitro 2D e 3D

L'obiettivo consiste nel validare l'efficacia di farmaci già utilizzati in clinica, e selezionati con metodi in silico, su cellule e tessuti derivati da pazienti o da modelli animali di patologia umana. Le colture cellulari bidimensionali (2D) sono uno strumento importante e largamente utilizzato per lo sviluppo di farmaci, ma presentano alcuni limiti rispetto alle colture cellulari tridimensionali (3D) in vitro. D'altra parte, la coltura cellulare 3D mantiene diverse funzioni del tessuto nativo e, in alcuni casi, anche la risposta fisiologica ai farmaci, ma è complessa da utilizzare su base routinaria. Considerando i potenziali vantaggi di entrambi i sistemi, la piattaforma si doterà di un ampio spettro di modelli di colture, che vanno dalle colture primarie alle colture organotipiche (fette di tessuto che conservano la struttura e l'organizzazione del tessuti da cui originano) di derivazione murina, e dalle linee cellulari sino agli sferoidi (semplici gruppi di cellule che non richiedono un'impalcatura per formare colture 3D) e agli organoidi (gruppi complessi di cellule organo-specifiche che si auto-assemblano quando viene fornita un'impalcatura) di derivazione umana. Gli sferoidi e gli organoidi da paziente daranno la possibilità di validare i farmaci in rapporto alla genetica e all'epigenetica del singolo donatore, facilitando l'identificazione della corte di pazienti con più possibilità di risposta terapeutica. Le cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC), che costituiscono le principali cellule dell'immunità e sono facilmente ottenibili dai pazienti, saranno particolarmente utili come modelli di malattia. Altrettanto utili saranno le cellule staminali pluripotenti indotte (hiPSC) ottenibili da fibroblasti cutanei o da PBMC di pazienti, che possono essere differenziati in tipi cellulari diversi a seconda della patologia cellulare di interesse. Le hiPSC verranno anche utilizzate per generare colture 3D di organoidi. A questa modellistica si affiancherà quella delle UDSC (urine-derived stem cell), che utilizza come fonte di staminali pluripotenti l'urina e per la sua semplicità di esecuzione del prelievo di campione biologico (caratteristiche) è particolarmente adatta ai pazienti pediatrici. Nel caso specifico della validazione di efficacia dei farmaci per la malattia A-T, poiché questa si manifesta con un'ampia gamma di manifestazioni cliniche, tra cui atassia cerebellare progressiva, perdita progressiva della forza muscolare, telangiectasie, immunodeficienza variabile, suscettibilità alle neoplasie e aumento delle malattie metaboliche, saranno utilizzati sistemi in vitro che possano essere rappresentativi dei diversi organi colpiti, cioè cervello, fegato, pancreas, nonché linfociti e muscolo striato. Lo studio delle vie dell'A-T attraverso la messa a punto di una piattaforma basata sui modelli (cerebellari e non) derivati dai pazienti risulta vantaggiosa per lo studio del riposizionamento del farmaco, strategia particolarmente utilizzata nel caso di malattie rare e ancora poco validata mediante i modelli organoide. Ai fini della validazione di efficacia dei farmaci selezionati, verranno quindi applicati, laddove possibile mediante high content analysis e/o microscopia ottica ad alta risoluzione, saggi di morte e vitalità cellulare, di valutazione dell'espressione genica e proteica, di valutazione del metabolismo energetico, di valutazione dell'instabilità genomica e di valutazione della risposta immunocellulare, nonché parametri biologicamente rilevanti su diverse scale spazio-temporali: morfologie/morfometrie cellulari e sub-cellulari, espressioni molecolari, concentrazioni di biomarker, interazioni, cinetiche di aggregazione e di dissociazione. La scelta di operare su più modelli di una stessa patologia d'organo (es. la degenerazione cerebellare) e di utilizzare più tecniche per la validazione dei farmaci consentirà di determinare il modello o i modelli più rappresentativi della patologia in oggetto e i biomarcatori di efficacia specifici di tale patologia o trasversali a più patologie d'organo che si presentano nella malattia.

Tale OS verrà coordinata da UNICT (leader) con la partecipazione di UPO, UniME, UO3 IRCCS Oasi Troina