

## AREA SCIENZE MEDICHE

### **Facoltà:**

*Preside: Prof. Luigi Ambrosi*

### **Personale docente:**

17	Professori ordinari
25	Professori associati
27	ricercatori universitari
02	assegnisti di ricerca

### **Personale tecnico e amministrativo**

di area amministrativa

di area tecnico scientifico

di area segreteria didattica

### **Articolazione della Facoltà**

- Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia;
- Corso di Laurea in Scienze delle Attività Motorie e Sportive;
- Corso di Laurea delle Professioni Sanitarie;

### **Strutture scientifiche:**

- Dipartimento di Scienze Chirurgiche;
- Dipartimento di Scienze Mediche e del lavoro;
- Dipartimento di Scienze Biomediche;

### **Dottorati di ricerca:**

- Tecniche diagnostiche e terapeutiche applicate alle scienze medico-chirurgiche gastroenterologiche ed endocrinologiche; aspetti anestesiológicos ed implicazioni medico legali;
- Didattica della medicina;
- Fisiopatologia e clinica dell'apparato cardiovascolare e respiratorio;
- Uomo e ambiente;
- Oncologia sperimentale e patologia molecolare dell'età evolutiva.

### **Strutture di Servizio:**

- Biblioteca;
- Laboratorio Informatico.

## DIPARTIMENTO SCIENZE CHIRURGICHE

Via L. Pinto, 1 71100 FOGGIA

**Direttore:** Prof. Vincenzo Neri

**Segretario:** Dott. Vincenzo Napoliello

**Professori Ordinari:** Antonio AMBROSINI (MED/18); Pasquale CASSANO (MED/31); Michele DAMBROSIO (MED/41); Nicola DELLE NOCI (MED/30); Vittorio FINESCHI (MED/43); Aurelio PORTINCASA (MED/40).

**Professori Associati:** Fabio BARTOLI (MED/20); Pantaleo BUFO (MED/08); Giuseppe CARRIERI (MED/24); Giovanni Carlo ETTORE (MED/36); Giuseppe GIORDANO (MED/18); Pantaleo GRECO (MED/40); Felice PIETROPAOLO (MED/40); Franco SPECCHIULLI (MED/33); Francesco SOLLITTO (MED/21).

**Ricercatori Universitari:** Gilda CINNELLA (MED/41); Alfredo DE LILLO (MED/28); Alberto FERSINI (MED/18); Cristiana IACULLI (MED/30); Antonio PENNELLA (MED/08); Nicola TARTAGLIA (MED/18); Roberta VINCI (MED/36).

**Personale Tecnico Amministrativo:** Maria Grazia CAPOGNA; Roberto DI MUZIO.

## PIANO ANNUALE RICERCHE

L'attività di ricerca del Dipartimento ritrova il suo elemento unificante nella matrice comune, clinica e morfologica, delle discipline chirurgiche generali e specialistiche, ginecologiche, anestesiologicalhe, anatomo - patologiche, integrate dalla radiologia e dalla medicina legale.

Essa, tuttavia, risulta, nella fase applicativa, differenziata in rapporto alle specializzazioni dei componenti del Dipartimento.

Le ricerche, programmate sono ordinate secondo le linee di indagine di seguito riportate:

- Anatomia patologica;
- Anestesiologia e rianimazione
- Chirurgia generale;
- Chirurgia toracica;
- Chirurgia pediatrica;
- Chirurgia plastica;
- Medicina legale;
- Oculistica;
- Ortopedia;
- Ostetricia e ginecologia
- Otorinolaringoiatria;
- Radiologia.

In ambito chirurgico (chirurgia digestiva, endocrinologica, ginecologica, toracica, ortopedica, pediatrica, ORL, oculistica), gli approcci mininvasivi acquisiscono sempre maggior affidabilità, sicurezza e quindi diffusione rispetto agli accessi tradizionali. Anche la patologia neoplastica, può oggi rientrare in queste modalità di trattamento. Pertanto l'interrogativo, cui al momento è necessario rispondere, riguarda le diverse modificazioni della risposta immunitaria e dello stress indotte da modalità diverse di approccio chirurgico (tradizionale vs. videoassistito). L'attesa di un minore impegno del sistema immunitario con le tecniche chirurgiche videoassistite, con minore compromissione delle condizioni generali e, per la patologia neoplastica, migliori risultati a distanza, ha provocato particolare attenzione al problema. Si integrano in questa linea di ricerca gli aspetti anestesiologicalhi, anch'essi condizionati dalle variazioni delle modalità d'accesso.

Non trascurabili le problematiche medico-legali connesse alla chirurgia mini-invasiva.

Un impegno di modificazione e adeguamento coinvolge la diagnostica per immagini e anatomo-patologica nel fornire riscontri completamente

affidabili. Questa problematica può rappresentare quindi un filo conduttore unitario delle linee di ricerca dipartimentali.

Un'ulteriore linea di ricerca si riferisce all'organizzazione delle metodiche ed indagini preliminari che hanno riguardato anche l'influenza del polimorfismo genico nella risposta ai farmaci analgesici e nelle modalità di sviluppo della patologia neoplastica renale e tiroidea. Inoltre il progetto che occuperà un posto rilevante nel programma di ricerca del Dipartimento è rappresentato dalla istituzione di un laboratorio per la ricerca in chirurgia sperimentale e dei trapianti.

La acquisizione da parte della ns. Università di una struttura edilizia, attualmente di proprietà del Ministero dell'Agricoltura, rappresenta l'avvio di questo progetto. In questa sede, completamente ristrutturata, possono trovare posto laboratori, stabulari e sale operatorie per la chirurgia sperimentale. A tal proposito il Dipartimento ha già stabilito l'acquisto di un parte dello strumentario chirurgico per l'attività di chirurgia sperimentale.

Questo impegno del Dipartimento di Scienze Chirurgiche è integrato con i programmi del Dipartimento di Scienze biomediche che realizzerà, nella stessa sede altri laboratori di ricerca.

Nel dettaglio il progetto "Chirurgia sperimentale e dei trapianti" può essere programmato nel modo seguente:

▪ **Descrizione dell'iniziativa**

La chirurgia sperimentale rappresenta un insostituibile mezzo di ricerca nell'ambito dell'attività di trapianto; modelli sperimentali, quali trapianti di rene negli animali di grossa taglia, ischemizzazione renale, preservazione renale possono essere realizzati solamente nell'ambito di un attrezzato laboratorio per la chirurgia sperimentale. Tale centro, realizzato nell'ambito dell'Istituto Foraggiero potrà integrarsi all'attività clinica di trapianto renale che presto sarà svolta presso gli Ospedali Riuniti di Foggia.

La gestione di questo centro dovrà essere multidisciplinare, così come è multidisciplinare la gestione clinica del paziente trapiantato. Figure Professionali quali chirurghi, nefrologi, biologi, anestesisti, immunologi, dovranno interagire nell'ambito di progetti finalizzati prevalentemente alla ricerca trapiantologia. Ogni progetto svolto nell'ambito del Centro di Chirurgia Sperimentale dovrà essere valutato da un comitato etico-scientifico e finanziato mediante fondi identificati e reclutati per ogni singolo progetto dai vari sperimentatori.

▪ **Promotori**

Università degli Studi di Foggia, Ospedali Riuniti di Foggia.

▪ **Risultati attesi a tre anni**

sperimentazione di nuovi farmaci e/o regimi immunosoppressivi;  
sperimentazione di nuove tecnologie chirurgiche;  
sperimentazione di nuovi liquidi per la perfusione degli organi.

- **Conoscenze caratterizzanti o aree di ibridizzazione culturale**  
Molteplici domini scientifici e tecnologici sono riscontrabili nell'ambito di questo progetto. In particolare conoscenze relative alla biologia, alla immunologia ed alla chirurgia dei trapianti. A questi si uniscono conoscenze di general management, di project management oltre a metodi e tecniche per il trasferimento tecnologico.
- **Accreditamenti/sistemi di relazioni**  
Il centro di Chirurgia Sperimentale sarà gemellato con il Centro di Chirurgia Sperimentale dell'Università di Pittsburgh con il quale saranno condivisi progetti di ricerca e tecnologie utilizzabili. Inoltre risorse umane relativamente a medici, biologi ed ingegneri potranno essere condivisi tra i due centri.  
L'attività di ricerca svolta potrà essere inoltre finalizzata a studi e ricerche che vedano coinvolta l'industria farmaceutica mediante un solido partenariato sia in ambito nazionale che internazionale.
- **Grado di cantierabilità**  
Lo studio di fattibilità è ad una versione definitiva. La cantierizzazione può essere avviata.
- **Risorse necessarie**  
Circa 200.000 Euro.
- **Risorse disponibili**  
Circa 100.000 Euro (fondi amministrazione per adeguamenti e condizionamento degli ambienti), circa 100.000 Euro per tecnologia abilitante e di laboratorio)
- **Referente scientifico**  
Prof. Giuseppe Carrieri.

Seguono ora le schede riepilogative delle linee di ricerca dei singoli ricercatori e/o dei gruppi di ricerca operanti all'interno del Dipartimento.

**PROF. FRANCO SPECCHIULLI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** INNESTO DI CONDROCITI AUTOLOGHI NEL TRATTAMENTO DELLE PATOLOGIE ARTICOLARI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Con l'invecchiamento della popolazione la patologia degenerativa della cartilagine articolare è sempre più un problema che affligge il mondo occidentale e la sostituzione protesica risulta essere finora l'unica via percorribile; tuttavia, se questa opzione risulta utile per un soggetto anziano ben diversa è la situazione quando la patologia artrosica o gravi danni condrali post-traumatici si presentano in soggetti giovani. In questi casi, essendo la scelta della sostituzione protesica dell'articolazione non proponibile diventa impellente trovare soluzioni alternative per il trattamento di queste "lesioni", sia da un punto di vista umano sia per l'elevatissimo costo sociale che questi "giovani" hanno sulla società. Diverse metodiche chirurgiche sono state messe a punto negli ultimi anni: perforazioni, condroabrasioni, microfratture, trapianti osteocondrali, tutte metodiche che hanno dato solo risultati parziali e temporanei. In questo progetto di ricerca ci proponiamo di utilizzare in 50 soggetti giovani con lesioni condrali da 1 a 3 cm<sup>2</sup>, in superficie di carico, non "shouldered", un innesto di condrociti autologhi (precedentemente prelevati e coltivati in laboratorio) adesi ad una matrice glicoproteica e 25 soggetti in cui sarà utilizzata solo la matrice glicoproteica. I pazienti saranno poi rivalutati clinicamente e radiograficamente dopo 1-3-6-12-24-48 mesi. Dopo 2 anni e a 4 anni verrà eseguita un'artroscopia con biopsia del tessuto neo-formato. Tutte le procedure chirurgiche verranno effettuate sotto controllo artroscopico (essendo nota a tutti il danno arrecato all'articolazione da un'artrotomia). Appare evidente l'importanza di questo studio; la dimostrazione di un successo clinico a 4 anni dall'impianto, e la dimostrazione che i condrociti autologhi con matrice glicoproteica sia in grado di ottenere risultati superiori nel trattamento delle lesioni osteocondrali, apre nuovi orizzonti, mettendo la Ns. Unità Operativa all'avanguardia nello studio e nel trattamento delle lesioni condrali. La possibilità di "brevettare" le tecnologie messe a punto nel presente progetto costituisce infine costituisce un allettante obiettivo.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**

**Prof. Francesco SOLLITTO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** AUTOFLUORESCENZA E DIAGNOSI DI LESIONI NEOPLASTICHE TRACHEOBRONCHIALI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Obiettivo del Programma di Ricerca

L'obiettivo è di stabilire la sensibilità, la specificità e l'accuratezza della broncoscopia ad autofluorescenza nella individuazione delle neoplasie a sviluppo endobronchiale, con particolare riferimento alla diagnosi precoce sia delle neoplasie di prima insorgenza che delle recidive nei seguenti 4 gruppi di pazienti:

1. soggetti definiti a rischio per il carcinoma broncogeno (forti fumatori dopo i 45 anni di età, addetti a lavorazioni nocive, esposti a grave inquinamento ambientale, portatori di patologie broncopolmonari croniche);
2. soggetti che, nel contesto di uno screening, hanno presentato una citologia positiva su espettorato o lavaggio bronchiale, con broncoscopia convenzionale e quadro radiologico negativi;
3. soggetti con neoplasia broncogenica già diagnosticata nei quali si voglia stabilire la precisa estensione della infiltrazione neoplastica endoluminale;
4. soggetti già sottoposti a resezione polmonare e/o laringea per carcinoma, nei quali si voglia effettuare un corretto follow-up endoscopico.

Il progetto si avvarrà quindi della collaborazione di centri di medicina del lavoro e pneumologici per la selezione dei pazienti da inserire nello studio. Il gruppo di ricerca può avvalersi della collaborazione del Dott. Stanzel, broncopneumologo del Centro di Malattie dell'Apparato Respiratorio della Fachlinik di Gauting - Monaco di Baviera, vero ideatore, con i laboratori di ricerca della Storz, della strumentazione ad autofluorescenza. L'obiettivo coincide anche con la costituzione di un centro interuniversitario per la broncoscopia ad autofluorescenza, di riferimento per le regioni dell'Italia Meridionale e dell'Area Balcanica.

Descrizione della Ricerca

I componenti del gruppo di ricerca si propongono di utilizzare la broncoscopia ad autofluorescenza con l'intento di individuare lesioni della via aerea principale non altrimenti evidenziabili con luce convenzionale e di definirne le caratteristiche istopatologiche mediante biopsia nei seguenti gruppi di pazienti:

1. soggetti definiti a rischio per il carcinoma broncogeno: si fa riferimento ai forti fumatori dopo i 45 anni di età, agli addetti a lavorazioni nocive e agli esposti a grave inquinamento ambientale, ai portatori di cronica patologia broncopolmonare.
2. soggetti che, nel contesto di uno screening, hanno presentato una citologia positiva su espettorato o lavaggio bronchiale, con broncoscopia convenzionale e quadro radiologico negativi.

3. soggetti con neoplasia broncogenica già diagnosticata nei quali si voglia stabilire la precisa estensione della infiltrazione neoplastica endoluminale.

4. soggetti già sottoposti a resezione polmonare e/o laringea per carcinoma, nei quali si voglia effettuare un corretto follow-up endoscopico.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** 50.000 (in condivisione con Cattedra di Malattie dell'apparato respiratorio)

**Prof. Carlo ETTORRE**

COMPONENTI IL GRUPPO DI RICERCA: Prof ssa Maria Pia Foschino,  
Dott.ssa Roberta Vinci,  
Dr Lorenzo Fruscio,  
TSRM Pasquale Leggieri.

**TITOLO DELLA RICERCA:** RUOLO DELLA RM NELLO STUDIO DEI PAZIENTI AFFETTI DA SINDROME DELLA APNEA OSTRUTTIVA IN CORSO DI SONNO( OSAS). STUDIO DEL LABIRINTO COCLEO-VESTIBOLARE CON SEQUENZE DEDICATE DELLA RM.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Possibilità di impiego della RM nel bilancio morfologico delle alterazioni delle vie aereo-digestive nei pazienti affetti da apnea ostruttiva durante il sonno ( OSAS) e nei roncopatici. Al progetto collaborano la Prof. M.P, Faschino ed il Dott. Sabato della IV divisione di pneumologia Universitaria ( MAR IV ) presso il presidio "D'Avanzo". **OBIETTIVI DELLA RICERCA:** Valutare la morfologia delle vie aero-digestive superiori nei pazienti OSAS ai fini di una corretta programmazione terapeutica.

**BUFO/NERI/ AMBROSI**

**Giovani ricercatori:** Zamparese Rosanna  
Fabrizio Corsi

**TITOLO DELLA RICERCA:** MOLECOLE DI ADESIONE INTERCELLULARE E PROGRESSIONE NEOPLASTICA (Quota progetti ex 60% 2003) STUDIO DELL'ESPRESSIONE DELLE MOLECOLE DELL'APOPTOSI CELLULARE NELLE NEOPLASIE DEGLI APPARATI URINARI ED ENDOCRINO (Progetto Giovani Ricercatori-2003)

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Indagini scientifiche cliniche e sperimentali suggeriscono che le molecole che modulano il processo di morte cellulare programmata (apoptosi) influiscono sulla progressione del

ciclo cellulare esplicando un ruolo determinante nella storia naturale delle neoplasie epiteliali. Tra le molecole inibitrici del processo dell'apoptosi cellulare, le IAP (Inibiting Apoptosis Proteins) che sono state finora scarsamente indagate (soprattutto la Survivina, di più recente individuazione), agiscono legandosi in maniera specifica con i microtubuli del fuso mitotico, preservandone l'integrità, ed in tal modo determinano un'aumentata vitalità delle cellule neoplastiche, rendendo le stesse capaci di resistere agli effetti citotossici degli agenti chemioterapici. Le alterazioni di espressione delle molecole inibitrici dell'apoptosi nelle cellule tumorali, sembrano correlate con l'atteggiamento invasivo, con la progressione tumorale e con il potenziale metastatico. I livelli di espressione verranno valutati su preparati allestiti con metodi immunoistochimici. La ricerca, condotta in collaborazione con le Cattedre di Chirurgia Generale dirette dai Professori V. Neri e A. Ambrosi, prevede due fasi: una prima fase di arruolamento dei casi di neoplasie epiteliali ed una seconda fase in cui i casi saranno sottoposti ad indagini immunoistochimiche e di biologia molecolare. Si privilegeranno le neoplasie delle ghiandole endocrine (soprattutto tiroide) e dell'apparato urogenitale maschile. La ricerca proposta intende dimostrare che le neoplasie che mostrano una elevata espressione immunoistochimica delle molecole che inibiscono l'apoptosi (IAP; Inibitor Apoptosis Protein), in particolare della survivina, sono caratterizzate da una prognosi peggiore, da una maggiore tendenza alla metastatizzazione e da una maggiore capacità di resistere agli agenti citotossici o ai chemioterapici. La survivina, quindi, potrebbe essere proposta come un nuovo marker molecolare utile ai fini della valutazione dell'aggressività delle neoplasie epiteliali.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesta fondi ex 60% quota progetti presentata singolarmente dal docente e assegno di ricerca progetto giovani ricercatori

**dr. A. PENNELLA**

**TITOLO DELLA RICERCA: IL MESOTELIOMA. STUDIO EPIDEMIOLOGICO, IMMUNO ISTOCHIMICO E GENETICO**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il mesotelioma maligno della pleura è un tumore aggressivo, in continuo aumento, a prognosi infausta (sopravvivenza media 6-12 mesi). Tipico dei Paesi industrializzati, è strettamente correlato all'esposizione occupazionale ed ambientale all'asbesto; da stime epidemiologiche, tra il 2010-2020 sono attesi i massimi picchi di incidenza. Le aree di ricerca giudicate prioritarie per l'avvio di studi collaborativi comprendono l'analisi dei trend della mortalità per tumore maligno della pleura, lo studio del carico polmonare di fibre e la

sorveglianza sanitaria dopo la cessazione dell'esposizione, con raccomandazioni a migliorare la metodologia dei sistemi di sorveglianza epidemiologica e degli studi caso-controllo. Nel documento programmatico conclusivo della Conferenza Nazionale sull'Amianto, viene raccomandato il potenziamento della ricerca epidemiologica sull'incidenza del mesotelioma maligno quale tumore sentinella dell'esposizione ed il potenziamento della ricerca biologica e clinica, finalizzata a nuove strategie terapeutiche, preventive e di controllo sui gruppi a rischio. I processi relativi alla cancerogenesi, alla crescita tumorale e al lungo periodo di latenza che caratterizza lo sviluppo del mesotelioma non sono ancora ben noti. L'azione cancerogena delle fibre potrebbe esplicitarsi sia con meccanismo diretto, legato all'interazione delle fibre con la cellula bersaglio (produzione di radicali liberi), sia indiretto, attraverso la produzione di mediatori chimici da parte delle cellule dell'infiammazione richiamate nella zona di deposito del minerale. Dati sperimentali hanno evidenziato che le fibre di asbesto in coltura possono provocare eventi mutageni, comprendenti frammentazioni del DNA e delezioni, attraverso la produzione di radicali idrossilici e anionici superossidi, oppure possono alterare la morfologia cromosomica e la ploidia interferendo con la segregazione durante la mitosi. Recenti ricerche su tessuto umano hanno evidenziato che ad un'alta concentrazione nei tessuti di fibre di asbesto sono spesso associate alterazioni cromosomiche (1p, 1q, 3p, 9p, 22q, 15q11, 4q33, 4q25, 4p15). L'osservazione di alterazioni genetiche fa supporre che numerosi oncogeni e geni soppressori della tumorigenesi siano coinvolti nello sviluppo del mesotelioma. Recentemente è stato osservato che anche fattori virali interpretati come agenti primari o come cofattori possono indurre un mesotelioma. Ad esempio, il virus SV-40 è in grado di indurre un mesotelioma quando inoculato nella cavità sierosa di animali da esperimento ed è in grado di trasformare cellule umane in coltura. In America cellule provenienti da scimmie del genere *Macacus* sono state utilizzate per preparare vaccini antipolio, e questo dato sta assumendo un significato molto importante in quanto contaminazioni di vaccini antipolio con il virus SV-40 sono state dimostrate nel periodo 1955-1963 e pertanto messe in relazione con l'insorgenza di mesotelioma in pazienti cosiddetti "non a rischio Professionale". Il virus sembrerebbe esplicitare il suo effetto cancerogeno attraverso una proteina trasformante chiamata Tag, codificata da sequenze virali "precoci". Tale proteina è in grado di legare ed inattivare proteine cellulari umane come la p53 e le proteine della famiglia del gene retinoblastoma (pRb/p105, p107, pRb2/p130) che svolgerebbero un'attività inibente la crescita tumorale. Meccanismi di deregolazione del controllo fisiologico della proliferazione cellulare causati da alterazioni di oncogeni e di geni

oncosoppressori potrebbero essere responsabili dello sviluppo del tumore. Capostipite dei geni oncosoppressori è il gene Rb che codifica per una proteina pRb, essenziale nell'arresto del ciclo cellulare e nel processo di differenziazione nonché in alcuni eventi del fenomeno di apoptosi. Le proteine della famiglia del gene Rb mostrano numerose omologie strutturali e funzionali ma ognuna di esse è regolata da complessi ciclina/CDK specifici. pRb2/130 mappa sul cromosoma 16q12.2 un'area nella quale sono state trovate frequenti delezioni in neoplasie mammarie, prostatiche, epatiche ed ovariche. La perdita di espressione di pRb2/130 è correlata ad una prognosi infausta in numerose neoplasie maligne. Queste alterazioni del gene determinerebbero una modificazione della struttura primaria della proteina codificata con conseguente inattivazione della stessa. Ulteriori indagini dimostrano una interazione di pRb2/p130 con oncoproteine virali come l'antigene T di SV-40. Inoltre, è possibile osservare mesoteliomi in gruppi familiari con o senza esposizione all'asbesto. Lo studio di alterazioni genetiche in tali soggetti potrebbe favorire l'individuazione di geni di suscettibilità individuale indipendentemente dall'esposizione. La prognosi dei pazienti con mesotelioma è particolarmente infausta. Studi recenti, utilizzando nuovi protocolli terapeutici, mostrano lievi incrementi di sopravvivenza che autorizzerebbero a modificare l'estremo pessimismo correlato ad una diagnosi di mesotelioma. Lo stadio della malattia rappresenta un ovvio parametro di riferimento e, fra i parametri patologici, l'istotipo è certamente il più rappresentativo. In questa cornice la ricerca di marcatori prognostici di tipo biologico trova un'importante collocazione. Tra questi, ben indagato nei tumori umani è il MIB-1 (Ki-67), che esprime in maniera affidabile la relazione tra attività proliferativa tumorale e sopravvivenza. La quantificazione dell'attività proliferativa cellulare è effettuata mediante procedure immunoistochimiche con l'uso dell'anticorpo monoclonale MIB-1 che riconosce una proteina nucleare, Ki-67, espressa dalle cellule proliferanti e non da quelle a riposo. Il dato quantitativo del Ki-67 viene espresso in una scala di valori percentuali che variano a seconda del grado di aggressività del tumore; a maggiori valori di MIB-1 corrispondono tumori più aggressivi. Per il mesotelioma gli studi di correlazione tra attività proliferativa e sopravvivenza presenti in letteratura sono limitati e comprendono, oltre al MIB-1, la proteina p27kip1 (proteina kinasi-inibitrice) che agisce bloccando il ciclo cellulare tra la fase G1 e la fase S. Ad una riduzione della espressione della p27kip1 si assocerebbe una maggiore aggressività tumorale. Anche l'espressione dell'erbB2-neu, recettore tirosina-kinasi dipendente, attende conferma e approfondimento.

Nella Regione Puglia, sede di uno tra i principali poli industriali della cantieristica navale a livello nazionale (Taranto), nonché della produzione di manufatti in cemento-amianto (Bari), l'esposizione ad amianto, specialmente negli anni 40-80, è stata intensa e prolungata. Il Registro Mesoteliomi C.O.R.-Puglia (delibera Regione Puglia 366/96) fornisce i dati di incidenza del tumore validati a livello anatomopatologico e corredati da informazioni sull'esposizione Professionale, domestica ed ambientale. L'esame di questi dati consente di monitorare la diffusione del mesotelioma caratterizzando i gruppi a rischio emergenti, e presuppone l'attivazione di una rete di collaborazioni fra istituzioni centrali e periferiche e fra strutture cliniche e servizi territoriali di prevenzione. Lo studio sarà caratterizzato da: a) aggiornamento continuo ed inserimento dei casi di mesotelioma nel Registro Mesotelioma con conseguente correlazione dei dati di esposizione all'asbesto di tipo occupazionale, ambientale e domestico con i parametri clinico-morfologici; b) aggiornamento continuo dei dati di sopravvivenza dei singoli casi; c) indagini biomolecolari finalizzate alla identificazione di prodotti di geni oncosoppressori (pRb2/p130) coinvolti nello sviluppo e progressione del tumore; d) ricerca di sequenze di antigene Tag di SV-40 quale possibile cofattore della inattivazione delle proteine Rb2; e) determinazione immunistochemica degli indici di proliferazione cellulare (MIB-1; p27Kip-1, erbB2-neu) con conta percentualizzata per singolo caso; f) analisi genetica per la individuazione di alterazioni cromosomiche più frequentemente coinvolte nel tumore; g) analisi genetica nei casi familiari. L'indagine molecolare sarà condotta su 30 casi di mesotelioma in cui sono inclusi tutti gli istotipi e per i quali sono noti i dati clinico-anamnestici. I campioni utilizzati sono riferiti sia a biopsie routinariamente processate sia a frammenti di tessuto congelato a -80°C. Per le successive indagini sarà eseguita la metodica di estrazione del DNA e dell'RNA sec. Carbone et al (1994) con conseguente applicazione di metodica PCR. Reclutamento di casi familiari per la ricerca di alterazioni genetiche nei singoli componenti. Lo studio sarà condotto utilizzando campioni biotici paraffinati; dopo estrazione del DNA e mediante Ibridazione Genomica Comparativa (CGH) saranno ricercate le alterazioni cromosomiche coinvolte. La determinazione immunistochemica degli indici di proliferazione cellulare con l'anticorpo MIB-1 (DAKO) e p27<sup>Kip-1</sup> (Transduction Laboratories) ed erbB2-neu (Calbiochem), sarà effettuata su un campione di 120 casi di cui sono noti i dati relativi al follow-up e all'esposizione all'asbesto. Le immunoreazioni saranno svolte con il metodo Avidina-Biotina-Perossidasi (ABC) sec Hsu et al. Verranno allestite sezioni seriate dello spessore di 4 micron, a 37°C per 12 ore. Le sezioni saranno sparaffinate in xilene e reidratate in gradienti scalare di

alcol. L'attività delle perossidasi endogene verrà bloccata tramite immersione per 20 min in perossido di idrogeno al 3% in acqua distillata, seguita da un singolo lavaggio in tampone fosfato (PBS pH 7.4). Sarà utilizzato come cromogeno la 3,3'-diaminobenzidina. La valutazione delle reazioni immunoistochimiche sarà effettuata con un microscopio ottico standard. La positività della reazione per MIB-1 e per p27<sup>Kip-1</sup> sarà espressa in valore percentuale su un numero di 500 cellule totali. Tutti i risultati saranno sottoposti ad analisi statistiche.

**Elenco dei lavori inerenti la ricerca, pubblicati nell'ultimo triennio:**

Mesotelioma multicistico del peritoneo. Descrizione di quattro casi.

Scattone A, Pennella A, Giardina C, Marinaccio M, Ricco R, Pollice L, Serio G. Pathologica 2001, 93: 549-555

Mesotelioma multicistico benigno del pericardio (MMBP).

Descrizione di un caso. Scattone A, Pennella A, Mastropasqua M, Pollice L, Serio G. Eur J Oncol 2001, 6: 87-91.

Malignant deciduoid mesothelioma. Report of two cases with long survival. Serio G, Scattone A, Pennella A, Giardina C, Valente T, Musti M, Pollice L. Histopathology 2002, 40: 348-352.

p27kip1 and MIB-1 immunoreactivity in pleural malignant mesothelioma. Serio G, Scattone A, Mattioli E, Pennella A, Giardina C, Nazzaro P, Cavone D, Pollice L, Musti M. Virch Arch 2003, 443: 340-342 Familial pleura mesothelioma with environmental asbestos exposure: losses of DNA sequences by comparative genomic hybridization (CGH).

Serio G, Scattone A, Gentile M, Nazzaro P, Pennella A, Cavone D, Bonadonna L, Bisconti M, Pollice L, Musti M.

Histopathology (in c.s.)

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesta fondi ex 60% quota progetti, 23.300 €

**NERI AMBROSI A. GRECO DAMBROSIO FERSINI TARTAGLIA**

**TITOLO DELLA RICERCA:** MODIFICAZIONI IMMUNITARIE IN PAZIENTI NEOPLASTICI SOTTOPOSTI A CHIRURGIA OPEN E CHIRURGIA MININVASIVA-LAPAROSCOPICA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La risposta immunitaria post-intervento chirurgico è uno dei fattori determinanti la ripresa del paziente, nonché uno dei fattori limitanti la diffusione di una neoplasia. Numerosi interventi chirurgici possono essere eseguiti per via tradizionale ("open") o per via videoassistita ("minimally invasive"). Entrambi i metodi hanno un effetto sulla immunità del paziente. Studi su animale da esperimento e non randomizzati sull'uomo hanno fornito risultato non univoci sulla

risposta immunitaria evocata. La diffusione neoplastica sembra essere in qualche modo influenzata dalla metodica di approccio chirurgico. Anche in questo caso, i dati su animali da esperimento o gli studi osservazionali sull'uomo non hanno fornito risultati conclusivi a favore di una o dell'altra tecnica. Lo studio in atto propone la raccolta prospettica secondo un random 1:1 di interventi secondo tecnica open e minimally invasive. Campioni di siero saranno prelevati ad intervalli prestabiliti prima e dopo l'intervento chirurgico onde valutare dei parametri di immunità cellulare ed umorale. Inoltre sarà effettuato un follow-up per l'intera durata dello studio (2 anni) degli stessi pazienti circa la loro quality of life.

**NERI AMBROSI SOLLITTO ET TORRE FERSINI TARTAGLIA**

**TITOLO DELLA RICERCA: LA VALUTAZIONE DELLO STRESS LAVORATIVO IN CHIRURGIA LAPOROSCOPICA**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** I radicali liberi dell'ossigeno, prodotti durante il metabolismo ossidativo delle cellule aerobia, sono stati recentemente coinvolti nei processi fisiopatologici di un numero sempre più vasto di malattie. Uno dei meccanismi di danno cellulare indotto da queste specie chimiche è rappresentato dalla perossidazione lipidica. Tale processo, a bassi livelli, avviene in tutti i tessuti, ma se non adeguatamente controllato, esso determina una elevata concentrazione di lipoperossidi, causando uno stress ossidativo, che si manifesta con un incremento in circolo di prodotti di degradazione (per esempio malonildia deide-MDA). La diffusione recente delle procedure di chirurgia laparoscopiche è anche fondata sull'idea che tali metodiche siano causa di un minore stress rispetto alla chirurgia tradizionale. Tuttavia sono reperibili in letteratura pochi dati di valutazione obiettiva che confermino tale convinzione. Questo studio ha lo scopo di valutare e identificare lo stress ossidativo in peritoneo stabilendo un confronto tra chirurgia open e laparo.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Fondi ex 60% quota progetti presentata singolarmente da ciascuno dei docenti elencati

**PORTINCASA**

**TITOLO DELLA RICERCA: IMPIEGO DI TUBULI DI ACIDO JALURONICO COME GUIDA PER LA RIPARAZIONE NERVOSA PERIFERICA**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** INTRODUZIONE: la riparazione nervosa rappresenta un campo clinico/chirurgico affascinante che ancora oggi impegna molto Chirurghi e Ricercatori. E' ben noto che a seguito di una lesione nervosa avvengono dei cambiamenti lungo la fibra nervosa sia a livello prossimale che a livello distale. Il segmento prossimale prova a rigenerare facendo crescere nuove fibre che andranno a formare un'unità di rigenerazione. Il segmento distale è sottoposto alla degenerazione walleriana, una serie di eventi in cui gli assoni e la mielina degenerano e vengono fagocitati dalle cellule di Schwann e dai macrofagi. Il neurotrofismo è la capacità di appropriati recettori distali di intensificare la maturazione delle fibre nervose.

Le fibre che non sono accoppiate ad un appropriato recettore distale vengono inibite. Il recupero funzionale dipenderà dal numero di fibre motorie e sensitive correttamente accoppiate rispettivamente alla placca motrice e ai recettori sensoriali. Studi sperimentali hanno dimostrato che fibre rigenerate possono mostrare una specificità sia per il tessuto che per l'organo terminale. Questo processo viene chiamato neurotropismo.

La preferenza di una fibra nervosa a rigenerare in nervo piuttosto che in altri tessuti dipende dall'intervallo critico in cui la fibra risponde all'influenza del nervo distale; sono in corso studi per cercare di individuare il mediatore di queste influenze. La guida per contatto è il terzo meccanismo che regola l'allungamento delle fibre che si rigenerano. E' su quest'ultimo concetto che si sviluppa la nostra idea.

Diversi studi hanno descritto differenti metodi di tubulizzazione per la riparazione nervosa di gap fino a 15-20 mm. In casi clinici. I vantaggi legati all'utilizzo dei tubuli per la riparazione nervosa sono: la creazione di un microambiente ideale per favorire l'azione dei fattori neurotrofici liberati dai monconi nervosi nel mezzo ambiente; evitare un'eccessiva proliferazione dei fibroblasti con invasione dello spazio tra i monconi nervosi ed all'interno dell'innesto nervoso; evitare la compressione dell'innesto nervoso da parte di aderenze perilesionali; minimizzare la proliferazione di tessuto connettivo e la formazione di tessuto cicatriziale; mantenere un corretto orientamento della fibra nervosa riparata; contrastare l'edema a livello della sutura nervosa; evitare la crescita delle nuove fibre nervose al di fuori del nervo stesso; evitare ogni tipo di tensione tra i due monconi nervosi.

Sin dal primo lavoro di Gluck, nel 1880, molti materiali biologici sono stati utilizzati per la tubulizzazione e/o la riparazione nervosa: tessuto nervoso, autoinnesti di muscolo scheletrico, segmenti di vena e di arteria autologhi, tubuli pseudosinoviali prefabbricati adattati ad uno scaffold esterno opportunamente sagomato, derma bovino.

In questo studio ci proponiamo di:

(a) testare l'efficacia dei tubuli di acido ialuronico per la riparazione nervosa con gap fino a 20 mm;

(b) verificare i risultati anatomico/funzionali di tale procedura.

La nostra ipotesi è che i tubuli di acido ialuronico siano in grado di promuovere la rigenerazione nervosa e pertanto rappresentino una valida alternativa all'innesto nervoso autologo.

**MATERIALI E METODI:** verranno utilizzati 30 femmine adulte di topi Wistar (200-300 gr).

L'anestesia sarà intraperitoneale.

Verrà esposto il nervo sciatico e saranno utilizzati per la riparazione nervosa o un tubulo di acido ialuronico sintetizzato in laboratorio che fungerà da guida per la rigenerazione del nervo lesa, o un innesto di nervo autologo.

In particolare: Lato destro: "riparazione con innesto di nervo"; verrà prelevato un innesto di 20 mm di nervo dal nervo sciatico sinistro che sarà utilizzato come innesto di nervo autologo omolaterale. Lato sinistro: "tubulizzazione di un gap di 20 mm"; verrà sezionato il nervo sciatico ed entrambi i monconi assicurati al tubulo di acido ialuronico che avrà la funzione di guida per contatto per la rigenerazione delle connessioni nervose. A distanza di 120 giorni si procederà: valutazione clinica: valutazione del processo di guarigione della ferita, risposta al pinch test, mobilità dell'arto inferiore, passo; valutazione macroscopica: tessuto cicatriziale, apporto vascolare, misurazioni; studio istologico: prelievo di campioni di nervo riparato con una delle tecniche descritte ed invio allo studio istologico per la valutazione dei processi di riparazione/rigenerazione nervosa; EMG: stimolazione sovramassimale del n. sciatico con simultanea registrazione EMG mediante elettrodi posti nel territorio del n. tibiale posteriore.

**RISULTATI E CONCLUSIONI:** la osservazione degli animali sarà giornaliera per evitare automutilazioni, formazioni di ulcere, infezioni o infiammazioni delle ferite, fenomeni di cannibalismo.

Si procederà con la raccolta dei dati per l'analisi, come già descritto, dei seguenti punti;

1. clinica;
2. macroscopica;
3. istologica;
4. EMG.

**Conclusioni:** obiettivo dello studio è valutare se i tubuli di acido ialuronico siano in grado di promuovere la rigenerazione nervosa e rappresentino, pertanto, una valida alternativa all'innesto nervoso autologo per le seguenti ragioni: creazione di un microambiente ideale per i fattori neurotrofici liberati dai monconi nervosi (biocompatibilità);

riduzione della influenza di fattori intrinseci ed estrinseci (cellulari, forza tensile, edema ...) sul processo di guarigione; mantenimento di un corretto orientamento della fibra nervosa riparata; evitare la crescita delle nuove fibre nervose al di fuori del nervo stesso; consentire la riparazione di gap fino a 20 mm.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: QUOTA PROGETTI UNIVERSITA'**

### **PORTINCASA**

**TITOLO DELLA RICERCA:** TRATTAMENTO DELLA SINDROME DEL TUNNEL CARPALE : VARIAZIONI PRESSORIE INTRA,PRE, E POST OPERATORIE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La sindrome del tunnel carpale è una patologia molto frequente ed in costante aumento. La valutazione delle pressioni che si sviluppano all'interno del tunnel potrebbe avere un valore predittivo di gravità e prognosi della malattia, nella fase preoperatoria e in fase post-operatoria, potrebbe essere un indice di eventuale presenza di recidiva.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: EX-60% FONDI ATENEO 2002**

### **DELLE NOCI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** PDT e Triamcinolone nell'AMD

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La degenerazione maculare legata all'età (DMLE) è la principale causa di perdita irreversibile della funzione visiva centrale nei soggetti di età superiore a 65 anni che vivono nei paesi industrializzati. L'evoluzione naturale della malattia è rappresentata dalla progressiva atrofia della retina e della coriocalpillare (25% dei casi) o dalla comparsa della neovascolarizzazione prevalentemente di origine coroideale (CNV). Il trattamento selettivo dei neovasi di origine coroideale è oggi possibile grazie alla terapia fotodinamica (PDT) che si basa sull'azione combinata della somministrazione endovenosa di una sostanza fotosensibile (verteporfina) con l'esposizione della zona da trattare ad un laser a diodi infrarosso (690 nm) di bassa intensità; questa radiazione viene assorbita preferenzialmente dalla verteporfina che risulta così attivata determinando un danno endoteliale progressivo con occlusione selettiva del neovascolo senza alterazioni a carico della coriocalpillare o della retina. Materiali e metodi: I pazienti saranno selezionati dopo valutazione clinico-morfologica e clinico-funzionale. I pazienti da avviare al trattamento saranno quindi identificati a seconda della componente della lesione (prevalentemente classica, minimamente classica,

oculta).In quelle forme in cui numerose controversie ancora oggi riguardano l'indicazione al trattamento fotodinamico, si è deciso di associare alla PDT la somministrazione intravitreale via pars plana di un farmaco steroideo, TRIAMCINOLONE ACETONIDE 8 mg. Per quanto riguarda il timing di ritrattamento in caso di inefficacia del singolo trattamento PDT, si è deciso di non seguire le linee guida internazionali che impongono una attesa di 3 mesi e di effettuare il ritrattamento dopo 1 mese e mezzo qualora ci siano segnali di ripresa o di progressione della della malattia. Scopo del lavoro: L'uso della PDT ha consentito di ottenere importanti risultati nelle forme di CNV prima difficilmente trattabili in modo sicuro.Attualmente alcune controversie riguardano l'indicazione al trattamento di alcuni tipi di CNV. In tal senso è fondamentale diagnosticare pazienti con tali forme di CNV e individuare alternative terapeutiche da associare che possano in qualche modo potenziare l'efficacia del trattamento fotodinamico. Un altro importante aspetto è quello dei ritrattamenti. Il limite cronologico dovrebbe essere personalizzato sul paziente. Infine è importante la registrazione anche a distanza di tempo dei risultati funzionali ed anatomici per valutare i risultati a lungo tempo. Tutto ciò consentirebbe la costituzione di un centro di riferimento nel territorio per la osservazione e la registrazione dei dati per un migliore monitoraggio della AMD.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesta fondi ex 60%

## **IACULLI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** PDT NEL TRATTAMENTO DELLE CNV ASSOCIATE A AMD E AD ALTRE CAUSE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Le neovascolarizzazioni coroideali (CNV) si manifestano in tutte quelle condizioni che ledono l'integrità del complesso membrana di Bruch - epitelio pigmentato retinico. La condizione più frequentemente associata è la degenerazione maculare senile legata all'età (AMD) che attualmente rappresenta la più frequente causa di cecità dopo i 60 anni nei paesi occidentali. L'uso della terapia fotodinamica (PDT) in questi casi consente il selettivo trattamento dei neovasi con risparmio dei tessuti retinici non coinvolti con possibilità di recupero funzionale nei pazienti trattati. Materiali e metodi: la PDT viene effettuata in pazienti selezionati secondo i criteri classici di trattamento (CNV classica iuxtafoveolare o sottofoveolare, CNV occulta con segni di presunta progressione). Il follow up prevede controlli clinici

e strumentali (OCT-FAG-Angiografia-ICG) a distanza di 3 mesi per valutare la necessità di ritrattamenti.

Scopo del lavoro: valutare la possibilità di personalizzare il trattamento ed in particolar modo il ritrattamento (eventualmente ad intervalli inferiori a 3 mesi) individuando i criteri e gli esami più sensibili e predittivi di progressione della neovascolarizzazione. Al tempo stesso si intende valutare l'affabilità di esami non invasivi (OCT) rispetto ad esami sensibili ma sicuramente più invasivi (FAG-ICG-Angiografia).

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesta fondi ex 60%

### **GRECO / FINESCHI / BUFO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** CHERMOCETTORI BULBARI E MORTE INTRAUTERINA DEL FETO INSPIEGATA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Nonostante i progressi nella assistenza materno-fetale abbiano determinato una riduzione nella mortalità perinatale, non si è registrata una riduzione simile delle morti in utero. Il numero dei feti, che muoiono in utero in epoca in cui la loro sopravvivenza postnatale è possibile, è rimasto, infatti, stabile (5-10/1000)(1), rappresentando almeno il 50% della mortalità perinatale e quindi degli insuccessi ostetrici. Inoltre almeno il 60% di queste morti rimangono, allo stato attuale delle nostre conoscenze, "inspiegate". Sebbene le morti intrauterine siano di gran lunga più frequenti delle morti improvvise (SIDS) e sebbene alcune anomalie di sviluppo del sistema nervoso autonomo siano alla base di entrambe le condizioni, non vi sono studi che abbiano esaminato in modo sistematico tali modificazioni(2-3). Le alterazioni dei centri regolanti il sistema cardiorespiratorio, attraverso riflessi chemo-recettoriali, sono, infatti, responsabili sia di un notevole numero di SIDS, sia, potenzialmente, delle morti intrauterine tardive(4).

(1) Cotzias CS, Paterson-Brown S, Fisk NK. Prospective risk of unexplained stillbirth in singleton pregnancies at term: population based analysis. *BMJ*. 1999;319:287-288

(2) Obonai T, Takashima S. In utero brain lesions in SIDS. *Pediatr Neurol*. 1998;19:23-25

(3) Ogunyemi D, Jackson U, Buyske S, et al. Clinical and pathological correlates of stillbirths in a single institution. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1998;77:722-728

(4) Matturri L, Biondo B, Mercurio P, Rossi L. Severe hypoplasia of medullary arcuate nucleus: quantitative analysis in sudden infant death syndrome. *Acta Neuropathol*. 2000;99:371-375

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** € 30.000,00

## GRECO

**TITOLO DELLA RICERCA:** VALUTAZIONE DEL PASSAGGIO TRANS-TUBARICO DI FLUIDI E DI CELLULE IN CORSO DI ISTEROSCOPIA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Base di partenza scientifica del progetto

Il sanguinamento uterino anomalo è il segno clinico più frequente nelle pazienti con carcinoma endometriale e nell'ultima decade l'isteroscopia ha acquisito un ruolo di rilievo nella diagnostica di tale patologia. Nonostante ciò, numerosi dati in letteratura suggeriscono che l'isteroscopia possa essere causa di trasporto di cellule endometriali in cavità peritoneale. In particolare, l'utilizzo di mezzi di distensione fluidi della cavità uterina è stato messo in relazione con la disseminazione in cavità addominale di cellule tumorali in pazienti con carcinoma endometriale. In uno studio retrospettivo multicentrico svolto in 7 centri austriaci tra il 1996 ed il 1997 su 113 pazienti con carcinoma endometriale stadio IA-IB, il solo fattore significativamente associato con la citologia peritoneale positiva è l'isteroscopia ( $P=0.04$ ). Gli Autori conclusero che l'isteroscopia facilita la disseminazione intra-addominale di cellule neoplastiche endometriali. In un altro studio, Arikan e Colleghi studiarono 24 uteri ottenuti da pazienti isterectomizzate per carcinoma dell'endometrio, stadio IA-IB. Eseguendo l'esame isteroscopico "in-vitro", gli Autori dimostrarono disseminazione transtubarica nell'83% dei casi; inoltre nel 42% le cellule tumorali disseminate conservavano la loro vitalità. In relazione alla possibilità che l'isteroscopia possa facilitare il passaggio di cellule neoplastiche attraverso le tube di Falloppio, numerosi studi riportati in letteratura consigliano che l'isteroscopia venga limitata ai soli casi in cui non sia possibile una diagnosi di certezza mediante le metodiche tradizionali.

Comunque, è interessante notare come Creasman e Lukeman suggeriscano che la disseminazione intraperitoneale possa realizzarsi anche attraverso altre vie oltre quella tubarica, riportando la presenza di cellule maligne nella cavità peritoneale di donne precedentemente sottoposte a salpingectomia o sterilizzazione tubarica. In realtà, spesso, il termine isteroscopia viene usato per descrivere procedure endoscopiche molto differenti tra loro. Infatti, non esiste una metodica standardizzata ideale per l'esecuzione di tale indagine diagnostica. Il tipo di isteroscopio, il mezzo di distensione della cavità uterina, la durata e, non in ultimo, le pressioni usate per distendere e visualizzare la cavità uterina, sono tutte variabili fondamentali responsabili del risultato finale e delle possibili complicanze dell'esame. La pressione intrauterina può essere considerata il principale determinante della distensione del lume

tubarico e, quindi, del trasporto di cellule in cavità peritoneale. Infatti, una spiegazione plausibile dei risultati dello studio multicentrico austriaco è data dal fatto che le pressioni usate sono sorprendentemente elevate (150 mmHG). In letteratura, i dettagli relativi alle modalità di rilevamento di tali dati pressori non sono sempre di facile interpretazione. Tali informazioni risulterebbero fondamentali nello sviluppare delle linee guida che permettano la distensione della cavità uterina mantenendo la pressione intracavitaria sufficientemente al di sotto della soglia atta a distendere il lume tubarico. Nel 1990, Siegler e Colleghi hanno rilevato che, impiegando soluzione fisiologica come mezzo di distensione, la pressione intrauterina sufficiente a visualizzare la cavità uterina durante l'isteroscopia è pari a 40 mmHg circa, mentre è necessario raggiungere pressioni di 100-110 mmHg per distendere il lume tubarico. Nel 1995, Baker e Adamson hanno stabilito che la pressione intrauterina media per il passaggio transtubarico di colorante è pari a 100 mmHg; nessun passaggio si verificava a meno di 70 mmHg. Inoltre la soglia pressoria risultava più elevata in pazienti con evidenza laparoscopica di patologia tubarica. Più recentemente, gli stessi Autori hanno definito la soglia pressoria minima richiesta per distendere la cavità uterina, collegando un trasduttore Cobe CDX III ad un isteroscopia 5 mm-0 gradi o ad un 3 mm-30 gradi. La linea di irrigazione è stata collegata al trasduttore in modo tale che il mezzo di distensione (soluzione fisiologica) passasse attraverso lo stesso. Il trasduttore a sua volta è stato posto in serie con un monitor pressorio Datascope 2002 (Datascope Corporation, NJ). La pressione intrauterina minima necessaria a distendere la cavità è risultata compresa fra 25 e 50 mmHg (40 mmHg la mediana). In conclusione, questi studi suggeriscono che la soluzione salina può distendere la cavità uterina ad una pressione più bassa rispetto a quella necessaria all'apertura delle tube. Comunque, sono necessari altri studi per definire le linee guida relative alle pressioni di perfusione. Queste informazioni possono essere importanti non solo per evitare la disseminazione di cellule neoplastiche nella cavità peritoneale di donne con carcinoma endometriale, ma anche al fine di prevenire l'endometriosi e la malattia infiammatoria pelvica.

Obiettivi della ricerca

Valutare l'eventuale passaggio transtubarico di liquido in cavità peritoneale in pazienti non oncologiche, sottoposte ad indagine isteroscopica. Valutare l'eventuale disseminazione intraperitoneale di cellule neoplastiche in donne con carcinoma endometriale stadio IA-IB, sottoposte ad indagine isteroscopica.

Metodiche

Lo studio sarà condotto, previo consenso informato, su:

Gruppo A: 100 donne candidate ad intervento laparotomico per patologia benigna.

Gruppo B: 20 donne affette da carcinoma endometriale stadio IA-IB.

Criteri di esclusione:

Gruppo A: pazienti che presentino una falda liquida nel Douglas al controllo ecografico prima dell'isteroscopia.

Gruppo B: pazienti affette da carcinoma endometriale con stadiazione superiore al IB.

Gruppo A suddiviso in due sottogruppi di 50 donne ciascuno sulla base di tavole di randomizzazione.

Sottogruppo A1

Tempo 0: ecografia transvaginale per esclusione di eventuale falda liquida nel Douglas.

Tempo 1: intervento laparotomico con prelievo di eventuale liquido endoperitoneale e successivo washing, da sottoporre ad esame citologico. Sottogruppo A2

Tempo 0: ecografia transvaginale per esclusione di eventuale falda liquida nel Douglas.

Tempo 1: indagine isteroscopica.

Tempo 2: intervento laparotomico con prelievo di eventuale liquido endoperitoneale e successivo washing, da sottoporre ad esame citologico.

L'isteroscopia verrà eseguita nell'immediato pre-operatorio.

**Gruppo B:**

Tempo 0: indagine isteroscopica con biopsia mirata.

Tempo 1: diagnosi istologica di carcinoma endometriale.

Tempo 2: chirurgia laparotomica con stadiazione chirurgica. Prelievo di liquido di lavaggio peritoneale da sottoporre ad esame citologico.

Tempo 3: valutazione dell'eventuale positività della citologia peritoneale.

Indagini strumentali effettuate con:

Ecografo ad alta definizione dotato di sonda endovaginale (6.5 mHZ)

Isteroscopio OFFICE con guaina operativa calibro 3.9 x 4.9 mm per strumenti calibro 5 Fr. (Karl Storz, Tuttlingen, Germany). La distensione della cavità uterina verrà ottenuta con soluzione fisiologica. Per mantenere una pressione uterina corretta fra 25 e 50 mmHg si prevede l'utilizzo di un sistema elettronico controllato per irrigazione/aspirazione (Hamou Hysteroflator, Karl Storz, Tuttlingen, Germany). La durata delle indagini non dovrà superare i 3 minuti.

Risultati attesi

Gruppo A: lo studio intende dimostrare che l'indagine isteroscopica, eseguita secondo le metodiche descritte, non comporta passaggio di cellule endometriali nella cavità peritoneale delle pazienti del

sottogruppo A2 superiore a quanto riscontrato nelle pazienti del sottogruppo A1.

Gruppo B: lo studio intende dimostrare che l'indagine isteroscopica, eseguita secondo le metodiche descritte, non comporta alcun aumento della disseminazione intraperitoneale di cellule neoplastiche, rispetto al 10-12% riportato in letteratura (Boronow RC, et al. *Obstet Gynecol* 1984; 63: 825-832.).

Transvaginal Color Doppler Sonography in advanced cervical cancer. (Greco P, Cormio G, Vimercati A, Loverro G, Selvaggi L) *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 9, 1997, 49-52 IF: 1.862

Transvaginal Color Doppler Ultrasound for monitoring the response to Neoadjuvant Chemotherapy in advanced cervical cancer. (Greco P, Cormio G, Vimercati A, Nacci G, Di Vagno G, Loverro G, Selvaggi L) *Acta Obstetricia Gynecologica Scandinavica* 76: 169-172, 1997 IF: 1.209

Correlative study of angiogenesis in endometrial cancer assessed by the color Doppler ultrasound and by the chick embryo chorioallantoic membrane. (Ribatti D, Loverro G, Vacca A, Greco P, Vimercati A, Roncali L, Selvaggi L) *International Journal of oncology* 11:1191-1195, 1997 IF: 2.330

Intratumoral and peritumoral blood flow analysis in endometrial cancer: relationship to the staging of the disease (A Vimercati, P Greco, MV Pansini, G Melilli, G Cormio, G Di Vagno, L Loverro, L Selvaggi) *Ultras Obstet Gynecol* 12 (S1): 14; 1998 IF: 1.862

Endometrial stromal sarcoma: a clinicopathologic study (Melilli GA, Di Vagno G, Greco P, Vimercati A, Loizzi V, Putignano G, Selvaggi L) *Eur J Gynaec Onc* XX, n1: 33-34, 1999 IF: 0.562

Transvaginal color-Doppler ultrasound in endometrial carcinoma. An analysis of 50 cases. (P Greco, A Vimercati, G Di Vagno, G Cormio, G Loverro, M Mastroianni, M Lapresa, L Selvaggi) *Int J Gynecol Cancer* 1999, 9(S1):7 IF: 0.709

Transvaginal ultrasound and hysteroscopy in postmenopausal uterine bleeding (Loverro G, Nicolardi V, Bettocchi S, Greco P, Cormio G, Vimercati A and Selvaggi L) *Maturitas* 1999 Oct 24;33(2):139-44. IF: 1.640

Hysteroscopic evaluation of menopausal patients with sonographically atrophic endometrium (F Marelllo, S Bettocchi, P Greco, A Vimercati, O Ceci, R Di Venere) *J Am Assoc Gyn Lap* 7(2):197-200, 2000. IF: 1.368

Hysteroscopic evaluation of menopausal patients with endometrial thickness of 4mm or more (V Loizzi, P Greco, A Vimercati, O Ceci, C Rossi, F Marelllo, S Bettocchi) J Am Assoc Gyn Lap 7(2):191-5, 2000IF: 1.368

Intratumoral blood flow characteristics and prognostic factors in patients with endometrial carcinoma (Greco P, Vimercati A, Cormio G, Loverro G, Bettocchi S, Selvaggi L) Arch Gynecol Obstet (2002 Nov;267(1):1-3.)IF: 1.000

What does 'diagnostic hysteroscopy' mean today? The role of the new techniques. Bettocchi S, Nappi L, Ceci O, Selvaggi L. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology 2003; 15: 303-308.

Operative office hysteroscopy without anesthesia. Analysis of 4,863 cases Successfully treated with Mechanical instruments. Bettocchi S, Ceci O, Nappi L, Pellegrino A, Di Venere R, Pansini V, Santoro A, Santamato S, Selvaggi L. The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists 2003; 10(S3): 3. IF: 1.368

## **GRECO/ROSSI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** RUOLO DELLE CITOCHINE NELLA ROTTURA PREMATURA DELLE MEMBRANE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La rottura prematura delle membrane (PROM) è definita come la rottura spontanea delle membrane prima della 37<sup>a</sup> settimana di gravidanza e ha un'incidenza del 3% di tutte le gravidanze (1). La PROM è responsabile di circa un terzo dei parti pretermine ed è causa di morbidità e mortalità perinatale, in quanto si associa a infezione perinatale e compressione del cordone ombelicale secondaria a oligoidramnios (1). La patogenesi della PROM è multifattoriale: l'infezione e l'infiammazione del chorion e della decidua, la riduzione del collagene con l'avanzare della gravidanza e l'aumento nel liquido amniotico di metalloproteasi (2) provocano lo stiramento e la degradazione delle membrane (1). Altri fattori di rischio sono l'età materna inferiore a 15 anni, l'appartenenza ad una bassa classe sociale, il basso peso corporeo, il fumo, un precedente parto pretermine e la gravidanza multipla (3). Anche le infezioni del tratto genitale rappresentano una componente significativa in molti casi di parto pretermine, in quanto viene stimolata la risposta infiammatoria da parte della placenta, delle membrane fetali e della decidua materna (3). Anche con un management conservativo, il 50-60% di donne con PROM partoriscono entro una settimana dalla rottura delle membrane (1).

L'incidenza delle complicanze associate alla PROM, ossia l'amnionite (13-60%) e il distacco di placenta (4-12%), è inversamente proporzionale all'età gestazionale (1). La diagnosi di parto pretermine è in genere basata su contrazioni uterine riferite prima della 37<sup>a</sup> settimana, ma spesso è una diagnosi imprecisa, in quanto oltre un terzo delle pazienti partoriscono a termine (3). L'unico segno clinico per definire con certezza il parto pretermine è la dilatazione del canale cervicale >3cm, ma si tratta di un segno tardivo per tentare un trattamento tocolitico (3). Per quanto riguarda la diagnosi di PROM sono stati proposti numerosi test, ma nessuno ha mostrato una particolare efficacia: la positività del test alla Nitrazina indica soltanto che la vagina ha perso la sua caratteristica acidità, il test alla fibronectina indica la rottura della decidua piuttosto che delle membrane e la presenza di oligoidramnios all'esame ecografico può essere associata ad anomalie morfologiche o della crescita fetale (1). La diagnosi di PROM è inequivocabilmente confermata quando si osserva il passaggio di indigo carmine in vagina previa amnioinfusione ecoguidata (1). La frequenza e la gravità delle complicanze neonatali dopo la PROM variano a seconda dell'età gestazionale in cui avvengono la PROM e successivamente il parto: sepsi, emorragie intraventricolari, enterocolite necrotizzante e sindrome da distress respiratorio sono piuttosto rare nei parti pretermine dopo la 32<sup>a</sup> settimana (1). Al contrario, il neonato pretermine nato a 23-24 settimane di gestazione ha un rischio di handicap neurologico a lungo termine di oltre il 50% (3). Inoltre, i neonati da parto pretermine presentano spesso una restrizione della crescita intrauterina (IUGR), sia perché la IUGR è forse associata a meccanismi biologici che inducono il travaglio pretermine sia perché essa rappresenta una delle indicazioni mediche del parto pretermine iatrogeno (4). In realtà la scelta del timing dell'intervento nei casi di IUGR è molto complessa, in quanto richiede la valutazione dei rischi legati da un lato alla prematurità e dall'altro al danno d'organo da insufficienza placentare (5). L'approccio terapeutico del travaglio pretermine o della PROM varia a seconda dell'età gestazionale: a 23-31 settimane si attua un management il più conservativo possibile (1) con controllo del benessere fetale mediante determinazione del Profilo biofisico e della flussimetria Doppler (5) e con l'integrazione di agenti tocolitici, antibiotici e corticosteroidi. Al contrario, in casi di travaglio pretermine o PROM a 32-36 settimane è preferibile espletare il parto, in quanto il management conservativo si associa ad elevato rischio di amnionite, prolungata ospedalizzazione materna e pH basso del cordone alla nascita e prolunga la gravidanza solo di poche ore (1). Tuttavia, l'esperienza clinica conferma che le membrane fetali sono dotate di un certo grado di riparazione, in quanto lo stillicidio di liquido amniotico secondario a procedure invasive si

risolve completamente (6). E' tuttavia poco chiaro se le membrane fetali si cicatrizzano nel sito del trauma o interpongono i lembi in maniera meccanica (7). Inoltre, poichè è possibile visualizzare il sito di rottura mediante endoscopia (8), alcuni Centri di terzo livello (St Joseph's Women's Health Hospital, Tampa, Florida; New York University School and Medical Centre, Department of Obstetrics and Gynecology, New York; Mount Sinai School of Medicine Department of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Science, New York; Center for Surgical Technologies, Faculty of Medicine, and Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Gasthuisberg, Leuven, Belgium) hanno riportato con successo la riparazione della rottura delle membrane mediante l'applicazione di collanti costituiti da collagene e piastrine. Esistono varie tecniche per infondere il composto, ma la più semplice è l'infusione transaddominale con ago 22-gauge, a seguito della quale si assiste al ripristino del liquido amniotico entro 1 settimana (9)

Allo scopo di documentare i meccanismi fisiologici con cui si verifica il riparo delle membrane fetali proponiamo un modello in vitro delle membrane amniochoriali che vengono successivamente sottoposte a trauma chirurgico. Inoltre, ricerchiamo l'efficacia di preparati piastrinici nella riparazione della rottura delle membrane.

#### METODICHE

Raccolta del campione. Le membrane fetali, prelevate da circa 15 gravidanze fisiologiche esitate in taglio cesareo elettivo e da 15 gravidanze complicate da PROM, vengono separate dalla placenta e lavate 3 volte in una soluzione sterile salina a 23°C. Aree che presentano coaguli di sangue o contaminazione deciduale vengono rimosse. I campioni vengono trasportati in laboratorio a temperatura ambiente entro 30 minuti dal prelievo. Preparazione delle colture. Metà dei campioni viene esaminata per la valutazione dei processi di riparo con la seguente metodica. È necessario che le membrane vengano manipolate in condizioni sterili sotto un flusso di aria laminare continuo. Lembi di membrana (10x10 mm) vengono traumatizzati nella zona centrale con una lama di 2 mm. Il bordo del difetto è marcato con inchiostro d'India allo scopo di facilitare il riconoscimento al momento dell'esame istologico. I campioni così manipolati sono posizionati al di sopra di un supporto acellulare di collagene, facendo in modo che i margini delle membrane combacino con i margini del supporto di collagene. Le membrane vengono poi incubate in 12 piastre con 5% CO<sub>2</sub> e a 37°C e si aggiunge un mezzo colturale per amniociti arricchito con glutamina. Il mezzo colturale va sostituito ogni 2 giorni e in questa occasione un campione viene esaminato istologicamente nel sito del trauma precedentemente marcato e sottoposto a immunohistochimica. I campioni tissutali sono poi fissati in 4% paraformaldeide, imbevuti nella

paraffina e marcati con ematossilina-eosina. Valutazione della vitalità e della crescita dei campioni. La vitalità e la necrosi del tessuto sono valutate dall'architettura istologica delle membrane e dal calcolo della percentuale del nucleo picnotico delle cellule. La conta cellulare si effettua separatamente per il chorion e l'amnion per 5 volte e in 3 zone distinte: nell'area adiacente al trauma, nella zona più periferica e in una zona intermedia. Per determinare e quantificare la proliferazione cellulare si studia l'incorporazione di 5-Bromo-2'-deossipuridina (BrdU) nel DNA: si aggiunge BrdU 0,1% nel mezzo colturale e si calcola la percentuale di cellule BrdU positive. Inoltre, si effettua l'immunoistochimica con l'anticorpo monoclonale di topo anti Ki-67, l'anticorpo anti-citocheratina e l'anticorpo anti-vimentina. Questi anticorpi si ricercano mediante IgM e IgG di capra anti-topo coniugate alla perossidasi. Riparazione delle membrane. L'altra metà dei campioni viene utilizzata per lo studio della riparazione delle membrane con amniopatch. Si esegue un prelievo di piastrine dalle pazienti arruolate. Successivamente si osserva l'adesione delle piastrine sull'amnion e sul chorion mediante microscopio elettronico. Analisi statistica. ANOVA per confronti multipli (test di Turkey) per valutare la cicatrizzazione nelle tre zone; test di Student per confrontare i processi di riparazione della rottura delle membrane a termine e pretermine e a livello dell'amnion e del chorion; Chi-quadro per valutare l'efficacia dell'amniopatch.

#### RISULTATI ATTESI

I risultati attesi sono: Possibilità di riprodurre in vitro un modello di membrane amniochoriali Osservare e descrivere i processi di cicatrizzazione spontanea nel caso di rottura delle membrane

Possibilità di riparare artificialmente la rottura delle membrane

#### PREFERENZE

Mercer BM. Preterm premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol* 2003;101:178-193

Maymon E et al. Human neutrophil collagenase (matrix metalloproteinase 8) in parturition, premature rupture of the membranes, and intrauterine infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:94-99

Steer P et al. Preterm labour and premature rupture of membranes. *BMJ* 1999;318(17):1059-1062

Papiernik E. Fetal growth retardation: a limit for the further reduction of preterm births. *Mat Child Health J* 1999;3(2):63-69

Romero R et al. Timing to delivery of the preterm severely growth-restricted fetus: venous Doppler, cardiotocography or biophysical Profile?. *Ultr Obstet Gynecol* 2002;19:118-121

Quintero R et al. Repair kinetics of amnion cells after microsurgical injury. *Fet Diagn Ther* 1996;11:348-356

Gratacos E. Is the angle of needle insertion influencing the create defect in human fetal membranes? Evaluation of the agreement between specialists' opinion and ex vivo observations. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(3):646-649

Quintero R. Transabdominal intra-amniotic endoscopic assessment of previable premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179(1):71-7

Quintero R et al. Treatment of iatrogenic previable premature rupture of membranes with intra-amniotic injection of platelets and cryoprecipitate (amniopatch): preliminary experience. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181(3):744-9

Greco P, Vimercati A, Cormio G, Loverro G, Selvaggi L. Intratumoral blood flow characteristics and prognostic factors in patients with endometrial carcinoma. *Arch Gynecol Obstet* 2002 Nov;267(1):1-3

Vimercati A, Greco P, Gentile A, Ingravallo G, Loverro G, Selvaggi L. Fetal liver hyperechogenicity on sonography may be a serendipitous sign of a transient myeloproliferating disorder. *Prenat Diagn* 2003 Jan;23(1):44-Greco P, Vimercati A, Selvaggi L. Comment on: *Prenat Diagn*. 2001 Jul;21(7):589-95. Isolated mild fetal cerebral ventriculomegaly. *Prenat Diagn* 2002 Feb;22(2):162-3

Vimercati A, Greco P, Lopalco P, Loizzi V, Scioscia M, Mei L, Rossi AC, Selvaggi L. The value of ultrasonographic examination of the uterine cervix in predicting post-term pregnancy. *J Perinat Med* 2001;29(4):317-21

Greco P, Vimercati A, De Cosmo L, Laforgia N, Mautone A, Selvaggi L. Mild ventriculomegaly as a counselling challenge *Fetal Diagn Ther* 2001 Nov-Dec;16(6):398-401

Rossi AC, Vimercati A, Greco P, Baldassarra PF, Lestingi D, Laforgia N, Mautone A, Selvaggi L Echographic measurement of subcutaneous adipose tissue as fetal growth index. *Acta Biomed Ateneo Parmense* 2000;71 Suppl 1:379-82

Greco P, Vimercati A, Giorgino F, Loverro G, Selvaggi L. Reversal of foetal hydrops and foetal tachyarrhythmia associated with maternal diabetic coma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000 Nov;93(1):33-5

Vimercati A, Greco P, Kardashi A, Rossi C, Loizzi V, Scioscia M, Loverro G. Choice of cesarean section and perception of legal pressure. *J Perinat Med* 2000;28(2):111-7

Greco P, Vimercati A, Bettocchi S, Loverro G, Selvaggi L. Endoscopic examination of the fetus in early pregnancy. *J Perinat Med* 2000;28(1):34-

## **GRECO/FIORE**

**TITOLO DELLA RICERCA:** PLACENTA E HHV-8

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Valutare la prevalenza del virus in parti spontanei, tagli cesarei, aborti spontanei.

## **DAMBROSIO/CINNELLA**

**TITOLO DELLA RICERCA:** VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA NEURORMONALE ALLO STRESS CHIRURGICO. CONFRONTO DEGLI EFFETTI DI FENTANYL E REMIFENTANYL SULLE CITOCHINE PLASMATICHE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Lo studio sarà condotto su pazienti sottoposti a chirurgia d'elezione di superficie (tiroidea, mammaria, colecistectomia, plastica erniaria, cisti ovariche ecc.). I pz saranno suddivisi in 2 gruppi in accordo al tipo di analgesico oppioide da utilizzare nel periodo intraoperatorio: fentanyl o remifentanyl. Verrà utilizzato per tutti i pz un uguale protocollo di terapia del dolore postoperatorio. Durante l'intervento chirurgico in tutti i pz saranno registrati i seguenti parametri: pressione arteriosa, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, SatO<sub>2</sub>, presenza di lacrimazione e sudorazione al tempo basale(T0), all' incisione cutanea (T1), dopo il risveglio (T2), a 6h (T3), a 24h (T4) ed a 48h (T5). Questi parametri verranno valutati con l' Aldrete Scoring System che ne permette la valutazione statistica. Agli stessi tempi verranno effettuati prelievi ematici per valutare le concentrazioni di IL-6, IL-8, IL-10, TNF-alfa che sono i principali mediatori della stress response (citochine proinfiammatorie ed antinfiammatorie).

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** € 30.000,00

**Cinnella/Dambrosio** In collaborazione con Altomare - Vendemmiale

**TITOLO DELLA RICERCA:** EFFECTS OF PROPOFOL, SEVOFLURANE AND DESFLURANE ON OXIDATIVE STRESS DURING GENERAL ANESTHESIA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** The alterations in the normal biological oxide-reductive balance can be due both to an increase of the plasmatic concentrations of the free radicals and to the less of the protective mechanism. During general anesthesia, changes in tissue and organ perfusion and the degree of oxygenation can effect oxidative stress. The present study will be launched to evaluate the effect of Propofol, Sevoflurane and Desflurane on plasma oxidative stress in surgical patients undergoing general anaesthesia and to test, in vitro, their intrinsic antioxidant potential. Patients scheduled for elective laparoistherectomy will be randomly assigned to Propofol, Sevoflurane or Desflurane group. In group P anaesthesia will be induced with 2

mg/kg and maintained with 8 mg/kg/h Propofol; in group S anaesthesia will be induced with 3 mg/kg Thiopental and maintained with 2% Sevoflurane; in group D anaesthesia will be induced with 3 mg/kg Thiopental and maintained with 6% Desflurane. Blood will be collected immediately before (T0), 30' and 60' after anaesthesia induction (T30', T60') , after patient awakening (Tend) and 24 hours after surgery (T24). Blood reduced Glutathione (GSH) will be evaluated by Tietze method and plasma adduct of Malondialdehyde (aMDA) and 4-Hydroxynonenal (aHNE) to proteins by fluorimetry.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** € 40.000,00

**Dambrosio/Cannella** In collaborazione con Gesualdo - Margaglione - Greco

**TITOLO DELLA RICERCA:** Continuous Epidural Anesthesia: Levobupivacaine vs Levobupivacaine-Sufentanil. Gene polymorphism for the opioids  $\mu$  receptor and effects on the neuroendocrine response.

**SINTESI DEL PROGETTO** (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) : Local anesthesia gives a good control of the neuroendocrine response from surgical stress. Aim of the study is to compare the combination of Levobupivacaine-Sufentanil (LS) with Levobupivacaine alone (L), in terms of control of perioperative pain and surgical stress, by estimating the neuroendocrine response by the dosage of the pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (respectively IL-6 and IL-10), and to assess gene polymorphism for the opioids  $\mu$  receptor. In this randomized single-blind study will be allocated patients undergoing elective Caesarean delivery, in continuous Epidural Anesthesia (AE), divided in two groups: group L (L:0,5%-15-17ml), and group LS (L:0,5%-15-17ml and S:10 $\mu$ ). Post-operative analgesia will be obtained by means of elastomeric pump (5ml/h-48h) with Levobupivacaine 0,25%-600mg (gr.L), and Levobupivacaine 0,25%-600mg + Sufentanil 5-7,5 $\mu$ /ml (gr.LS). Basal conditions will be assessed on T0, every 5 minutes until T45min, on T6h and T24h, with measurement of BP, HR, SaO<sub>2</sub>, RR; onset of sensitive block with Hollmen scale and the end-surgery motor block with Bromage scale (0-4). The post-operative pain will be estimated on T6h and T24h by means of scale VAS. On T0, blood samples and to assess polymorphism for the receptor, on T45min, T6h and T24h blood samples for IL-6 and IL-10 will be repeated.

**Prof. P. CASSANO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** VARIAZIONI CITOLOGICHE NELLE RINOPATIE VASOMOTORIE E NELLA POLIPOSIS NASALE

## **SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) : Premesse:**

La citologia nasale è da oltre 100 anni considerato un importante test diagnostico, attualmente sempre più usato in campo rinologico per differenziare le molteplici forme di rinopatia, soprattutto quando i più comuni test non riescono nell'intento. L'indagine isto-citologica si rivela inoltre di grande utilità nella poliposi naso-sinusale per la diagnosi differenziale delle patologie flogistiche e di quelle conseguenti all'iperreattività nasale, con importanti risvolti sulla programmazione terapeutica. Particolare importanza assume questo aspetto nella fibrosi cistica dell'età pediatrica sia per lo studio della discinesia ciliare sia per il rilievo di componenti citologiche della flogosi (cellule neutrofile), che spesso si sovrappone alla patologia di base. Precedenti personali studi, pubblicati sull'American Journal of Rhinology, hanno evidenziato che nelle cellule ciliate della mucosa nasale normale è presente una caratteristica formazione in forma di stria nella regione sovrastante il nucleo, che abbiamo definito "Stria ipercromatica sovranucleare".

Abbiamo ipotizzato che tale formazione abbia il significato di un'area ad alto contenuto proteico, espressione quindi di buona attività metabolica cellulare; la formazione è difatti quasi sempre assente nelle diverse rinopatie.

### **Obiettivi**

Lo studio ha l'obiettivo di approfondire le ricerche di biologia cellulare della mucosa nasale in stato di normalità e, soprattutto, di patologia, per definire la prognosi di alcune malattie e per programmare e monitorare il trattamento. Particolarmente importante è la definizione del significato di specifiche strutture intracellulari, quali la "Stria ipercromatica sovranucleare" e lo studio molecolare dell'apparato ciliare, soprattutto nelle discinesie.

### **Metodologia**

I referti osservati al microscopio ottico saranno sottoposti ad accurata analisi biochimica ed immunoistochimica e completati con lo studio al microscopio elettronico. La ricerca prevede dunque la dotazione di mezzi idonei per una ricerca di base a livello avanzato (microscopio ottico ad alta risoluzione, corredato di telecamera e di mezzi di acquisizione digitale di immagini, microscopio a contrasto di fase, kit per l'allestimento e la processazione di preparati citologici, ecc.). Ovviamente lo studio sarà condotto con un'ampia collaborazione interdisciplinare che coinvolgerà l'anatomo-patologo, il citologo e il biochimico.

### **Risultati attesi**

Si auspica che l'indagine di biologia cellulare e molecolare definisca l'iter patogenetico delle numerose patologie infettive, iperreattive e

degenerative della mucosa nasale, attraverso l'interpretazione dei fenomeni strutturali e biochimici che intervengono nel corso della malattia.

Ciò consentirà di monitorare le varie fasi delle rinopatie e di intervenire su quelle a maggior significato patologico.

In particolare nella poliposi nasale da discinesia ciliare (fibrosi cistica) l'aspettativa dello studio è l'interpretazione dei fenomeni che interferiscono con il movimento ciliare attraverso la correlazione tra l'entità del movimento stesso e lo studio biochimico del deficit delle componenti molecolari che lo sottendono.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** 30.000,00

**Prof. CARRIERI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** CARATTERIZZAZIONE DEL PROFILO GENICO DELLE NEOPLASIE UROLOGICHE.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Dimensioni del problema. Negli Stati Uniti, il carcinoma della vescica rappresenta una causa importante di morbilità e mortalità, soprattutto per i soggetti anziani di sesso maschile. Si stima che, nel corso del 1995, siano stati diagnosticati più di 50.000 nuovi casi di carcinoma della vescica e che più di 11.000 persone siano morte a causa di questa malattia solo negli Stati Uniti. Il rischio aumenta rapidamente con l'età: oltre la metà di tutte le morti per carcinoma della vescica si verifica dopo i 70 anni. Negli uomini l'incidenza del tumore è 3-4 volte più alta che nelle donne; nei maschi di razza bianca è di circa il doppio più elevata che nei maschi di razza nera. Tra i maschi di razza bianca l'incidenza annuale del tumore dopo i 65 anni è di circa 2 casi ogni 1.000 individui (rispetto a 0,1 casi ogni 1.000 individui con meno di 65 anni); la probabilità di sviluppare il tumore nel corso della vita è superiore al 3%, e la probabilità di morire a causa di un carcinoma della vescica è di gran lunga inferiore (inferiore all'1%). Il fumo di sigaretta aumenta nettamente il rischio di sviluppare un carcinoma della vescica (il rischio relativo dei fumatori rispetto ai non fumatori è 1,5-7); circa la metà di tutti i nuovi casi di carcinoma della vescica si verifica in fumatori o in ex fumatori. Anche l'esposizione Professionale a sostanze chimiche utilizzate nell'industria dei coloranti, del cuoio, dei pneumatici e della gomma è associata a un aumento del rischio di carcinoma della vescica. Nonostante alcune segnalazioni iniziali, non è stata confermata l'esistenza di un'associazione tra il carcinoma della vescica e il consumo di caffè o di dolcificanti artificiali. La sopravvivenza dei pazienti con carcinoma della vescica è strettamente correlata allo stadio del tumore al momento della diagnosi. Benché la maggior parte dei tumori venga diagnosticata allo stadio di carcinoma superficiale, ancora oggi il 10-20%

dei casi viene scoperto quando la neoplasia ha già invaso la tonaca muscolare della vescica. La prognosi, in questi pazienti, è particolarmente sfavorevole. La sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con tumori superficiali è superiore al 90%, ma si riduce a meno del 50% nei casi con malattia invasiva. La diagnosi e il trattamento dei carcinomi della vescica in fase iniziale potrebbero impedirne la progressione a tumori invasivi; la diagnosi precoce, inoltre, potrebbe aumentare l'efficacia delle terapie dirette ai tumori non invasivi, che tendono a recidivare molto spesso. Nonostante il grado e lo stadio siano tuttora i fattori di prognosi più validi, e quindi più utilizzati, nella valutazione del carcinoma vescicale, non sempre riescono a predire il vero potenziale di malignità del tumore. Spesso accade che neoplasie di pari stadio e grado abbiano un decorso clinico nettamente differente. Questa situazione si riscontra più frequentemente nel caso dei T1G3, per i quali il decorso clinico risulta imprevedibile, cosa che porta gli urologi ogni giorno a misurarsi con il dilemma se adottare un trattamento conservativo o radicale. Molti urologi propongono la cistectomia radicale motivando la proposta con l'assunto che quando il tumore è ancora superficiale si hanno i migliori risultati in termini di sopravvivenza. Tale trattamento, tuttavia, può essere in taluni casi eccessivo. È stato dimostrato, infatti, che circa la metà dei pazienti con T1G3 può preservare la vescica attraverso instillazioni di agenti chemioterapici o BCG. Identificare, pertanto, tumori della vescica T1G3 che richiedono cistectomia precoce non è ancora semplice per quanto certi fattori come l'aspetto solido o papillare del tumore, l'alta frequenza di recidiva, la concomitante presenza del Tis o il numero delle lesioni presenti possono influenzare la decisione. Alla luce di quanto esposto emerge l'esigenza di individuare nuovi fattori di prognosi che consentano di avere un quadro più completo ed esaustivo delle caratteristiche della singola neoplasia in modo da guidare l'urologo nella scelta del trattamento più opportuno.

Scopo del lavoro.

È ormai da tempo noto che determinate mutazioni geniche sono in grado di scatenare sequenze di eventi a livello cellulare che portano al cancro. Ne consegue che determinati genotipi siano correlati a parametri clinico- patologici quali stadio, grado, invasione vascolare e stato nodale. Queste alterazioni geniche si producono nell'attivazione di oncogeni o nell'inattivazione di geni soppressori di tumori. In lavori recenti è stato studiato il ruolo dei geni soppressori di tumore nella progressione delle neoplasie vescicali. Essi hanno portato all'identificazione di nuovi marcatori che possono potenzialmente chiarire la causa della presenza della neoplasia, migliorare la diagnosi, la valutazione e la gestione dei tumori urologici.

Partendo quindi dal presupposto che l'individuazione e lo studio delle alterazioni presenti nel genoma della cellula tumorale possa risultare di utilità clinica per una classificazione dei tumori caratterizzati da pari stadio e grado in differenti categorie prognostiche, l'obiettivo del nostro studio è la costruzione di un database in cui saranno immesse le sequenze di geni, mRNA e proteine coinvolti nel processo tumorale.

**Materiali e metodi.** Ciascuna neoplasia di ciascun paziente sarà sottoposta a estrazione del DNA. Ciascun gene che sarà oggetto del nostro studio sarà isolato mediante l'utilizzo di primers specifici, amplificato e sequenziato. La sequenza genica relativa alla neoplasia di ciascun paziente sarà immessa nel nostro database. La stessa sequenza verrà analizzata utilizzando softwares bioinformatici. In primo luogo verrà eseguito un allineamento tra la sequenza del gene normale estratta dal database NCBI e la sequenza da noi estratta (programma "Bestfit" del pacchetto GCG). In tal modo si potrà verificare la presenza di eventuali alterazioni geniche. Gli allineamenti con il tempo diventeranno multipli cioè coinvolgeranno le diverse sequenze estratte dalle neoplasie dei vari pazienti e la sequenza normale (programma "Pileup" del pacchetto GCG o "ClustalW" attraverso la rete Internet) in modo tale da verificare la presenza di eventuali punti o parti delle sequenze più frequentemente mutate (hot spots) e/o delete. Oltre al gene verrà estratto il mRNA, amplificato mediante RT-PCR o Real time PCR (se poco trascritto) ed infine sequenziato ed immesso nel database. Le sequenze dei mRNA saranno sottoposte ad allineamenti a coppie e multipli come per le sequenze geniche. Gli allineamenti relativi ad entrambi gli acidi nucleici potranno essere analizzati e manipolati attraverso l'utilizzo di programmi in rete come "Genedoc".

Oltre all'estrazione degli acidi nucleici sarà verificata la presenza della corrispondente proteina attraverso la metodica del Western Blotting e l'utilizzo di anticorpi specifici. Le sequenze proteiche ottenute saranno sottoposte ai programmi per l'allineamento sopra citati. Le sequenze degli acidi nucleici e delle proteine ci aiuteranno a capire se una ipotetica mutazione puntiforme nel gene ha avuto o no effetto sulla sequenza proteica; per la degenerazione del codice genetico, infatti, in seguito a mutazione puntiforme la tripletta di nucleotidi di cui fa parte potrebbe essere tradotta nello stesso aminoacido. Se questo non avvenisse e cioè se invece la mutazione desse origine ad un aminoacido caratterizzato da proprietà chimico-fisiche differenti, la struttura della proteina potrebbe essere diversa e ciò potrebbe avere ripercussioni sulla sua funzione. Per verificare questo, dopo aver appurato che le caratteristiche chimico-fisiche dell'aminoacido della proteina normale sono differenti da quelle dell'aminoacido della proteina mutata (esistono tabelle che elencano le caratteristiche chimico-fisiche degli aminoacidi),

può essere costruito il Profilo di idrofobicità (programma "Peplot" del pacchetto GCG) della proteina mutata e confrontato con quello della proteina normale. Inoltre l'analisi può proseguire con la predizione della struttura secondaria (programmi "Peptidestructure" e "Plotstructure" del pacchetto GCG) della stessa proteina. Il Profilo di idrofobicità e la struttura secondaria possono fornirci indizi su cambiamenti strutturali che potrebbero portare la proteina a modificare la sua normale funzione e magari a dar vita a processi cellulari che si differenziano dalla normalità. L'auspicio con cui ha inizio questo lavoro è che la costruzione del database e l'analisi delle sequenze estratte dalle neoplasie dei diversi pazienti possano fornire indicazioni e suggerimenti che abbiano un'utilità clinica volta alla classificazione delle neoplasie in diverse categorie prognostiche, in modo tale che i nuovi dati possano fornire all'urologo la possibilità di scegliere un trattamento sempre migliore per ogni paziente.

**Prof. BARTOLI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Valutazione scintigrafica dei disturbi di svuotamento a livello della giunzione pielo-ureterale

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La scintigrafia renale con MAG3 riveste un ruolo determinante nell'indirizzare il trattamento dei bambini con alterato svuotamento pielo-ureterale. Lo scopo della ricerca è di valutare il grado di ostruzione, studiare gli effetti dell'ostruzione sul parenchima renale e mettere a punto nuove strategie di trattamento. Saranno studiati i referti scintigrafici di 180 bambini affetti da idronefrosi secondaria a alterato drenaggio a livello della giunzione pieloureterale classificati in base al raggiungimento del T50 in funzionali ed ostruttivi. E' ragionevole pensare che i risultati ottenuti consentiranno di definire con maggior precisione gli effetti dell'ostruzione sul parenchima renale, selezionare i pazienti in modo più preciso e consentire una migliore indicazione al trattamento chirurgico di questi bambini.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** € 10.000,00

**Prof. BARTOLI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Idronefrosi in età pediatrica: studio dei meccanismi eziopatogenetici alla base della progressione della stenosi della giunzione pielo-ureterale.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** L'idronefrosi in età pediatrica rappresenta un problema oltre che per frequenza anche per le potenziali conseguenze. Al secondo posto tra le cause di insufficienza renale cronica nel bambino vi è infatti la nefropatia ostruttiva.. L'obiettivo dello studio è la

comprensione dei meccanismi eziopatogenetici della stenosi della giunzione pielo-ureterale con particolare riguardo ai processi di flogosi, alle citochine e popolazioni cellulari coinvolte. Lo studio rivolto sia al gruppo delle idronefrosi funzionali che ostruttive mira a stabilire una eventuale evolutività delle prime verso le seconde, con l'intento che una volta compresi i meccanismi eziopatogenetici, si possa intervenire su di essi arrestando dunque questo processo.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: € 10.000,00**

**Prof. BARTOLI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** FAGOCITOSI E MIGRAZIONE A DISTANZA DEL POLIDIMETILSILOXANO (SILICONE MICROIMPLANTS) UTILIZZATO PER IL TRATTAMENTO ENDOSCOPICO DEL REFLUSSO VESCICO-URETERALE IN ETÀ PEDIATRICA.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Negli ultimi anni si è fatto strada un nuovo approccio al reflusso vescico-ureterale: il trattamento endoscopico. Consiste nell'iniezione nella sottomucosa dell'uretere di materiale, come il silicone , in grado di opporre resistenza al reflusso. Lo scopo dello studio è valutare la migrazione a distanza del silicone in bambini affetti da reflusso vescico-ureterale sottoposti a procedura endoscopica con utilizzo di Silicone Microimplants. In particolare lo studio è volto alla ricerca di particelle di silicone nei monociti circolanti ed ove se ne determini la presenza, a valutare le eventuali conseguenze dello stesso sulla funzionalità delle cellule indagate. Inoltre lo studio si propone di indagare le alterazioni della mucosa vescicale, secondarie all'utilizzo del silicone. Poter escludere con certezza la migrazione a distanza dei materiali rappresenta un indubbio progresso in quanto dissiperebbe le ultime remore al trattamento endoscopico del reflusso vescico-ureterale.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: € 10.000,00**

**Prof. FINESCHI**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Patologia cardiovascolare di interesse medico legale:

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il progetto di ricerca, ha per fine lo studio di particolari aspetti fisio - patologici in alcune comuni condizioni patologiche cardiache. Si tratta di un argomento di estrema importanza, finora studiato solo nei risvolti clinici, ma la cui interpretazione etio - patogenetica richiede studi approfonditi, da svolgersi anche attraverso tecnologie avanzate e sofisticate. Se si considera che la patologia

cardiovascolare è la prima causa di morbidità e mortalità - sia come morte improvvisa che come insufficienza congestizia - nelle società cosiddette tecnologiche o consumistiche, ci si rende conto immediatamente come il patologo forense necessiti di una Profonda cultura cardiovascolare per dirimere, fra accidente e preesistente malattia cardiaca, quale sia il rapporto fisiopatologico fra i molti fattori che possono aver interagito nell'arresto cardiaco. Fermo restando sia il concetto che le malattie cardiovascolari, destinate a persistere con il continuo aumento dell'età media, manterranno la loro predominanza fra le malattie della senilità, sia il fatto che l'arresto cardiaco è evento il più delle volte primitivo; e sia l'osservazione, non meno importante, che la casistica anatomo - patologica cardiovascolare sta diventando sempre più appannaggio del patologo forense dal momento che "l'immagine" in vivo, mediante sofisticate tecnologie d'indagine, ha illuso i clinici, soprattutto i cardiologi, di esseri liberi dal riscontro autoptico, ormai raramente richiesto. Da qui lo stimolo a condurre ricerche sempre più approfondite con il fine di una solida base conoscitiva dell'anatomia funzionale, e della fisiopatologia così da permettere un'aggiornata visione critica delle patologie cardio vascolari con il risultato di criteri diagnostici i più precisi possibili. Il progetto di ricerca si svolge attraverso lo studio anatomo - patologico su cadavere, corredato da sofisticate indagini istologiche ed immunoistochimiche.

L'obiettivo della nostra ricerca è, quindi, quello di offrire una visione della materia (patologia cardiovascolare) utile alla pratica sia clinica che forense, attraverso anche la costituzione di un centro di riferimento per lo studio anatomo - patologico, istomorfologico ed immunoistochimico nei casi di morte per patologia cardiovascolare, nelle sue più varie espressioni.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesta fondi ex 60% quota progetti

**Coordinatore Nazionale: Volpe**

Coordinatori locali: Fineschi, Greco, Bufo,

Altri partecipanti: Turrillazzi, Rossi, Nappi, D'Aprile

**TITOLO DELLA RICERCA:** LA NATIMORTALITA' : ASPETTI EZIOPATOGENETICI E CLINICI Chemocettori bulbari e morte intrauterina del feto inspiegata

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Nonostante i progressi nella assistenza materno-fetale abbiano determinato una riduzione nella mortalità perinatale, non si è

registrata una riduzione simile delle morti in utero. Il numero dei feti, che muoiono in utero in epoca in cui la loro sopravvivenza postnatale è possibile, è rimasto, infatti, stabile (5-10/1000)(1), rappresentando almeno il 50% della mortalità perinatale e quindi degli insuccessi ostetrici. Inoltre almeno il 60% di queste morti rimangono, allo stato attuale delle nostre conoscenze, "inspiegate". Sebbene le morti intrauterine siano di gran lunga più frequenti delle morti improvvise in epoca postnatale (SIDS) e sebbene alcune anomalie di sviluppo del sistema nervoso autonomo siano alla base di entrambe le condizioni, non vi sono studi che abbiano esaminato in modo sistematico tali modificazioni(2-3). Le alterazioni dei centri regolanti il sistema cardiorespiratorio, attraverso riflessi chemo-recettoriali, sono, infatti, responsabili sia di un notevole numero di SIDS, sia, potenzialmente, delle morti intrauterine tardive(4). Lo studio si propone di arruolare 10 gravidanze esitate in morte intrauterina del feto sulla base dei seguenti criteri di inclusione: #peso fetale  $\neq$  >500 grammi; #ricerca negativa per alterazioni strutturali e cromosomiche; #possibilità di eseguire l'esame autoptico entro 48 h dall'espulsione del feto. Un esame autoptico completo, che include anche l'esame della placenta, membrane e cordone ombelicale, deve essere eseguito in ogni caso. Il protocollo prevede, inoltre, un prelievo di sangue alla madre, al momento della diagnosi di exitus fetale, onde identificare una emorragia feto-materna (test di Kleihauer-Betke), ed un prelievo di un campione di placenta (biopsia del trofoblasto) e/o di fascia lata del feto per eseguire cariotipo. Un tampone cervicale deve essere eseguito, sempre al momento della diagnosi, onde identificare patologie infettive. Il tronco encefalico deve, quindi, essere esaminato, dopo fissazione in formalina e paraffina, secondo sezioni trasverse attraverso l'intero spessore del tronco encefalico dello spessore di 5 micron. Sia un esame istologico che immunoistochimico, dopo adeguata fissazione, devono essere eseguiti al fine di individuare alterazioni strutturali ed aree di apoptosi. Inoltre, sempre su preparati autoptici freschi, devono essere eseguite le seguenti procedure:

- 1) Misura della attività di consumo di ossigeno in omogenati cellulari utilizzando substrati specifici per differenti porzioni della catena respiratoria mitocondriale;
- 2) Misura dell'attività funzionale di ciascun complesso enzimatico della catena respiratoria mitocondriale e del complesso dell'ATP sintasi mediante dosaggi spettrofotometrici e luminometrici;
- 3) Analisi spettrale della componente citocromica mitocondriale mediante spettrofotometria differenziale su lisati cellulari;
- 4) Analisi della produzione di radicali liberi dell'ossigeno mediante dosaggi fluorimetrici e luminometrici;

- 5) Analisi elettroforetica mediante BN-SDS PAGE della composizione proteica del sistema della fosforilazione ossidativa mitocondriale;
- 6) Analisi immunoelettroforetica dei fattori pre e pro apoptogenici mitocondriali;
- 7) Caratterizzazione della architettura intracellulare morfologico-funzionale dei mitocondri mediante microscopia confocale;
- 8) Analisi dei principali trascritti mitocondriali mediante reverse transcriptase PCR;
- 9) Rapporto DNA mitocondriale/DNA nucleare mediante RT-PCR;
- 10) Analisi mutazionale delle più frequenti mutazioni del DNA mitocondriale (delezioni 5-kb e 7.4 kb mediante PCR e mutazioni puntiformi mediante DHPLC);
- 11) Identificazione di nuove mutazioni mediante sequenziamento diretto del DNA mitocondriale.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** PRIN ex 40%

**Prof. GIORDANO G.**

**TITOLO DELLA RICERCA:** ATTUALITA' TECNOLOGICHE NELLA CHIRURGIA DEI TUMORI DEL FEGATO

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Validare efficacia delle tecnologie avanzate nella chirurgia resettiva epatica. Impiego di strumentazioni d' avanguardia che consentano il massimo rendimento con efficacia ed esclusione di grossi rischi tipici di un tempo. L'impiego di nuove tecnologie applicate alla chirurgia demolitiva del fegato ha rivoluzionato radicalmente la tattica chirurgica dei tumori del fegato. Scopo della nostra ricerca è l'impiego di tali tecnologie per verificare, validarne l'efficienza e confermare quindi la loro utilità nella diuturna chirurgia epatica resettiva.- D'Amico DF, Bassi N,- Il trapianto di fegato-Masson 1993-Adler M,Gavaler JS, Duquesnoy R, e coll.-Relationship between the diagnosis, pre-operative evaluation, and prognosis after orthotopic liver transplantation-Ann Surg 1988-Samuel D, Benhamou JP, Bismuth H, e coll.-Criteria of selection for liver transplantation-Transpl Proc 1987.

I risultati finora ottenuti, pur se incompleti e preliminari, sono tuttavia promettenti e incoraggiano a proseguire. La ricerca consiste nell'impiego di nuovi strumenti offerti dalla tecnologia moderna nel trattamento resettivo maggiore e minore delle lesioni neoplastiche e traumatiche del fegato. L'efficacia di questi strumenti, secondo l'opinione di ricercatori all'avanguardia consente di realizzare decurtazioni parenchimali epatiche anche molto estese, senza far correre al paziente gli altissimi rischi della chirurgia tradizionale. Difatti è risaputo come

nel passato i due grossi punti negativi della chirurgia erano rappresentati dalla difficoltà di realizzare un riconoscimento delle strutture vascolari intraepatiche (grosso rischio di ledere le stesse strutture vascolari con conseguenti emorragie infrenabili intraoperatorie) e, una volta eseguita la resezione epatica, grosse difficoltà nel trattare la trancia di resezione epatica residua; si aggiungano inoltre i problemi complicativi derivanti dalla possibile lesione di grosse strutture vasculo-biliari intraepatiche che se non riconosciute ed emendate al momento erano fonte di grosse complicanze (raccolte biliari) nel letto epatico residuo, foriere di ulteriori problemi settici intraaddominali; da ricordare la già riconosciuta efficacia di tali strumentazioni -a livello internazionale- nella problematica resettica di piccole lesioni situate in sede strategica (centroepatica) le quali un tempo non tecnicamente asportabili e che attualmente riconosciute passibili di trattamento exeretico grazie all'oculato e saggio utilizzo delle strumentazioni tecnologiche in questione.

**Fonte ed entità dei finanziamenti richiesti:** Quota progetti Università.

**DIPARTIMENTO SCIENZE DI SCIENZE MEDICHE DEL  
LAVORO**

Via L. Pinto, 1 71100 FOGGIA

**Direttore:** Prof. Giocchino Angarano

**Segretario:** Dott. Vincenzo Napoliello

**Professori Ordinari:** Emanuele ALTOMARE (MED/09); Luigi AMBROSI (MED/18); Matteo DI BIASE (MED/11); Carmine PANELLA (MED/12); Massimo PETTOELLO MANTOVANI (MED/38).

**Professori Associati:** Maria Grazia ALBANO (MED/08); Francesco Paolo CANTATORE (MED/16); Mauro CIGNARELLI (MED/13); Raffaele DESARIS (MED/09); Maria Pia BARBARO FOSCHINO (MED/10); Pietro MODUGNO (MED/34); Giorgina SPECCHIA (MED/15); Luigi Maria SPECCHIO (MED/26); Gianluigi VENDEMIALE (MED/09);

**Ricercatori Universitari:** Maria Grazia ALBANO (MED/02); Carlo AVOLIO (MED/26); Antonello BELLOMO (MED/25); Maria Filomena CAIAFFA (MED/09); Angelo CAMPANOZZI (MED/38); Cristiano CAPURSO (MED/09); Josè Ramon FIORE (MED/17); Enzo IERARDI (MED/12); Matteo LANDRISCINA (MED/06); Arcangelo LISO (MED/06); Mario MASTROLONARDO (MED/35); Marisa MEGNA (MED/34); Rosa PRATO (MED/42); Roberto ZEFFINO (MED/44)

**Personale Tecnico Amministrativo:** Giovanna MASTRULLI; Gianfranco BOTTE.

**Personale Tecnico Scientifico:** Maria Teresa DI CLAUDIO, Maria LA SALVIA.

## PIANO ANNUALE DELLE RICERCHE

### **Angarano/ Saracino**

**TITOLO DELLA RICERCA:** STUDIO DELLA CORRELAZIONE DELLE CARATTERISTICHE MOLECOLARI E BIOLOGICHE DEI DIVERSI ISOLATI DI HIV-1 CON L'EVOLUZIONE DEL PROCESSO INFETTIVO: ASPETTI CORRELATI AL VIRUS, ALL'OSPITE ED AI COMPARTIMENTI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Nell'ambito del progetto già finanziato in anni precedenti, sono stati prodotti ad oggi dati relativi alle caratteristiche di HIV-1 nei singoli compartimenti (plasma, PBMCs, liquor, biopsie rettali) a alle reciproche interazioni tra variabilità di HIV-1, caratteristiche dell'ospite ed evoluzione della malattia soprattutto in rapporto alla terapia antiretrovirale e allo sviluppo di mutanti. I campioni biologici da diversi compartimenti di pazienti arruolati nel corso di tale progetto, stoccati in coincidenza dello studio delle caratteristiche biologiche del virus (SI, NSI o dual tropic) saranno ora utilizzati per l'analisi di sequenza del gene env (C2-V3). Sulla base della composizione aminoacidica nelle posizioni 11 e 25 del V3 loop (posizioni 306 e 322 di HXB2) della sequenza relativa al segmento V3, sarà attribuito un genotipo 11/25 agli isolati con residui carichi positivamente ai codoni 11 e/o 25; per l'interpretazione delle sequenze ci si avvarrà inoltre di un sistema a rete neurale (neural network, NN) e di una Position-Specific Scoring Matrix (PSSM). I risultati dell'analisi di sequenza saranno confrontati con i dati dello studio dei fenotipi virali già ottenuti dai diversi compartimenti; inoltre tale analisi sarà ripetuta su campioni seriali di plasma e PBMCs stoccati a diversi time-points in corso di trattamento antiretrovirale (solo su DNA da PBMCs nei pazienti con carica virale non rilevabile) e correlati con i dati clinici (stadio clinico, conta dei CD4+, pVL) e con l'esito del regime terapeutico prescritto, allo scopo di: 1) verificare se la risposta alla terapia differisca sulla base della attribuzione di un genotipo 11/25; 2) valutare i tempi in cui occorre la reversione ad un genotipo non 11/25 e se questo sia un fenomeno costante e duraturo; 3) valutare se esistono differenze nelle caratteristiche del fenotipo virale dei virus emergenti dopo un fallimento terapeutico. Per i pazienti in follow-up, laddove possibile, l'analisi sarà condotta anche su DNA provirale estratto da cellule esprimenti, rispettivamente, i recettori CCR5 e CXR4, separate e contate mediante cell sorter e con l'uso di anticorpi monoclonali, allo scopo di confrontare la correlazione tra l'utilizzo preferenziale del CCR5 o CXCR4 e il fenotipo assegnato sulla base della sequenza del V3. Per tutti i pazienti falliti al trattamento, saranno inoltre analizzati i patterns mutazionali su

plasma, PBMCs e cellule esprimenti CCR5 e CXCR4 mediante analisi di sequenza dei geni della proteasi e della trascrittasi inversa per valutare se esistano differenze nel Profilo di resistenza ai farmaci tra virus che siano stati definiti si o nsi.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA' V PROGRAMMA

NAZIONALE DI RICERCA SULL'AIDS 2003 Finanziato con €60.000

**Angarano/Saracino**

**TITOLO DELLA RICERCA:** IMMIGRATI EXTRACOMUNITARI E ISTITUZIONI ITALIANE, PUBBLICHE E DEL VOLONTARIATO: COSTRUZIONE E IMPLEMENTAMENTO DI UNA RETE ASSISTENZIALE PER UN EFFICIENTE SCREENING/COUNSELLING PER HIV

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il gruppo proponente può vantare una esperienza più che ventennale sulla sorveglianza e gestione delle problematiche connesse alla infezione da HIV e sulla capacità di intervento razionale e organizzativamente efficace su gruppi particolari di persone (tossicodipendenti, detenuti, prostitute, istituzionalizzati ecc.). Ciò ha consentito, ad esempio, che il gruppo proponente fosse il primo a segnalare la particolare diffusione in Italia dell'epidemia HIV tra i tossicodipendenti (Angarano G., Pastore G., Monno L., Santantonio T., Luchena N., Schiraldi O. Rapid spread of HTLV-III infection among drug-addicts in Italy Lancet 2(8467):1302; 1985). Il gruppo, inoltre, possiede le capacità organizzative ed ha in più occasioni mostrato la sua efficienza e plasticità in interventi su vasta scala in situazioni di emergenze o del tutto particolari (1978, epidemie di epatite virale in Puglia; 1991, immigrazione albanesi in Puglia; 1994, colera in Puglia; 1996, epatite virale in Puglia). Oltre il costante impegno assistenziale e sociale nei confronti delle problematiche connesse alla infezione da HIV, le cliniche di Malattie Infettive delle Università di Foggia e Bari sono da tempo impegnate sul problema immigrati. In primo luogo sono ufficialmente costituiti e funzionanti ambulatori specializzati (dei quali sono rispettivamente responsabili la Dr.sa Saracino e la Prof.sa Monno) che forniscono prestazioni di medicina generale e specialistica con l'ausilio di interpreti e mediatori culturali volontari o, nel caso di Foggia, direttamente retribuiti dall'Azienda Ospedale-Università. Dal 2003 l'intervento si è articolato sul territorio mediante contatti e convenzioni con organizzazioni governative e non (Prefettura di Foggia, Croce Rossa Italiana, Caritas delle rispettive Diocesi), organizzazioni di volontariato titolari di progetti specifici di integrazione sociale.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richieste finanziamento a Regione Puglia per 20.000 €

### **Angarano/ Saracino**

**TITOLO DELLA RICERCA:** SVILUPPO DI UN SISTEMA INTEGRATO PER LA GESTIONE CLINICA DELLE FARMACORESISTENZE AGLI ANTIRETROVIRALI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** FIRB 2003 Coordinatore: ZAZZI Maurizio – Università di Siena

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Finanziamento triennale richiesto al MIUR €339.000

### **Angarano Faleo Fiore Prato Saracino**

**TITOLO DELLA RICERCA:** ASPETTI EPIDEMIOLOGICI E CLINICI DELLA TUBERCOLOSI NEGLI IMMIGRATI PRIN Bando 2004: prot. 2004061555 (reg.: 04/03/2004 17:09 chiusura: 30/03/2004 20:44) COORDINATORE SCIENTIFICO del Programma di Ricerca = Gioacchino Angarano U.O.

**Università e Settore S.D.:** Foggia MED 7 M- DEA , Roma Tor Vergata MED 7, Milano MED 7, Torino MED 7; Seconda Univ. NAPOLI MED 7; BARI MED 7; BRESCIA MED 7.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Nella maggior parte dei paesi industrializzati, la frequenza annuale di tubercolosi (TB) e dei decessi ad essa correlati si è progressivamente ridotta nel secolo scorso fino a metà degli anni '80. Successivamente questa tendenza si è invertita e la proporzione di casi di TB in Europa e in tutti i paesi sviluppati è progressivamente aumentato specialmente tra gli immigrati. In Italia, oltre il 30% dei casi di TB nel 2001 riguardava gli immigrati contro il 13,3% dei casi nel 1997. Gli immigrati, oltre che un aumentato rischio di esposizione, hanno anche un elevato rischio di progressione verso la malattia attiva a causa delle particolari condizioni di vita (igiene precaria, sovraffollamento, malnutrizione, stati carenziali). In Italia, gli immigrati non sono sottoposti ad una valutazione medica sistematica, ma possono spontaneamente e gratuitamente rivolgersi alle strutture del Servizio Sanitario Nazionale. Una stima accurata dei tassi di incidenza in questa popolazione è necessaria per sviluppare efficaci strategie di prevenzione e controllo, tuttavia nel nostro Paese mancano studi epidemiologici e solo dati limitati sono disponibili sulle caratteristiche della TB negli immigrati. Lo screening degli infetti, la diagnosi ed il trattamento della TB, componenti fondamentali degli interventi mirati al controllo della TB, negli immigrati comportano concrete difficoltà: numerosità della popolazione, difficoltà di raggiungerla e reclutarla, barriere linguistiche e culturali, frequenza elevata di patologie concomitanti, come epatiti e

HIV potenzialmente capaci di influenzare sia il decorso della TBC che la risposta alla terapia prescritta (spesso non accettata o compresa).

La TB multiresistente o da ceppi con particolari caratteristiche (ceppi Beijing), molto più difficile e costosa da trattare rispetto a quella farmaco sensibile, a causa di programmi di trattamento inadeguati e di incostante disponibilità di farmaci, è molto più frequente nella maggior parte dei paesi di origine degli immigranti che in Europa. Il presente progetto, frutto di uno sforzo combinato di gruppi di ricerca con diverse specificità (numerose sia per necessità di competenze diversificate che per coprire realtà italiane diverse), ma tutti particolarmente esperti in interventi sociali, epidemiologia, diagnostica tradizionale e molecolare, gestione clinica e trattamento della TBC, mira in una ampia popolazione di immigrati, a: Produrre dati epidemiologici aggiornati sull'andamento della tubercolosi (infezione e malattia) articolandoli per regione geografica di provenienza, durata della presenza in Italia, fattori di rischio aggiuntivi, prevalenza di forme sostenute da ceppi resistenti ai farmaci antitubercolari e da ceppi inusuali. Produrre dati relativi alla efficienza diagnostica di approcci alternativi a quelli tradizionali (Mantoux, esami colturali, antibiogramma) sia per lo screening che per migliorare la capacità di identificare e trattare tempestivamente ed efficacemente la TBC. Valutare le difficoltà e le specifiche esigenze necessarie ad un intervento diagnostico e terapeutico della TBC nella popolazione immigrata. Tutto ciò con l'obiettivo finale di delineare gli interventi di salute pubblica necessari a controllare la TBC in questa particolare popolazione. Per realizzare il programma sarà effettuato uno screening dei nuovi ingressi e degli immigrati con stabile residenza nelle aree oggetto dello studio; si procederà, inoltre, a diagnosi di malattia tubercolare attiva, monitoraggio del trattamento e valutazione del suo esito.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**  
RESPONSABILE SCIENTIFICO dell'Unità di Ricerca Locale =  
Giacchino Angarano Co-Finanziamento biennale richiesto al MIUR  
63.000 €

**Fiore**

**TITOLO DELLA RICERCA:** HHV8 E GRAVIDANZA: CORRELATI OSTETRICO-NEONATALI E DI TRASMISSIONE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** HHV-8, agente eziologico del Sarcoma di Kaposi oltre che di altre, più rare, forme neoplastiche (Body Cavity Based Lymphoma e variante multicentrica della Malattia di Castleman) è un virus di recente identificazione, sul quale negli ultimi anni va concentrandosi l'attenzione di numerosi gruppi di ricerca. Questo anche

in virtù della crescente importanza che tale virus e le patologie ad esso correlatevano assumendo nei soggetti HIV sieropositivi ed in quelli immunodepressi, specie in seguito a trapianto d'organo. Dibattute sono a tutt'oggi le possibili modalità di trasmissione del virus e, tra queste, la eventuale importanza di una trasmissione materno-fetale. Inoltre, è stato suggerito in alcuni studi un ruolo di HHV-8 nel condizionare multiabortività, parti prematuri e basso peso alla nascita del neonato.

Il progetto si propone di approcciare tali problemi mediante una valutazione di tipo sieroepidemiologico ed una di tipo virologico-cellulare. Lapartesieropeidemiologica si propone di valutare (sia su materiale archiviale che prospettico) prevalenza e titolo di anticorpi anti-HHV 8 (rivolti sia verso antigeni di latenza che litici) in un gruppo di donne gravide andate incontro ad aborto spontaneo o parto prematuro e/o con neonato con basso peso alla nascita e/o con anamnesi positiva per multiabortività. Il gruppo di controllo sarà rappresentato da un gruppo di partorienti con anamnesi negativa per le precedenti condizioni. Nella parte virologico-cellulare dello studio, concentreremo la nostra attenzione sulla a) presenza di HHV-8 nella placenta di donne HHV-8 e specificatamente nei citotrofoblasti placentari, mediante indagini di tipo immunoistochimico su placente da donne HHV-8 positive, sia HIV negative che positive b) caratterizzazione della eventuale infezione placentare (latente versus litica, produzione di particelle infettanti trasmissibili a cellule suscettibili quali cellule endoteliali da cordone ombelicale) da parte di HHV-8, mediante infezione sperimentale di biopsie placentari (hystocultures).

Il progetto si propone di fornire informazioni originali sia circa l'eventuale ruolo di HHV-8 nel condizionare eventi avversi in corso di gravidanza che circa i rapporti tra il virus e la placenta, conseguentemente, sui possibili meccanismi di trasmissione materno-fetale.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Fondi ex 60% Finanziamento assegnato: €9.511,00

### **M. Pettoello-Mantovani**

**Risorse Umane partecipanti alla ricerca:** Pettoello-Mantovani: Responsabile Unità di Ricerca; Marta Centra Dottoranda; Carla Lasalandra Dottoranda; Veronica Servedio Borsista; Nunzia Maiorano Assegnista di Ricerca; Nigro Antonia Borsista Post-Dottorato.

**TITOLO DELLA RICERCA:** INFLUENZA DEI FATTORI ORMONALI, GENETICI ED EPIDEMIOLOGICI SULLA RISPOSTA IMMUNITARIA, STORIA NATURALE E DECORSO CLINICO NELLA MALATTIA CRONICA DEL FEGATO.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Lo scopo generale di questo progetto è identificare gli eventi molecolari, ormonali ed epidemiologici responsabili dello sviluppo dell'epatocarcinoma a partire dalla malattia cronica del fegato. Il fegato intero sarà fissato nella formalina neutralizzata al 10% per 12-24 ore e campionato secondo la tecnica descritta da Lam et al. (Lam KH, 1990). Le sezioni di materiale paraffinato saranno utilizzate per l'estrazione del DNA e dell'RNA attraverso tecniche di microdissezione (metodo della cattura al laser). Il liquido nitrogeno preserva i campioni di fegato che saranno utilizzati per la caratterizzazione del DNA e dell'RNA. Il materiale paraffinato sarà usato per le seguenti determinazioni: - danno istologico, come descritto da Shauer et al. - stadio di neoplasia come descritto da Edmonson et al. - numero e sito delle lesioni tumorali; - determinazione del cDNA - caratterizzazione dei geni specifici valutazione dell'espressione genica (attraverso la cDNA expression array and Real-Time PCR). Lo scopo di questo step della ricerca è analizzare la struttura dei geni e della loro espressione. Inoltre in questa parte del programma noi correleremo le alterazioni osservate con lo sviluppo dell'epatocarcinoma e con i dati istologici. La tecnica dei microarray permette un rapido Profilo genomico per un dato campione; apre nuove potenziali strategie in medicina dirette in particolare allo sviluppo di nuove classificazioni della malattia. Permette inoltre l'identificazione di geni che possono essere patogenetici e un'analisi delle differenze tra cellula neoplastica e normale. La cancerogenesi così come la progressione tumorale è un processo multistep che richiede diversi eventi mutazionali, rappresentati principalmente dall'acquisizione di funzioni (oncogeni) e perdita di funzioni (oncosoppressori). Tali eventi possono essere analizzati a livello genomico a livello di espressione di DNA e a livello proteico. In un esperimento di array alcuni polinucleotidi gene-specifici derivati dall'estremità 3' dell'mRNA sono trasferiti individualmente su una singola matrice. Questa matrice viene poi simultaneamente marcata con cDNA fluorescente rappresentativo del pool del RNA totale sia del campione che del controllo. Questo permette la determinazione della quantità relativa di trascritto presente in ogni pool attraverso un segnale fluorescente. Noi utilizzeremo vetrini di cDNA composti da 15.000 geni che ibridizzeremo con campioni di RNA ottenuti da tessuti di fegato murino. Porremo particolare attenzione nella classificazione dei geni modulati con lo scopo di identificare specifici pattern di espressione alterati. Per confermare i risultati ottenuti realizzeremo ulteriori esperimenti con l'uso della RT-PCR. Queste indagini valuteranno singolarmente la overespressione o la

down-espressione di geni candidati. Inoltre, attraverso la RT-PCR potremo stabilire il numero di copie di mRNA over o under espressi. Dopo questo primo programma prepareremo un set di microchips che contengono sologeni coinvolti nella trasformazione tumorale del fegato. Questa strategia sarà particolarmente utile per confermare i risultati precedenti e per dimostrare l'importanza dei geni identificati nei vari steps della trasformazione del tessuto epatico umano da normale in cirrotico e successivamente neoplastico.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** PRIN 2003 € 50.000,00

### **M. Pettoello-Mantovani**

Progetto multidisciplinare tra - Cattedra di Pediatria Gener. e Specialistica - e Nefrologia

**Risorse Umane partecipanti alla ricerca:** Ida Giardino Coordinatrice Progetto, (-Prof. Associato Yeshiva University New York, USA -Cultore della Materia Pediatria, Università di Foggia // docente didattica integrativa Pediatria, Corso di Laurea Med. e Chir. Univ. Di Foggia)

M. Pettoello-Mantovani: Responsabile Unità di Ricerca Cattedra di Pediatria, Maria d'Apolito Tecnico Laureato Cattedra di Pediatria, Carla Lasalandra Dottoranda, Loreto Gesualdo Responsabile Unità di Ricerca Cattedra di Nefrologia.

**TITOLO DELLA RICERCA: MECCANISMI PATOGENETICI DEL PROCESSO DI ACCELERATA ATEROSCLEROSI IN PAZIENTI AFFETTI DA DIABETE INSULINODIPENDENTE.**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Negli ultimi 20 anni si è assistito ad un duplicarsi dell'incidenza del diabete di tipo 1 nella popolazione pediatrica mondiale. La nefropatia diabetica è una seria complicanza un'evoluzione lenta con l'istaurarsi di un'insufficienza renale cronica letale. Le complicanze cardiocircolatorie sono la causa principale di morte in questi pazienti dove la mortalità cardiaca è 10-15 volte più frequente che nella popolazione sana e la sopravvivenza a 5 anni dall'inizio della dialisi è solo del 21%. Lo scopo di questa ricerca è di chiarire come l'insulino-resistenza che si sviluppa in pazienti con insufficienza renale cronica possa di per sé causare le alterazioni a livello macrovascolare caratteristiche del processo di accelerata aterosclerosi che si sviluppa in questi soggetti. Specificamente questo studio si basa sull'ipotesi che l'insulino-resistenza determini un aumento del flusso di acidi grassi liberi (FFA) all'interno dei mitocondri delle cellule macroendoteliali con conseguente aumento della produzione di radicali ossidrilici. Tali radicali ossidrilici a loro volta inducono sia una riduzione dell'attività degli enzimi anti aterosclerotici che catalizzano la

sintesi di acido nitrico (eNOS) e della prostaciclina, sia un aumento della trascrizione dell'inibitore 1 dell'attivatore per il plasminogeno (PAI-1), eventi tutti che caratterizzano il processo aterosclerotico. In particolare l'effetto dell'aumentato flusso mitocondriale di FFA indotto dall'insulino-resistenza verra' valutato in culture di cellule aortiche endoteliali e in un modello animale per l'aterosclerosi (I topi transgenici APO E Null Mice) in cui verra' indotta chirurgicamente insufficienza renale cronica Infine verra' valutato l'effetto antiaterosclerotico di tre farmaci: l'acido nicotinico per il suo effetto antilipolitico , l'etomoxir come inibitore dell'ossidazione di FFA e la nuova sostanza MN TBAP per il suo effetto antiossidante. I risultati di questo studio potranno permettere un nuovo approccio terapeutico per la prevenzione del processo di accelerata aterosclerosi presente nei pazienti affetti da nefropatia diabetica

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** € 265.000

Anno 2004 Finanziamento Richiesto al: Ministero Universita' e Ricerca Scientifica

### **Campanozzi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Riabilitazione nutrizionale e neuromotoria in bambini con handicap

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Uno degli handicap più frequentemente osservati in età pediatrica è costituito dalla Paralisi Cerebrale Infantile (PCI). Si tratta di un insieme di disordini cronici e non progressivi del movimento, postura e tono causato da un danno al SNC intervenuto in una fase precoce dello sviluppo cerebrale. La sua prevalenza è di 2/1000 nati vivi. E' noto che bambini con PCI sono spesso malnutriti, a volte gravemente, e scarsi sono i risultati ottenibili dalla riabilitazione neuromotoria. Lo scopo di questo studio è valutare su una popolazione di pazienti pediatrici, affetti da PCI e malnutrizione, gli effetti della terapia nutrizionale sulla efficacia della riabilitazione neuromotoria. A tal fine ogni paziente riceverà una valutazione nutrizionale e delle funzioni grosso-motorie (GMFM), al momento del reclutamento ed ogni 3 mesi. Risultati attesi: le migliorate condizioni nutrizionali (l'aumento della massa magra in particolare) possono determinare una maggiore efficacia della riabilitazione neuromotoria.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2003 € 3945,92.

## **Campanozzi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** IMPIEGO DI UNA FORMULA POLIMERICA COME TERAPIA DI INDUZIONE E MANTENIMENTO DELLA MALATTIA DI CROHN DEL BAMBINO: STUDIO MULTICENTRICO (coordinatore: P. Roggero-Milano)

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Nonostante la letteratura scientifica internazionale sia ricca di osservazioni sul trattamento nutrizionale della malattia di Crohn (più numerose quelle sul trattamento della malattia in fase attiva che nel mantenimento della remissione), alcuni aspetti rimangono non ben documentati, in particolare l'effetto del trattamento nutrizionale in diversi sottogruppi di bambini con malattia di Crohn (ad esempio, con diverse estensioni e localizzazioni topografiche) e l'effetto del trattamento nutrizionale sulle lesioni endoscopiche e istologiche della infiammazione intestinale. Inoltre, rimane da esplorare quali modificazioni determini il trattamento nutrizionale su diversi parametri di attivazione immunologia del danno della mucosa intestinale in corso di malattia di Crohn.

### **SCOPO DELLO STUDIO**

Valutare l'efficacia della terapia nutrizionale, mediante miscela polimerica (Modulen):

- a) nel trattamento della malattia di Crohn del bambino in fase attiva, investigando diverse variabili del processo infiammatorio quali l'aspetto clinico (score di malattia), il pattern di crescita ponderale e lineare, il danno infiammatorio endoscopico definito endoscopicamente e istologicamente e i livelli di alcuni mediatori immunologici del danno infiammatorio della mucosa intestinale
- b) nel mantenimento della remissione vs AZA o 5ASA.

## **Campanozzi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** RISCHIO NUTRIZIONALE NEL BAMBINO OSPEDALIZZATO: STUDIO MULTICENTRICO (COORDINATORE: A. CAMPANOZZI-FOGGIA).

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Scarsi sono i dati pubblicati in letteratura sui progressi nel campo della prevenzione e trattamento della malnutrizione ospedaliera in età pediatrica. Ciò è in gran parte dovuto al fatto che la valutazione dello stato nutrizionale ci fa depistare i bambini che sono già ipo/malnutriti, non fornendoci alcun elemento che possa farci considerare quali siano i pazienti a rischio nutrizionale. Il presente studio multicentrico si propone di studiare la frequenza della malnutrizione acquisita in ospedale e le sue correlazioni con possibili

fattori di rischio. A tal fine saranno reclutati almeno 500 bambini che si ricoverano consecutivamente in Pediatria Generale. La degenza deve essere  $\geq 3$  giorni, i pazienti devono avere un'età  $> 1$  mese di vita.

Parametri antropometrici: peso e altezza/lunghezza.

Peso all'ingresso (sarà il riferimento) e giornalmente nella stesse condizioni. In caso di bambino disidratato, il peso di riferimento sarà il primo dopo la reidratazione. In caso di bambino con edemi, il peso di riferimento sarà il primo dopo la scomparsa degli stessi. In caso di bambino che durante il ricovero riceve nutrizione artificiale, il riferimento sarà il peso all'ingresso mentre l'ultimo peso utile sarà quello precedente l'inizio del supporto nutrizionale. Cosa valutare nelle prime 48 ore di ricovero: intake calorico  $> 50\%$  o  $< 50\%$  della solita alimentazione; N° episodi/die di vomito; N° episodi/die di diarrea; disfagia; febbre (T°C); dolore addominale notturno; problemi clinici associati (respiratori, urinari, ematologici, neurologici, etc.).

### **Campanozzi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** EPIDEMIOLOGIA DEL REFLUSSO GASTROESOFAGEO IN ETA' PEDIATRICA (Studio multicentrico. Coordinatore: A. Campanozzi)

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Il reflusso gastroesofageo (RGE) è molto frequente in età pediatrica ed entro certi limiti può essere considerato "non patologico". Esso è caratterizzato dal ritorno del contenuto gastrico (secrezioni ed alimenti) nella cavità orale e sua successiva emissione, senza intervento dei muscoli volontari (diaframma). Due forme principali possono essere distinte: una forma infantile tipica del lattante e una forma adulta che interessa i bambini di età  $> 1$  anno.

Uno studio pubblicato alla fine degli anni 80, ha mostrato che il RGE tende a risolversi spontaneamente entro i primi 18 mesi di vita nell'80% dei casi, entro il compimento del 2° anno di vita nel 15% dei casi mentre nel rimanente 5 % dei casi può essere considerato RGE patologico e Malattia da RGE (MRGE) (3,4). Tali dati non sono mai stati confermati, pertanto uno studio prospettico che valuti in maniera corretta l'epidemiologia del RGE nei primi 24 mesi di vita al fine di descriverne la storia naturale è necessario.

Finalità dello studio: Ottenere una prevalenza di punto in 90 giorni, della frequenza del RGE in una popolazione di lattanti

-Seguire tali bambini fino al compimento dei 2 anni, al fine di valutare la storia naturale del RGE Costituire, presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Foggia, un centro di eccellenza nell'ambito della gastroenterologia pediatrica in grado di reclutare i pazienti pediatrici della provincia di Foggia

Metodi: Durante 90 giorni + 3 settimane tutti i lattanti, consecutivamente visti, di età compresa tra 1-12 mesi, verranno valutati e per ciascuno verrà compilato il foglio di reclutamento. Non costituirà motivo di esclusione l'utilizzo di terapia posturale, latte antireflusso (AR) e/o procinetici e antiacidi (tipo Maalox).

Criteri di inclusione:

Età compresa tra 1-12 mesi

2 o più episodi di rigurgito giornalieri per la durata di 3 o più settimane in lattante altrimenti sano

Nel corso del follow-up, in presenza di sintomi di allarme quali, arresto della crescita/calò ponderale, ematemesi, anemia, rifiuto dell'alimentazione, sintomatologia respiratoria tipica di MRGE (tosse notturna, crisi di cianosi e apnea, broncopolmoniti ricorrenti) il lattante sarà necessariamente inviato al centro di riferimento (Clinica Pediatrica, Università di Foggia) dove sarà sottoposto a indagini strumentali (EGDS, pHmetria 24h, pasto baritato etc) per escludere la presenza di MRGE o altre patologie organiche. La diagnosi di MRGE o altra patologia organica e gli esami strumentali praticati andranno specificati. La presenza di MRGE o qualunque altra patologia organica atta a spiegare la sintomatologia, andrà accuratamente riportata sulla scheda di follow up assieme all'eventuale provvedimento terapeutico adottato, tale situazione costituirà motivo di interruzione dello studio per quel paziente.

**Fonte ed entità dei finanziamenti richiesti:** Quota progetti 2004 € 9.557,51

### **Panella/Ierardi/Pietrini**

**TITOLO DELLA RICERCA:** L'ANTI-CCP CORRELA COL DANNO INTESTINALE NELLE ENTERITI A BASE IMMUNE?

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi):** Background. Un danno intestinale è stato riscontrato in malattie reumatiche primarie quali l'artrite reumatoide (AR) e lespondiloartriti sieronegative (SpA), d'altra parte un coinvolgimento infiammatorio delle articolazioni è frequente in malattie intestinali a patogenesi immunologica quali la malattia celiaca (MC) e malattie infiammatorie croniche dell'intestino (MICI) idiopatiche (rettocolite ulcerosa e m. di Crohn). L'Anti peptide citrullinato (anti-CCP) è un marker prognostico del danno erosivo, compare precocemente in più del 50% dei soggetti con storia di AR recente e negativi per il FR.

Scopi. Verificare la presenza dell'anti-CCP in pazienti con MICI e MC (con e senza manifestazioni articolari) allo scopo di valutare: 1) la prevalenza sierologica dell'anti CCP nelle malattie intestinali suddette; 2) la possibile coesistenza di AR in forma manifesta o subclinica; 3) se

esiste un sottogruppo di soggetti non AR con anti-CCP positivo che risponde ai criteri delle SpA; 4) se esiste una correlazione tra danno mucosale intestinale (massa enterocitaria e permeabilità intestinale) e titolo di autoanticorpi sierologici; 5) se esiste una correlazione tra l'entità del danno mucosale intestinale e l'indice di attività delle manifestazioni articolari.

**PAZIENTI:** Soggetti affetti da MICI e MC in prima diagnosi effettuata con endoscopia + istologia e sierologia nei quali verranno valutati: a) **ATTIVITÀ DI MALATTIA** CDAI (M.Crohn), CAI per RCU, Anti-CCP, ASCA, Anti tTG, anti FR (IgG, IgA, IgM) con metodiche ELISA e pANCA con metodica DNase I sensibile, tipizzazione HLA classe I e II, indici di flogosi VES, PCR, Elettroforesi proteine, emocromo completo, funzionalità epatica e renale, B12 e folati, sideremia e ferritinemia; IgG-IgA - IgM totali; b) **MASSA ENTEROCITARIA:** dosaggio serico quantitativo della citrullina, con metodica HPLC;

**PERMEABILITA' INTESTINALE:** calcolo del LA/MA mediante metodica HPLC su urine raccolte per 5 ore; **VALUTAZIONE**

**REUMATOLOGICA:** criteri ARA e quelli delle spondiloartriti (European Spondyloarthropathy Study Group Criteria). **CONTROLLI:**

A. Pazienti affetti da AR e SpA non in trattamento farmacologico reclutati c/o l'ambulatorio di reumatologia. B Soggetti sani. Verranno sottoposti al dosaggio sierologico di :Anti-CCP, ASCA, pANCA (DNase I sensibile), Anti tTG; anti FR (IgG, IgA, IgM) e al dosaggio quantitativo degli aminoacidi plasmatici, compresa la citrullina.

Lo studio non è stato completato ed è strettamente collegato ai due successivi.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota servizi 2003 € 2.791,20 a testa, Quota servizi 2004 € 2522,560 a testa, Quota progetti 2003 Panella € 11.792,60, Quota progetti 2004 Panella € 11.135,68, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43, Quota progetti 2004 Ierardi 12.072,64

### **Panella/Ierardi/Pietrini**

**TITOLO DELLA RICERCA:** La citrullina: marker di massa enterocitaria nelle malattie del tenue

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Background. L'intestino è l'unico organo responsabile della presenza di citrullina nella circolazione sistemica e, pertanto, questo aminoacido è stato proposto come utile marker di massa enterocitaria assorbente. Scopo dello studio è: 1) Valutare la capacità assorbente dell'intestino tenue in corso allo scopo di quantificare l'estensione del danno mucosale; 2) Valutare la risposta alla terapia; 3)

Fungere da test discriminante tra le patologie funzionali e le altre che coinvolgono un danno reale della mucosa enterica. Pazienti: adulti di entrambi i sessi affetti da morbo di Crohn, malattia celiaca, enterite da FANS, intestino irritabile, sindrome da intestino corto. controlli: soggetti sani della banca del sangue o visitatori dei degenti. Metodiche: dosaggio degli aminoacidi plasmatici mediante HPLC, nonché dei comuni parametri di riferimento per il grado di assorbimento intestinale. Saranno effettuati, laddove possibile, prelievi biotici di mucosa intestinale per valutare la proliferazione cellulare mediante PCNA.

Lo studio non è stato completato

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota servizi 2002 € 1871,60 a testa, Quota servizi 2003 € 2.791,20 a testa, Quota progetti 2003 Panella € 11.792,60, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43.

### **Panella/Ierardi/Pietrini**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Studio della permeabilità intestinale nella malattia psoriasica

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Background. Un alterazione della permeabilità intestinale è stata ampiamente documentata in diverse patologie autoimmunitarie (diabete mellito di I° tipo, malattia celiaca, epatiti autoimmuni, tiroiditi autoimmuni, connettiviti) cui si associa spesso una psoriasi, della cute, delle mucose e delle articolazioni e talvolta con coinvolgimento del cavo orale. Questi dati suggeriscono un possibile interessamento del tratto gastroenterico nella psoriasi. Scopo dello studio è valutare se nella psoriasi cutanea vi è un alterazione della permeabilità intestinale. Ciò potrebbe svelare: a) alterazione barriera intestinale e passaggio di antigeni o tossici nella circolazione sistemica. b) coinvolgimento sistemico della malattia (mucosa epitelio intestinale) non solo cutaneo. Metodiche: pazienti adulti di entrambe i sessi, con pregressa diagnosi di psoriasi cutanea, con o senza sintomi gastrointestinali saranno sottoposti a test di permeabilità intestinale con lattulosio e mannitolo. Gli zuccheri verranno dosati nelle urine con sistema cromatografico (HPLC), il risultato del test sarà espresso come indice di permeabilità L/M. Il gruppo controllo, per sesso ed età, è rappresentato da soggetti sani, senza malattie dermatologiche e gastroenterologiche, reclutati tra il personale medico e paramedico

Lo studio non è stato completato

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota servizi 2002 € 1871,60 a testa, Quota servizi 2003 € 2.791,20 a testa, Quota progetti 2003, Panella € 11.792,60, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43

### **Panella/Ierardi/Pietrini**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Valutazione della qualità di fibre alimentari in soggetti con meteorismo intestinale

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Le fibre sono nutrienti fondamentali nella dieta, ad esse è riconosciuto un ruolo nella prevenzione del cancro colon rettale. Nell'intestino vengono idrolizzate dalla flora intestinale ad acidi grassi a catena corta e per fermentazione si ha produzione di gas (N, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>; CH<sub>4</sub>). La prevalenza dei metano produttori è circa il 30-50% della popolazione generale. Scopo dello studio è valutare l'introito e la qualità delle fibre alimentari per evidenziare i produttori di metano e correggere la quantità e la qualità delle fibre ingerite. Metodiche: in pazienti adulti di entrambe i sessi con sospetta diagnosi di intolleranza al lattosio, alterato transito, e meteorismo, dopo la valutazione dell'intake e della qualità di fibre alimentare mediante diario alimentare 24 hours per 3 giorni valutato con software Winfood 5.1, si esegue breath test all'H<sub>2</sub> con lattulosio per 7 ore, analisi dell'aria espirata (H<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>) con gascromatografia (Quintron Microanalyzer model DP).

Lo studio non è stato completato, i dati preliminari sono stati presentati in forma di poster al Congresso Nazionale di Gastroenterologia 2004:

Pietrini, E Ierardi, A Amoruso, MF Minenna, C Ricciardelli, N Della Valle, V De Francesco, P Tonti , C Panella. "Relationship between dietary fiber intake, oro-caecal transit time and constipation in pregnancy during the third trimester" Digest Liver Dis 2004; 36(S2): PO342

### **Ierardi/Panella + DETO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Valore predittivo dello stato CagA e del danno istologico sul risultato terapeutico del trattamento della infezione da Helicobacter pylori: confronto tra lo schema convenzionale e quello sequenziale

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Lo studio è stato terminato ed i risultati sono stati pubblicati nei seguenti articoli: V De Francesco, A Zullo, M Margiotta, S Marangi, O Burattini, P Berloco, F Russo, M Barone, A Di Leo, MF Minenna, V Stoppino, S Morini, C Panella, A Francavilla, E Ierardi. Sequential treatment for Helicobacter pylori does not share the risk factors of triple therapy failure. Aliment Pharmacol Ther 2004; 19: 407-414. V De Francesco, N Della Valle, V Stoppino, C Panella, E Ierardi. Effectiveness and pharmaceutical cost of sequential treatment for Helicobacter pylori in non-ulcer-dyspepsia patients. Aliment Pharmacol Ther 2004; 19: 993-998. V De Francesco, A Zullo, C Hassan, N Della

Valle, L Pietrini, MF Minenna, V Stoppino, S Morini, C Panella, E Ierardi. The prolongation of triple therapy for Helicobacter pylori does not allows reaching therapeutic outcome of sequential scheme: a prospective, randomized study. Digest Liver Dis 2004; 36: 322-326.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota servizi 2002 € 1871,60 a testa, Quota servizi 2003 € 2.791,20 a testa, Quota progetti 2003 Panella € 11.792,60, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43.

### **Ierardi/Panella**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Le transglutaminasi tissutali nella gastrite da Helicobacter pylori

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Nostri studi precedenti hanno dimostrato che le transglutaminasi tissutali costituiscono i marcatori della riparazione di un danno tissutale in corso di malattie infiammatorie intestinali (Digestion 2001). Lo studio proposto ha lo scopo di valutare il ruolo della transglutaminasi tissutale nella gastrite da H. pylori prima e dopo eradicazione del batterio e quindi in corso di attività e guarigione del danno istologico. Lo studio sarà condotto su campioni di mucosa gastrica inclusi in paraffina (Gram, ematossilina eosina, colorazione immunoistochimica della transglutaminasi tissutale), siero (determinazione dello stato CagA mediante metodica Elisa per anticorpi specifici) e plasma (dosaggio transglutaminasi tissutale mediante metodiche Elisa ed Immunoblotting). Lo studio non è stato completato, i dati preliminari sono stati presentati in forma di comunicazione orale al Congresso Nazionale di Gastroenterologia 2004: N Della Valle, E Ierardi, V De Francesco, V Cosenza, S Marangi, M Romano, C Panella, G D'Argenio. "Tissue transglutaminase (tTG) in helicobacter pylori (Hp) chronic active gastritis: relationship with epithelial apoptosis and tissue repair" Digest Liver Dis 2004; 36(S2): CO29.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2003 Panella € 11.792,60, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43.

### **Ierardi/Panella + DETO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Valutazione del rapporto tra syndecan1 e TNF $\alpha$  nella mucosa colica di soggetti affetti da morbo di Crohn

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il TNF $\alpha$  è un mediatore della flogosi, importante in corso di m. di Crohn, anche per le implicazioni terapeutiche che riveste. Nostri studi precedenti dimostrano che tale citochina svolge un ruolo nella regolazione dell' apoptosi dell' epitelio gastrico (Digest Liver Dis 2001). Il syndecan 1 è un eparinoide naturale che svolge un ruolo nella

riparazione tissutale in corso di m. di Crohn al punto che è stato anch'esso impiegato nel trattamento di alcune forme di tale patologia. E' stato ipotizzato che il syndecan 1 possa svolgere la sua funzione proprio attraverso una interrelazione con il TNF $\alpha$  (Lancet 1999). Il nostro studio ha lo scopo di valutare il rapporto tra le due molecole nella mucosa colica di soggetti affetti da m. di Crohn o sindrome del colon irritabile (gruppo di controllo) attraverso una valutazione immunistochimica delle due molecole su campioni biotici inclusi in paraffina.

Lo studio è ancora in corso ed i risultati preliminari sono stati pubblicati come abstract e presentati come comunicazione orale al Congresso Nazionale di Gastroenterologia 2004: M Principi, R Day, S Marangi, O Burattini, M Margiotta, V De Francesco, E Ierardi, C Panella, A Francavilla, A Forbes. "Syndecan 1 (sy-1) and tumor necrosis factor alpha (tnf $\alpha$ ) in colonic mucosa of patients with crohn's disease (cd): a down-regulation of adhesion molecules by cytokines?" Digest Liver Dis 2004; 36(S2): CO80

**Fonte ed entità dei finanziamenti richiesti:** Quota servizi 2002 € 1871,60 a testa, Quota servizi 2003 € 2.791,20 a testa, Quota progetti 2003 Panella € 11.792,60, Quota progetti 2004 Panella € 11.135,68, Quota progetti 2003 Ierardi € 8739,43, Quota progetti 2004 Ierardi 12.072,64.

#### **Ierardi/Panella/Neri**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Ricerca del genoma dell' H. pylori nella bile colecistica e coledocica e nel tessuto colacistico di soggetti con calcolosi biliare

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** E' stata recentemente ipotizzata un' associazione dell' H. pylori con le malattie biliari autoimmuni (cirrosi biliare primitiva e colangite sclerosante; J Clin Microbiol 2000) e la calcolosi biliare. A questo proposito, materiale gnomico del batterio è stato rinvenuto nel tessuto colecistico di soggetti affetti da litiasi biliare (Gastroenterology 1998) ma non nella bile coledocica (Aliment Pharmacol Ther 2003).

L'ipotesi che ci proponiamo di verificare con questo studio è quella che il batterio abbia la capacità di risalire l' albero biliare in forma inattiva o coccoide per poi trasformarsi in forma attiva o spiraliforme nel tessuto colecistico. Lo studio sarà pertanto condotto su campioni di tessuto colecistico prelevato chirurgicamente durante interventi di colecistectomia e su bile sia colecistica che coledocica, prelevata quest' ultima in corso di ERCP terapeutica. La ricerca del genoma dell' H. pylori sarà condotta con metodica PCR, mentre l' antigene specifico delle forme coccoidi con metodica Elisa utilizzando un antigene

purificato ricavato da quello impiegato nella pratica clinica per la ricerca del batterio nelle feci.

Lo studio non è stato completato.

### **Ierardi/Panella + DETO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Valutazione del turnover epiteliale gastrico e della espressione degli oncogeni ras e p53 in parenti di 1° grado di soggetti con carcinoma gastrico

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** E' noto che i parenti di 1° grado di soggetti con carcinoma gastrico sono a rischio per lo sviluppo della neoplasia. Tale condizione ha numerosi fattori di rischio tra i quali l' infezione da H. pylori ed alcune alterazioni che abbiamo dimostrato essere ad essa associati quali l' aumento della proliferazione epiteliale (Dig Dis Sci 1996), la mutazione dell' oncogene ras (Ital J Gastroenterol Hepatol 1997), l' aumento dell' apoptosi epiteliale e del TNF $\alpha$  tissutale (Immunopharmacol Immunotoxicol 2003) e la mutazione del p53 (Gut 1999). Ci proponiamo in questo studio di valutare tutti i suddetti fattori su biopsie gastriche di parenti di 1° grado di soggetti con carcinoma gastrico. La presenza dell' H. pylori e del quadro istologico saranno valutate con la colorazioni di Gram e con l' ematosilina-eosina. La valutazione del turnover epiteliale sarà eseguita mediante colazione immunoistochimica del PCNA per l'aspetto proliferativi e del PARP per quello apoptotico. Le mutazioni del p53 e del ras saranno invece valutate mediante pCR dopo estrazione del DNA tissutale.

Lo studio sarà presentato come poster al prossimo Congresso Europeo di Gastroenterologia 2004 ed è stato inviato come paper a World J Gastroenterol A Zullo, C Hassan, S Marangi, O Burattini, A Romiti, V De Francesco, S Winn, C Panella, S Morini, E Ierardi. Gastric epithelial cell proliferation and ras oncogene p21 expression in first-degree relatives of gastric cancer patients: a case-control study.

### **Ierardi/Panella + DETO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Ipotesi della presenza di una "antigenic mimicry" tra sistema nervoso centrale di topo e virus dell' epatite C

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** E' stato recentemente dimostrato che nei pazienti con epatite C un' alterazione nel sistema nervoso centrale del rapporto tra colina e creatina mediante spettroscopia con risonanza magnetica (Lancet 2001). Tale dimostrazione ha indotto ad ipotizzare che il virus possa infettare il sistema nervoso centrale. Tuttavia, è noto che esso può indurre anche fenomeni di autoimmunità rilevanti e , pertanto, non può essere esclusa l' esistenza di una "antigenic mimicry" tra il virus ed il

sistema nervoso centrale. Per verificare questa possibilità e la sede di una eventuale reazione, sarà testato l'intero encefalo di topo con un anticorpo diretto contro il virus dell'epatite C mediante metodica immunoistochimica. La reazione stessa sarà poi validata da sistemi di controllo positivo (anticorpi umani anti-HCV) e negativi (siero di soggetti HCV negativi).

Lo studio non è stato completato.

#### **Ierardi/Panella**

**TITOLO DELLA RICERCA:** L'ecografia dello intestino tenue con mezzo di contrasto anecoico in corso di malattia celiaca

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** L'ecografia dell'intestino tenue con mezzo di contrasto anecoico è una nuova metodica che permette di apprezzare alcuni particolari della morfologia e funzione dell'organo (Lancet 2000) anche se il suo valore diagnostico non è stato ancora stabilito dall'impiego nella pratica clinica. Ci proponiamo con questo studio di valutare la validità della metodica in pazienti affetti da malattia celiaca alla prima diagnosi e dopo 3, 6 e 12 mesi di dietoterapia. Saranno considerati i valori di alcuni standard morfologici, quali lo spessore della parete intestinale e l'altezza della valvole conniventi, e funzionali, quali il flusso mesenterico, la velocità del transito intestinale e lo svuotamento della colecisti. Lo scopo finale dello studio è quello di verificare l'esistenza di alcuni parametri ecografici mediante i quali sia possibile seguire nel tempo la risposta alla dietoterapia in corso di malattia celiaca con una metodica non invasiva e ripetibile. La prima fase dello studio è stata conclusa e presentata come poster al Congresso Nazionale di Gastroenterologia 2004: Dell'Aquila, E. M. Cela, L. Pietrini, A. Amoroso, M.F. Minenna, D. Iannuzziello, A. Penna, V. De Francesco, C. Panella, E. Ierardi. "Enteroultrasonographic (eus) findings in coeliac disease of adults: a new diagnostic pathway?" Digest Liver Dis 2004; 36(S2): PO155. Inoltre, è stata sottoposta in forma di paper ad Eur J Radiol.

La seconda fase dello studio è in corso.

#### **Panella/Ambrosi/Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Sperimentazione di un approccio Eco-Endoscopico alla diagnosi e terapia dei tumori neuro-endocrini

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** I tumori neuro-endocrini Gastro-entero-pancreatici rappresentano una entità poco conosciuta soprattutto per le difficoltà, le discrepanze ed il costo delle indagini diagnostiche attuali che sono caratterizzate da bassa sensibilità e specificità, direttamente

proporzionali alle dimensioni delle lesioni (per lo più inferiori a 1,5 cm) e per la mancanza di un gold standard. Scopo dello studio, coordinato dalla Cattedra di Gastroenterologia in collaborazione con le Cattedre di Endocrinologia e di Endocrino Chirurgia, è studiare mediante l'EcoEndoscopia, indagine che consente una definizione vicina ai 2 mm, non solo la reale frequenza di tali neoplasie, ma nel contempo sperimentare le possibilità, attualmente del tutto teoriche, di una terapia diretta di tali neoplasie. La metodica è basata sull'impiego di una apparecchiatura EcoEndoscopica che consenta di innalzare la sensibilità e la specificità degli attuali sistemi per procedere alla sperimentazione terapeutica sotto guida EcoEndoscopica. La Cattedra di Gastroenterologia ha già affrontato tale problematica avviando recentemente alla pubblicazione un lavoro già accettato da Abdominal Imaging (rivista citata dal JCR).

Lo studio non è stato completato

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: € 1150,00**

**Panella/ Ierardi/Pietrini**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Neurolisi del plesso celiaco per Ecoendoscopica transgastrica.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Background. La neurolisi del plesso celiaco (NPC) mediante l'iniezione, a mezzo di un Ecoendoscopio (EUS), di alcol assoluto transgastrica nel plesso celiaco potrebbe essere un mezzo efficace per controllare il dolore nei pazienti affetti da neoplasie maligne addominali, pancreatite cronica e dolore subphrenic. Aim. Valutare, in una serie grande ed omogenea di pazienti con dolore cronico dell'addome superiore, se gli effetti derapeutici della EUS CPN sono complete e durevoli. Subjects: Verranno arruolati pazienti con sindrome dolorosa grave ed intrattabile da neoplasie addominali. Materiali: Ecoendoscopio lineare Pentax (FG 36 UX), accoppiato ad ecografo HITACHI H 21, aghi sterili per endoscopia sterile needle da 20 gauge con 4 buchi laterali. Metodi L'ago sterile verrà inserito nella regione celiaca per via transgastrica sotto guida EUS e verranno iniettati 10 ml di Lidocaine 1% e 20 ml of etanolo (98%) su ambo i lati dell'area celiaca. Outcomes: 1) Valutazione della scomparsa del dolore e della durata, verificato periodicamente con apposita scala del dolore autosomministrata, dell'effetto analgesico dopo il trattamento EUS-CPN in due gruppi di pazienti, A e B, i primi senza altra terapia ed i secondi con iniziale terapia mediante narcotici. 2) Valutazione della qualità della vita mediante appositi tests (Karnofsky, S-36). Alcuni dati preliminari sono stati presentati in forma di poster al Congresso Nazionale di Gastroenterologia 2004: Muscatiello N, Gentile M, Pietrini L, Rosa F,

Carrillo G, Scarano M, Ierardi E, Stoppino V, Panella C. "Ecoltrasonographic (EUS) coeliac plexus neurolysis (cpn): a method for post-treatment narcotic analgesia withdrawal" Digest Liver Dis 2004; 36(S2): PO313L.

**Bellomo, Zefferino, Ambrosi, Cibelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** STUDIO DELLE FUNZIONI INTEGRATE NELLA PATOFISIOLOGIA DELLO STRESS.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Il presente progetto di ricerca si propone: a) di inquadrare clinicamente le condizioni psicopatologiche indotte da stress, in particolare il DPTS, b) studiare il ruolo che le variazioni dei livelli basali di cortisolo, indotte da stress psicosociale cronico, giocano nella risposta cardiovascolare conseguente all'applicazione di uno stimolo acuto. Le variazioni della reattività cardiocircolatoria, dipendenti dall'alterata risposta neurovegetativa e neuroendocrina, verranno correlate con l'eventuale diagnosi accertata di PTSD. c) Inoltre, attraverso la valutazione di differenti condizioni di stress lavoro-correlate, sarà studiata l'influenza che i relativi vissuti emotivi esercitano sui livelli salivari di IL-1b e di cortisolo, rispettivamente indici di stress acuto e cronico. Il particolare, i risultati di tale ricerca potranno contribuire a comprendere:

-l'impatto che condizioni di distress cronico producono sulla funzionalità dell'asse HPA, con particolare riguardo al ruolo svolto dal cortisolo sulla reattività cardiovascolare;

l'impatto che la somministrazione di uno stress acuto ha sulla reattività cardiovascolare in soggetti sottoposti a stress psicosociale cronico, in relazione alla possibile sensibilizzazione dell'asse HPA;

l'impatto epidemiologico-clinico dello stress acuto e cronico sul determinismo di un quadro clinico di PTSD ed eventuale suo trattamento e di altre condizioni psicosomatiche indotte da stress;

il ruolo che l'alterazione della funzione dell'asse HPA, attraverso la disregolazione della reattività cardiovascolare, gioca nel PTSD;

il riconoscimento di situazioni stressanti, correlate al lavoro, e la discriminazione tra soggetti con vissuti di "burn out", rispetto a soggetti che sono invece sottoposti a uno stress acuto, mediante campionamento salivare di marcatori biologici dello stress;

la correlazione tra PSS e marcatori salivari, riconoscendo in situazioni lavorative particolari il possibile evento scatenante una reazione da stress.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2003 € 9445,92. Per tale ricerca è stato formulato il modello quota progetti 2003 in collaborazione con la Sezione di Fisiologia e con la

Sezione di Medicina del Lavoro dell'Università di Foggia. Una parte dei risultati di tale ricerca è stata presentata in via preliminare in corso di alcuni congressi (cfr. pubblicazioni in basso); si attende il raggiungimento di un numero abbastanza significativo del campione in studio e del campione di controllo per la pubblicazione completa dei risultati.

### **Bellomo**

**TITOLO DELLA RICERCA:** SIGNIFICATO ECOLOGICO DI SPECIFICI GENI PER SPECIFICI FENOTIPI NELLA SCHIZOFRENIA.

**SINTESI DEL PROGETTO** (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) : Diversi studi epidemiologici hanno chiaramente dimostrato che la patofisiologia della schizofrenia è associata ad una predisposizione genetica. Una volta stabilito che l'ereditarietà nella schizofrenia non è mendeliana ma piuttosto multigenica, in questa fase non è possibile andare molto più avanti nel dettagliare i geni specifici coinvolti. Conseguentemente, dopo decenni di ricerche, la patofisiologia della schizofrenia continua ad eludere una chiara comprensione. Uno dei fattori probabilmente coinvolti nella nostra mancanza di una comprensione più profonda dei meccanismi sottesi allo sviluppo della schizofrenia è che il fenotipo clinico è evanescente. La diagnosi della schizofrenia è ancora sindromica in quanto non c'è alcun sintomo patognomico e test di laboratorio. Il fatto che il fenotipo sia variabile comporta la chiara conseguenza che in tutti gli studi di ricerca che intendono valutare qualsiasi variabile dipendente ci sarà sempre una sovrapposizione fra pazienti e soggetti di paragone. Un'altra conseguenza del fenotipo clinico variabile è che gli studi genetici sono divenuti molto difficili. Abbiamo già imparato da diversi studi di collegamento che utilizzare la diagnosi come variabile indipendente potrebbe non essere sufficiente per produrre risultati replicabili. Più importante ancora, dato che i geni codificano le proteine e non le idee (deliri) o le percezioni (allucinazioni), tale approccio può aver ostacolato ulteriormente la nostra ricerca dei geni associati alla schizofrenia.

Un approccio alternativo per testare e valutare il contributo genetico alla predisposizione alla schizofrenia è rappresentato dall'utilizzo dei cosiddetti fenotipi intermedi. Nuovi progressi nella biologia molecolare e nella genetica quantitativa hanno fornito tecniche decisamente più potenti. Proponiamo di trarre vantaggio da queste tecniche studiando una varietà di tratti quantitativi (fenotipi intermedi) associati alla schizofrenia nei pazienti e nei loro fratelli. Ciò contrasta con i precedenti studi di linkage che guardavano solo alla relazione tra geni e diagnosi psichiatrica. I tratti includeranno variabili neurobiologiche misurabili, quantificabili che precedentemente erano state implicate come possibili

fenotipi relativi alla schizofrenia. Questi includeranno test dell'attenzione e della cognitivita', eye tracking, potenziali evocati, misure di schizotipia, e una varietà di parametri usando tecniche di imaging cerebrale. Useremo una varietà di approcci genetici, inclusi studi di associazione, collegamento con coppie di fratelli affetti, e analisi di loci di tratti quantitativi (QTL) con coppie di fratelli estremamente discordanti per identificare loci di predisposizione e geni per fenotipi biologici. I dati derivanti da questi studi saranno anche usati per valutare il significato neurobiologico, o l'impatto funzionale, dell'ereditare geni associati alla schizofrenia.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Su tale ricerca, attualmente già in corso, la Sezione di Psichiatria e Psicologia Clinica dell'Università di Foggia insieme alla Sezione di Malattie Mentali del Dipartimento di Scienze Neurologiche e Psichiatriche dell'Università di Bari ha effettuato proposta di progetto al SESTO PROGRAMMA QUADRO. SCHIZOFRENIA: DAL GENOTIPO AL FENOTIPO (Riferimento del tema: LSH-2002-2.1.3-9//Strumento STREP).

### **Bellomo**

**TITOLO DELLA RICERCA: I DISTURBI PSICHIATRICI CONSEQUENTI A TRAUMATISMI CRANIO-ENCEFALICI**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Pur esistendo una associazione tra TBI (Traumatic Brain Injury) e l'insorgenza di disturbi psichiatrici , vi sono dati contrastanti circa la possibilità che traumatismi cranici di lieve entità possano essere causa di sviluppo di disordini psichiatrici secondari ; pochi dubbi invece rimangono sulla capacità psicopatogenica di traumi di media e severa entità che colpiscano il distretto cranico. Sono stati effettuati, inoltre, numerosi studi sullo sviluppo di alterazioni psicopatologiche nei bambini e negli adolescenti in relazione a traumatismi cranici .Rispetto alla evoluzione dei quadri clinici i fattori prognostici più citati sono stati: a) la gravità della lesione; b) lo status sociale, la personalità premorbose e l'ambiente di vita ; c) la sede di lesione; rispetto a quest'ultimo parametro, in particolare, è stato dimostrato che lesioni dell'emisfero sinistro sono maggiormente correlabili a disturbi psicotici; le lesioni del lobo frontale si assocerebbero più di frequente a sintomi di tipo deficitario sia sul piano cognitivo che su quello psicomotorio; lesioni a carico del lobo temporale si assocerebbero più marcatamente a discontrollo degli impulsi . La valutazione dei disturbi psichiatrici posttraumatismi cranici, pur ponendo notevoli problemi di inquadramento nosologico, costituisce uno studio ideale per correlare substrati anatomopatologici a sindromi

psichiatriche, grazie anche all'utilizzo integrato di moderne e sofisticate tecniche di neuroimaging e di batterie di test neuropsicologici di comprovata affidabilità. Pur potendosi presentare un gran numero di differenti quadri psicopatologici derivanti da eventi traumatici cranici sono stati descritte soprattutto sintomatologie riferibili a quattro fondamentali classi nosologiche: Disturbi Psicotici, Disturbi Affettivi, Disturbi di Personalità, Demenze. In realtà più recentemente sono stati descritti anche altri disturbi appartenenti ai disturbi d'ansia.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Per tale ricerca è stato effettuato modello quota progetti 2002. I risultati di tale ricerca sono stati pubblicati (cfr. pubblicazioni indicate in basso).

### **Bellomo**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Uso razionale dei neurolettici atipici nella Schizofrenia

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il presente progetto ha lo scopo di valutare gli effetti terapeutici dei nuovi farmaci neurolettici nella gestione della terapia e della riabilitazione di pazienti affetti da Schizofrenia e da Disturbi dell'Umore. In particolare l'obiettivo sarà quello di valutare le condizioni cliniche sia in corso di trattamento a breve che a lungo termine con i suddetti farmaci; di valutarne la sicurezza in termini di effetti collaterali; ma soprattutto lo scopo sarà quello di valutare l'efficacia dei neurolettici atipici sulle performances cognitive dell'individuo e di conseguenza sulle sue capacità psicosociali. Inoltre poiché uno dei nuovi indici di outcome clinico è dato dalla obiettivazione della compliance e dello stato di insight del paziente affetto da disturbi psichiatrici gravi, queste due condizioni saranno particolarmente considerati. 30 pazienti affetti da Schizofrenia e 30 pazienti affetti da Disturbi dell'Umore trattati con neurolettici atipici (o di nuova generazione) saranno confrontati con un campione di controllo costituito da pazienti con le stesse patologie ma trattati con neurolettici tradizionali. I parametri considerati saranno i seguenti: a) le condizioni cliniche valutate con una intervista clinica strutturata (SCID) e con opportune scale psicometriche (PANSS e BPRS); b) le performances cognitive valutate con opportune scale neuropsicologiche (WAIS R e WCST); c) la compliance alla terapia valutata con scala DAI 30; d) il grado di insight dei pazienti valutato con scala SAI.; e) gli effetti collaterali presenti nei due gruppi. f) il grado di aggressività comportamentale valutata con scala psicometrica MOAS.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2004 € 1.509,12.

**ALTOMARE Emanuele**

**TITOLO DELLA RICERCA: BIOENERGETICA MITOCONDRIALE IN UN MODELLO ANIMALE DI STEATOEPATITE NON ALCOLICA**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Nel 1980, il termine steatoepatite non alcolica (NASH) fu coniato per descrivere una nuova sindrome osservata in pazienti obesi (spesso diabetici) di sesso femminile con un quadro bioptico epatico tipico di steatoepatite alcolica in assenza però di abuso alcolico. La NASH è attualmente riconosciuta la principale causa di cirrosi criptogenetica ed una indicazione al trapianto epatico. Sebbene l'eziologia della NASH rimanga ancora da chiarire, molti studiosi sostengono la teoria del "double Hit". Il primo è rappresentato dall'accumulo di acidi grassi nel fegato, associato ad insulina resistenza e alla sindrome metabolica. L'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi, bloccata dall'iperinsulinismo, comporta un incremento della concentrazione degli acidi grassi negli epatociti. Un secondo fattore indurrebbe la comparsa di necrosi, infiammazione e fibrosi, per effetto tossico esercitato dai radicali liberi dell'ossigeno, nel quale il Citocromo P450 2E1 (CYP2E1), indotto dall'eccesso degli acidi grassi, aumenta la produzione dei radicali liberi a partire da chetoni ed aldeidi, risultando in attivazione e flogosi richiamo di cellule infiammatorie. E' stato suggerito che i mitocondri, essendo fonte maggiore di radicali liberi e ricoprendo un ruolo chiave nella beta-ossidazione degli acidi grassi liberi, siano coinvolti in entrambi i processi di danno. L'induzione del CYP2E1 è stato dimostrato ricoprire un ruolo centrale nella patogenesi del danno epatico alcolico, compresa la steatoepatite alcolica, attraverso lo stress ossidativi che esso provoca. Ma in realtà il CYP2E1 risulta elevato nel fegato di pazienti con NASH, poiché gli acidi grassi (negli obesi) e i chetoni (nei diabetici) sono substrati del citocromo ed il loro accumulo ne iperregola l'attività. Sulla base di tali considerazioni molti studi sono stati effettuati allo scopo di chiarire l'effettivo ruolo dei mitocondri e nello specifico il ruolo del CYP2E1 nella NASH e nella NAFDL. Recentemente, Carreras e collaboratori hanno dimostrato che l'attività della catena respiratoria mitocondriale (MRC) risulta compromessa in tali pazienti ed inoltre Haque ha riportato che la NASH è associata ad un decremento dell'attività della citocromo c ossidasi. La causa di tale difetto non è ancora nota, ma sembra inversamente correlata con i livelli sierici del TNF- $\alpha$ . Numerose evidenze indicano che il TNF- $\alpha$  è in grado di interferire con la funzione mitocondriale. I ROS potrebbero rappresentare il link tra TNF e catena respiratoria mitocondriale; infatti, il TNF induce ritenzione di elettroni da parte del citocromo b, i quali possono essere trasferiti all'ossigeno molecolare, generando elevate quantità di ROS. La produzione di radicali, che

eccede le capacità di difesa antiossidante, può risultare in disfunzioni metaboliche, inclusa la lipoperossidazione, in un danno a carico del DNA mitocondriale e a carico degli enzimi mitocondriali contenente siti solfurei o ferrici. Lo stress ossidativo può dar luogo a circoli viziosi, e quindi ad un progressivo danno del DNA mitocondriale, che a sua volta può ridurre la sintesi degli enzimi codificati dal DNA mitocondriale ed il flusso degli elettroni lungo la catena respiratoria mitocondriale. Sebbene alcuni meccanismi coinvolti nella progressione della NASH siano stati identificati, molti punti necessitano di un ulteriore chiarimento per poter meglio definire le strategie terapeutiche. L'uso di modelli animali è di grande interesse nello studio della NASH; sebbene esistano numerosi modelli di steatosi epatica, pochi sono i modelli di steatoepatite a disposizione. Uno di questi è quello che prevede l'utilizzo di una dieta ad alto contenuto di grassi deficitaria di metionina e colina (MCD) che determina in sequenza steatosi epatica, necro-infiammazione e a lungo termine fibrosi. Sebbene inizialmente introdotto come modello di trapianto di fegato steatosico, la sua applicazione allo studio della patogenesi della NASH ha fornito nuove informazioni. La steatoepatite in questo modello è associata ad un aumento dell'attività del citocromo microsomiale epatico, e ad incremento della lipoperossidazione. Flogosi e fibrosi nel modello MCD è leptina-dipendente, quasi a voler dire che la leptina è uno dei regolatori della fibrogenesi epatica nella NASH. In un recente lavoro, Kirsh ha confrontato differenti specie di ratti, dimostrando che i ratti Wistar maschi sviluppano un più alto grado di steatosi quando nutriti con tale dieta. Alla base della steatosi in questo modello vi sarebbe un blocco della sintesi di fosfatidilcolina (PC), secondario ad un deficit di metionina e colina. Sia negli animali che negli uomini, la sintesi della PC avviene attraverso due differenti vie: in una avviene l'incorporazione di colina preformata nei composti fosfatidilici mentre l'altra dipende dalla metilazione della fosfatiletanolamina da parte dell'S-adenosyl metionina. In entrambi i casi la sintesi della PC può essere bloccata da una dieta carente di metionina e colina. Poiché la PC è una componente essenziale delle lipoproteine a bassissima densità, responsabili della clearance dei trigliceridi dagli epatociti, una deficienza di PC si traduce effettivamente in un accumulo di trigliceridi e quindi in steatosi epatica.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI MIURPRIN 2004 € 0,00 (richiesto finanziamento per 60.000€).**

**Vendemiale Gianluigi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** PRECONDIZIONAMENTO EPATICO E BIOENERGETICA MITOCONDRIALE: RUOLO DELL'INIBITORE DELL'ATP-asi e DEL CARRIER DELL'ACIDO TRICARBOSSILICO

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia,**

**Risultari attesi) :** L'insufficienza epatica post-trapianto, dopo resezione epatica e in seguito a shock emorragico, rappresenta ancora un problema clinico di grande rilevanza. Nonostante il notevole miglioramento ottenuto negli ultimi dieci anni, la drammatica carenza di organi da trapiantare costringe ad eseguire trapianti di fegato da cadavere o da fegati steatosici che hanno un'elevata suscettibilità al danno da ischemia/riperfusione. L'insufficienza epatica primaria, uno dei più importanti e precoci problemi postoperatori del fegato trapiantato, è dovuto principalmente ad un danno da ischemia-riperfusione. Quando tale danno è molto severo, il fegato va incontro a necrosi massiva o submassiva che rende il trapianto inefficiente e richiede un nuovo impianto. Di conseguenza, l'identificazione dei meccanismi responsabili del danno postoperatorio precoce favorirebbe un maggior successo dei trapianti, riducendo al minimo il danno epatico. Sulla base di queste esigenze, sono stati approntati numerosi modelli sperimentali, sia in vivo che in vitro, per lo studio dei meccanismi che mediano il danno d'organo dopo il trapianto. La principale causa del danno del fegato trapiantato è rappresentata da una elevata produzione di radicali liberi dell'ossigeno (ROS) durante la fase di riperfusione, generati principalmente dalla trasformazione della xantina deidrogenasi in ossidasi indotta dalla riperfusione, accompagnata dalla liberazione di anione superossido e perossido di idrogeno (5).

La conservazione dei tessuti a freddo sembra causare un danno prevalentemente alle cellule endoteliali, mentre la conservazione a caldo danneggia gli epatociti e le cellule endoteliali. La riperfusione è caratterizzata dal rilascio di molecole responsabili dell'attivazione di cellule pro-infiammatorie che successivamente sviluppano citochine, chemochine nonché molecole di adesione col compartimento vascolare. Tali citochine sono coinvolte nella propagazione della flogosi e sono direttamente responsabili del danno cellulare. L'obiettivo della conservazione del fegato è mantenere la vitalità cellulare, permettere un rapido ripristino del metabolismo cellulare durante la riperfusione ed in tal modo evitare la potenziale mortalità e

morbilità associata a deficit funzionale del fegato trapiantato. Nonostante la capacità di conservazione delle soluzioni a freddo siano sensibilmente migliorate, l'insufficienza d'organo post-trapianto incide ancora per una percentuale del 5-20%. In generale il danno cellulare da ischemia è scatenato dalla deplezione di ATP, dall'alterazione della funzione respiratoria mitocondriale e dall'acidosi derivante dalla glicolisi. L'importanza della deplezione di ATP durante la fase ischemica del trapianto epatico ed il ruolo della neosintesi di ATP nel recupero della funzione d'organo sono state recentemente rivisitate in una review su *Hepatology*, nel quale gli autori sottolineano l'importanza del mantenimento del metabolismo dell'ATP durante il trapianto epatico. Il fegato richiede grandi quantità di energia per supportare le varie funzioni a cui è preposto. Queste ultime sono mantenute prevalentemente dall'energia derivante dal metabolismo aerobico. Con l'intervento della fase anossica il fegato va' incontro ad un'interruzione della fosforilazione ossidativa e ad una rapida deplezione delle riserve di ATP, a cui fa seguito un'interruzione di quasi tutti i processi energia-dipendenti. Conseguentemente RNA e sintesi proteica sono inibite, si verificano alterazioni del trasporto di ioni (perdita di  $K^+$ , ed aumento di  $Na^+$  intracellulare), ridistribuzione di  $Ca^{++}$  intracellulare e sintesi glicolitica di grandi quantità di lattato con conseguente acidosi. In condizioni di anaerobiosi, la glicolisi risulta estremamente inefficiente rispetto alla produzione di ATP per mole di glucosio, quando solo il 6% di ATP può essere generato rispetto al metabolismo aerobio. In corso di ischemia, l'ATP viene degradato ad ADP, AMP, Adenosina e di seguito Adenina, Inosina ed Ipxantina. Quest'ultima si accumula, attiva la Xantina-Ossidasi che catalizza la sua conversione in Xantina. Tale reazione si accompagna a produzione di radicali liberi (ROS) responsabili di danno cellulare. I prodotti collaterali del metabolismo dell'ATP possono essere persi nel processo di trapianto durante la fase di lavaggio successivo alla conservazione. Queste perdite limitano la disponibilità di AMP per la formazione di ATP durante la riperfusione. L'AMP può essere prodotto nei tessuti umani da una sintesi ex-novo, ma tale processo è limitato da una lenta conversione del glucosio 6-fostato a ribosio 5-fosfato e fosforibosil-pirofosfato. Una via di fuga alternativa è limitata dalla scarsa disponibilità di substrati. Dal punto di vista della bioenergeticamitocondriale, la disponibilità di energia dipende dalla possibilità di riattivare rapidamente la catena respiratoria mitocondriale. Una delle tappe limitanti è rappresentata dalla disponibilità di AcetilCoa e dalla proteina di trasporto del tricarbossilato (citrato), responsabile della mobilitazione del citrato attraverso la membrana mitocondriale interna. Il trasportatore ricopre un ruolo fondamentale nel "metabolismo

intermedio”, in special modo nella conversione dei carboidrati in acidi grassi. Il suo ruolo specifico è il trasferimento dell’Acetil-CoA, condensato con l’ossalacetato in forma di citrato, dalla matrice mitocondriale al citosol dove in una reazione catalizzata dall’ATP-citrato legasi, l’Acetil-CoA diventa il substrato per la sintesi de novo degli acidi grassi. Vari studi hanno mostrato che la fase finale di questo processo è ampiamente dipendente dallo stato nutrizionale generale e dallo stato energetico cellulare. E’ stato recentemente dimostrato che il digiuno riduce il trasporto del citrato nei mitocondri e che tale riduzione dipende da modificazioni intrinseche al trasportatore stesso per inibizione posttrascrizional

Non sono ancora note però le alterazioni del carrier e di conseguenza della funzionalità della sintesi di acidi grassi, indotte dall’I/R, in particolare in fegati steatosici. Nostro obiettivo è la caratterizzazione di tali modificazione in fegati steatosici, in corso di I/R sottoposti o protetti con preconditioning. Una correlazione tra conservazione dell’energia prima della ri-perfusione e funzione del fegato trapiantato è stata suggerita dagli studi clinici di Lanieri et al. e di Kamiike et al., i quali hanno suggerito che il pool totale di nucleotidi adeninici influenzi il recupero di ATP e l’esito del trapianto. Il danno mitocondriale causato dall’ischemia potrebbe essere parzialmente responsabile della incapacità delle cellule epatiche di recuperare completamente la loro funzione in corso di ri-perfusione. Nonostante numerosi tentativi siano stati fatti per minimizzare il danno epatico da ischemia/ri-perfusione, metodi efficaci non sono ancora disponibili. Crescenti evidenze dimostrano che la tolleranza al danno da ischemia/ri-perfusione può essere indotta in molti tessuti, sottoponendo quest’ultimi, prima del trapianto, a brevi periodi di ischemia seguiti da ri-perfusione, processo noto come preconditioning. L’efficacia clinica del preconditioning è stata recentemente osservata in una coorte di pazienti sottoposti ad epatectomia parziale, nei quali è stato dimostrato che nei fegati umani sottoposti a preconditioning i livelli di transaminasi e l’apoptosi delle cellule endoteliali erano notevolmente ridotti. Il preconditioning previene efficacemente il danno da ri-perfusione nel fegato ischemico normotermico, e consente la mutazione del danno d’organo da incompatibile con la sopravvivenza a danno non letale. Non è noto se il preconditioning conferisce protezione nel fegato conservato a freddo. I meccanismi responsabili dell’azione citoprotettiva del preconditioning sono stati largamente studiati nel cuore, dove è stato dimostrato che il primo step è rappresentato dall’accumulo di mediatori endogeni, tra cui l’adenosina gioca un ruolo principale. Infatti una notevole quantità di adenosina è rilasciata in pochi secondi dall’inizio dell’ischemia e la stimolazione di recettori A1 è il principale responsabile

dell'effetto del preconditioning. Dati sui meccanismi di epatoprotezione attivati dal preconditioning rimangono tuttora scarsi, e nessun dato è ancora disponibile circa gli effetti del preconditioning sulla preservazione della sintesi di ATP.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** MIUR  
PRIN 2004 € 0,00 (richiesto finanziamento per 60.000€).

**ALTOMARE Emanuele**

**TITOLO DELLA RICERCA:** STRESS OSSIDATIVO E PARTO CON TAGLIO CESAREO IN PAZIENTI CON VARIANTI TROMBOFILICHE: COMPARAZIONE TRA 3 DIVERSI TIPI DI ANESTETICI.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Numerosi studi hanno dimostrato livelli di perossidazione lipidica più alti nelle donne in gravidanza, con o senza complicanze, rispetto alle donne utilizzate come controlli. Durante la gravidanzalipoperossidazione origina sia dal trofoblasto che dal compartimento dei villi coriali: i prodotti vengono secreti nel torrente ematico materno dove si aggiungono a quelli derivanti dalla cascata lipoperossidativa materna. Sui livelli di GSH e di altri sistemi antiossidanti i risultati sono contrastanti probabilmente a causa sia delle diverse metodiche di laboratorio effettuate che per il materiale biologico utilizzato per il dosaggio. Nel corso dell'anestesia generale, organi e tessuti attraversano una fase di ischemia seguita da riperfusione: durante quest'ultima fase vengono prodotti numerosi radicali liberi dell'ossigeno responsabili di un danno cellulare. Negli ultimi anni è stata valutata la capacità antiossidante degli anestetici (volatili o endovenosi). I più alti livelli di attività antiossidante sono stati osservati con il Propofol, grazie alla sua struttura chimica simile a quella di altri antiossidanti come l'alfa-tocoferolo. Attualmente tutti i parti eseguiti con taglio cesareo di elezione e non complicati si effettuano in anestesia loco-regionale, mentre i parti con taglio cesareo nelle pazienti gestosiche si effettuano in anestesia generale. L'obbiettivo principale di questo progetto è quello di eseguire un time-course dello stress ossidativo in pazienti sottoposte a taglio cesareo in anestesia generale suddivise in sottogruppi sulla base dell'anestetico utilizzato (Propofol, Tiopentone e Sevo o Desflurane). La valutazione delle proprietà antiossidanti degli anestetici di nuova generazione rispetto agli anestetici tradizionali sarà effettuata anche nelle gestanti trombofiliche con parto cesareo (la cui individuazione avverrà con la collaborazione della Ginecologia Universitaria).

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** MIUR  
PRIN 2002 € 7.700,00.

**ALTOMARE Emanuele**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Cell Signal redox-sensibile in corso di Steatoepatite non alcolica

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La NASH (steatoepatite non alcolica) è una condizione caratterizzata da aspetti istopatologici della epatite alcolica osservati in pazienti che non assumono significative quantità di alcool. Sebbene la NASH si associ a diversi quadri patologici, la sua patogenesi non è stata totalmente chiarita. Recenti evidenze scientifiche hanno identificato due fattori fondamentali nello sviluppo della NASH: il primo prevede l'accumulo di grasso negli epatociti, il secondo include stress ossidativo, lipoperossidazione, con produzione di malonildialdeide, idrossiononale, citochine infiammatorie, attivazione di cellule stellate e fibrogenesi.

La disfunzione mitocondriale può giocare un ruolo centrale nell'induzione di entrambi i fattori, in quanto i mitocondri partecipano alla beta-ossidazione degli acidi grassi e rappresentano la fonte maggiore di radicali liberi nella cellula. I dati scientifici circa i meccanismi fisiopatologici responsabili dello sviluppo e della progressione della NASH hanno solo di recente potuto sfruttare le potenzialità di un modello animale le cui lesioni di base si sovrappongono a quelle umane e sono sufficientemente riproducibili. Infatti, malgrado esistano diversi modelli di steatosi, esistono solo pochi modelli di steatoepatite. Uno di questi è la "High-fat methionine/choline deficient diet" (prodotta e brevettata dalla ICN Biomedicals, USA), che produce in sequenza steatosi, steatoepatite e fibrosi. Tale modello fu messo a punto nel 1993 da Teramoto e coll (Tranplantation, 1993, 5:737-41) come modello di fegato steatosico da trapiantare, ma è oggi riconosciuto come un modello che riproduce la sequenza di eventi tipica della malattia umana. Lo studio si pone come obiettivo la determinazione delle alterazioni mitocondriali durante le fasi sperimentali dello sviluppo della NASH ed il ruolo che la trasduzione del segnale redox-sensibile gioca nell'induzione, nel mantenimento e nella progressione del danno epatico. Inoltre, è obiettivo del presente studio determinare l'entità del danno ossidativo a carico del genoma nucleare e mitocondriale durante lo sviluppo di NASH. La conoscenza del ruolo che la perdita di funzione mitocondriale ricopre in corso di Steatoepatite è da considerarsi di primaria importanza nella comprensione patogenetica e nella gestione clinica della NASH.

**FONTI ED ENTITÀ DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota Progetti 2004 € 10.800,00.

## **Vendemiale Gianluigi**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Insulino-resistenza e Malattia di Alzheimer

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Il diabete mellito è da tempo considerato un fattore di rischio per lo sviluppo della demenza vascolare. E' noto, infatti, che i soggetti diabetici presentano un rischio maggiore di deterioramento cognitivo (1) e l'area maggiormente compromessa interessa la memoria visuo-spaziale. Anche soggetti con intolleranza al glucosio presentano un maggior rischio di declino cognitivo. Recenti evidenze epidemiologiche e cliniche suggeriscono che il diabete incrementi notevolmente anche il rischio di sviluppare la malattia di Alzheimer (AD) (2,3). Il rischio sarebbe ancora maggiore nei diabetici insulino-ricipienti (3). Sono stati ipotizzati meccanismi patogenetici diversi, sia vascolari (ischemia cerebrale micro e macroangiopatica) che non vascolari, come l'accumulo di proteine ipergliccate (AGE: advanced glycated end products); queste ultime sono riconosciute come determinanti nello sviluppo dello stress ossidativo tipico del diabete (riducendo l'attività enzimatica della superossido-dismutasi), e capaci di aumentare la produzione di beta-amiloide (principale costituente delle placche senili, peculiare lesione anatomopatologica della Malattia di Alzheimer), attraverso attivazione recettoriale. Il diabete, inoltre, riconosce nell'iperinsulinemia un cofattore di induzione e progressione del danno neuronale. E' ampiamente acquisito che i neuroni esprimono i recettori per l'insulina (IR), ad alte concentrazioni in talune sedi preferenziali come il bulbo olfattorio, l'ipotalamo, l'ippocampo e la corteccia entorinale. Secondo recenti teorie, in corso di malattia di Alzheimer vi sarebbe una difettosa risposta all'insulina da parte dei neuroni, che spiegherebbe l'aumento della glicemia nel sistema venoso cerebrale, secondario alla riduzione dei recettori per l'insulina e/o della loro attività. L'insulina è un ormone essenziale anche a livello nervoso, dove opera da neuromodulatore migliorando le funzioni della memoria a breve termine. Sebbene i lavori finora apparsi si limitino a studi in vitro, è ipotizzabile che anche in vivo un eccesso di insulina possa indurre stress ossidativo attraverso la formazione degli AGE, incremento della fosforilazione della proteina Tau (costituenti dei grovigli neurofibrillari) ed accumulo di peptide beta-amiloide (4). Il comune denominatore tra iperinsulinemia e AD sarebbe un enzima, chiamato IDE (insulin-degrading enzyme), responsabile della degradazione dell'insulina e della beta-amiloide: un eccesso di insulina saturerebbe l'attività dell'enzima, determinando accumulo di beta-amiloide e formazione di placche senili.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota Progetti 2004 €10.600,00.

**Dott. Gaetano Serviddio**

**TITOLO DELLA RICERCA:** "Aspetti biomolecolari e mitocondriali redox-mediati in corso di Steatoepatite non alcolica"

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** La NASH (steatoepatite non alcolica) è una condizione caratterizzata da aspetti istopatologici della epatite alcolica osservati in pazienti che non assumono significative quantità di alcool. Sebbene la NASH si associ a diversi quadri patologici, la sua patogenesi non è stata totalmente chiarita. Recenti evidenze scientifiche hanno identificato due fattori fondamentali nello sviluppo della NASH: il primo prevede l'accumulo di grasso negli epatociti, il secondo include stress ossidativo risultante in una lipoperossidazione, con produzione di malonildialdeide, idrossienonale, citochine infiammatorie, attivazione di cellule stellate e fibrogenesi. La disfunzione mitocondriale può giocare un ruolo centrale nell'inibizione di entrambi i fattori, in quanto i mitocondri partecipano alla beta-ossidazione degli acidi grassi e rappresentano la fonte maggiore di radicali liberi nella cellula. I dati scientifici circa i meccanismi fisiopatologici responsabili dello sviluppo e della progressione della NASH hanno solo di recente potuto sfruttare di un modello animale sufficientemente sovrapponibile ai quadri umani. Infatti, malgrado esistano diversi modelli di steatosi, esistono solo pochi modelli di steatoepatite. Uno di questi è la "High-fat methionine/choline deficient diet" (prodotta e brevettata dalla ICN Biomedicals, USA), che produce in sequenza steatosi, steatoepatite e fibrosi. Tale modello fu messo a punto nel 1993 da Teramoto e coll (Tranplantation, 1993, 55:737-41) come modello di fegato steatosico da trapiantare, ma è oggi riconosciuto come un modello che riproduce la sequenza di eventi tipica della malattia umana. La conoscenza del ruolo che la compromissione mitocondriale ricopre in corso di Steatoepatite è da considerarsi di primaria importanza nella comprensione e nella gestione della NASH.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Giovani Ricercatori 2004 € 2.500,00.

**Altomare Emanuele**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Definizione degli aspetti epidemiologici dell'infezione da HCV in Puglia

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Partecipazione in un progetto cofinanziato dal ministero della Sanità per la definizione degli aspetti epidemiologici della infezione da HCV nelle popolazioni della capitanata

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**

Cofinanziamento IRCCS Castellana Grotte 2004 € 7.000,00.

**Prof. FRANCESCO PAOLO CANTATORE**

**TITOLO DELLA RICERCA: ATTIVITA' ANTI ANGIOGENETICA DEI BISFOSFONATI**

**SINTESI DEL PROGETTO** (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) : I bisfosfonati sono farmaci classicamente noti per la loro attività antiassorbitiva a livello osseo in quanto capaci di inibire l'attività osteoclastica. Vi sono dati della letteratura e personali già pubblicati che indicano la capacità di queste molecole di interferire negativamente con i fenomeni flogistici nel corso di alcuni reumatismi infiammatori cronici. Nel presente studio, considerando che nelle flogosi sono presenti anche importanti fenomeni angiogenetici, si valuterà la capacità dei bisfosfonati di interferire con la neoangiogenesi. **DESCRIZIONE DEL PROGETTO:** Si utilizzerà il modello sperimentale della neoangiogenesi nella membrana crioallantoidea del pollo (metodica già messa a punto da Ribatti e Coll). La molecola di bisfosfonato da utilizzare sarà il neridronato che sarà iniettato nella membrana a concentrazioni scalari (1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml) in 20 campioni differenti; come controllo si utilizzeranno altrettanti campioni in cui si inietterà soltanto il veicolo del farmaco (NaCl). Su sezioni istologiche della membrana si valuterà la densità dei capillari/mm<sup>2</sup> con tecnica computerizzata validata.

**OBIETTIVI:** valutare la capacità inibitoria sulla neoangiogenesi in vitro del neridronato

**RISULTATI ATTESI:** in considerazione del fatto che altre molecole di bisfosfonati hanno avuto azione antiangiogenetica si vuole valutare se il Neridronato, pur essendo una molecola strutturalmente diversa dalle altre, sia in grado di inibire la neoangiogenesi.

Tali risultati sarebbero interessanti ai fini dell'impiego di questi farmaci anche nel trattamento di processi infiammatori cronici

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** fondi per la ricerca ex 60% quota 2004 € 1509,12, finanziamento Schering-Plough (5000.00 €).

**Dr Cristiano Capurso**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Polimorfismi degli enzimi REDOX: Alzheimer vs Centenari (Continuazione progetto 2003)

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Gli enzimi Catalasi e Cu/Zn Superossido-dismutasi (SOD1), svolgono una funzione di difesa e intervengono nei meccanismi di riparazioni dei danni prodotti dai radicali liberi. Nell'uomo,

mutazioni a livello della SOD1 sono state associate ad un aumento del danno ossidativo ed all'insorgenza di malattie degenerative, quali la sclerosi laterale amiotrofica e la malattia di Alzheimer (AD) . In un modello animale mutazioni a livello della Catalasi e della SOD1 hanno determinato una riduzione della resistenza allo stress ossidativo e una drastica riduzione del "life span". Forsberg et coll. hanno studiato il polimorfismo C/T in posizione 262 del promotore della Catalasi, in una popolazione svedese: i portatori dell'alleleT avevano livelli sensibilmente più elevati di catalasi rispetto ai soggetti omozigoti per l'allele C. Rosen e coll. e Deng e coll. hanno scoperto più di 14 differenti mutazioni a livello degli esoni 1, 2, 4 e 5 del gene della SOD1. La mutazione Ala/Val nell'esone 1 è stata tuttavia descritta come la più frequente ed è stata associata a un decorso clinico più rapido e ad una maggiore gravità dell'AD.

POPOLAZIONI DA STUDIARE: 1) Gruppo di pazienti affetti da Malattia di Alzheimer, istituzionalizzati ed ambulatoriali, afferenti alla Cattedra di Geriatria di Foggia, con diagnosi di demenza secondo i criteri DSM-IV TR, ovvero con diagnosi di "probabile" malattia di Alzheimer secondo i criteri NINCDS ARDRA;2) Gruppo di controllo di anziani sani appaiati per sesso ed età;3) Gruppo di controllo di soggetti centenari;

METODOLOGIE IMPIEGATE:I pazienti saranno sottoposti ad una visita medica iniziale e ad un esame neurologico e neuropsicologico, per differenziare la demenza di Alzheimer dalla demenza vascolare e per escludere eventuali forme di demenza di origine metabolica, farmacologica o tossica. L'assessment delle funzioni cognitive sarà eseguita mediante somministrazione di test psicometrici. La stadiazione della demenza verrà valutata mediante la Clinical Dementia Rating Scale. Verranno eseguiti gli esami ematologici di routine. Previo consenso informato, a ciascun soggetto verrà effettuato un prelievo di 7cc circa di sangue venoso in provetta con anticoagulante EDTA 0.11 M, pH 7.5 per l'estrazione del DNA genomico.L'analisi del polimorfismo Alanina/Valina dell'esone 1 della SOD1 e del polimorfismo C262T del promotore della Catalasi verranno eseguite con PCR Real Time.

SOD1: Sono stati studiati 133 soggetti anziani pugliesi, 81 centenari (19 maschi e 62 femmine, età media  $100 \pm 1.9$  anni) e 57 soggetti di controllo (24 maschi e 33 femmine, età media  $77 \pm 5.4$  anni). A tutti i soggetti sono stati prelevati 2 cc circa di sangue da cui è stato estratto il DNA per l'analisi del genotipo SOD1, eseguita mediante Real-Time PCR - Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) system - su Light Cycler (Roche, Mannheim Germany) e successiva analisi delle curve di melting. L'analisi statistica è stata eseguita con il software SPSS, versione 11.5 (SPSS Inc., Chicago IL, USA). L'analisi parziale delle frequenze dei

polimorfismi e l'analisi delle frequenze alleliche del SOD1 non ha mostrato differenze statisticamente significative fra centenari e controlli. CATALASI: Sono stati studiati 165 soggetti anziani pugliesi, 90 pazienti affetti da malattia di Alzheimer (13 maschi e 77 femmine, età media all'esordio  $77 \pm 9.8$  anni) e 75 soggetti di controllo (40 maschi e 35 femmine, età media  $76 \pm 5.9$  anni). A tutti i soggetti sono stati prelevati 2 cc circa di sangue da cui è stato estratto il DNA per l'analisi del genotipo Catalasi, eseguita mediante Real-Time PCR - Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) system - su Light Cycler (Roche, Mannheim Germany) e successiva analisi delle curve di melting. L'analisi statistica è stata eseguita con il software SPSS, version 11.5 (SPSS Inc., Chicago IL, USA); il calcolo dell'odds ratio (O.R.) e della relativa significatività statistica è stato eseguito con il software StataSE, versione 8.0 (Stata Corp., College Station, Texas, USA). L'analisi parziale delle frequenze dei polimorfismi e delle frequenze alleliche della Catalasi ha mostrato una differenza statisticamente significativa fra dementi e controlli, relativamente alla presenza del polimorfismo C/C, maggiormente presente nei dementi (Chi -quadrato di Pearson= 8.435; df=2; p=0.015; Bonferroni p= 0.035). Dal calcolo dell'Odds Ratio è emerso come la presenza del genotipo C/C della Catalasi possa costituire un fattore di rischio per l'insorgenza della malattia di Alzheimer (O.R.= 11.4; Exact p= 0.007). Al contrario, la presenza del genotipo T/T sembra essere protettiva per l'insorgenza della demenza, sebbene il dato non sia significativo (O.R.= 0.63; Exact p= 0.16). In definitiva il dato, sebbene assolutamente preliminare e ottenuto da una casistica esigua, è indicativo di un ruolo della Catalasi nella patogenesi della malattia di Alzheimer ed è suggestivo per un ulteriore approfondimento della studio su una popolazione decisamente più numerosa.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2003 € 9445,92, Quota progetti 2004 € 1509,12.

### **Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** RUOLO DELL'ANGIOGENESI NELLA CRESCITA DEI TUMORI UMANI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il progetto ha come obiettivo la caratterizzazione dei meccanismi molecolari coinvolti nell'attivazione dell'angiogenesi in due modelli di patologia neoplastica umana, i tumori cerebrali e tiroidei, al fine di individuare potenziali bersagli molecolari utilizzabili nella terapia. Nell'ambito dei tumori cerebrali sarà studiata l'interazione tra il fattore angiogenetico FGF1 ed il nuovo sistema recettore-ligando Jagged 1-Notch, quali pathway potenzialmente coinvolte nell'induzione

dell'angiogenesi e della progressione neoplastica. Nei tumori tiroidei studieremo il ruolo di VEGF, FGF1 e 2 e dell'angiopoitina 2 nell'induzione del fenotipo angiogenetico. Lo studio sarà effettuato sia su colture cellulari primarie e stabilizzate che su campioni tumorali umani. Il progetto è finalizzato a caratterizzare, da un punto di vista molecolare, i due modelli di patologia neoplastica, per ottenere informazioni sulla prognosi di malattia e sul potenziale utilizzo di nuovi farmaci a bersaglio molecolare che agiscono selettivamente sulle pathway studiate.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Progetto PRIN 2004 in corso di valutazione. Finanziamento richiesto 50.000 € per due anni. Quota progetti 60% richiesta con i Professori Gesualdo e Cignarelli. Finanziamento erogato: 12.500 € per docente.

### **Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** RUOLO DELLA TRASCRITTASI INVERSA NELLA PATOGENESI E NELLA TERAPIA DEI TUMORI UMANI.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** **PIANO DELLA RICERCA 1** La retrotrascrittasi è un gene coinvolto nella proliferazione e nel differenziamento cellulare. Il progetto ha come obiettivo la caratterizzazione del ruolo della trascrittasi inversa nella crescita delle neoplasie umane ed in particolare nelle neoplasie ormono-sensibili di prostata e mammella e nei tumori tiroidei. Lo studio sarà effettuato su linee primarie e stabilizzate di tumori di prostata e mammella e di tumori tiroidei a vario grado di differenziamento. Valuteremo l'attività citostatica e differenziante degli inibitori della trascrittasi inversa attraverso l'analisi della proliferazione e migrazione cellulare, di specifici marcatori del differenziamento cellulare in vitro ed in vivo ed attraverso la caratterizzazione della riprogrammazione genica a cui vanno incontro le cellule sottoposte ad inibizione farmacologica della trascrittasi inversa. Nell'ambito delle neoplasie ormono-dipendenti è noto che gli inibitori della trascrittasi inversa inducono l'espressione dei recettori ormonali e l'attivazione di geni dipendenti dai recettori ormonali, per cui valuteremo la possibilità di utilizzare questi farmaci per potenziare le terapie ormonali attualmente in uso e per indurre la sensibilità alle terapie ormonali nelle neoplasie che hanno acquisito il carattere dell'ormono-resistenza. Nell'ambito dei tumori tiroidei scarsamente differenziati analizzeremo la possibilità di indurre il differenziamento cellulare e di favorire l'espressione del trasportatore dello iodio e la conseguente captazione

dello iodio radioattivo, una caratteristica che scompare nei tumori anaplastici. Questo studio ha come obiettivo finale la possibilità di utilizzare questa categoria di farmaci nella terapia del carcinoma anaplastico della tiroide, come trattamento differenziante in associazione alla terapia radiometabolica.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 60% richiesta con i Professori Gesualdo e Cignarelli. Finanziamento erogato: 12.500 € per docente.

### **Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** MECCANISMI MOLECOLARI DI ALTERATA AZIONE INSULINICA E COMPLICANZE VASCOLARI NEL DIABETE.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** PIANO DELLA RICERCA 2 Premesse: Citochine e fattori di crescita sono stati spesso invocati come fattori patogenetici nelle modificazioni strutturali del parenchima renale osservate in corso di diabete mellito. Questi mediatori solubili possono, infatti, influenzare la progressione della nefropatia diabetica modulando la produzione di matrice extracellulare, l'ipertrofia e la proliferazione delle cellule residenti ed il reclutamento in loco di cellule del sistema immune. Metodi: I recenti sviluppi nella chimica, biochimica e bioingegneria hanno indotto lo sviluppo di una nuova metodica di analisi dell'espressione genica, i microarray. Questo approccio basato sull'uso di biochip utilizza griglie microscopiche disegnate sul vetrino sulle quali sono depositati specifici cDNA che fungono da bersagli di ibridizzazione. Le sonde sono invece costituite da cDNA marcati con fluorocromi ed ottenuti dalla trascrizione inversa degli RNA messengeri cellulari. Questo sistema di ibridizzazione microscopica su un supporto di vetro permette un'accurata misura dell'espressione genica. I microarray, quindi, saranno utilizzati quale utilissimo strumento per l'analisi genica per la ricerca nel campo della patogenesi della nefropatia diabetica.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** MIUR PRIN 2002 € 53.900,00.

### **Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** ANALISI DEI MECCANISMI DI TRASMISSIONE DEL SEGNALE INSULINICO IN VIVO NEI TESSUTI INSULINO-SENSIBILI DEI SOGGETTI NORMALI E INSULINO-RESISTENTI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** PIANO DELLA RICERCA 3 PREMESSE: gli effetti

avversi del grasso viscerale nell'obesità e nel diabete di tipo 2 è largamente dovuto alle differenze dell'azione insulinica nei differenti siti di deposito del grasso. L'obiettivo di questo studio è : 1) valutare in vivo l'attivazione e la trasduzione del segnale insulinico nel tessuto adiposo; 2) valutare le potenziali differenze delle reazioni del segnale insulinico nel tessuto adiposo omentale e sottocutaneo.

**METODI:** 6 soggetti (3M/3F) adulti (40-55 a), sottoposti a ad intervento di colecistectomie (litiasi biliare non complicata, U.O. di Chirurgia Universitaria) o isterectomie (miomi uterini non complicati, reparto di Ginecologia Universitaria, esenti da patologie sistemiche ed endocrine e soprattutto cardiopolmonari, saranno oggetto del nostro studio.

2-3 giorni precedenti all'intervento chirurgico si procederà alla misurazione della sensibilità insulinica mediante il test kitt, La velocità di caduta percentuale/min della glicemia capillare registrata nei primi 15 min. è considerata indice molto affidabile di insulino.sensibilità.

Nel giorno dell'intervento si procederà nuovamente al Kitt con la differenza che contemporaneamente all'iniezione di insulina R si procederà all'infusione di glucosata al 10% in maniera tale che il paziente non subisca diminuzioni della glicemia che comunque sarà misurata ogni 3 min. dal polpastrello dell'alluce. Il tessuto adiposo (200 mg circa) sarà rapidamente e facilmente prelevato dalla parete addominale al tempo 0, 6, 30 min dall'iniezione di insulina e trasferito in azoto liquido e consegnato in laboratorio per la processazione e lo studio dell'attivazione del traffico delle proteine coinvolte nella trasmissione del segnale insulinico.La fosforilazione insulino-stimolata della tirosina e la espressione attivazione delle molecole del segnale insulinico saranno misurati nel lisato dei tessuti mediante tecniche di immunoprecipitazione ed immunoblotting.

I risultati di questo studio potrebbero aprire nuove modalità per gettare luce sulla patogenesi degli stati di IR e soprattutto accrescere le conoscenze sulla patogenesi del DM2.

### **Cignarelli**

**TITOLO DELLA RICERCA:** BLOCCO DEL RECETTORE DELL'ANGIOTENSINA II E NEFROPROTEZIONE: MECCANISMI EMODIAMICI E MOLECOLARI

**SINTESI DEL PROGETTO** (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) : Piano di RICERCA 4: Premesse: L'iperattività del RAS contribuisce alle alterazioni dell'emodinamica intrarenale nei pazienti affetti da diabete mellito. Nei soggetti T2D il blocco del AR1 produce una correzione dell'aumentata attività del RAS renale che è considerata

svolgere un ruolo importante nella patogenesi del declino funzionale renale nel diabete. Scopo del nostro studio sarà valutare l'effetto del blocco del AR1-I sull'emodinamica renale in soggetti diabetici tipo 2 normotesi, non macroproteinurici. I prelievi biotici saranno processati per l'esame istologico e per l'analisi molecolare dei fattori di crescita coinvolti nell'espansione del mesangio. Discussione: Diversi studi hanno dimostrato nei diabetici un'attivazione del sistema RAS renale, quale conseguenza dell'iperglicemia. Nei soggetti normali il blocco del sistema RAS produce caratteristicamente un aumento dei valori di IR (Taniwaki H, Diab. Care 2003).

## **MARIA PIA FOSCHINO BARBARO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** VALUTAZIONE CON METODICHE NON INVASIVE DEI MARKERS GENETICI NELL'ASMA BRONCHIALE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** PREMESSE: L'ereditarietà dell'asma è stata calcolata, in diversi studi, variare dal 30% al 75%. L'analisi della distribuzione della malattia nelle famiglie con più affetti ("segregazione") ha indicato che l'asma è presumibilmente influenzata da pochi geni con un effetto moderato ("oligogeni"), più che da molti geni con effetto piccolo ("poligeni"). Alcuni studi di genomica hanno evidenziato in diverse popolazioni la presenza di linkage tra marcatori microsatelliti del DNA localizzati sui cromosomi 19 e 5 e l'asma atopico o fenotipi correlati. In questi ultimi anni la ricerca di markers genetici nei pazienti asmatici sta riscontrando un interesse crescente. Diversi studi di biologia molecolare sono già stati compiuti su sangue e sull'espettorato indotto di pazienti atopici con o senza asma al fine di identificare markers genetici in grado di individuare precocemente i soggetti a rischio e di

monitorare la risposta alla terapia. Il nostro gruppo e' riuscito recentemente ad estrarre il DNA dal condensato esalato, un campione biologico che proviene dalle alte e basse vie aeree e che viene raccolto in modo completamente non invasivo facendo respirare il paziente a volume corrente in un boccaglio collegato ad un sistema di refrigerazione. Il condensato esalato e l'espettorato indotto rispetto al sangue periferico hanno il vantaggio di darci materiale proveniente da cellule somatiche dell'apparato respiratorio, target di questa malattia

**OBIETTIVI** Obiettivo di questo studio sara' quello di valutare la possibilita' di utilizzare il condensato esalato e l'espettorato indotto come metodiche di screening nella ricerca di alterazioni genetiche in soggetti atopici a rischio di sviluppare asma. Nello specifico, intendiamo ricercare regioni cromosomiche con alterazioni del DNA correlate con la patogenesi dell'asma, usando come strumento generico di screening la instabilita'(MI) e la perdita di eterozigota di alcuni microsatelliti. Obiettivo secondario sara' quello di valutare la possibilita' che queste metodiche possano essere utilizzate non solo nella diagnostica ma anche nel monitoraggio clinico e terapeutico.

**METODOLOGIA:** Saranno arruolati in questo studio almeno 30 soggetti atopici con diagnosi di asma, 30 soggetti atopici non asmatici e 30 soggetti sani non fumatori. Tutti dovranno essere sottoposti a raccolta dell'esalato condensato e del sangue periferico e a induzione dell'espettorato. Il materiale raccolto dovra' essere sottoposto a tecniche di estrazione e amplificazione del DNA e valutato per eventuali alterazioni genetiche (microsatelliti nelle regioni cromosomiche D19S601, D12S390, D14S617 etc ). Markers di flogosi e di stress ossidativo saranno misurati nell'esalato condensato e nel sovratanante dell'espettorato indotto. Sull'espettorato sara' anche eseguita la conta differenziata. Tutti i pazienti saranno sottoposti ad una accurata anamnesi, visita medica, prick test, rast test, esame spirometrico e test di provocazione bronchiale con metacolina.

**RISULTATI ATTESI** Ci aspettiamo di poter identificare nuove alterazioni genetiche correlate con la patogenesi dell'asma e di poter dimostrare l'utilita' di metodiche non invasive, quali l'esalato condensato e l'espettorato indotto, nello screening genetico di pazienti affetti da questa patologia.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**  
QUOTPROGETTI EX 60% 2004 € 9671,84.

**MARIA PIA FOSCHINO BARBARO**

**TITOLO DELLA RICERCA:** MARKERS GENETICI NON INVASIVI NELLA DIAGNOSI PRECOCE E NEL FOLLOW UP DEL NO SMALL CELL LUNG CANCER (NSCLC)

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** PREMESSE Un crescente interesse ha recentemente generato l'identificazione e la caratterizzazione di cambiamenti genetici che guidano lo sviluppo e la progressione del NSCLC (No small cell lung cancer). Alcuni markers genetici (instabilita' e perdita di eterozigosita' di microsatelliti) hanno ultimamente ridefinito i criteri diagnostici per il cancro del polmone e fornito nuovi strumenti per una diagnosi precoce. Questi markers sono stati identificati e studiati in differenti campioni biologici di pazienti con il NSCLC, fra cui la biopsia polmonare, il lavaggio bronchiolo-alveolare, l'aspirato tracheale e l'espettorato indotto. Questi campioni sono ottenuti con metodiche piu' o meno invasive che ne limitano l'applicazione su larga scala, che tuttavia si rende necessaria per uno screening della popolazione a rischio.

**OBIETTIVI:** Scopo di questo studio da sviluppare presso i laboratori dell'ISPA, è quello di ricercare le alterazioni di specifici microsatelliti gia' implicati nella patogenesi del NSCLC ( 3p14.2 (D3S1300, FHIT locus), 3p21 (D3S1289), 3p23 (D3S1266), 3p24.2 (D3S2338), e 3p25-26 (D3S1304)) nell'esalato condensato. Di pazienti affetti da questa patologia e a rischio. Il condensato esalato e' gia' stato utilizzato per approfondire le nostre conoscenze sul cancro del polmone attraverso il dosaggio di mediatori oncologici solubili.

**METODOLOGIA** Si prevede di arruolare 20 pazienti con NSCLC al I° stadio, 20 pazienti con NSCLC al II° stadio e 20 pazienti con NSCLC al III° stadio, che saranno sottoposti a resezione chirurgica della neoplasia, e 30 soggetti fumatori a rischio di sviluppare NSCLC.

Tutti i soggetti arruolati nello studio saranno sottoposti alla raccolta dell'esalato condensato e del sangue periferico al T0 (prima dell'intervento), al T1 (dopo 3 mesi) e al T2 (dopo 6 mesi).

**RISULTATI ATTESI:** Le eventuali alterazioni dei microsatelliti studiati saranno correlate con lo stadio, l'istotipo e la ricorrenza della malattia durante il follow up.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI: QUOTA PROGETTI EX 60% 2004 € 9671,84.**

**Dr. Matteo Landriscina**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Ruolo dell'angiogenesi nella crescita dei tumori umani

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il progetto ha come obiettivo la caratterizzazione dei meccanismi molecolari coinvolti nell'attivazione dell'angiogenesi in due modelli di patologia neoplastica umana, i tumori cerebrali e tiroidei, al fine di individuare potenziali bersagli molecolari utilizzabili nella

terapia. Nell'ambito dei tumori cerebrali sarà studiata l'interazione tra il fattore angiogenetico FGF1 ed il nuovo sistema recettore-ligando Jagged 1-Notch, quali pathway potenzialmente coinvolte nell'induzione dell'angiogenesi e della progressione neoplastica. Nei tumori tiroidei studieremo il ruolo di VEGF, FGF1 e 2 e dell'angiopoitina 2 nell'induzione del fenotipo angiogenetico. Lo studio sarà effettuato sia su colture cellulari primarie e stabilizzate che su campioni tumorali umani. Il progetto è finalizzato a caratterizzare, da un punto di vista molecolare, i due modelli di patologia neoplastica, per ottenere informazioni sulla prognosi di malattia e sul potenziale utilizzo di nuovi farmaci a bersaglio molecolare che agiscono selettivamente sulle pathway studiate.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Progetto PRIN 2004 in corso di valutazione. Finanziamento richiesto 50.000 € per due anni. Quota progetti 60% richiesta con i Professori Gesualdo e Cignarelli. Finanziamento erogato: 12.500 € per docente.

**Dr. M. Landriscina**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Ruolo della trascrittasi inversa nella patogenesi e nella terapia dei tumori umani.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La retrotrascrittasi è un gene coinvolto nella proliferazione e nel differenziamento cellulare. Il progetto ha come obiettivo la caratterizzazione del ruolo della trascrittasi inversa nella crescita delle neoplasie umane ed in particolare nelle neoplasie ormono-sensibili di prostata e mammella e nei tumori tiroidei. Lo studio sarà effettuato su linee primarie e stabilizzate di tumori di prostata e mammella e di tumori tiroidei a vario grado di differenziamento. Valuteremo l'attività citostatica e differenziante degli inibitori della trascrittasi inversa attraverso l'analisi della proliferazione e migrazione cellulare, di specifici marcatori del differenziamento cellulare in vitro ed in vivo ed attraverso la caratterizzazione della riprogrammazione genica a cui vanno incontro le cellule sottoposte ad inibizione farmacologica della trascrittasi inversa. Nell'ambito delle neoplasie ormono-dipendenti è noto che gli inibitori della trascrittasi inversa inducono l'espressione dei recettori ormonali e l'attivazione di geni dipendenti dai recettori ormonali, per cui valuteremo la possibilità di utilizzare questi farmaci per potenziare le terapie ormonali attualmente in uso e per indurre la sensibilità alle terapie ormonali nelle neoplasie che hanno acquisito il carattere dell'ormono-resistenza. Nell'ambito dei tumori tiroidei scarsamente differenziati analizzeremo la possibilità di indurre il differenziamento cellulare e di favorire l'espressione del trasportatore dello iodio e la conseguente captazione dello iodio radioattivo, una

caratteristica che scompare nei tumori anaplastici. Questo studio ha come obiettivo finale la possibilità di utilizzare questa categoria di farmaci nella terapia del carcinoma anaplastico della tiroide, come trattamento differenziante in associazione alla terapia radiometabolica.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 60% anno 2004 richiesta con i Professori Gesualdo e Cignarelli. Finanziamento erogato: 12.500 € per docente.

**AVOLIO (multicentrico 2004-2005, centro coordinatore Ospedale San Raffaele Università Vita e Salute di Milano)**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Profilo Immunologico del Copaxone (Cop-1) nella Sclerosi Multipla

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il copaxone è comunemente utilizzato nella pratica clinica per il trattamento di pazienti con sclerosi multipla (SM) remittente recidivante ancora capaci di deambulare autonomamente. Anche se gli studi atti a determinare in dettaglio i meccanismi immunologici che sottendono l'efficacia clinica del Cop-1 sono stati numerosi, non è ancora chiaro quale sia il(i) meccanismo(i) predominante. Con il presente progetto ci si propone di utilizzare metodiche sofisticate di biologia molecolare e cellulare, su un numero elevato di pazienti con SM in trattamento (100) con Cop-1, nell'intento di indagare più a fondo il meccanismo d'azione del Cop-1. Saranno valutate nel sangue dei pazienti arruolati sia molecole solubili, quali citochine/chemochine/recettori chemochinici, sia cellule monocitarie antigene specifiche (anti-Cop-1). Lo studio sarà condotto sia longitudinalmente che trasversalmente su circa 500 campioni di sangue. Lo studio avrà una durata di due anni dopo l'arruolamento dei pazienti. La molecole e le cellule che verranno analizzate sono a buon grado da considerarsi come gli elementi prototipici e cruciali della risposta immunitaria che sottende il processo patogenetico della SM e quindi risultano essere i marcatori più sensibili di un eventuale cambiamento immunologico innescato dalla molecola in studio. Ci si propone quindi di chiarire gli aspetti ancora oscuri del funzionamento immunologico del Cop-1 nell'intento che un approccio multidisciplinare ed altamente tecnologico [Real-time PCR (Taqman), ELISPOT, Citofluorimetria Policromatica, Microarrays] al problema in questione possa garantire la consistenza dei risultati. Diversi gruppi di ricerca italiani saranno impegnati nel progetto. Tutti i gruppi impegnati a vario titolo hanno un record scientifico nel campo immunologico e nella SM in particolare di alto Profilo garantendo così la fattibilità del progetto. Il budget richiesto è in linea con i costi reali di tale sperimentazione.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Aventis  
€ 15.000,00 (Foggia-Bari).

**AVOLIO** (biennale 2004-2005)

**TITOLO DELLA RICERCA:** Ruolo delle cellule dendritiche nella Sclerosi Multipla

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** I linfociti B e T sono mediatori dell'immunità ma le loro funzioni sono sotto il controllo delle cellule dendritiche (DCs) In periferia le DCs catturano, processano e, dopo essere migrate negli organi linfoidi, presentano l'antigene (Ag) ai linfociti attraverso le molecole MHC-II. Le DCs non solo attivano i linfociti ma anche li rendono tolleranti nei confronti di Ag self, espletando quindi una funzione di controllo sulla reazione immunitaria. Detta funzione in particolare è propria delle DCs allo stadio immaturo che quindi possono definirsi DCs regolatorie. Il trattamento con Glatiramer Acetato (GA) in pazienti con Sclerosi Multipla (SM) riduce la produzione di IL-12 (citochina pro-infiammatoria di tipo Th1) da parte di DCs mentre l'interferone beta ricombinante (rIFNbeta) riduce la IL-12 ma incrementa la IL-10 (citochina anti-infiammatoria di tipo Th2). L'rIFNbeta riduce la differenziazione di cellule mononucleate di sangue periferico (PBMNCs) in DCs. Inoltre le DCs mediano l'effetto del GA sullo shift verso cellule T helper di tipo regolatorio (Th2/IL-10). Le metalloproteinasi (MMPs), endopeptidasi contenenti zinco che degradano le proteine della matrice extracellulare, controllano la migrazione cellulare attraverso la barriera emato-encefalica (BEE), distruggendo la membrana basale subendoteliale e altri componenti della matrice extracellulare (ECM), ma prendono anche parte alla distruzione tissutale nella SM. La MMP-9 si associa alle fasi di attività della SM, mentre la MMP-2 agli stadi cronici progressivi della malattia. Il rIFNbeta riduce in vitro la migrazione leucocitaria attraverso modelli di membrana basale e questo effetto è mediato dalla MMP-9 e riduce in vivo l'attività di MMP-9 nel siero di pazienti con SM e questo si associa alla efficacia clinica del trattamento; la MMP-2 sierica invece non è modificata dal trattamento. Le maggior parte delle MMPs sono espresse nei monociti. Non sono state rinvenute differenze di espressione di MMPs nelle DCs derivate da monociti in differenti stadi maturativi. Le MMPs infine potrebbero avere un ruolo nel terminare l'infiammazione e quindi un ruolo di tipo regolatorio nel processo patologico della SM come è stato evidenziato per la MMP-2 nell'artrite anticorpo-mediata indotta nell'animale.

Obiettivi del progetto di ricerca sono di studiare gli effetti del rIFNbeta-1a e del GA su DCs derivate da monociti di sangue periferico di pazienti con SM. Saranno valutati gli effetti dei due trattamenti, sia in vivo che in

vitro, sull' induzione di DCs, loro capacità di maturazione e produzione di MMP-2 e MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2, IL-12 e IL-10.

Più in dettaglio ci si focalizzerà su i seguenti aspetti:

- a) induzione e capacità di maturazione delle DCs sotto l' effetto di rIFNbeta-1a o di GA o dalla combinazione dei due trattamenti;
- b) produzione di MMP-9 e 2 e di TIMP-1 e 2 da parte di DCs a differenti stadi di maturazione sotto l' effetto di rIFNbeta-1a o di GA o dalla combinazione dei due trattamenti;
- c) Profilo citochinico Th1/Th2 di DCs a differenti stadi di maturazione sotto l' effetto di rIFNbeta-1a o di GA o dalla combinazione dei due trattamenti.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Progetto Ateneo 2004 € 9.671,84 (Foggia-Bari).

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: THE USE OF CONCEPT MAPPING TO ENLIGHTEN THE KNOWLEDGE NETWORKS OF DIABETIC CHILDREN** C.Pinosa, C. Marchand\*, R Gagnayre\*, N. Tubiana-Rufi \*\*, MG Albano,\*\*\*JF d'Ivernois\*

*\*Laboratoire de Pédagogie de la Santé, UPRES. EA 3412, UFR SMBH Léonard de Vinci, Université Paris 13, Bobigny; \*\* Service d'Endocrinologie et de Diabétologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris; \*\*\* Centro di Pedagogia delle Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Foggia*

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** This study deals with the nature and the organization of knowledge in diabetic children by the use of concept maps. The drawing of 10 concept maps by 5 diabetic children before (P1) and after a 5 days hospitalization ( P2) allows to assert that this technique is useful with children from 8 to 13 years. The analysis of the maps in P1 informs us about the children previous knowledge often dependent on their concerns of the moment. The analysis of the maps elaborated in P2 allows to measure the aquired knowledge. It shows an improvement of the organization in networks of knowledge, an increase of the operational knowledge and of the knowledge said constructed. Finally, this study considers a more vast use of this technique during the different steps of therapeutic education and concludes on the interest of concept maps in the education of diabetic children.

Studio pubblicato su *Diabetes and Metabolism*, 2004,30,527-534

Iseguenti lavori di ricerca sono condotti dal gruppo di dottorandi di ricerca in Didattica della Medicina collaboratori del Centro di Pedagogia delle Scienze della Salute, Facoltà di Medicina e Chirurgia - Università degli Studi di Foggia

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: THERAPEUTIC EDUCATION PROGRAMME IN CHRONIC DISEASES: A SURVEY OF LITERATURE FROM 01-01-1997 TO 12-31-2003**

Angelo Godibile, Tamara Cirillo, Jean François d'Ivernois\*, A. Decache,\*\*Maria Grazia Albano. Centro di Pedagogia delle Scienze della Salute, Facoltà di Medicina e Chirurgia - Università degli Studi di Foggia; \*Laboratoire de Pédagogie de la Santé, UPRES. EA 3412, UFR SMBH Léonard de Vinci, Université Paris 13, Bobigny, Università Cattolica di Liegi

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** L'innalzamento dell'età media e con essa l'aumento dell'incidenza delle patologie croniche ha condotto ad un incremento del numero degli studi su questo tipo di malattia. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce "cronica" una patologia che presenta diverse caratteristiche: è permanente, residua una lieve "disabilità", è causa di alterazioni patologiche non reversibili oppure può richiedere una riabilitazione del paziente o un lungo periodo di supervisione, osservazione o "cure". L'evoluzione del concetto di salute, intesa oggi come benessere bio-psico-sociale, ha fatto sviluppare intorno alla malattia cronica ed a quella di lunga durata l'educazione del malato all'autogestione della malattia e della terapia (Educazione Terapeutica del Paziente), al fine di mettere il paziente in grado di recuperare "margini di salute" e ritardare il manifestarsi delle complicanze, riducendo così i costi della sanità, la durata dei ricoveri ospedalieri e il consumo di farmaci. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità l'Educazione Terapeutica del Paziente consiste nell'aiutare il paziente e la sua famiglia a comprendere la malattia e il trattamento, a collaborare alle cure, a farsi carico del proprio stato di salute ed a conservare e migliorare la propria qualità di vita.

**Scopo dello studio:** Tenuto conto del fatto che l'Educazione Terapeutica del Paziente è una modalità di gestione della patologia cronica integrata alle cure, lo scopo del presente studio è quello di caratterizzare lo sviluppo di tale settore confrontando il numero di pubblicazioni sulle malattie croniche e quelle sui programmi di ETP in un periodo che va dal 1997 al 2003.

In particolare abbiamo analizzato:

- La proporzione fra le pubblicazioni sui programmi di ETP e quelle totali sulle malattie croniche
- L'incremento degli studi, nel periodo preso in esame, in relazione ai sistemi e alle singole malattie

Benché per definizione l'ETP si caratterizzi per programmi strutturati organizzati a livello di ospedale, di strutture di cura o di vacanza, si è

riscontrata l'esistenza di attività di educazione "informale" individuale o di trasmissione di informazioni che vengono definite come "educazione del paziente". Pertanto abbiamo precedentemente analizzato le pubblicazioni (studi semplici, randomizzati, meta-analisi) in relazione alla parola chiave "programmi di ETP" e successivamente in relazione a quella di "educazione del paziente". Inoltre abbiamo confrontato il numero delle pubblicazioni sull'ETP e quello delle pubblicazioni sui programmi di ETP.

**Materiali e Metodi:** Tenendo presente la definizione di malattia cronica enunciata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità è stata preliminarmente stilata una lista di patologie croniche. Le diverse malattie sono state raggruppate, per evitare confusioni d'interpretazione dei dati, per sistemi di appartenenza. Successivamente ci si è avvalsi dell'utilizzo di Internet, per consultare i siti Pub-Med ed Eric Database Search Options, per ricercare - in Inglese - le pubblicazioni inerenti la malattia cronica di interesse, che rappresentava la parola chiave della ricerca stessa (es. diabetes mellitus). Successivamente si è ricercato le pubblicazioni inerenti una determinata malattia cronica in associazione ai programmi di Educazione Terapeutica del Paziente (parola chiave es. diabetes mellitus and patient education programme).

Sono stati impostati di volta in volta i seguenti parametri:

- temporali: il periodo prefissato individua un lasso di tempo che va dallo 01-01- 1997 al 31-12 -2003;
- tipo di studio: le modalità di esecuzione degli studi prese in considerazione sono:
  - a) studi semplici (publication types)
  - b) randomizzati(randomized controled trial)
  - c) meta-analisi (meta-analysis)

Per quanto concerne il numero totale delle pubblicazioni (publication types, studi randomizzati e meta-analisi) sulle malattie croniche si è rilevato, negli anni presi in esame, un elevato numero di studi nelle diverse branche. Al contrario, l'analisi dei dati inerenti il numero totale degli studi sui programmi di ETP associata alle malattie croniche ha evidenziato un divario notevole rispetto a quello sulle malattie croniche. Inoltre, dal confronto fra le pubblicazioni sui programmi di ETP e quelle sull'ETP emerge una marcata differenza sia in termini numerici che in percentuale. Inoltre, dal confronto fra le pubblicazioni sui programmi di ETP e quelle sull'ETP emerge una marcata differenza sia in termini numerici che in percentuale. Quindi analizzando questi dati si evince che per alcune patologie il numero degli studi sui programmi di ETP è più elevato che per altre. La ragione potrebbe

risiedere nel fatto che in determinati campi (diabete ed asma) l'ETP è praticata da tempo. In altri campi il numero crescente di studi sull'ETP si giustifica forse con l'avvertita necessità di apportare prove scientifiche alla sua validità. Pertanto, nonostante sia stato dimostrato che l'Educazione Terapeutica del Paziente offra vantaggi in termini di riduzione delle crisi, delle ospedalizzazioni, dei giorni di assenza dal lavoro/scuola, dei costi sociali e psicologici, dei tempi di insorgenza delle complicanze, ci si chiede perché in alcuni settori specialistici essa non sia stata ancora praticata.

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: APPRENDRE A MAIGRIR ENSEMBLE :  
LES GROUPES D'ENTRAIDE COMME STRATEGIE  
D'EDUCATION THERAPEUTIQUE DU PATIENT OBESE**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** L'Education thérapeutique des patients obèses est un défi nouveau pour lequel s'expérimentent des stratégies pédagogiques originales. L'un des aspects spécifiques de l'éducation du patient obèse est qu'il requiert tout à la fois des connaissances, des compétences et un soutien psychologique à long terme. C'est la raison pour laquelle notre Centre de Pédagogie des Sciences de la Santé à l'Université de Foggia, en collaboration avec le Laboratoire de Pédagogie de la Santé de l'Université Paris 13, a développé depuis 2001 un programme expérimental de « groupes d'entraide » pour des patients obèses.

Dans les groupes d'entraide, (Self Help Groups) composés d'un nombre limité de personnes qui discutent d'un problème commun, chaque membre apprend des autres et enseigne aux autres simultanément. Il se sent utile et comprend l'utilité de l'autre, écoute et re-élabore intérieurement l'expérience de l'autre, est écouté et se sent accepté. Cette relation circulaire crée un sentiment de partage, de solidarité, d'empathie pour l'expérience d'autrui.

Les Groupes d'entraide ont déjà été utilisés avec succès pour des patients dans des pathologies telles que l'alcoolisme, le diabète, la sclérose en plaque, l'insuffisance rénale, le SIDA, le cancer, l'asthme, les problèmes psychiatriques ou les maladies à forte composante psychosomatique. Dans son article, Maria Antonia Papapietro présente les résultats préliminaires d'une expérience de trois ans à Foggia qui semblent ouvrir des perspectives intéressantes pour la prise en charge éducative du patient obèse, particulièrement en ce qui concerne le soutien de la motivation à continuer la diète et le déclenchement chez les patients du besoin d'apprendre.

**APPRENDRE A MAIGRIR ENSEMBLE : LES GROUPES D'ENTRAIDE COMME STRATEGIE D'EDUCATION THERAPEUTIQUE DU PATIENT OBESE** Maria Antonia Papapiètro, Doctorante de recherche en didactique de la Médecine

**Introduction** L'importance de l'aide mutuelle a été déjà mise en évidence au siècle dernier par P Kropotkin (1914), philosophe des sciences sociales et révolutionnaire, dans son ouvrage « Mutual Aid ». Il soutenait la thèse selon laquelle la tendance des hommes à se réunir « autour » d'un problème commun constituait un facteur essentiel de leur survivance et que la solidarité et l'aide réciproque, forces intrinsèques de la société, étaient à la base du progrès humain. **L'œuvre de Kropotkin a donné naissance à toute une littérature sur l'entraide, comme pratique de coopération, comme modalité d'union pour faire face ensemble à des problèmes communs.** Aujourd'hui, la pratique de l'entraide est devenue pertinente, non seulement quand il s'agit de problèmes de catastrophe ou d'urgence mais aussi pour ce qui concerne des aspects de survivance « qualitative ». Il existe une expérience déjà longue de groupes d'entraide, principalement pour patients alcooliques, mais aussi dans d'autres pathologies chroniques. Chez les patients obèses, cette méthode a déjà été utilisée, mais encore peu investiguée. L'étude d'Andersen et Grimson a montré une certaine efficacité à long terme de la méthode pour la maintenance du poids chez 62% de leurs patients qui participaient à ces groupes. Notre recherche avait pour but de vérifier si les groupes d'entraide permettaient de développer une dimension d'éducation thérapeutique.

L'échantillon de 57 patients a rassemblé des volontaires qui se réunissaient à partir de novembre 2001 une fois par semaine, en groupe de 6 personnes pendant une heure et demie (45 femmes, 12 hommes. Moyenne d'âge des femmes :30 ans et des hommes, 35 ans) Un an après, l'échantillon était réduit à 20 personnes (18 femmes,2 hommes. Moyenne d'âge des femmes : 30 et des hommes 35) et deux ans après, en 2003, à 14 personnes (14 femmes,0 hommes. Moyenne d'âge des femmes : 30).

Chaque groupe fonctionnait avec l'aide d'un animateur qui jouait essentiellement le rôle de modérateur. Le thème de discussion était choisi à chaque fois par le groupe, le plus souvent en référence à ce qui s'était dit lors de la réunion précédente et qui avait été consigné dans un rapport, écrit à tour de rôle par un membre du groupe.

L'analyse de ces rapports au bout de 24 mois (de 2001 à 2003) a montré :

- une augmentation des compétences chez les participants (capacité à donner des conseils, à fournir des exemples, à élaborer des recettes diététiques, à décider comment et où faire ses courses, à effectuer des choix d'aliments au restaurant ou chez des amis, etc)

- un développement de la capacité à gérer sa diète au quotidien ( par exemple, à équilibrer les repas journaliers pour toute la famille)
- une transformation de la terminologie utilisée : au début, les participants utilisaient des expressions telles que : *restriction, privation, erreur, régime*, qui ont été progressivement remplacées par des termes plus positifs et constructifs comme : *gérer, apprendre, s'impliquer, résister...*
- les effets positifs du « peer teaching » ; les patients ont appris et se sont enseignés mutuellement.

D'autre part, ces groupes d'entraide se caractérisent également par le développement chez les patients d'un sentiment de forte solidarité qui est exprimé ainsi par un d'entre eux : « *quand j'ouvre le frigo, je pense à vous tous et je le ferme !* »

Les groupes d'entraide se situent à mi-chemin entre le soutien psychosocial et l'éducation thérapeutique, en cela qu'ils comportent une forte dimension éducative (enseignement par les pairs : transmission de connaissances, d'expériences, de savoirs-faire) Cependant, selon les règles de cette méthode, l'animateur n'est pas un spécialiste du contenu, mais un facilitateur de la communication. Et les patients réclament souvent des informations spécifiques pour les aider à mieux comprendre certains concepts ou résoudre leurs problèmes au quotidien. Ceci montre tout l'intérêt de coupler cette activité avec des programmes d'éducation thérapeutique en diététique

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: COME I DOCENTI STIMANO LA LORO PERFORMANCE PEDAGOGICA: INDAGINE NELLA FACOLTÀ DI MEDICINA DI FOGGIA**

Aquilino G., Papapietro M.A., Marseglia M., d'Ivernois J.F.\*\*, Albano M.G\*. *\*Centro di Pedagogia delle Scienze della Salute, Università di Foggia, \*\*Laboratoire de Pédagogie de la Santé, UPRES. EA 3412, UFR SMBH Léonard de Vinci, Université Paris 13, Bobigny*

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: VALUTAZIONE A LUNGO TERMINE DELLA QUALITA' DELLA FORMAZIONE DEI LAUREATI IN MEDICINA PRESSO LA FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA DELL'UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI FOGGIA**

Tamara Cirillo, Angelo Godibile, Giovanni Aquilino, Maria Antonia Papapietro, Emanuele Altomare, Maria Grazia Albano. *Centro di*

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Lo scopo della presente ricerca è quello di valutare a lungo termine la formazione di base dei laureati presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Foggia. Metodo La ricerca è stata condotta mediante la somministrazione di un questionario agli studenti laureati presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia di Foggia dall'A. A. 1993-1994 all'A.A. 2001-2002. Il questionario è anonimo e composto da 38 domande a scelta multipla e 3 domande a risposta aperta. Risultati Sono stati consegnati 75 questionari e restituiti 45; 38 non sono stati compilati per la difficoltà a reperire i neolaureati. Sono stati raccolti dati inerenti: *lo stato civile, l'attività medica, gli studi superiori, il programma di studio, i punti forti e i punti deboli della Facoltà di Medicina e Chirurgia di Foggia.* Emerge l'esigenza di una formazione più rispondente alle reali necessità professionali. Conclusioni La valutazione a lungo termine apporta informazioni sulla formazione di base dei laureati e sulla sua pertinenza con l'attività professionale. Pertanto consente di finalizzare l'intervento educativo ai reali bisogni di formazione e di correggere eventuali errori nella realizzazione del programma al fine di formare laureati con competenze professionali sempre più sviluppate. E' quindi auspicabile che studi sulla valutazione a lungo termine siano ripetuti periodicamente in tutte le Facoltà

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: IL CORE CURRICULUM DEGLI EDUCATORI PROFESSIONALI: ANALISI MULTIDIMENSIONALE**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Il termine "core curriculum" sta ad indicare l'insieme delle competenze, delle conoscenze, delle abilità e degli atteggiamenti che lo studente dovrà aver acquisito al termine di un percorso formativo . La definizione del "core curriculum" consente al Docente di limitare la quantità dei contenuti in considerazione del tempo a disposizione e sulla base della loro reale utilità ai fini del lavoro futuro, di identificare le meta-competenze necessarie per gestire situazioni diverse ed affrontare i problemi riscontrati nella pratica professionale. Rende esplicite allo Studente le finalità del percorso formativo e le competenze che dovrà aver acquisito al termine degli studi. Alcuni core curricula sono stati già formulati dalla Conferenza Permanente dei Corsi dei Laurea delle

Professioni Sanitarie e dalla Conferenza Permanente dei Presidenti dei Corsi di Laurea Specialistica in Medicina, altri sono in via di elaborazione. È stato pianificato uno studio che si propone di definire il Core curriculum degli Educatori Professionali, identificando i contenuti teorici di apprendimento, le abilità pratiche, quelle relazionali (es: capacità di lavorare in equipe) ed altre capacità (es: capacità di esprimere giudizi critici,...) realmente utili per la futura pratica professionale.

Il “progetto core” degli Educatori Professionali deve tener conto di alcuni elementi specifici ed altri comuni ad altri CdL :

- 1) il profilo professionale è di recente formulazione e non vi è una esperienza consolidata delle competenze specifiche;
- 2) varie sono le logiche di pianificazione dei curricula dei CdL in Educazione Professionale, legate fundamentalmente alla storia della formazione degli educatori professionali (per es. il CdL di Milano nasce dalla esperienza delle scuole regionali);
- 3) tutti i CdL presentano difficoltà nell’ integrazione teoria-pratica e una difficoltà nell’ attribuzione dei crediti alle attività formative;
- 4) non vi sono attualmente neolaureati presso l’Università degli Studi di Foggia, essendo un CdL di recente istituzione, e quindi attualmente non è possibile utilizzare il grado di soddisfazione sulla formazione ricevuta come indicatore di qualità;

Il Core curriculum degli Educatori Professionali sarà il risultato di una valutazione multidimensionale che richiederà la collaborazione di Presidenti e Coordinatori di piani di studio, Esperti nazionali, Docenti: L’indagine verrà condotta in tre Università italiane: Milano, Varese e Foggia. Dall’analisi delle singole opinioni si cercherà di ottenere un lavoro che potrà essere utile agli Studenti ed ai Docenti, anche perché metterà in chiaro vari aspetti legati ai contenuti della formazione dell’Educatore Professionale in considerazione delle specificità del ruolo di questo operatore della salute.

**MARIA GRAZIA ALBANO**

**TITOLO DELLA RICERCA: L’EDUCAZIONE TERAPEUTICA DEL PAZIENTE NEL DECADIMENTO COGNITIVO DI GRADO LIEVE**  
**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La riduzione delle nascite e l’aumento della durata media di vita sta portando ad un incremento dell’invecchiamento della popolazione. Tale fenomeno è in continuo progresso e sta interessando tutti i paesi occidentali. L’invecchiamento della popolazione porta all’aumento dell’incidenza di tutte patologie croniche, quindi anche

della demenza. La demenza, che per lungo tempo è stata ritenuta quasi una evoluzione naturale del processo di invecchiamento, è considerata oggi una patologia cronica che spesso si accompagna ad altre.

Si presenta come una malattia silenziosa, non guaribile, il cui percorso non è prevedibile e spesso può essere caratterizzato da episodi di acuzie; la sua evoluzione è incerta. **La demenza è una malattia permanente; è causa di alterazioni patologiche non reversibili, residua una disabilità, richiede spesso una riabilitazione del paziente, una supervisione, un'osservazione frequente o prestazioni di "cura".**

È un tipico esempio di malattia cronica che nella sua espressione clinica presenta molte caratteristiche complesse; per affrontarla adeguatamente è quindi necessario adottare una modalità di lavoro non riduzionista, abbandonare il modello lineare e accettare la non prendiscibilità dei fenomeni, rispettare e utilizzare le mille diverse potenzialità o difficoltà che una malattia cronica presenta a chi ha il dovere di curare.

Il seguente lavoro di ricerca si propone, attraverso una indagine che coinvolge esperti nazionali (geriatri e neurologi), di rilevare la necessità di attuare programmi educativi per i pazienti affetti da decadimento cognitivo di grado lieve. Si tratta inoltre di pianificare, attuare e valutare programmi di Educazione terapeutica del Paziente (ETP), secondo le direttive dell'OMS. L'ETP "È un processo *continuo, centrato sul paziente, interdisciplinare*, caratterizzato dall'accompagnamento da parte di una *équipe multiprofessionale*; è finalizzato ad ottimizzare gli interventi sui pazienti al fine di migliorarne la gestione della malattia e quindi l'adesione al trattamento ed il monitoraggio della terapia. Comprende *attività organizzate* di sensibilizzazione, informazione, accompagnamento psico-sociale riguardo la malattia, il trattamento, le cure, l'ospedalizzazione, i comportamenti di salute e di malattia. Si propone di aiutare il pz ed i suoi familiari a comprendere la malattia ed il trattamento, operare con i curanti, vivere in modo da mantenere o migliorare la qualità di vita attraverso la migliore gestione possibile della malattia." (OMS-1998).

**SPECCHIO (2003-2004)**

**TITOLO DELLA RICERCA: STUDIO COMPARATIVO DEGLI EFFETTI DEI FARMACI ANTIEPILETTICI ENZIMO-INDUTTORI E DELL'ACIDO VALPROICO SUL METABOLISMO DEL TOPIRAMATO IN CONDIZIONI DI STEADY-STATE IN PAZIENTI CON EPILESSIA**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La concentrazione plasmatica del topiramato viene diminuita dal concomitante trattamento con i farmaci antiepilettici enzimoinduttori ed aumentata, ma in maniera meno eclatante, dalla

cosomministrazione dell'acido valproico. Lo studio si propone di valutare comparativamente il Profilo metabolico del topiramato in condizioni di steady-state (100-400 mg/die) in tre gruppi di pazienti adulti affetti da epilessia, includendo (a) i pazienti sottoposti a cosomministrazione di antiepilettici enzimo-induttori (carbamazepina, fenitoina o fenobarbital ); (b) pazienti sottoposti a cosomministrazione di acido valproico; (c) pazienti in monoterapia o che assumano altri farmaci antiepilettici che non influenzino il metabolismo del topiramato (lamotrigina, gabapentin, levetiracetam, etosuccimide, benzodiazepine, tiagabina e vigabatrin). Si tratta di uno studio in aperto, di confronto tra gruppi paralleli. Sono reclutati 12 pazienti per ognuno dei tre gruppi, uomini e donne, di età compresa tra i 18 e i 60 anni, con nessuna malattia metabolica, epatica, renale, gastrointestinale, infettiva o progressiva.

**FARMACI, DOSAGGI e MODALITA' DI TRATTAMENTO:** i pazienti sono selezionati fra quelli che ricevono già un trattamento con topiramato (100-400 mg/die) con o senza trattamento concomitante con antiepilettici. Il trattamento con qualsiasi farmaco deve essere in condizioni di steady-state. Sono calcolati i seguenti parametri farmacocinetici: clearance apparente (CL/F); frazione della dose di topiramato escreta nelle urine come farmaco invariato e come 10-OH-TPM e TPM-4,5-diol; clearance renale (CL<sub>r</sub>) del topiramato e clearance di formazione (CL<sub>f</sub>) di ogni metabolita del topiramato preso in esame. Il confronto statistico tra i gruppi sarà fatto mediante test ANOVA.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Jansen-Cilag \$ 44.000 (Foggia-Pavia-Gerusalemme).

**SPECCHIO (2004-2005)**

**TITOLO DELLA RICERCA:** STUDIO FARMACOGENOMICO SU POTENZIALI MECCANISMI DI FARMACORESISTENZA NELLE EPILESSIE FOCALI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Studi recenti hanno evidenziato un ruolo centrale nel trasporto dei farmaci idrofobici, tra cui molti antiepilettici, svolto dalla P-glicoproteina 1 (PgP1), una proteina di trasporto ATP-dipendente codificata dal gene ABCB1 (o MDR1) che si localizza a livello delle cellule endoteliali della barriera ematoencefalica. Lo scopo del progetto è quello di evidenziare eventuali associazioni tra varianti polimorfiche del tipo "single-nucleotide" (SNP) dei geni trasportatori dei farmaci e le epilessie parziali farmaco-resistenti. Lo studio sarà basato sul confronto del Profilo genetico in pazienti farmaco-resistenti ed in pazienti farmacosensibili, con inclusione di un terzo gruppo di soggetti non affetti da epilessia quale controllo interno. L'analisi genetica molecolare

verrà effettuata presso il Laboratorio di Neurogenetica dell'Istituto Gaslini di Genova. Inizialmente saranno tipizzati 10 marcatori di controllo non associati ai polimorfismi dei geni trasportatori per l'identificazione di eventuali stratificazioni strutturali delle popolazioni in esame. Inoltre sarà effettuata l'analisi dei polimorfismi dei geni MDR1o ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3 e ABCC5. Nelle singole popolazioni saranno confrontate con il test del chi-quadro a due code le frequenze attese calcolate attraverso il test di Hardy-Weinberg e quelle osservate.

**FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Lega Italiana Contro l'Epilessia (LICE) Studio multicentrico No Profit.

**SPECCHIO (2004-2005)**

**TITOLO DELLA RICERCA: ATTIVITÀ ELETTRICHE CEREBRALI DURANTE COMPITI COGNITIVI NELLE DEMENZE**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La demenza è un disturbo delle funzioni intellettive caratterizzata da: compromissione della memoria a breve e a lungo termine e, almeno, di una delle seguenti attività primarie: pensiero astratto, capacità critica, linguaggio, orientamento topografico in assenza di alterazioni della coscienza, e con significativa interferenza nell'attività lavorativa e nelle relazioni interpersonali (APA, DSM-IV 1994). Nel Mild Cognitive Impairment sono presenti solo disturbi mnesici in assenza di altri deficit (Petersen RC et al., 1999). La possibile compromissione del lobo frontale è esplorata da specifici tests neuropsicologici (WCST, LPOT, STROOP). L'attività elettrica cerebrale nei pazienti con demenza mostra, negli studi di EEG Mapping, un incremento diffuso delle frequenze nel range del theta e delta, ed una riduzione delle frequenze rapide nel range dell'alfa e beta soprattutto nelle regioni temporo-parietali. La P300 (come esempio di potenziale cognitivo evento-correlato) è risultata aumentata di latenza nelle demenze corticali e sottocorticali. Da qualche anno esiste la possibilità di disporre dei tests neuropsicologici che esplorano le funzioni frontali (WCST) anche in versione computerizzata. La ricerca si propone in una prima fase di individuare, mediante una valutazione clinico-anamnestica e neuropsicologica (MMSE, IADL, ADL, HACHINSKI ISCHEMIC SCORE, CDR, GDS), un campione di soggetti di età al di sopra dei 50 anni affetti da deterioramento cognitivo in fase iniziale. Tali individui saranno successivamente sottoposti a valutazione dell'attività bioelettrica cerebrale (EEG, P300, N400 ed altri tipi di potenziali evento-correlati) in corso di espletamento di compiti cognitivi; per tale scopo saranno utilizzati tests neuropsicologici in versione computerizzata che esplorano in maniera specifica le funzioni del lobo frontale (per esempio

WCST). Tale valutazione contemporanea neuropsicologica e neurofisiologica sarà confrontata con quella emersa da un campione di soggetti sani. In letteratura i dati riguardanti l'attività bioelettrica cerebrale, soprattutto l'attività del lobo frontale, valutata in corso di esecuzione di compiti neuropsicologici in soggetti affetti da demenza sono frammentari ed aneddotici. Sono presenti dati estrapolati da valutazioni neuropsicologiche e neurofisiologiche effettuate in tempi diversi in soggetti affetti da malattia di Parkinson e schizofrenia e adolescenti con disturbi comportamentali. Barcelò F et al., (1996) hanno messo in evidenza in soggetti sani la comparsa di specifiche componenti dei potenziali evento correlati (P200, P3a, P3b) in determinate aree cerebrali e soprattutto in stretta relazione con l'esecuzione simultanea del Winsconsin Card Sorting Test in versione computerizzata, fornendo un possibile metodo per l'esplorazione della funzionalità del lobo frontale. Il nostro obiettivo è effettuare una valutazione simile in soggetti affetti da deterioramento cognitivo in fase iniziale onde esplorare: a. la possibilità di impiego di metodiche relativamente semplici nella diagnostica differenziale tra forme di demenza; b. la possibilità di impiego nella valutazione di tecniche riabilitative nel decadimento cognitivo.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2004 Univ Foggia € 11.089,50.

### **Mastrolonardo**

**TITOLO DELLA RICERCA:** LO "STRESS" NELLE DERMOPATIE INFIAMMATORIE A PATOGENESI INCERTA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Per "stress" si intende una complessa ed articolata serie di fenomeni innescati dalla necessità di adattamento alle più svariate "contingenze" ambientali (allarme, difesa, ecc.). Tali fenomeni risultano imperniati su risposte reattive da parte del Sistema simpatico-adreno-medullare (S.A.M.) e dell'Asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrene (I.I.C.) il cui studio mediante valutazione di parametri elettro-neurofisiologici (frequenza cardiaca, pressione arteriosa, termometria cutanea, ecc.) e bio-umorali (dosaggio di cortisolo ed interleukina-1-beta nella saliva) può fornire originali spunti di indagine (oltre che di riflessione) nelle più svariate dermatopatie infiammatorie -p. es., psoriasi e dermatite seborroica- a eziopatogenesi ancora controversa

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2003 € 7.945,92, Quota progetti 2004 € 9.717,57.

### **Mastrodonato**

**TITOLO DELLA RICERCA:** DERMATITE SEBORROICA E MORBO DI PARKINSON. UN MODELLO PER LO STUDIO DELLE RELAZIONI TRA CUTE E MALATTIE NEURO-DEGENERATIVE

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Il tegumento ed il sistema nervoso centrale condividono la propria origine dal foglietto embrionale ectodermico.

Tale circostanza rende ragione dei molteplici (quanto finora insufficientemente studiati) nessi biologici e patogenetici esistenti tra due apparati così apparentemente distinti.

### **Mastrodonato**

**TITOLO DELLA RICERCA:** PROGETTO PILOTA DI ELABORAZIONE DI UN MODELLO MATEMATICO DI TIPO "FRATTALICO" PER LA DIAGNOSI STRUMENTALE PRE-ISTOLOGICA DI MELANOMA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Più di 25 anni fa, B.B.Mandelbrot ha ideato una nuova branca della matematica (la cosiddetta "geometria dei frattali") che ci ha insegnato a cercare "dentro" l'apparente caos dei fenomeni naturali una regolarità fino ad allora inaccessibile sulla base delle categorie di analisi platonico-pitagorica. In breve, i "frattali" sono matrici matematiche in grado di sintetizzare i "minimi comuni denominatori" costituenti insiemi complessi apparentemente non codificabili. In tale prospettiva investigativa, scansioni digitali ad alta risoluzione di lesioni "colorate" della pelle potrebbero permettere l'analisi dei pattern di distribuzione del pigmento melanico o delle direttrici di crescita delle lesioni, allo scopo di cercare di individuare "in vivo" il "frattale" del melanoma, ovviamente differente da quello del non-melanoma

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**

Contratto a carico dei fondi di Dipartimento, di consulenza in favore dell'esperto dott. Elio Conte, fisico, per l'ammontare di 3000,00 Euro in due tranche.

### **Mastrodonato**

**TITOLO DELLA RICERCA:** LE PRE-CANCEROSI CUTANEE: VALUTAZIONE DELLE POTENZIALI OPPORTUNITÀ DI IMPIEGO DI UN APPROCCIO TERAPEUTICO NON-CHIRURGICO

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La patologia carcinomatosa della cute è causa di significativi tassi di morbilità, sia in età senile che in particolari categorie Professionali, più o meno specificamente esposte ai riconosciuti fattori di rischio per tali condizioni morbose. Le pre-cancerose cutanee sono

pertanto una “sfida” quotidiana alle campagne di prevenzione primaria e secondaria, sia dal punto di vista diagnostico che da quello terapeutico. In tale contesto, le potenziali applicazioni delle terapie non-chirurgiche risultano finora insufficientemente esplorate

#### **FONTI ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:**

##### **Prato**

#### **TITOLO DELLA RICERCA: VALUTAZIONE EX-ANTE ED EX-POST DI UN PROGRAMMA STRAORDINARIO DI VACCINAZIONE**

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Il progetto si propone di individuare il set di indicatori utili alla valutazione ex-ante ed ex-post del piano (nazionale) di eliminazione del morbillo e della rosolia congenita nella Regione Puglia. La prima fase consisterà nella ricognizione delle fonti di dati disponibili fra i dati correnti del Sistema Informativo Sanitario e quelli riconducibili ad altri archivi di ASL. Particolare attenzione andrà posta nella modalità di registrazione delle vaccinazioni attivate nelle differenti realtà locali della Regione. Una volta individuate le fonti sarà necessario sistematizzare le informazioni elementari disponibili in una sorta di inventario/catalogo indicando per ciascuna informazione: tipologia, qualità, completezza. Parallelamente sarà implementato un inventario di tutte le azioni necessarie alla realizzazione del piano. Per ciascuna azione, sulla base delle informazioni disponibili o, in alternativa, raccogliendo informazioni ad hoc, saranno individuati degli indicatori caratterizzati da: facilità di computazione, semplicità di interpretazione, robustezza informativa. Insieme alla realizzazione, descrizione e valutazione degli indicatori, sarà condotto, su un campione di popolazione rappresentativo della popolazione target (limitatamente alla città di Foggia, ASL FG3) una indagine sieroepidemiologica per valutare la effettiva copertura immunitaria contro morbillo e rosolia al termine della campagna straordinaria di recupero. Le indicazioni dello studio sieroepidemiologico saranno correlate ai rispettivi indicatori epidemiologici e funzionali. Obiettivo principale del progetto sarà quello di mettere a punto degli indicatori utili alla valutazione ex-ante ed ex-post di una campagna straordinaria di vaccinazione per l'eliminazione del morbillo e della rosolia congenita.

Obiettivisecondari saranno: ricognizione dei dati disponibili nel sistema sanitario regionale sulla diffusione delle due malattie e sulle coperture vaccinali ricognizione delle attività degli ambulatori pubblici di vaccinazione sistematizzazione delle attività dei servizi vaccinali ai fini della verifica ed incrementazione della qualità valutazione sierologica in

un campione di popolazione per la copertura immunitaria contro morbillo e rosolia.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota progetti 2004 € 1.509,12.

### **Prato**

**TITOLO DELLA RICERCA:** SORVEGLIANZA E PREVENZIONE DI MORBILLO, PAROTITE E ROSOLIA NELLA REGIONE PUGLIA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Obiettivo del programma sarà quello di definire l'epidemiologia di morbillo, parotite e rosolia ed i rispettivi livelli di copertura immunitaria nella regione Puglia, al fine di valutare l'impatto della vaccinazione in termini di riduzione dell'incidenza e verificare lo stato di avanzamento del programma di eliminazione. Obiettivo secondario sarà quello di valutare la sensibilità del sistema routinario di notifica relativamente ai casi di morbillo ospedalizzati. Per definire l'impatto di queste patologie saranno utilizzate diverse fonti informative: il database regionale SIMI (Sistema Informatizzato per le Malattie Infettive) che contiene tutte le notifiche nominative di malattie infettive di classe II, a partire dal gennaio 1996, e l'archivio informatizzato regionale delle Schede di Dimissione Ospedaliera (SDO) che comprende tutte le dimissioni dei pazienti residenti in Puglia e ricoverati (a partire dal 1997) nelle strutture pubbliche o private sia regionali che extraregionali. Dall'archivio SDO sarà possibile valutare il numero di casi ospedalizzati per una delle tre patologie in esame e/o una delle possibili complicanze. I due archivi saranno incrociati: con opportune tecniche di analisi (capture-mark-recapture), sarà possibile risalire all'effettivo numero di casi di malattia ospedalizzati, valutando così la sensibilità dei due sistemi. Per quanto riguarda la sindrome da rosolia congenita, sarà effettuata una ricerca attiva dei casi, per un periodo non inferiore a sei mesi, nei reparti di neonatologia dei cinque principali ospedali pugliesi (OORR, Foggia; Policlinico, Bari; SS. Annunziata, Taranto; Di Summa, Brindisi; V. Fazzi, Lecce). Sarà effettuata una sorveglianza virologica sui casi di morbillo. Per ogni caso identificato, sarà raccolto un campione ematico ed un campione di urine da inviare al Centro di Riferimento Microbiologico del progetto per l'identificazione e la genotipizzazione del ceppo virale. La copertura immunitaria sarà valutata sia con indagini di copertura vaccinale sia con studi di sieroprevalenza. Per valutare la copertura vaccinale saranno utilizzate due fonti: il sistema routinario di raccolta dei dati di copertura del Ministero della Salute e la raccolta diretta dei dati presso gli archivi degli uffici vaccinali. Per la valutazione della copertura immunitaria sarà condotta un'indagine di sieroprevalenza sulla popolazione pugliese di

età compresa fra 0 e 14 anni. Saranno raccolti 700 campioni ematici, corrispondenti allo 0,1% della popolazione target, distribuiti omogeneamente nelle diverse classi di età da un campione random di popolazione pugliese. Sui campioni di siero raccolti saranno ricercati gli anticorpi di classe IgG specifici per morbillo, parotite e rosolia. Sarà inoltre valutata la sieroprevalenza per anticorpi anti-rosolia in un campione di donne che si sottopongono a screening in corso di gravidanza nei laboratori dei cinque maggiori ospedali pugliesi. La percentuale di positività nelle diverse fasce di età, pur non potendo in essa distinguere la quota associata alla vaccinazione da quella derivante dall'immunità naturale, fornirà comunque informazioni importanti circa la proporzione di suscettibili presenti nella popolazione.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Tale ricerca, (accordato cofinanziamento MIUR - PRIN 2003), è svolta in collaborazione con la Sezione di Igiene del Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica dell'Università di Bari.

## **Prato**

**TITOLO DELLA RICERCA:** VALUTAZIONE DELL'INCIDENZA DI INFEZIONI OSPEDALIERE IN PAZIENTI SOTTOPOSTI AD INTERVENTI CHIRURGICI

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultari attesi) :** Le infezioni ospedaliere (IO) rappresentano un importante problema sanitario legato sia all'aumento della durata della degenza che all'incremento di mortalità che esse comportano. Obiettivo dell'indagine sarà quello di valutare la frequenza di infezioni ospedaliere (IO) in un campione di pazienti ricoverati presso tre reparti di Chirurgia Generale e due reparti di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliera Policlinico di Bari. Saranno selezionati pazienti sottoposti, nel corso del ricovero, ad intervento chirurgico. Obiettivo secondario della ricerca sarà quello di valutare l'eventuale presenza di fattori di rischio associati alle IO: fattori legati al paziente, all'ambiente, alle modalità operative, alle procedure invasive. Sarà inoltre valutata l'attitudine all'utilizzo di antibiotici nella Profilassi chirurgica. Ai fini dell'indagine sono stati selezionati tre reparti di Chirurgia Generale e due reparti di Ginecologia ed Ostetricia. Per un periodo di dodici mesi saranno arruolati nell'indagine tutti i pazienti ammessi in reparto e sottoposti ad intervento chirurgico. Per ogni paziente arruolato sarà compilato un questionario standard di rilevazione per la raccolta di dati relativi a: 1) variabili anagrafiche 2) motivo del ricovero e dell'intervento chirurgico 3) condizioni cliniche del paziente 4) altre procedure invasive eseguite 5) terapia antibiotica 6) presenza di infezioni (con particolare riferimento alle infezioni della

ferita chirurgica). Per tutto il periodo dello studio i campioni prelevati dai pazienti ai fini della diagnosi dell'infezione (tamponi, emocolture, altro materiale) saranno inviati ad uno stesso laboratorio che adotterà procedure diagnostiche standardizzate. Sarà inoltre incrementato il ricorso alla diagnosi microbiologica. Per ogni paziente sarà previsto un periodo di follow-up post dimissione della durata di 30 giorni. In particolare saranno raccolte informazioni specifiche su ogni controllo ambulatoriale post dimissione. Inoltre ogni paziente sarà contattato telefonicamente a 30 giorni dalla dimissione per raccogliere informazioni su eventuali segni e sintomi collegabili alla presenza di una infezione. Le schede raccolte saranno archiviate su un personal computer utilizzando un software realizzato ad hoc. L'analisi statistica sarà effettuata utilizzando il software Statview 5.0.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Per tale ricerca, in collaborazione con la Sezione di Igiene del Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica dell'Università di Bari, sarà utilizzato il finanziamento ottenuto dal modello quota progetti 2004 da parte dell'Università di Bari.

**Dott. Arcangelo Liso**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Modelli bioinformatici di risposta immunitaria anti-tumorale

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La vaccinazione anti-tumorale si fonda sull'esistenza di antigeni (Ag) selettivamente o preferenzialmente espressi da cellule neoplastiche e chiamati "tumor-associated antigens" (TAAs). Le cellule maligne, come qualunque altra cellula del nostro organismo, espongono sulla superficie un campione delle proteine prodotte. Queste molecole vengono espresse in forma di peptidi nel contesto di molecole del MHC di classe I e II. L'eradicazione di neoplasie ottenuta a mezzo di vaccinazione a base di antigeni tumorali e' un evento ampiamente dimostrato in numerosi modelli animali. Tuttavia, l'immunoterapia attiva ha ottenuto risultati molto limitati nella pratica clinica. In genere si attribuisce alla compromissione del sistema immunitario dei pazienti così come alla massa tumorale elevata la responsabilità di tali insuccessi. Inoltre, nel tentativo di indurre una risposta anti-tumorale rilevante e' necessario chiarire una serie di punti cruciali come: i) quali adiuvanti impiegare; ii) quale protocollo di vaccinazione utilizzare, iii) con quali antigeni formulare il vaccino. Infatti, gli antigeni tumorali sono noti essere deboli immunogeni e come tali non in grado di indurre una risposta immunitaria di rilievo. La maggior parte dei trials clinici

attualmente prevede l'inoculo di un antigene tumorale coniugato con molecole fortemente immunogene denominate "carriers". I carriers sono tipicamente derivati da organismi molto distanti filogeneticamente dall'uomo o dall'animale da esperimento. Recentemente e' stato dimostrato che l'inoculo di due differenti vettori codificanti per lo stesso antigene ricombinante hanno indotto la generazione di alti livelli di immunita' specifica. Non e' chiaro attualmente se l'uso di molteplici carriers possa migliorare l'immunogenicit  di antigeni tumorali. Inoltre, considerando che il sistema immunitario possiede fra le sue caratteristiche quella di concentrare la risposta immunitaria su alcuni epitopi considerati immunodominanti non e' chiaro se la ripetuta esposizione a un singolo carrier possa essere deleteria invece che adiuvante. Il presente progetto si propone come obiettivo quello di generare nuovi dati, attraverso simulazioni computerizzate ed esperimenti su animali da esperimento, sull'ottimizzazione dei protocolli di vaccinazione anti-tumorale. In particolare, e' nostro obiettivo quello di valutare in maniera sistematica i diversi protocolli di vaccinazione anti-tumorale per quanto riguarda diversi (migliaia) antigeni tumorali e diversi (migliaia) carriers. Sara' obiettivo del presente progetto anche la valutazione dell'efficacia di diversi protocolli di vaccinazione basati su inoculi di antigene a distanze differenti tra di loro. Un compito quest'ultimo reso difficile in vivo a causa di ovvie limitazioni tecniche. Al contrario il nostro modello computerizzato sara' in prima istanza validato in una serie di situazioni note, allo scopo di confermare la sua predittivit . Successivamente e' obiettivo del presente progetto effettuare un numero di simulazioni elevato (da 2000 a 3000) tale da garantire la rappresentativita' piu' alta possibile delle diverse situazioni osservabili in vivo. Infine, i dati conclusivi derivanti da simulazioni verranno testati in esperimenti in vivo, su animali da esperimento, opportunamente disegnati.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Quota Progetti 2004 € 9.534,65.

**Maria F. Caraffa**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Espressione della cicloossigenasi 1 e 2 nel carcinoma della mammella

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Ricerca sviluppata negli ultimi 10 anni ha mostrato che esistono due isoforme di COX: COX-1, espressa costitutivamente, e COX-2, prontamente inducibile ed espressa da un immediate early gene. COX-2 e' overespressa in circa il 50% degli adenomi del colon-retto e nell'80-85% di tutti i casi di adenocarcinoma del colon-retto nell'uomo. Inoltre, questo gene e' stato chiamato in causa in vari meccanismi di

progressione tumorale in questa malattia maligna. In conseguenza, e' stato proposto che i farmaci antiinfiammatori non steroidei (NSAIDs) ed, in particolare, i nuovi inibitori selettivi della COX-2 possano essere introdotti nella chemioprevenzione e, forse anche, nella chemioterapia del carcinoma del colon-retto. Partendo da queste ricerche sono state raccolte e presentate prove che suggeriscono che COX-2 potrebbe giocare un ruolo egualmente importante nel carcinoma mammario, la piu' importante causa di morte per cancro nelle donne dei paesi occidentali. Tuttavia, il quadro generale rimane ancora non ben definito e specifiche, approfondite ricerche sono necessarie. Questo lavoro di ricerca verra' condotto integrando dati raccolti per mezzo di Northern blotting e Western blotting con dati ottenuti attraverso un approccio di immunoistochimica. Durante il primo anno del progetto ci proponiamo di analizzare tra 50 e 75 tumori mammari (al momento della scrittura di questa application campioni relativi a 19 casi erano gia' stati acquisiti). Si cerchera' di stabilire possibili associazioni tra patterns di espressione di COX-2 (e COX-1) e l'istologia dei tumori. L'espressione dei due geni sara' determinata in tessuto tumorale ottenuto da mastectomia o quadrantectomia, in confronto con tessuto mammario normale ottenuto dagli stessi pezzi operatori. Verranno inoltre condotti studi sulla attivita' enzimatica di COX nei tumori.

Raccolta di campioni di tessuto tumorale e di tessuto di controllo. I campioni vengono raccolti presso il Policlinico Universitario della Facolta' di Medicina dell'Universita' di Bari. Contemporaneamente, vengono acquisiti dati clinici ed anatomopatologici. Cio' e' possibile grazie all'intesa raggiunta con il leader di una attiva ed estremamente competente unita' chirurgica, in grado di fornire campioni al ritmo richiesto dal programma di lavoro. I frammenti di tessuto tumorale o tessuto mammario normale vengono congelati in azoto liquido entro 15-20 minuti dall'isolamento del pezzo anatomico, al fine di minimizzare la degradazione di RNA e proteine, e conservati cosi' fino all'utilizzazione. Altri frammenti vengono immersi in formalina al 10% e, successivamente, inclusi in paraffina, sezionati e colorati. Infine, in relazione al tentativo di generare culture primarie dai tumori (vedi sotto) altri frammenti ancora vengono isolati in condizioni di sterilita' ed usati entro una o due ore. Estrazione di RNA e valutazione dell'espressione di COX-1 e COX-2 per mezzo di Northern blotting. RNA di elevata qualita' sara' isolato dai campioni di tessuto congelati (tipicamente, 100-200 mg) col metodo di Chomczynski e Sacchi. L'RNA (totale o poly(A)+ RNA) verra' analizzato mediante elettroforesi su gel di agarosio. I gels saranno quindi blottati su membrane di nitrocellulosa per capillary transfer e le membrane saranno ibridate con probes specifici per COX-1 e COX-2. Seri problemi nascono dal fatto che, con

dimensioni di circa 4,5 kb, l'mRNA di COX-2 co-migra con la banda elettroforetica 28S di rRNA. Cio' genera possibili interferenze con incertezza sulla identificazione e sulla valutazione quantitativa del trascritto specifico. Nella nostra esperienza, cio' rende quasi obbligatorio l'uso di poly(A)+ RNA. Questa strategia, tuttavia, elimina un problema solo per porne un altro, in considerazione della elevata instabilita' dell'mRNA di COX-2, dovuta alla presenza di multipli repeats AUUUA nella 3'-untranslated region, con l'elevata possibilita' di degradazione parziale durante la selezione del poly(A)+ RNA. Un approccio alternativo consiste nell'eseguire l'ibridazione sotto condizioni di high stringency (65 °C, 20% formaldeide). In relazione alla soluzione di questi problemi abbiamo ottenuto un full length cDNA di COX-2 dal Dr. Tim Hla, Farmington, Connecticut, U.S.A.. Questo cDNA e' stato amplificato in collaborazione col Prof. Pedro Otavio De Campos-Lima, Centre de Recherche en Cancérogénie, Quebec, Canada. Saranno usati anche un cDNA di COX-1 ed un cDNA di alfa-actina di topo (0,7 kb). Studio dell'espressione di COX-1 e COX-2 mediante Western blotting ed localizzazione immunoistochimica in campioni di carcinoma mammario umano. Studio dell'attivita' enzimatica di COX nel carcinoma mammario umano. Poiche' una abnormemente elevata produzione di PGs e' stata associata con neoplasie epiteliali, il progetto includera' anche la determinazione per mezzo di ELISA della biosintesi di PGE2 in tessuto di carcinoma mammario, dopo incubazione con acido arachidonico esogeno. Sara' usato un kit commerciale prodotto dalla Cayman; la metodologia e' gia' stabilita presso questo laboratorio. Informazioni supplementari saranno ottenute mediante la determinazione per RP-HPLC (associata a spettrometria UV) di acido 12-idrossieptadecatrienoico (12-HHT), un byproduct della biosintesi del trombossano A2 ed il solo derivato della COX individuabile mediante spettrometria UV, in sovrantanti di omogenati di tessuto tumorale incubati con acido arachidonico esogeno. Il contributo relativo di COX-1 e COX-2 alla biosintesi di PGs nel carcinoma mammario umano sara' investigato mediante pre-incubazione degli omogenati di tumore mammario con inibitori selettivi di COX-2 (celecoxif, rofecoxib) o di COX-1 (valeril-salicilato) oppure con inibitori non selettivi di COX (indometacina), seguita da incubazione con acido arachidonico esogeno e determinazione della produzione di PGs. Nel secondo anno del progetto, sara' tentata una piu' approfondita valutazione dell'attivita' enzimatica di COX nel carcinoma mammario umano, comprendente la determinazione di almeno PGE2, PGF2alfa, PGD2, 6-keto-PGF1alfa (il metabolita stabile della PGI2) e trombossano B2 (il metabolita stabile del trombossano A2). La metodologia che si progetta di impiegare sara' costituita da GC-MS, un approccio molto piu' complesso, che pensiamo

di poter sviluppare in collaborazione col Prof. Mats Hamberg, Karolinska Institute, Stockholm. Stabilimento di culture primarie da tumori mammari umani. Culture primarie di cellule di carcinoma mammario sono state stabilite con successo in cinque casi sui 19 studiati sino ad ora. Queste culture possono costituire uno strumento prezioso nel raggiungimento degli obiettivi del progetto. Ad esempio, RNA estratto da queste cellule puo' essere usato come template per studi di RT-PCR sulla espressione di geni: preparazioni proteiche possono essere studiate per Western blotting; le cellule stesse possono essere usate per studi di immunocitochimica; infine, queste cellule possono essere incubate con con acido arachidonico, al fine di valutarne l'attivita' enzimatica cicloossigenasica.

**Fonte ed entita' dei finanziamenti richiesti:** Quota progetti 2003 € 11.953,41, Quota progetti 2004 € 10.083,40.

**Maria F. Caiaffa**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Risk Assessment of Fungal Biological Control Agents

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Nell'ambito del V Programma Quadro, l'Unione Europea promuove e finanzia ricerche nel campo della sicurezza alimentare e dello sviluppo di metodologie di produzione agricola e degli animali di allevamento compatibili con la salvaguardia dell'ambiente ed allo stesso tempo economicamente competitive. In particolare, e' visto con favore lo sviluppo di agenti di controllo biologico che possano sostituire antiparassitari chimici e pesticidi, nella prevenzione delle principali malattie delle piante di interesse economico. Alcuni dei principali agenti di controllo biologico sin qui sviluppati sono di natura fungina. L'attivita' di controllo di questi funghi (su altri funghi patogeni, entomoparassiti e malerbe) e', almeno in parte, dovuta alla produzione di micotossine con specifiche attivita' (antifungina, entomotossica, sulle erbe infestanti e cosi' via). Tuttavia, queste micotossine potrebbero contaminare le piante di interesse economico, le derrate alimentari destinate all'alimentazione umana ed i mangimi destinati all'alimentazione degli animali da allevamento ed entrare nella catena alimentare. Poiche' gli effetti di queste micotossine sulle cellule di mammifero ed, ultimativamente, sull'uomo sono sconosciuti, appare importante caratterizzare da questo punto di vista gli agenti di controllo biologico che vengono sviluppati. L'unita' di ricerca alla quale la scrivente collabora si occupa in particolare della identificazione degli effetti di tre micotossine prodotte da agenti di

controllo biologico (la gliotossina, l'alameticina e la beauvericina) in cellule di mammiferi e di invertebrati.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesto Unione Europea Euro 14.000.

**Maria F. Caiaffa**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Studi sui meccanismi di tossicità cellulare dell'ocratossina A e dei suoi derivati in relazione al risk assessment di agenti di controllo biologico innovativi applicabili alla viticoltura.

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** L'ocratossina A è prodotta dal *Penicillium verrucosum* e dall'*Aspergillus ochraceus*, nonché da vari ceppi di *Aspergillus* appartenenti a specie correlate, appartenenti alla sezione Nigri, ed in particolare dall'*Aspergillus carbonarius*, responsabile della biosintesi di ocratossina A nell'uva e, quindi, della sua presenza in prodotti derivati dall'uva, quali vino, mosti, succo d'uva ed uva passa. L'ocratossina A può entrare nella catena alimentare e giungere fino all'uomo, con la dieta. Conseguentemente, questa micotossina può essere assorbita attraverso il tratto gastrointestinale ed essere distribuita attraverso il torrente circolatorio, accumulandosi particolarmente nel rene, ma anche, in minor misura, nel fegato, nei muscoli e nel grasso corporeo. L'ocratossina A può essere escreta nel latte e mettere a rischio la salute di neonati alimentati con latte materno. L'ocratossina A ha un vita media particolarmente lunga in mammiferi non-ruminanti, compresi il *Cerchopitecus aetiops* (circa 500 ore) e l'uomo (circa 840 ore, in esperimenti attuati su volontari). È stato dimostrato che l'ocratossina A è genotossica a che, dopo somministrazione di una dose singola, causa lesioni del DNA che possono essere riparate solo in parecchi giorni. Inoltre, è stato dimostrato che l'ocratossina A forma addotti al DNA *in vitro* legandosi alla dG. Questa micotossina è stata ritrovata in campioni di sangue umano anche se, in tutta la letteratura medica, è stato riportato un solo caso di intossicazione acuta nell'uomo. Molto più importante potrebbe essere il ruolo svolto dall'ocratossina A nella nefropatia endemica dei Balcani, una malattia renale umana ad esito fatale, alla quale è stata associata. La nefropatia endemica dei Balcani è caratterizzata da insufficienza renale progressiva che si sviluppa con estrema gradualità e spesso anche da neoplasie del tratto urinario superiore. Tuttavia, il ruolo causale dell'ocratossina A in questa sindrome rimane molto controverso, poiché altri agenti nefrotossici potrebbero concorrere etiologicamente nel suo determinismo.

Con un intenso lavoro di ricerca, svolto negli ultimi 10 anni, si è tentato di elucidare il possibile impatto dell'ocratossina A sulla salute umana ed

numerosi modelli in vivo ed in vitro sono stati proposti ed usati per questi studi. In particolare, e' stata avanzata l'ipotesi che il danno cellulare renale, che costituirebbe la base della nefropatia indotta da ocratossina A potrebbe essere sostenuto da meccanismi di tipo apoptotico. Tuttavia, ad onta degli abbondanti risultati che questi studi hanno prodotto, le nostre informazioni riguardanti lo spettro di citotossicita' dell'ocratossina A appaiono ancora frammentarie ed i meccanismi che, a livello cellulare e molecolare, sostengono gli effetti tossici osservati ed, in ultima analisi, condizionano l'importanza di questa micotossina per la salute dell'uomo, rimangono elusivi. Pertanto, noi riteniamo che esista ampio spazio per ulteriori ed approfondite ricerche in questo campo, in particolare in relazione ai meccanismi di citotossicita' ed agli effetti pro-apoptotici. Inoltre, poiche' l'ocratossina A e' stata ritrovata nell'uva, nel vino ed in altri alimenti derivati dall'uva (anche nel nostro paese), e' stato prospettato lo sviluppo di agenti di controllo biologico che potrebbero ridurre la contaminazione delle uve da parte dell'*Aspergillus carbonarius*. Tuttavia, si e' anche postulato che questo approccio potrebbe anche portare alla formazione di derivati dell'ocratossina A nell'uva e nel vino, la cui potenzialita' tossica e' ancora totalmente inesplorata. Riteniamo pertanto che esista la necessita' di identificare e caratterizzare questi possibili derivati tossici non solo dal punto di vista strutturale ma anche e soprattutto dal punto di vista tossicologico, usando opportuni modelli, ad esempio modelli basati sull'uso di linee cellulari, rappresentativi di differenti tipi cellulari e di differenti specie e capaci di fornire il necessario background di risk assessment in relazione allo sviluppo di approcci innovativi di controllo biologico o integrato alla soluzione del problema dell'ocratossina A nell'uva e nel vino.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Richiesto COFIN 2004 Euro 24.600

### **Specchia G**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Studio dei riarrangiamenti cromosomici nelle LA: nuovi marker molecolari

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** La classificazione "storica" FAB, basata su criteri morfologici, è stata integrata dalla più recente classificazione WHO che distingue le leucemie in sottotipi in relazione al tipo di riarrangiamento cromosomico. L'individuazione di un'alterazione genomica (microdelezioni, inversioni, inserzioni, traslocazioni, amplificazioni) associata ad una specifica entità leucemica permetterebbe una revisione nella classificazione WHO e la valutazione dell'eventuale impatto sulla prognosi. Lo scopo del nostro studio è l'individuazione e la

caratterizzazione di microdelezioni genomiche in pazienti affetti da Leucemie Acute mediante tecniche di citogenetica convenzionale e di ibridazione in situ fluorescente (FISH). La FISH verrà eseguita con sonde BAC/PAC locus specifiche ottenute consultando i dati di sequenziamento del Genoma Umano. La costruzione di contigui di cloni permetterà di definire con estrema precisione la localizzazione dei punti di rottura dei riarrangiamenti cromosomici investigati. Inoltre, la caratterizzazione delle microdelezioni genomiche ci consentirà: di evidenziare l'eventuale perdita di geni oncosoppressori; di valutare la relazione tra la funzione nota dei geni deleti e la patogenesi della leucemia; di stabilire una possibile correlazione tra l'ampiezza della regione genomica deleta e l'outcome del paziente di evidenziare un'eventuale eterogeneità biologica e clinica dei pazienti con le delezioni genomiche.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Fondi Ex 60% Quota progetti 2004 € 11.912,58

### **Specchia G.**

**TITOLO DELLA RICERCA:** ANALISI DI ESPRESSIONE GENICA NEI PAZIENTI CON DELEZIONI SUL der(9) AFFETTI DA LEUCEMIA MIELOIDE CRONICA

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** In letteratura numerosi lavori hanno riportato l'associazione tra la presenza di delezioni genomiche in corrispondenza dei punti di rottura della t(9;22)(q34;q11) in pazienti affetti dalla leucemia mieloide cronica (LMC) e la prognosi sfavorevole sia in termini di assenza di risposta al trattamento terapeutico standard che in termini di sopravvivenza globale. Lo scopo del nostro studio è la valutazione del livello di espressione dei geni localizzati nella regione minima di delezione osservata in pazienti affetti da LMC. Per lo studio dell'analisi d'espressione saranno selezionati i geni sulla base della funzione da essi svolta e del livello di espressione nel tessuto d'interesse. Dopo aver individuato coppie specifiche di primers saranno effettuati esperimenti di RT-PCR e di PCR quantitativa per valutare differenze nel livello di espressione genica. I risultati ottenuti permetteranno di verificare:

1) l'eventuale alterazione del livello di espressione genica nei pazienti con delezioni ; 2) il ruolo svolto nella patogenesi della LMC dall'insufficiente prodotto genico; 3) la relazione tra la funzione dei geni deleti e l'outcome dei pazienti esaminati

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Progetto nel dottorato di Oncologia Sperimentale e Molecolare.

**Specchia G.**

**TITOLO DELLA RICERCA:** Caratterizzazione biologica e utilizzazione dei progenitori staminali emopoietici nelle Leucemie Acute

**SINTESI DEL PROGETTO (Premesse, Obiettivi, Metodologia, Risultati attesi) :** Vari e sofisticati modelli di emopoiesi hanno dimostrato che le cellule responsabili dell'engraftment multilineage sono contenute nelle sottopopolazioni delle cellule CD34+ e dei loro precursori. Tali sottopopolazioni nel midollo esprimono livelli molto bassi di antigeni associati con lineage commitment (lin-) e sono presenti nelle CD34high, CD90+/CD133+, CD38/CD33/HLA-DRdul/negative. E' stato quindi ipotizzato che i progenitori emopoietici commissionati sono responsabili dell'early engraftment mentre le cellule staminali più immature sono responsabili del late engraftment. L'autotrapianto con cellule staminali periferiche (PBSCT) rappresenta oggi una delle procedure terapeutiche più utilizzate nei pazienti con Leucemia Acuta non elegibili per procedure allotrapiantologiche. Tale procedura comporta però alcune problematiche quali: a) la difficoltà di riuscire ad ottenere cellule staminali "adeguate" a garantire l'engraftment a breve e a lungo termine; b) il "rischio" di reinfondere cellule leucemiche. Gli obiettivi del progetto sono: caratterizzare con metodologie di citofluorimetria, di citogenetica convenzionale, RT-PCR e FISH l'eterogeneo gruppo delle leucemie acute. studiare le caratteristiche biologiche e funzionali delle cellule staminali mobilizzate da sangue periferico dei pazienti con leucemie acute che ottengono la remissione completa -verificare se il valore predittivo per l'early e il late engraftment è solo il numero di CD34 reinfuse o hanno rilevanza anche le sottopopolazioni di CD34 (CD34+/CD38-/CD33-/DR-/CD90+/CD133+), soprattutto nei pazienti "poor mobilizer" . -valutare la malattia minima residua con metodiche di biologia molecolare e/o immunofenotipiche nei pazienti selezionati all'esordio.

**FONTE ED ENTITA' DEI FINANZIAMENTI RICHIESTI:** Progetto in corso di richiesta di finanziamento AIL

## DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE

Via L. Pinto, 1 71100 FOGGIA

**Direttore:** Prof. Domenico Boffoli

**Segretario:** Dott. Raffaele Carrozza

**Professori Ordinari:** Mirella BERTOSSI (BIO/17); Domenico BOFFOLI (BIO/10); Vito CAPOZZI (FIS/07).

**Professori Associati:** Giuseppe CIBELLI (BIO/09); Gaetano CORSO (BIO/12); Loreto GESUALDO (MED/14); Domenico LEONE (BIO/09); Angela Bruna MAFFIONE (BIO/16); Maurizio MARGAGLIONE (MED/03); Luigia TRABACE (BIO/14).

**Ricercatori Universitari:** Vincenzo BENANGIANO (BIO/16); Tommaso CASSANO (BIO/14); DaRIO coltella (M-EDF/01); Angelo FRATELLO (FIS/07); Anna GALLONE (BIO/13).

**Personale Tecnico Amministrativo:** Nicola La Porta; Rossella Manchisi; Giampaolo Caso.

## PIANO DI RICERCA

L'anno cui si riferisce questa relazione è il secondo di attività del Dipartimento, istituito con D.R. n. 1458 del 5 Novembre 2002.

Il Dipartimento di Scienze Biomediche è una struttura di Ateneo afferente alla Facoltà di Medicina e Chirurgia cui compete, oltre alla organizzazione ed al coordinamento dell'attività di ricerca in numerosi settori scientifico disciplinari, anche l'offerta didattico-formativa di numerose ed eterogenee discipline fondamentali circa 108 insegnamenti del I e II triennio del corso di laurea in Medicina e Chirurgia nonché dei corsi di laurea in Dietistica, Educazione Professionale, Fisioterapia, Infermieristica, Logopedia, Ostetricia, Tecnico di Laboratorio Biomedico ed in Scienze delle Attività Motorie e Sportive, inclusi i corsi delle sedi decentrate di San Giovanni Rotondo e San Severo.

Il Dipartimento di Scienze Biomediche è costituito da 11 Professori di ruolo (4 di I fascia, 7 di II fascia), 6 ricercatori universitari, 3 funzionari tecnici (categoria D1), 4 tecnici di laboratorio (categoria C1), 3 assistenti amministrativi (categoria C1), nonché da n. 19 Dottorandi di ricerca di cui n. 14 con borsa e n. 5 Assegnisti di ricerca.

Il Dipartimento di Scienze Biomediche è parte attiva di un Centro Interuniversitario di Ricerca costituito tra l'Università di Foggia, sede amministrativa, e l'Università di Bari; di due Protocolli d'Intesa, con l'Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico "Casa Sollievo della Sofferenza" e con l'Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ospedale Oncologico di Bari.

Presso il Dipartimento di Scienze Biomediche sono attivati anche tre corsi di Dottorato di Ricerca: "Oncologia Sperimentale e Patologia Molecolare Dell'Eta' Evolutiva" (XVIII ciclo), "Medicina Molecolare Dell'Adulto e Del Bambino" (XVIII e XIX ciclo) e "Bioetica e Sistemi Giuridici" (XIX e XX ciclo). Quest'ultimo completamente autonomo con la partecipazione delle Facoltà di Giurisprudenza e di Economia dell'Università di Foggia. Il coordinamento dei su menzionati corsi di dottorati è affidato rispettivamente ai Professori del Dipartimento, Trabace Luigia, Gesualdo Loreto e Boffoli Domenico.

Sono, infine, ospiti del Dipartimento di Scienze Biomediche, per svolgere la loro attività di studio e di ricerca, 29 giovani, tra dottorandi, laureati, laureandi, studenti e contrattisti dell'Università degli Studi di Foggia, il che porta ad un totale di circa 50 unità la consistenza numerica del personale che, a qualunque titolo, frequenta il Dipartimento di Scienze Biomediche ed opera nella ricerca scientifica e nelle attività didattiche garantite dal personale docente del Dipartimento.

In ottemperanza con le finalità riportate nella proposta di costituzione del Dipartimento, l'attività di ricerca condotta dal personale afferente al Dipartimento di Scienze Biomediche affronta tematiche nei campi della Biologia e della Medicina che, oltre ad avere un indiscutibile ruolo centrale di propulsione nel progresso delle scienze biomediche, rivestono una notevole importanza strategica per l'applicazione delle conoscenze che ne derivano allo studio della eziopatogenesi, della diagnosi, della prevenzione e del trattamento delle malattie umane.

Tale attività di ricerca che il Dipartimento si prefigge di affrontare e che, in qualche caso, ha già visto la luce in un vasto ambiente internazionale e prodotto significativi risultati scientifici, è illustrata analiticamente nel seguito di questa relazione con una breve descrizione delle singole ricerche (azioni programmate) che sono state portate all'attenzione di chi scrive. Anche se non indicato esplicitamente nelle singole descrizioni, è essenziale al successo delle ricerche il costante e qualificato contributo del personale tecnico ed amministrativo del Dipartimento.

#### **AZIONI PROGRAMMATE**

**ANATOMIA UMANA - S.S.D BIO/16 (Prof.ssa Maffione)**

**Titolo:** Morfologia cellulare dei granulociti e dei monociti/macrofagi

**Descrizione della ricerca :**

##### **premesse**

L'fMLP è un potente attivatore dei granulociti, determinando differenti risposte metaboliche come la generazione di specie ossigeno reattive, la produzione di metaboliti dell'acido arachidonico e il rilascio di enzimi lisosomiali. L'fMLP determina anche un drammatico riarrangiamento del citoscheletro actinico; in condizioni di non-gradiente ciò implica caratteristiche alterazioni nella forma cellulare (chemochimesi), mentre in condizioni di gradiente esso promuove la migrazione verso il gradiente (chemiotassi). Pertanto l'fMLP è spesso usato come tools farmacologico per valutare la responsività dei granulociti polimorfonucleati (PMN) in differenti condizioni fisiologiche che patologiche.

##### **obiettivi**

Soggetti anziani mostrano deficit significativi delle capacità chemiotattiche dei PMN; la risposta del citoscheletro nella Wiskott-Aldrich syndrome è ridotta a causa di una mutazione genetica; al contrario in pazienti con sclerosi multipla che comunque mostrano un deficit della funzionalità dei PMN, queste cellule esibiscono un aumento della polarizzazione sia spontanea che indotta dall'fMLP, poichè tuttavia non si conosce quale sia lo stimolo endogeno che produce tale iperpolarizzazione, alcuni dei nostri studi mirano appunto a studiarne

meglio il significato in termini biomolecolari ed anche ad individuarne la causa. Attualmente si sta anche procedendo all'elaborazione di un sistema di monitoraggio della funzionalità dei granulociti e monociti/macrofagi in pazienti con patologie dermatologiche.

### **BIOCHIMICA - S.S.D BIO/10 (Proff. Boffoli - Capitanio)**

**Titolo:** Analisi molecolare del processo di invecchiamento e delle patologie degenerative associate.

#### **Descrizione della ricerca :**

##### **premesse**

L'invecchiamento è un processo (o serie di processi) notoriamente caratterizzato da un declino accelerato delle funzioni dell'organismo, di cui ancora oggi non si conosce esattamente il meccanismo molecolare. Tra i meccanismi proposti, riveste un ruolo importante il danno cellulare causato da specie radicaliche dell'ossigeno (ROS). Il danno ossidativo può essere una delle cause più importanti della perdita delle funzioni fisiologiche nelle patologie degenerative e nell'invecchiamento.

##### **obiettivi**

Poiché negli organismi aerobi la catena respiratoria mitocondriale, oltre a giocare un ruolo importante nella produzione di energia, rappresenta una significativa fonte di ROS, è nostra intenzione: mettere a punto una metodica che ci permetta di rilevare, identificare e quantizzare i radicali liberi realmente prodotti dai mitocondri; mettere in luce le alterazioni del metabolismo energetico mitocondriale responsabili dell'aumento di tale produzione; sviluppare metodi molecolari per la valutazione dell'accumulo del danno ossidativo nell'uomo; studiare le eventuali mutazioni genetiche responsabili; caratterizzare biochimicamente i difetti fenotipici delle patologie mitocondriali associate all'invecchiamento.

**Titolo:** Meccanismi molecolari di catalisi e di conservazione dell'energia di ossidoriduzione nella citocromo c ossidasi.

#### **Descrizione della ricerca :**

##### **Premesse**

La spettroscopia Raman è una tecnica avanzata che permette di caratterizzare in modo selettivo, attraverso la individuazione di modi vibrazionali specifici, le proprietà chimiche di macromolecole isolate ad alto grado di purezza o di ottenere informazioni sulla "signature" molecolare di sistemi integrati come componenti subcellulari, cellule intere, tessuti.

##### **Obiettivi**

Utilizzando tecniche di microspettroscopia Raman si intende individuare gruppi chimici funzionali coinvolti nel trasferimento di elettroni e nel pompaggio di protoni nella citocromo c ossidasi. Si utilizzeranno a tale scopo enzimi isolati da mitocondri di mammifero ed ossidasi omologhe da batteri modificati mediante tecniche di mutagenesi sito-diretta. Tali studi verranno quindi estesi progressivamente a sistemi più complessi (mitocondri, cellule in coltura, tessuti).

#### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

L'analisi sistematica di spettri Raman su campioni di citocromo c ossidasi, preparata in diverse condizioni redox e/o in presenza di ligandi specifici permetterà di ottenere informazioni utili alla definizione di modelli meccanicistici di catalisi.

#### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Università degli Studi di Bari, Dip. di Biochimica e Biologia Clinica.

J.W. Goethe-Universität, Francoforte, Institute of Biochemistry.

#### **prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Papa S, Capitanio N, Capitanio G., A cooperative model for proton pumping in cytochrome c oxidase. *Biochim Biophys Acta*. 2004 Apr 12;1655(1-3):353-64.

Piccoli C, Perna G, Scrima R, Cela O, Rinaldi R, Boffoli D, Capitanio N. (2004). A novel redox state heme a marker in cytochrome c oxidase revealed by Raman spectroscopy. *PHYSICA SCRIPTA*. ISSN: 0031-8949. in press.

**Titolo:** Basi molecolari e meccanismi di controllo del metabolismo aerobio cellulare.

#### **Descrizione della ricerca :**

##### **Premesse**

Il metabolismo aerobio cellulare comprende, in senso lato, l'insieme delle vie biochimiche che utilizzano l'ossigeno molecolare come accettore di elettroni in reazioni di ossidoriduzione. La maggior parte dell'ossigeno consumato a livello cellulare è utilizzato dai mitocondri per promuovere il meccanismo della fosforilazione ossidativa attraverso cui viene garantito, in condizioni aerobie, la principale produzione di ATP. In aggiunta a questa funzione, di fondamentale importanza nel mantenimento del "tono" bioenergetico, l'ossigeno è anche convertibile in specie reattive (ROS) che possono avere un ruolo funzionale di controllo nel differenziamento e crescita cellulare oltre che eziopatologico nella promozione di patologie degenerative.

##### **Obiettivi**

Modelling funzionale. Si intende valutare nell'ambito della "teoria di controllo dei flussi metabolici" il controllo esercitato da specifiche tappe enzimatiche isolate sul sistema metabolico integrato della fosforilazione ossidativa mitocondriale. L'analisi verrà condotta su cellule intere in condizioni sperimentali disegnate per mimare condizioni fisiopatologiche operanti *in vivo* (ad es. bassa tensione di ossigeno, presenza di inibitori e/o attivatori fisiologici, differente fabbisogno energetico).

Metabolismo aerobio in cellule staminali emopoietiche. Si intende condurre una estesa caratterizzazione biochimica su cellule staminali emopoietiche (CD34+) umane isolate direttamente da midollo osseo o da sangue periferico a seguito di mobilitazione con citochine. L'obbiettivo è studiare la funzione dei complessi della catena respiratoria mitocondriale e di ossidasi extramitocondriali nel controllo del metabolismo dell'ossigeno e dei suoi radicali liberi ed il ruolo di quest'ultimi nel meccanismo di differenziamento cellulare.

Metabolismo aerobio in cellule leucemiche. Si intende studiare cellule leucemiche isolate da pazienti affetti da Leucemia mieloide acuta allo scopo di comprendere i meccanismi responsabili della chemio-resistenza di queste cellule trasformate ad insulti apoptogenici ed in particolare il ruolo svolto in tale contesto dai mitocondri. L'obbiettivo è l'individuazione di strategie terapeutiche a target mitocondriali in grado di indurre suscettibilità all'apoptosi da farmaco.

#### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Definizione dei coefficienti di controllo di flusso dei vari componenti enzimatici del sistema della fosforilazione ossidativa mitocondriale e analisi di loro possibili alterazioni in differenti "quadri" fisiopatologici.

Caratterizzazione del ruolo svolto dai mitocondri durante il "commitment" ematopoietico e dalle specie reattive dell'ossigeno come attivatori di "signalling" intracellulari.

Comprendere le basi molecolari dei meccanismi di controllo della apoptosi mitocondrio-dipendente e loro alterazioni in patologie leucemiche.

#### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Università di Perugia, Dip. di Medicina Clinica e Sperimentale.

#### **prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Piccoli C., Ria R., Scrima R., Cela O., Rinaldi R., Boffoli D., Tabilio A., Capitanio N. (2003). *Analysis of mitochondrial and extra-mitochondrial oxygen consuming reactions in hematopoietic stem cells*. BLOOD. vol. 102, pp. 146 ISSN: 0006-4971.

Piccoli C., Boffoli D. and Capitanio N. *Comparative analysis of mitochondria selective dyes in different cell types detected by Confocal Laser*

*Scanning Microscopy: methods and applications*. In "Current Issues in Multidisciplinary Microscopy Research and Education" FORMATEX Microscopy Book Series vol 2, (2004), Edited by A. Méndez-Vilas, President of FORMATEX and Researcher at the Department of Physics, University of Extremadura, Badajoz, Spain.

## **BIOCHIMICA CLINICA E BIOLOGIA MOLECOLARE CLINICA - S.S.D. BIO/12 (Prof. Corso)**

**Titolo:** Studio dei difetti congeniti della  $\beta$  ossidazione degli acidi grassi

**Descrizione della ricerca :**  
**premesse**

I difetti congeniti della  $\beta$  ossidazione degli acidi grassi (FAOD) costituiscono un gruppo di difetti metabolici ereditari eterogenei e gravi; essi si presentano in età infantile e neonatale.

La diagnosi precoce è importante per prevenire la morbidità in quanto molti dei difetti diagnosticati ed opportunamente trattati hanno prognosi favorevole. Il deficit di MCAD risulta essere il più comune; esso è caratterizzato da una aumentata escrezione di acidi dicarbossilici a media catena quali l'acido adipico (C6), l'acido suberico (C8) e l'acido sebacico (C10). Il gene che codifica per l'MCAD nell'uomo è localizzato sul cromosoma 1, banda p31, misura 44kb e contiene 12 esoni. La mutazione più frequente è una transizione A-G a livello della base 985. Essa è presente per l'80 % in forma omozigote e in meno del 20% dei casi in forma eterozigote. La restante parte non presenta la transizione A-G 985

**obiettivi**

impiegare la Spettrometria di Massa (LC-MSMS) per effettuare l'analisi di screening su campioni di soggetti sospetti e controlli per lo studio dei Profili metabolici;

eseguire, sui pazienti affetti da deficit dell'enzima MCAD lo studio del gene per la ricerca delle eventuali mutazioni.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Già esiste una banca dati di pazienti potenzialmente affetti da difetti della beta ossidazione che presentano alterazioni dell'escrezione degli acidi organici urinari

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Dipartimenti di Biochimica e Biotecnologie Mediche e di Pediatria dell'Università di Napoli Federico II prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).

**Titolo:** Studio dei disordini congeniti caratterizzati da anomalie nello sviluppo dell'osso e della cartilagine.

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

I disordini congeniti caratterizzati da anomalie nello sviluppo dell'osso e della cartilagine, dovuti a deposito anomalo del calcio nelle zone di formazione endocondrale dell'osso, sono descritti in una varietà di osteodisplasie con il termine di "condrodisplasia puntata" (CDP). Tra queste la CDPX1, CDP recessiva legata all'X, sarà oggetto di studio nel nostro progetto. La malattia coinvolge il locus genico Xp22.3. Il gene di CDPX1, detto ARSE, codifica per una nuova solfatasi (arylsulfatase E), che presenta un'alta omologia di sequenza con la steroido solfatasi. Differenti mutazioni nel gene ARSE sono state identificate in 5 pazienti con CDPX1 ma il substrato naturale della ARSE rimane tuttora sconosciuto

**Obiettivi**

Caratterizzazione metabonomica dei composti solfati nei liquidi biologici dei pazienti con CDPX1 con un metodo veloce e robusto usando la spettrometria di massa per identificare il substrato naturale dell'ARSE; valutazione dell'attività enzimatica dell'ARSE usando i substrati purificati dai campioni dei pazienti

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Abbiamo già raccolto alcuni campioni di plasma e urine di pazienti potenzialmente affetti da CDPX1, è in via di elaborazione un protocollo sperimentale per l'analisi dei Profili di tutti i composti coniugati con solfato

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Dipartimenti di Biochimica e Biotecnologie Mediche e di Pediatria dell'Università di Napoli Federico II

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

**Titolo:** Studio dell'attività melanogenetica presente nei distretti viscerali di *Anfibi*.

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

I Vertebrati eterotermi presentano un esteso sistema di cellule contenenti melanine, localizzate nel fegato, nella milza e in altri distretti viscerali. E' stato dimostrato, in Anfibi e Rettili, che queste cellule sono macrofagi dotati di capacità melanogenetica. La sintesi delle melanine avviene nei melanosomi, e il primo enzima coinvolto nella melanogenesi è la tirosinasi. Il ruolo delle melanine nel fegato di vertebrati eterotermi, rimane tuttora non sufficientemente definito. Le variazioni quantitative del contenuto melanico osservate nel fegato, si correlano con i cambiamenti metabolici dell'organo, legati ai diversi stati metabolici degli animali nelle diverse stagioni. Secondo alcuni autori l'accumulo di melanina nel fegato sarebbe legato al ruolo antiossidante del pigmento che avrebbe la funzione di sostituire gli enzimi antiossidanti epatici, inattivi durante la fase di ibernazione degli animali. Inoltre a causa della loro natura di macrofagi, sembra probabile che lo stimolo melanogenetico sia originato dall'attività fagocitaria delle cellule stesse. Abbiamo osservato che i melanosomi isolati dalle cellule pigmentate del fegato e della milza di *Rana esculenta* contengono un complesso sistema enzimatico

**obiettivi**

Per cercare di approfondire le conoscenze circa le diverse attività evidenziate negli estratti melanosomiali di *Rana esculenta* si cercherà di caratterizzare le diverse attività e il loro ruolo nelle reazioni di melanogenesi. Inoltre lo studio delle proprietà chimico-fisiche delle melanine fornirà una migliore comprensione del ruolo di questi polimeri negli organismi viventi.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

I melanosomi isolati dalle cellule pigmentate del fegato e della milza di *Rana esculenta* contengono un complesso sistema enzimatico dotato di attività dopa ossidasi, laccasi e perossidasi. Differenze tessuto-specifiche nella distribuzione delle tre attività sono state osservate. Questo sistema enzimatico molto diverso da quello dei melanociti e di altre cellule pigmentate meglio studiate, apre la prospettiva dell'individuazione di un nuovo *pathway* delle melanine nei vertebrati.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Dipartimento di Biochimica medica e Biologia Medica-Fac. Medicina e Chirurgia-Università degli Studi di Bari

Dipartimento di Biochimica, Biologia Molecolare e Immunologia- Fac. Medicina e Chirurgia- Università di Murcia (Spagna)

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

### **Publicazioni**

G. Guida, P. Zanna, A. Gallone, E. Argenzio and R. Cicero Melanogenic Response of the Kupffer Cells of *Rana Esculenta L.* to Melanocyte Stimulating Hormone *Pigment Cell Res* 17: 128-134, 2004.

G. Perna, A. Gallone, V. Capozzi, P.F. Biagi, A. Fratello, G. Guida, P. Zanna, R. Cicero: "Optical Spectra of Melanin Films Extracted from *Rana Esculenta*", *Physica Scripta* (2004) in press.

### **Abstracts:**

A. Gallone, E. Argenzio, G. Guida, P. Zanna, , D. Boffoli and R. Cicero. Analysis of the enzymatic activity of the pigmented macrophages from liver and spleen of *Rana esculenta L.* 11th Meeting of the European Society for Pigment Cell Research. Gent, Belgium 17-20 settembre 2003. *Pigment Cell Res* 16(5): 595, 2003.

P. Zanna, G. Guida, A. Gallone, E. Argenzio, D. Boffoli and R. Cicero. Kupffer cell response to MSH in *Rana esculenta L.* 11th Meeting of the European Society for Pigment Cell Research. Gent, Belgium 17-20 settembre 2003. *Pigment Cell Res* 16(5): 596, 2003.

Gallone A., Guida G., Maida I., Zanna P., Argenzio E., Boffoli D., Cicero R. Analisi delle attività enzimatiche dei melanosomi isolati dai macrofagi pigmentati di *Rana esculenta L.* VI Congresso AIBG. Giardini Naxos (Messina). 1-5 ottobre 2003 Riassunti dei contributi scientifici, pag. 126.

G. Perna, A. Gallone, V. Capozzi, A. Fratello, G. Guida, P. Zanna, E. Argenzio, R. Cicero Optical spectra of melanin films extracted from *Rana Esculenta* 1st International Meeting on Applied Physics, Badajoz (Spain), October 13-18th 2003 Book of Abstracts, pag. 292.

Capozzi V, Gallone A, Perna G, Cicero R, Guida G, Zanna P, Ambrico M, Augelli V, Biagi PF, Ligonzo T, Schiavulli L. Optical and photoelectronic properties of melanin films. E-MRS 2004 Spring Meeting, 24-28 May 2004, Strasbourg (France).

Capozzi V, Perna G, Gallone A, Guida G, Zanna P, Cicero R. Optical spectroscopy of melanin films.

XXVII European Congress on Molecular Spectroscopy, 5-10 September 2004, Krakow (Poland).

Capozzi V, Gallone A, Perna G, Cicero R, Guida G, Zanna P, Ambrico M, Augelli V, Biagi PF, Ligonzo T, Schiavulli L. Optical and photoelectronic properties of Melanin Films. INFMeeting - National

Conference on the Physics of Matter. Genova, Magazzini del Cotone, June 8-10th, 2004. Book of Abstracts, pag. 45.

**FARMACOLOGIA - S.S.D. BIO/14 (Prof.ssa Trabace - Dott. Cassano)**

**Titolo:** Caratterizzazione comportamentale e neurochimica nel ratto di farmaci potenzialmente utili nel morbo di Alzheimer

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

La demenza di Alzheimer (AD) è una malattia neurodegenerativa complessa e multifattoriale. Al momento, vi è una unanime convergenza di evidenze sperimentali che dimostrano come il deficit del sistema colinergico, con particolare riguardo alle vie che dai nuclei subcorticali irradiano alla neocorteccia e all'ippocampo, sia implicato nella patogenesi dell'AD. Da ciò scaturisce il costante interesse per la sintesi e lo sviluppo di molecole in grado di indurre il ripristino funzionale di tale sistema, in particolare mediante l'inibizione dell'enzima acetilcolinesterasi.

**Obiettivi:**

Identificazione di inibitori delle acetilcolinesterasi che abbiano: un Profilo farmacocinetico ottimale (somministrabili per via orale e durata d'azione prolungata) il sistema nervoso centrale (SNC) come target specifico una ridotta incidenza di effetti collaterali.

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

E' stato definito il Profilo neurochimico e comportamentale di un particolare anticolinesterasico, la ganstigmina, nell'ippocampo dorsale del ratto. Si propone di chiarire il Profilo farmacologico dello stesso farmaco, assieme ad altri composti, in altre aree cerebrali coinvolte nel morbo di Alzheimer.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Babraham Institute, Cambridge, UK; The Department of Biological Psychiatry, University Psychiatric Hospital in Aarhus (Denmark); Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi di Roma "la Sapienza", Roma, Italia.

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti):**

L. Trabace, T. Cassano, P. Campolongo, A. Giustino, K.M. Kendrick, L. Romanelli, G. Villetti, L. Steardo and V. Cuomo "Neurochemical and neurobehavioral effects of ganstigmine, a novel acetylcholinesterase

inhibitor, in rat prefrontal cortex: an in vivo study”  
Neuropharmacology, submitted, 2004.

**Titolo:** Memoria olfattiva in topi transgenici sovraesprimenti una forma mutata del gene umano della Proteina Precursore dell’Amiloide (APP)

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

Nell’eziopatogenesi dell’AD grande interesse riscuote l’ipotesi genetica. È stato dimostrato che in circa 1% l’AD ha le caratteristiche di una malattia genetica a trasmissione autosomica dominante. Questi casi sono stati classificati con il termine di “Familial AD” (FAD), per distinguerli da quelli sporadici. L’approccio attualmente più comune nello studio dell’AD è rappresentato dall’uso di modelli animali geneticamente modificati quali topi transgenici. Un interrogativo ancora irrisolto riguarda la correlazione tra le alterazioni neuropatologiche riscontrate nei modelli transgenici e i deficit funzionali, con particolare riferimento ai deficit cognitivi. Emerge, quindi, sempre più chiaramente la necessità di un approfondimento della relazione tra la progressione temporale delle alterazioni anatomico-patologiche e l’emergenza dei deficit cognitivi.

**Obiettivi:**

In questo studio noi proponiamo l’uso di topi transgenici che sovraesprimono una forma mutata del gene umano APP (hAPP-CT100), per testare direttamente l’ipotesi che lo sviluppo di deficit dell’apprendimento e della memoria in questi topi siano strettamente correlati con la deposizione di placche di beta-amiloide. Per far ciò ci avvarremo della notevole capacità di tale specie animale di apprendere per mezzo di stimoli olfattori.

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Nel modello transgenico per AD, fin dalle prime fase della vita post-natale, è stata riscontrata una elevata espressione della proteina hAPP-CT100 in diverse aree della corteccia ed ippocampo. In animali eterozigoti ed omozigoti al 3° e 6° mese di vita è stato riscontrato, rispetto al gruppo *wild type*, un significativo deficit colinergico a livello della corteccia entorinale, mentre nessuna differenza significativa è emersa per quanto riguarda i livelli extracellulari di acetilcolina in corteccia prefrontale e nello striato.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Babraham Institute, Cambridge, UK; Department of Neurobiology and Behavior, School of Biological Sciences, University of California, Irvine;

Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi di Roma "la Sapienza", Roma, Italia.

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti):**

T. Humby, T. Cassano, T. Burne, V. Cuomo and L. Wilkinson "Olfactory memory function in mice expressing a mutated human APP transgene" XXXI Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Trieste, 26-29 Giugno, 2003; T. Humby, T. Cassano, T. Burne, V. Cuomo and L. Wilkinson "Olfactory learning and memory impairment in mice expressing a mutated human APP transgene" Congresso Nazionale della Società Italiana di Neuroscienze, Pisa, 26-28 Settembre, 2003.

**Titolo:** Farmaci antipsicotici, trasmissione glutamatergica, nitrgergica e schizofrenia: studi neurochimici in un modello animale.

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

Recentemente è stato suggerito che alcuni deficit cognitivi e i sintomi negativi della schizofrenia possano dipendere da un'alterata trasmissione glutammatergica e nitrgergica nella corteccia frontale. Tale ipotesi si basa essenzialmente sull'osservazione che, in soggetti sani, la fenciclidina e la ketamina, due antagonisti del recettore NMDA del glutammato, provocano una sindrome comportamentale molto simile ai sintomi della schizofrenia. Inoltre, è stato visto nel ratto che la ipofunzione dei recettori NMDA indotta dalla fenciclidina causa un deficit di "working memory" e un aumento delle concentrazioni extracellulari di glutammato nella corteccia prefrontale, misurate *in vivo* tramite microdialisi intracerebrale.

**Obiettivi:**

Il presente progetto si propone di valutare l'effetto di antipsicotici sulle modificazioni della trasmissione glutammatergica e nitrgergica corticale indotte dal blocco del recettore NMDA nel ratto.

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Si propone di studiare *in vivo* il rilascio di glutammato e di avviare la parte di studi relativi alla valutazione dell'attività della NO-sintasi. Inoltre, si propone di completare gli studi sulla attività della NO-sintasi e di avviare nuovi esperimenti con l'obiettivo di approfondire il ruolo dei recettori NMDA locali nel modulare la trasmissione glutammatergica corticale.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano, Italia.

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti):**

L. Trabace, T. Cassano, P. Tucci, K. M. Kendrick and V. Cuomo "The effects of nitric oxide on striatal serotonergic transmission involve multiple targets: an in vivo microdialysis study in the awake rat" *Brain Res.*, 1008/2, 293-298, (2004); G. Wegener, Z. Bandpey, IL. Heiberg, V. Volke, L. Trabace, R. Rosenberg, BH Harvey "Combined chronic treatment with citalopram and lithium does not modify the regional neurochemistry of nitric oxide in rat brain" *J. Physiol. and Pharmacol.* 9:19-24 (2004).

**Titolo:** Emissione di microonde da telefoni cellulari: effetti sulla funzionalità cognitiva nel ratto attraverso un'analisi neurochimica e neurocomportamentale

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

E' stato evidenziato che la permanente esposizione ad onde elettromagnetiche può essere causa di molteplici sintomi tra i quali insonnia, emicrania, disturbi cardiaci, irritabilità, modificazioni comportamentali, depressione e disturbi ormonali. Gli effetti di queste esposizioni si concretizzano, per la maggior parte, nella variazione di funzionalità di alcune zone cerebrali che controllano gli organi dell'equilibrio ed il sistema vegetativo, ovvero tutte quelle funzioni del corpo i cui meccanismi di azione non sono volontari. E' quindi evidente che, in presenza di sorgenti artificiali di campi elettromagnetici, si possono generare disturbi del sistema circolatorio, del ritmo circadiano, della regolazione ormonale e altre funzioni simili, la cui gestione è regolata automaticamente e che risultano essere in stretta relazione con fattori esterni di origine elettromagnetica. E' stato altresì dimostrato che l'emissione di microonde in una banda di frequenza di telefoni cellulari produce un effetto sulla funzione cognitiva umana.

**Obiettivi:**

scopo del presente programma di ricerche è quello di studiare, nel ratto, gli effetti dell'esposizione cronica a microonde emesse da telefoni cellulari sulla funzionalità cognitiva. Gli studi comportamentali saranno integrati da esperimenti neurochimici al fine di valutare l'influenza dell'esposizione a microonde ad alta frequenza emesse da telefoni cellulari su alcuni sistemi neurotrasmettitoriali coinvolti nelle funzioni cognitive.

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Si prevede di caratterizzare le eventuali alterazioni neurochimiche e comportamentali in aree cerebrali discrete di ratto.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Babraham Institute, Cambridge, UK; The School of Biosciences, University of Birmingham (England)

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

**Titolo:** Caratterizzazione degli effetti neurochimici di un nuovo e selettivo agonista indiretto del sistema endocannabinoide centrale: URB597.

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

Diverse evidenze sperimentali suggeriscono che il sistema endocannabinoide può giocare un ruolo importante nella modulazione degli stati ansiosi. È ampiamente dimostrato che i cannabinoidi producono tutta una serie di alterazioni dell'umore, che vanno da effetti ansiolitici ad effetti ansiogeni, sia nei consumatori di marijuana o hashish, che negli animali da laboratorio. Tale spettro d'azione molto contraddittorio può essere spiegato in parte dalla distribuzione dei recettori cannabinoidi nel cervello ed in parte dal loro peculiare meccanismo molecolare. Alcuni endocannabinoidi vengono metabolizzati dall'anandamide-idrolasi (FAAH), una serina idrolasi associata alle membrane intracellulari. Fra gli inibitori della FAAH spicca un nuovo composto altamente potente e selettivo, denominato URB597. E' stato dimostrato che l'URB597 induce un chiaro effetto ansiolitico in due modelli sperimentali: l'elevated zero maze nel ratto adulto ed il test delle vocalizzazioni ultrasoniche nel ratto neonato.

**Obiettivi:**

L'esplorazione degli effetti neurochimici dell'URB597 nel cervello appare cruciale per la caratterizzazione del suo meccanismo d'azione. Poichè i cannabinoidi possono ridurre il rilascio non soltanto di GABA e glutammato ma anche di acetilcolina, noradrenalina e serotonina, sarebbe necessario analizzare gli effetti dell'URB597 sui livelli extracellulari di tutti questi neurotrasmettitori.

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Si prevede di caratterizzare le eventuali alterazioni neurochimiche in aree cerebrali discrete di ratto, in seguito a somministrazione di URB597.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Babraham Institute, Cambridge, UK; Department of Pharmacology, University of California, Irvine, California, USA; Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi di Roma "la Sapienza", Roma, Italia.

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).**

**Titolo:** Effetti dell'esposizione prenatale a WIN 55,212- 2 sulla plasticità neuronale, in ratti adulti

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

Tra le sostanze d'abuso illegali, la marijuana e l'hashish sono quelle più largamente consumate da donne in stato di gravidanza e a tuttoggi non risultano ancora del tutto chiariti gli effetti che il suo consumo durante la gravidanza può avere sulla progenie. In uno studio recente, sono stati analizzati gli effetti sulla funzione motoria e cognitiva della progenie di ratte esposte durante la gravidanza (dal 5° al 20° giorno di gestazione) ad un composto sintetico, agonista dei recettori cannabinoidi CB<sub>1</sub> WIN 55,212-2, ad una dose che non produce malformazioni e/o una sintomatologia neurotossica manifesta, ma che riproduce, farmacologicamente, una situazione analoga a quella di una donna gravida che fa uso abituale di marijuana. I risultati hanno messo in evidenza che l'esposizione prenatale a questo analogo della marijuana causa iperattività motoria nelle prime fasi di vita postnatale ed induce alterazioni della memoria. Studi neurochimici hanno, inoltre, dimostrato che il trattamento prenatale con WIN 55,212- 2 produce una significativa riduzione del rilascio basale e stimolato (K<sup>+</sup>) di glutammato nell'ippocampo di ratti di 1, 40 e 90 giorni di vita. Questi risultati suggeriscono che il ridotto rilascio di glutammato potrebbe essere alla base del deficit cognitivo riscontrato. Queste evidenze suggeriscono il coinvolgimento di possibili alterazioni morfologiche dei substrati neuronali che sono alla base dei deficit riscontrati sulla funzione motoria e cognitiva.

**Obiettivi:**

Scopo del presente studio sarà, pertanto, quello di valutare nel ratto adulto le possibili alterazioni morfologiche dei substrati neuronali, indotte dall'esposizione a WIN 55,212-2 in fasi ontogenetiche precoci e verificare, pertanto l'ipotesi che le alterazioni derivanti dall'esposizione prenatale a WIN, quali il deficit della memoria ed il ridotto rilascio di glutammato in ippocampo siano associate a modificazioni neuronali in specifiche aree cerebrali, in cui è stata riscontrata una elevata distribuzione di recettori cannabinoidi..

**Risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Tale ricerca porterebbe un importante contributo nella valutazione degli effetti dell'esposizione ad agenti cannabimimetici durante la gravidanza, anche a dosi che sembrerebbero non causare evidenti alterazioni morfologiche nella progenie, ma che sono tuttavia in grado di alterare lo sviluppo del sistema nervoso centrale causando sottili e persistenti variazioni neuro-funzionali.

**Eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Dipartimento di Farmacologia delle Sostanze Naturali e Fisiologia Generale, Università degli Studi di Roma "la Sapienza", Roma, Italia; Center of Excellence in Aging and Brain Repair, University of South Florida College of Medicine.

**Prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).**

**FISICA APPLICATA - FIS/07 (Prof. Capozzi)**

**Titolo:** Studio delle proprietà vibrazionali della citocromo c ossidasi mediante spettroscopia Raman.

**Descrizione della ricerca :  
premesse**

La citocromo c ossidasi è il complesso enzimatico terminale della catena respiratoria nei mitocondri e in molti batteri. Tale complesso ha la funzione di trasferire 4 elettroni dal citocromo c all' $O_2$ , il quale è ridotto a  $2H_2O$ . La catalisi si compie in corrispondenza di 4 centri metallici redox-attivi: un centro rame bi-nucleare ( $Cu_A$ ), un centro eme (heme a) ed un sito attivo bi-nucleare costituito da rame ed eme (heme  $a_3-Cu_B$ ): la riduzione di  $O_2$  avviene in corrispondenza di quest'ultimo sito. L'energia resa disponibile dal processo è utilizzata per l'attività di pompa protonica, in base ad un meccanismo molecolare non ancora completamente noto

**obiettivi**

L'obiettivo della ricerca è lo studio dei diversi stati redox dell'enzima citocromo c ossidasi mediante spettroscopia Raman. Il confronto degli spettri Raman tra la forma ossidata e quella ridotta dell'enzima permetterà di valutare le eventuali differenze (spostamenti energetici nei picchi e/o assenza di picchi specifici in una delle due forme), corrispondenti a differenze nei modi vibrazionali attivi e, quindi, a variazioni nei legami chimici

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Il confronto fra gli spettri della forma ossidata e di quella ridotta dell'enzima ha evidenziato nella prima la presenza di un picco Raman a circa  $1645\text{ cm}^{-1}$ , che non è presente negli spettri della forma ridotta. Tale differenza fra gli spettri delle due forme non è influenzata dal pH (da 5.5 a 8.0) e si presenta anche nella quinolo ossidasi (che non contiene il centro  $Cu_A$ ).

La medesima analisi sarà realizzata su altre proteine che contengono eme (quali, ad es., citocromo c e mioglobina), per valutare l'effetto dei vari centri metallici redox-attivi sullo spettro Raman.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

**1) pubblicazioni su riviste internazionali**

C. Piccoli , G. Perna , R. Scrima , O. Cela, R. Rinaldi , D. Boffoli , V. Capozzi e N. Capitanio : " A novel redox state heme *a* marker in cytochrome c oxidase revealed by Raman spectroscopy", *Physica Scripta*, in corso di stampa.

**2) abstract di congressi internazionali**

C. Piccoli , G. Perna , R. Scrima , O. Cela, R. Rinaldi , D. Boffoli , V. Capozzi e N. Capitanio : " A novel redox state heme *a* marker in cytochrome c oxidase revealed by Raman spectroscopy", *First International Meeting on Applied Physics*, 13-18 ottobre 2003, Badajoz (Spagna).

**Titolo:** Indagine delle proprietà chimico-fisiche e strutturali delle melanine naturali e sintetiche

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

La melanina, un pigmento di origine biologica largamente presente in organismi viventi, svolge nella pelle una funzione protettiva contro la radiazione solare, in quanto assorbe e diffonde tale radiazione nella regione spettrale visibile e UV. Nei mammiferi la melanina è sintetizzata dai melanociti all'interno di specifici organelli, i melanosomi. I Vertebrati eterotermi presentano un esteso sistema di cellule contenenti melanine, localizzate nel fegato, nella milza e in altri distretti viscerali. Il ruolo delle melanine nel fegato di vertebrati eterotermi, oggetto di studio da parte di diversi laboratori, rimane tuttora non sufficientemente definito. Lo studio della melanina in tali tessuti, normalmente non melanizzati nell'uomo, è utile per approfondire la comprensione delle sue funzioni protettive negli organismi viventi. Le funzioni di tale pigmento sono legate alla sua struttura fisica e chimica che, nonostante l'interesse dal punto di vista biologico, non sono ancora completamente note. Solo alcuni ipotetici modelli sono stati proposti riguardo le caratteristiche strutturali della melanina a livello molecolare. Un fattore comune a tutti questi modelli è la presenza di una forte disomogeneità e disordine strutturale. Ciò induce a considerare la

melanina come un biopolimero avente caratteristiche simili a quelle di un solido semiconduttore amorfo.

### **Obiettivi**

L'obiettivo della ricerca è quello di studiare le proprietà strutturali, fisiche e chimiche sia della melanina naturale, estratta da melanosomi di fegato, milza e pelle di *Rana Esculenta L.*, sia della melanina sintetica, ottenuta per ossidazione della tirosina. Lo studio di tali proprietà consentirà di approfondire la conoscenza della struttura molecolare della melanina e delle sue proprietà chimico-fisiche.

### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Misure di micro-spettrometria Raman hanno evidenziato i legami chimici presenti nella struttura della melanina, mediante valutazione delle loro energie caratteristiche. Tali legami sono simili a quelli esistenti in alcune forme di carbonio amorfo. Il confronto degli spettri di assorbimento ottico e di fluorescenza con le previsioni di alcuni modelli teorici relativi a materiali semiconduttori disordinati ha suggerito la presenza nel biopolimero di aggregati di dimensioni nanometriche.

In seguito, si prevede di realizzare una indagine morfologica ad alta risoluzione dei campioni di melanina mediante microscopia ottica a scansione a campo vicino (SNOM), che fornisce informazioni riguardo la morfologia e composizione dei materiali con risoluzione di alcuni nanometri. Inoltre, tutte le misure eseguite sulla melanina naturale saranno confrontate con analoghe misure eseguite su campioni di melanina sintetica, allo scopo di rivelare eventuali differenze dovute alla inevitabile presenza di proteine nella melanina naturale.

Infine, sarà realizzato anche uno studio della influenza di radiazione UV sulle proprietà chimico fisiche, mediante esposizione dei campioni di melanina a radiazione UV e ripetizione delle misure ottiche.

### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Dipartimento di Biochimica Medica e Biologia Medica, Sezione di Biologia Medica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Bari, Policlinico, Bari

### **prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

#### **1) pubblicazioni su riviste internazionali**

G. Perna, A. Gallone, V. Capozzi, P.F. Biagi, A. Fratello, G. Guida, P. Zanna e R. Cicero: "Optical spectra of melanin films extracted from *Rana esculenta L.*", *Physica Scripta*, in corso di stampa.

#### **2) abstract di congressi internazionali**

G. Perna, A. Gallone, V. Capozzi, P.F. Biagi, A. Fratello, G. Guida, P. Zanna e R. Cicero: "Optical spectra of melanin films extracted from *Rana*

*esculenta* L.", First International Meeting on Applied Physics, 13-18 ottobre 2003, Badajoz (Spagna).

V. Capozzi, A. Gallone, G. Perna, R. Cicero, G. Guida, P. Zanna, M. Ambrico, V. Augelli, P.F. Biagi, T. Ligonzo e L. Schiavulli: "Optical and photoelectronic properties of melanin films", E-MRS 2004 Spring Meeting, 24-28 maggio 2004, Strasburgo (Francia).

V. Capozzi, G. Perna, A. Gallone, G. Guida, P. Zanna e R. Cicero: "Optical spectroscopy of melanin films", XXVII European Congress on Molecular Spectroscopy, 5-10 settembre 2004, Cracovia (Polonia).

abstract di congressi nazionali

V. Capozzi, A. Gallone, G. Perna, R. Cicero, G. Guida, P. Zanna, M. Ambrico, V. Augelli, P.F. Biagi, T. Ligonzo e L. Schiavulli: "Optical and photoelectronic properties of melanin films", Conferenza Nazionale Fisica della Materia, 8-10 giugno 2004, Genova.

**Titolo:** Proprietà fisiche di film di semiconduttori depositati con la tecnica di Ablazione Laser

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

La crescita di film di semiconduttori con applicazioni in optoelettronica è normalmente effettuata con tecniche sofisticate e costose, quali MBE ed MOCVD. La tecnica di Ablazione Laser consente in alternativa di ottenere materiali di buona qualità facendo uso di apparati semplici e relativamente poco costosi. Fra i materiali semiconduttori, rivestono una particolare importanza i film drogati in quanto il processo di drogaggio fornisce la possibilità di far variare la concentrazione dei portatori e, quindi, le proprietà di assorbimento, emissione e trasporto elettrico. Pertanto, il controllo del processo di drogaggio fornisce la possibilità di progettare dispositivi con proprietà ottiche ed elettriche predeterminate.

**Obiettivi**

In collaborazione con l'Istituto di Metodologie Inorganiche e Plasmi del CNR di Tito Scalo (PZ), saranno depositati con la tecnica di Ablazione Laser film sottili di CdS drogati con Rame (Cu). Il drogaggio sarà realizzato inglobando, in modo controllato, atomi di Cu in varie concentrazioni nel reticolo di CdS

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Film di semiconduttori II-VI drogati di tipo n sono stati depositati su vari substrati mediante la tecnica di ablazione laser. In particolare, sono stati realizzati film di CdS:In e CdSe:Zn. Misure di diffrazione di raggi-X hanno evidenziato la natura policristallina dei film depositati; i grani cristallini crescono in fase esagonale, con una orientazione preferenziale lungo l'asse c. L'aumento della densità di drogaggio determina un allargamento dei picchi di diffrazione e, quindi, una diminuzione delle

dimensioni medie dei grani cristallini. Le misure di assorbimento ottico e di fotoluminescenza a varie temperature hanno evidenziato la presenza di transizioni banda-banda nei materiali drogati. In particolare, l'aumento della densità di drogaggio determina lo spostamento verso le alte energie della soglia di assorbimento, dovuto a fenomeni di degenerazione. Inoltre, si è notata una emissione di luminescenza apprezzabile fino a temperatura ambiente.

Lo studio delle proprietà strutturali e ottiche sarà esteso ai film semiconduttori drogati con Cu, con misure di diffrazione di raggi X, assorbimento e fotoluminescenza. Inoltre, su tali campioni saranno effettuate anche indagini morfologiche ad alta risoluzione mediante microscopia ottica a scansione a campo vicino (SNOM), allo scopo di ottenere informazioni riguardo la presenza di disomogeneità nanometriche e agglomerati microscopici, che caratterizzano i film ottenuti mediante la tecnica di ablazione laser

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Dipartimento Interateneo di Fisica, Università degli Studi di Bari, Bari.  
Istituto di Metodologie Inorganiche e Plasmi del CNR di Tito Scalo (Potenza).

Dipartimento di Fisica, Politecnico di Losanna (Svizzera).

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

**pubblicazioni su riviste internazionali**

G. Perna, V. Capozzi, M.C. Plantamura, A. Minafra, P.F. Biagi, M. Pallara, S. Orlando, V. Marotta e A. Giardini: "Structural and optical properties of ZnSe films deposited on crystalline Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> substrate by laser ablation technique", *Appl. Surf. Sci.* **208-209**, 582-588 (2003).

G. Perna, V. Capozzi, A. Minafra, M. Pallara e M. Ambrico: "Effects of the indium doping on structural and optical properties of CdSe thin films deposited by laser ablation technique", *Eur. Phys. J. B* **32**, 339-344 (2003).

G. Perna, V. Capozzi, M. Ambrico, V. Augelli, T. Ligonzo, A. Minafra, L. Schiavulli e M. Pallara: "Structural and optical characterization of undoped and indium doped CdS films grown by pulsed laser deposition", *Thin Solid Films* **453-454**, 187-194 (2004).

G. Perna, V. Capozzi, M. Ambrico, V. Augelli, T. Ligonzo, A. Minafra, L. Schiavulli e M. Pallara: "Structural and optical characterization of Zn doped CdSe films", *Appl. Surf. Sci.* **233**, 366-372 (2004).

**abstract di congressi internazionali**

G. Perna, V. Capozzi, M. Ambrico, V. Augelli, T. Ligonzo, A. Minafra, L. Schiavulli e M. Pallara: "Structural and optical characterization of undoped and indium doped CdS films grown by pulsed laser

deposition", E-MRS 2003 Spring Meeting, giugno 2003, Strasburgo (Francia).

G. Perna, V. Capozzi, P.F. Biagi, A. Minafra e M. Ambrico: " Temperature dependence of the optical properties of ZnSe films deposited on quartz substrate", E-MRS 2004 Spring Meeting, 24-28 maggio 2004, Strasburgo (Francia).

**abstract di congressi nazionali**

V. Capozzi, M. Ambrico, V. Augelli, P.F. Biagi, T. Ligonzo, A. Minafra, G. Perna, R. Piccolo, L. Schiavulli e A. Valentini: " Structural and optical characterization of Indium doped CdS films deposited by Laser Ablation technique", Conferenza Nazionale di Fisica della Materia, 23-25 giugno 2003, Genova.

**FISICA MEDICA - S.S.D. FIS/07 (Prof. Fratello)**

**Titolo:** Misure dei Campi Elettrici nell'uomo e modificazioni indotte nelle cellule.

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

L'uomo, così come tutta la materia vivente, può essere assimilato ad un grande e complesso circuito elettrico percorso da impulsi elettrici che, con i loro potenziali di azione, permettono la vita delle cellule e la funzione biochimica. Infatti sappiamo che in assenza di un particolare impulso elettrico ( potenziale di azione ), le cellule non sono in grado di far permeare la loro barriera di potenziale esterno. In tal modo si impediscono gli scambi tra interno ed esterno della cellula di quegli elementi, sotto forma ionica, che sono preposti alla vita ed alle funzioni della cellula. La trasmissione dei segnali elettrici biologici avviene prevalentemente lungo gli assoni mielinici ed amielinici oltre che lungo le fibre di cui sono composti organi ed apparati. Queste strutture si comportano come circuiti RC molto complessi nei quali i valori resistivi e capacitativi modificano le caratteristiche del segnale pulsato che li attraversa. Se il valore di resistività aumenta (condizioni di disordine) il segnale elettrico si riduce in ampiezza e di conseguenza, in casi limite, il potenziale di azione riduce la sua efficacia. Poiché ogni organo ed apparato ha una sua capacità caratteristica, modificando le frequenze impulsive di analisi si possono selezionare i vari organi ed apparati presenti nell'area sotto indagine in modo da valutare la funzionalità di quell'organo.

**obiettivi**

La nostra ricerca vuol dimostrare che l'aumento del valore di impedenza, ancor prima della modificazione anatomica per patologia conclamata, fornisce una informazione sul difetto di funzionamento di

organo ed apparato. Solo in seguito compaiono le prime modificazioni sugli studi funzionali con traccianti radioattivi, quindi, infine, si verificano le modificazioni strutturali che vengono diagnosticate dalle immagini radiologiche.

risultati conseguiti e/o attesi per il 2005 Abbiamo messo a punto le tecniche di acquisizione per una serie di segnali elettrici su individui sani. Questi segnali sono stati acquisiti con valori di capacità compresi tra 10 e 100 $\mu$ F. Si intende acquisire questi segnali per un gruppo di almeno dieci pazienti adulti suddivisi per sesso ciascun gruppo affetto dai seguenti tre tipi di patologie:

**Cutanee**

**Epatiche**

**Della mammella**

In questi tre apparati abbiamo già precedenti acquisizioni di segnali elettrofisiologici e patologici che ci hanno dato una serie di informazioni sulle differenze tra soggetti sani e patologici. La valutazione del danno la si intende effettuare sia confrontando i valori di resistenza su questi apparati, sia dalla valutazione di ampiezza dei segnali elettrofisiologici, sia su valori diversi della capacità che del rapporto tra due o più capacità. eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri Essenzialmente avremo collaborazione con centri che studiano le patologie degli organi ed apparati sopramenzionati con altre metodiche in modo da correlare i nostri risultati con quelli ottenuti con altre metodiche diagnostiche. La collaborazione più frequente è quella con reparti della Università di Bari. Stiamo cercando di poter entrare in una delle collaborazioni a livello europeo finanziate dalla CEE

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Gli attuali risultati non ci hanno permesso di poter effettuare pubblicazioni perché siamo ancora a livello di messa a punto della metodica e di acquisizione della strumentazione più idonea

**Titolo: Effetti delle Radiazioni su macrostrutture e strutture cellulari**

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

In questo campo portiamo avanti due linee di ricerca:

misure di dose al paziente su apparecchiature radiogene ad alta tecnologia.

Impiego di radiazioni ad alta energia per la modifica di strutture macromolecolari o cellulari

### **Obiettivi**

Nella prima linea di ricerca abbiamo già effettuato una serie di misure delle dosi ai pazienti per la esecuzione di esami CT del polmone con varie tecniche (alta risoluzione, alta risoluzione clinica, risoluzione standard, con spirale). Nel seconda linea di ricerca stiamo cercando di far sopravvivere delle cellule tumorali della mammella ponendole su strato cellulare omologo già irradiato con 80 Gy in unica soluzione

### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Nella prima linea di ricerca abbiamo già ottenuto risultati sulle dosi con le varie tecniche della CT del polmone evidenziando che le metodiche più recenti effettivamente portano ad una riduzione della dose al paziente. Siamo in attesa di valutare la dose anche con l'ultima tecnologia CT di multistrato (16 strati) su apparecchiature di recentissima acquisizione ed installazione. Nel seconda linea di ricerca abbiamo già verificato che le cellule omologhe del tumore della mammella, irradiate con 80 Gy, costituiscono un valido substrato per la sopravvivenza di cellule di un particolare tumore della mammella. Infatti a fronte di una sopravvivenza di alcuni mesi siamo riusciti a nutrire e far sopravvivere queste cellule per oltre un anno.

### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Nella prima linea di ricerca la collaborazione continua ad essere quella con il Dipartimento di Diagnostica per Immagini dell'Università di Napoli e con alcune SC di Diagnostica per Immagini di alcune grandi Aziende Ospedaliere pugliesi. Nella seconda linea di ricerca stiamo collaborando con la Clinica Medica dell'Università di Bari.

### **prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Nella prima linea di ricerca abbiamo già avuto una serie di pubblicazioni su riviste nazionali, e per ultimo nel 2003 la relazione al Convegno Nazionale ANPEQ di Giovinazzo. Nel seconda linea di ricerca stiamo in procinto di pubblicare i primi risultati. Il metodo di creare un substrato di sopravvivenza potrebbe costituire una forma di tecnica obbligatoria per molti altri studi analoghi.

Controllo di qualità e dose al paziente in Tomografia Computerizzata.

**AIF-SIRM** Corso di Aggiornamento: **Controlli di Qualità e dose Paziente in Radiologia. Torino 1996.**

Controllo di qualità e dose al paziente in Tomografia Computerizzata.

**SIRM: Controlli di Qualità in Radiologia.** Basi tecnologiche e riferimenti normativi **Palermo 1998.**

G.GUIDI, L.BRUNESE, A.FRATELLO, G.ANGELELLI, A.ROTONDO:  
Dosimetria TC spirale vs TC convenzionale del torace.. **XXXVIII Congr.Naz.SIRM, Milano 1998**

A.FRATELLO, V.CAPOZZI: Tecniche e tecnologia CT nella dose al paziente.

## **FISIOLOGIA - S.S.D. BIO/09 (Prof. Cibelli)**

**Titolo:** Effetto dell'esposizione a microonde sulla risposta apoptotica

**Descrizione della ricerca :**

### **premesse**

Il crescente interesse suscitato dall'impatto sulla salute dell'esposizione a campi elettromagnetici ha promosso studi epidemiologici diretti a stabilire correlazioni tra esposizione ed insorgenza di tumori, di disturbi della riproduzione ed alterazioni delle funzioni cognitive e comportamentali. Parallelamente, studi condotti su animali di laboratorio non hanno fornito convincenti indicazioni circa i meccanismi attraverso cui le radiazioni elettromagnetiche eserciterebbero il supposto effetto cancerogeno. Al contrario, studi condotti su modelli sperimentali, in vitro, indicherebbero che la cancerogenesi, conseguente ad esposizione a radiazioni elettromagnetiche, sarebbe attribuibile ad alterazioni dei meccanismi cellulari inerenti, rispettivamente, il trasporto del calcio, la comunicazione intercellulare, la proliferazione cellulare, la regolazione dell'attività trascrizionale.

### **obiettivi**

La presente ricerca, avvalendosi di competenze multidisciplinari, si propone di studiare l'effetto dell'esposizione della linea cellulare SH-SY5Y, derivata da un neuroblastoma umano, a radiazioni elettromagnetiche 900 MHz di frequenza e l'influenza che tali radiazioni hanno sull'attività indotta da differenti agenti proapoptotici.

### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Un effetto favorente la proliferazione cellulare è stato evidenziato a seguito di singola esposizione per brevi intervalli temporali compresi tra 5-10 min e SAR = 1 W/Kg. L'effetto proapoptogeno conseguente all'incubazione delle cellule SH-SY5Y con differenti agenti apoptogeni (etoposide, puromicina, donatori di NO) risulta essere significativamente ridotto, a seguito della contemporanea esposizione delle cellule ai campi elettromagnetici. Tale risultato indicherebbe un

effetto protettivo esercitato dai campi elettromagnetici sulla risposta apoptotica.

L'effetto proliferativo promosso dalle microonde implica l'induzione dell'espressione di RhoA, componente della superfamiglia delle proteine RAS. L'aumento dei livelli di espressione di RhoA correla con il transitorio aumento di espressione del fattore trascrizionale Egr-1, coinvolto nella regolazione della crescita e proliferazione neuronale, nonché ritenuto un potenziale fattore in grado di promuovere la trasformazione neoplastica in differenti popolazioni cellulari.

Gli studi attualmente in corso sono diretti a riconoscere i meccanismi intracellulari coinvolti nella trasduzione del segnale responsabile dell'aumentata attività trascrizionale di Egr-1.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Tale progetto si avvale del finanziamento MIUR PRIN 2002 e prevede la collaborazione con le seguenti Unità di Ricerca: i) Dipartimento di Scienze Mediche e del Lavoro, Università di Foggia; ii) Dipartimento Interateneo di Fisica, Università di Bari; iii) Dipartimento di Ingegneria Elettrotecnica ed Elettronica, Politecnico di Bari; iv) Istituto di Fisiologia Umana, Università Cattolica Sacro Cuore, Roma; v) ENEA, Roma.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Cibelli G., Soccio M., Zefferino R., Di Benedetta C. & Ambrosi L. *In vitro exposure of a neuroblastoma cell line to digital cellular phone fields: a possible balance between apoptosis and apoptosis resistance*. Fourth FENS Forum 2004, Lisbon, July 10-14 2004.

**Titolo:** Effetti dei campi elettromagnetici sul Profilo dell'espressione genica

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Il crescente sviluppo di sempre più avanzate e affidabili tecniche per lo studio della genomica funzionale, applicato alle principali funzioni cellulari, ha notevolmente accresciuto le conoscenze relative alla patogenesi delle malattie umane. Attualmente, la tecnica del microarray del DNA permette al ricercatore una simultanea analisi di centinaia, o anche migliaia di prodotti genici, consentendo non solo di apprezzarne le eventuali alterazioni relative all'espressione, ma anche di misurare e confrontare i livelli di espressione di gruppi di geni coespressi, in differenti popolazioni cellulari o stati funzionali della cellula. Una delle principali applicazioni di tale approccio metodologico riguarda lo studio

dei fattori di predittività di rischio biologico, conseguente all'esposizione ad agenti xenobiotici.

### **obiettivi**

Il presente programma di ricerca si propone di continuare gli studi già in corso, relativi all'effetto che le microonde hanno sulla sopravvivenza cellulare, sviluppando un peculiare aspetto, strettamente correlato, riguardante l'analisi dei cluster genici il cui Profilo di espressione risulti alterato a seguito della esposizione della linea cellulare di neuroblastoma umano SH-SY5Y a campi elettromagnetici nella banda di frequenza della telefonia mobile a 900 Mhz

### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

I dati che verranno analizzati riguardano i risultati, tuttora in corso di acquisizione, relativi agli esperimenti di microarray di cDNA, rappresentativi di circa 40.000 differenti trascritti genici umani (human 40K Array. MWG Germany).

I risultati attesi dall'insieme delle analisi condotte sul pattern di espressione genica, conseguente all'esposizione delle cellule SH-SY5Y alle microonde, consentirà di:

elaborare una lista di geni statisticamente affidabile;

organizzare differenti raggruppamenti di geni, associando ad essi informazioni biologiche provenienti da banche dati;

acquisire una serie di risultati biologici provenienti dalla validazione sperimentale.

Nel complesso, tali informazioni consentiranno di correlare i dati relativi all'incremento della proliferazione cellulare con il Profilo genico, al fine di predire l'eventuale coinvolgimento di geni responsabili della regolazione dei meccanismi molecolari che sottendono il ciclo cellulare, l'inibizione dell'apoptosi o la promozione della trasformazione cellulare neoplastica.

### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Tale progetto, presentato nell'ambito del Cofin. MIUR PRIN 2004, prevede la collaborazione con le seguenti unità di ricerca: i) Dipartimento di Scienze Mediche e del Lavoro, Università di Foggia; ii) Dipartimento di Farmacologia e Fisiologia Umana, Università di Bari; iii) Dipartimento interateneo di Fisica, Università di Bari; iv) Dipartimento di Ingegneria Elettrotecnica ed Elettronica, Politecnico di Bari; v) Istituto di Fisiologia Umana, università Cattolica Sacro Cuore, roma; vi) ENEA, Roma.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).**

**Titolo:** Correlati bioumorali e cardiovascolari indotti da stress psicosociale cronico.

**Titolo:** Crescita e differenziamento cellulare: effetti degli "stressors"

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Tra i fattori chimici ambientali una crescente serie di evidenze sperimentali suggeriscono che i radicali liberi dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto svolgono un ruolo centrale nella regolazione cellulare di numerosi processi fisio-patologici. Sebbene i ROS siano implicati in molte cascate di trasduzione del segnale, i bersagli molecolari potenzialmente responsabili nella regolazione dell'attività trascrizionale di quei geni coinvolti nel controllo della proliferazione cellulare e dell'apoptosi, non sono tuttora sufficientemente caratterizzati. La famiglia di fattori trascrizionali di mammifero, denominata ATF/CREB è rappresentata da differenti proteine basiche, a "cerniera di leucina", accomunate dalla proprietà di rispondere a differenti stimoli ambientali al fine di mantenere l'omeostasi cellulare. Tali proteine sono prevalentemente implicate nella regolazione di quei geni responsabili della risposta correlata allo stress

**obiettivi**

Il Progetto di ricerca coordinato intende sviluppare modelli biologici di correlazione causale tra alterazioni (croniche o acute) del metabolismo aerobio terminale, stress ossidativo e declino della capacità bioenergetica cellulare in condizioni fisiopatologiche. In particolare, il ruolo delle ROS verrà studiato nella cascata di trasduzione del segnale e il relativo potenziale transattivante esercitato dai fattori trascrizionali CREB e CREB2 nel controllo della morte cellulare per apoptosi, in una linea cellulare neuronale immortalizzata, manifestante il fenotipo dei neuroni settali differenziati. A tale fine sarà utilizzata la linea cellulare murina ibrida SN-56. In particolare, saranno utilizzati due subcloni generati mediante tecnica di infezione retrovirale, in grado di sovraesprimere stabilmente i fattori trascrizionali CREB e CREB2.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

La realizzazione della ricerca prevede la preliminare caratterizzazione delle subpopolazioni cellulari, precedentemente generate, mediante analisi western blotting, per la presenza dei prodotti genici sovraespressi. Si procederà quindi al dosaggio dei livelli di ROS, mediante misurazione fluorimetrica dell'incremento della diclorofluoresceina diacetato. La determinazione della produzione di anione superossido verrà effettuata secondo il metodo della riduzione del ferrocitocromo. Estratti proteici nucleari e cellulari verranno preparati dalle cellule al fine di eseguire le analisi western blotting

necessarie per il riconoscimento dell'attivazione delle proteine chinasi coinvolte nell'accoppiamento stimolo-trasduzione del segnale e del potenziale transattivante dei fattori trascrizionali CREB e CREB2. Infine, tali eventi verranno correlati alle variazioni di sopravvivenza cellulare indotte dalla generazione di ROS e dalla conseguente attivazione dei bersagli molecolari responsabili del controllo dell'apoptosi.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Il presente progetto di ricerca è finanziato con Fondi di Ateneo ex 60%, Esercizio 2004, e si avvale della collaborazione di Ricercatori afferenti al Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università di Foggia. La generazione delle linee cellulari transgeniche è stata effettuata presso il Dept. of Medical Biochemistry and Molecular Biology, University of Saarland Medical School, nell'ambito di una collaborazione intercorrente tra le due Istituzioni scientifiche.

**GENETICA MEDICA - S.S.D. MED/03 (Prof. Margaglione)**

**Titolo:** Individuazione di marcatori genetici in fenotipi complessi cardiovascolari e cerebrovascolari.

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

L'iperomocisteinemia e la dislipidemia sono noti fattori di rischio per malattia cardiovascolare e cerebrovascolare. Lo studio di alcune varianti geniche comuni nel gene della 5.10-MTHFR ha messo in evidenza dei polimorfismi che sono in grado di modulare l'espressione genica dello stesso e i livelli plasmatici di omocisteina sia in soggetti con pregresso infarto del miocardio che in soggetti normali. Tale effetto è modulato significativamente dalle concentrazioni plasmatiche di alcune vitamine (ac. Folico, B6 e B12).

**obiettivi**

Ci si propone di studiare in un campione di oltre 500 soggetti con pregresso infarto del miocardio e in un congruo numero di soggetti di controllo il ruolo di alcuni polimorfismi del gene della 5.10 MTHFR, in particolare del polimorfismo C677T, e la loro interazione con la concentrazione plasmatica di alcune vitamine nella modulazione dei livelli circolanti di omocisteina e nel determinare il rischio di ischemia miocardica.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Amitrano L, Guardascione MA, Brancaccio V, Margaglione M, Manguso F, Iannaccone L, Grandone E, Balzano A. Risk factors and clinical presentation of portal vein thrombosis in patients with liver cirrhosis. *J Hepatol.* 2004 May;40(5):736-41.

Margaglione M. Genetic studies in complex disease. *J Thromb Haemost.* 2004 Feb;2(2):343-4.

Konstantoulas C, Hawe E, Saut N, Yudkin JS, di Minno G, Margaglione M, Hamsten A, Humphries SE, Juhan-Vague I, Ireland H; HIFMECH Study Group. Common variants in the thrombomodulin gene as a risk for myocardial infarction in the north of Europe (HIFMECH Study). *Thromb Haemost.* 2004 Mar;91(3):628-30.

**Titolo:** Sindromi emorragiche eredo-familiari non neoplastiche: identificazione delle mutazioni e messa a punto di strategie diagnostiche molecolari

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

In collaborazione con i Centri per la cura e la terapia delle emofilie (AICE) abbiamo iniziato uno studio sistematico di tutti i pazienti con emofilia A. Tale malattia genetica è legata al cromosoma X ed è trasmessa con modalità recessiva. Perciò, le donne sono molto raramente affette da emofilia A, come anche da emofilia B. Esistono, infatti aneddotiche segnalazioni di donne con emofilia A o B grave.

Inoltre, in un campione di 30 soggetti con Trombastenia di Glanzmann, abbiamo dimostrato che una parte della variabilità fenotipica, in pazienti con la stessa mutazione genica o in gruppi di soggetti con mutazioni simili, p. es. delezioni o altre mutazioni che danno origine a alleli "null", è ascrivibile ad un polimorfismo, C807T, del gene della glicoproteina piastrinica alpha2

**Obiettivi**

Grazie alla possibilità di potere attingere ad un bacino di pazienti che si stima essere superiore alle 2000 unità, ci si propone di studiare le donne con emofilia severa per identificarne i meccanismi molecolari responsabili della patologia (inattivazione non casuale della X, nuova mutazione, mosaicismo germinale, etc.) e per stimare la frequenza degli stessi. Ci si propone di studiare il meccanismo mediante il quale il polimorfismo, C807T, del gene della glicoproteina piastrinica alpha2 modula l'espressività del fenotipo clinico della Trombastenia di Glanzmann. In particolare, ci si propone di verificare se cloni cellulari differenti trasfettati con costrutti normali e mutati abbiano un fenotipo

cellulare differente a seconda che siano cotrasfettati con i differenti alleli del gene della glicoproteina piastrinica alpha2

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

D'Andrea G, Margaglione M. Glanzmann's thrombasthenia: modulation of clinical phenotype by alpha2C807T gene polymorphism. *Haematologica*. 2003 Dec;88(12):1378-82.

**Titolo:** Caratterizzazione biochimica e funzionale di proteine mutanti

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

Varianti polimorfiche del gene del fattore V della coagulazione sono in grado di modulare l'espressione del gene stesso. In precedenza abbiamo dimostrato che il polimorfismo Asp79His è in grado di modulare il fenotipo determinato dalla mutazione FV Leiden. Accanto alle varianti geniche polimorfiche, è stato osservato che anche mutazioni sporadiche sono in grado di modulare il fenotipo FV Leiden. In parallelo, la caratterizzazione del difetto molecolare in soggetti con diatesi emorragica contribuisce alle conoscenze del ruolo svolto dai singoli domini proteici delle proteine coinvolte

**Obiettivi**

Ci si propone di caratterizzare con l'ausilio di metodologie di biologia molecolare, di biochimica classiche e di spettrometria di massa, l'effetto di mutazioni geniche individuate in pazienti con patologie emorragiche dovute a difetti di proteine della coagulazione, quali il Fattore VII della coagulazione. Inoltre, sarà studiato il ruolo funzionale di varianti geniche del fattore V della coagulazione sul fenotipo determinato dalla mutazione FV Leiden

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

D'Andrea G, Di Perna P, Brancaccio V, Faioni EM, Castaman G, Cibelli G, Di Minno G, Margaglione M. A novel G-to-A mutation in the intron-N of the protein S gene leading to abnormal RNA splicing in a patient with protein S deficiency. *Haematologica*. 2003 Apr;88(4):459-64.

Bossone A, Cappucci F, D'Andrea G, Brancaccio V, Cibelli G, Iannaccone L, Grandone E, Margaglione M. The factor V (FV) gene ASP79HIS polymorphism modulates FV plasma levels and affects the activated

protein C resistance phenotype in presence of the FV Leiden mutation. *Haematologica*. 2003 Mar;88(3):286-9.

Santacroce R, Cappucci F, Di Perna P, Sessa F, Margaglione M. Protein Z gene polymorphisms are associated with protein Z plasma levels. *J Thromb Haemost*. 2004 Jul;2(7):1197-9.

Asselta R, Bossone A, Iannaccone L, Duga S, Brancaccio V, Margaglione M. Rescue of activated protein C-resistance phenotype by cis-acting factor V Gly2032Asp mutation. *Haematologica*. 2004 Jun;89(6):761-2.

Di Perna P, Vecchione G, D'Andrea G, Scenna G, Brancaccio V, Margaglione M. Identification of six novel mutations in type I antithrombin deficient Italian families. *Haematologica*. 2004 Jan;89(1):117-8.

**Titolo:** Farmacogenomica: modulazione genica dei farmaci antitrombotici.

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

La terapia con anticoagulanti orali, p. es. coumarinici, è la strategia Profilattica di scelta per la prevenzione secondaria di eventi trombotici in diverse categorie di pazienti. La risposta dei singoli pazienti alla somministrazione dei coumarinici presenta un'ampia variabilità e una parte di tale differenza interindividuale è determinata geneticamente. In precedenza, abbiamo confermato il ruolo di varianti alleliche del gene del citocromo CYP2C9 nella risposta farmacologica ai coumarinici. La terapia antiaggregante è una scelta pressochè obbligata in soggetti a rischio per eventi ischemici cardiovascolari e cerebrovascolari. Si stima che almeno il 20% dei soggetti trattati con acidoacetilsalicilico sviluppi nel breve-medio termine una resistenza all'azione di tale farmaco. Esistono dati preliminari che suggeriscono un ruolo della componente ereditaria nello sviluppo di tale farmacoresistenza

**obiettivi**

Saranno presi in esame soggetti in terapia con anticoagulanti orali e pazienti in terapia antiaggregante allo scopo di identificare alterazioni geniche sporadiche o comuni in loci genici che si suppone possano avere un ruolo importante, quali proteine della coagulazione che sono influenzate dalla terapia con coumarinici (fattore II, fattore VII, etc.) e varianti polimorfiche di geni codificanti glicoproteine della membrana piastrinica (alpha2, alphaIIb, beta1, beta3, P2Y12).

**Titolo:** Danno epatico da esposizione prenatale al metilmercurio

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse:**

La ricerca fa parte di un più ampio studio sugli effetti dell'esposizione prenatale al metilmercurio (MeHg), che è stato già condotto nel Sistema Nervoso Centrale (SNC). Nonostante sia dimostrato che, oltre al SNC, uno dei principali target dell'inquinante ambientale MeHg sia il fegato, poco è noto circa le modificazioni cui questo organo va incontro a seguito di esposizione cronica a tale tossico e, in particolare, è molto in discussione un suo eventuale effetto cancerogeno.

**Obiettivi:**

Acquisire dati sugli effetti dell'intossicazione prenatale da metilmercurio sulle componenti cellulari ed extracellulari del fegato, in vivo, mediante indagini di microscopia ottica ed elettronica, al fine di stabilire se le eventuali alterazioni possano essere indicative di una attività epatotossica e/o di una potenzialità cancerogena del metilmercurio.

**Risultati acquisiti e/o attesi per il 2005.**

I risultati preliminari di osservazioni condotte al microscopio ottico sul fegato di embrioni di pollo trattati con MeHg indicano la presenza di alterazioni a carico degli epatociti e della matrice extracellulare e la comparsa di cellule solitamente presenti in caso di danno epatico molto grave (le cosiddette "cellule ovali"). Nel proseguimento della ricerca, che prevede indagini immunoistochimiche ed ultrastrutturali, anche a carico delle giunzioni intercellulari, ci si attende di confermare i risultati acquisiti, di definire il tipo di danno cellulare e di stabilire se un'alterazione della comunicazione intercellulare possa essere alla base del danno epatico.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri.**

Dipartimento di Anatomia e Istologia dell'Università di Bari.  
Fondazione S. Maugeri, IRCSS, Bari.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).**

"Effects of methylmercury on the microvasculature of the developing brain". Bertossi M, Girolamo F., Errede M., Virgintino D., Elia G., Ambrosi L., Roncali L. Neurotoxicology 2004 (in press).

**Descrizione della ricerca :**

**premesse:**

Il dimetilsolfossido (DMSO) è ampiamente utilizzato come solvente di sostanze non idrosolubili in studi di biologia cellulare, ma sono anche

dimostrate altre sue applicazioni sia in biologia che in medicina. Il DMSO esercita un'azione crioprotettiva su cellule, tessuti e organi, induce la differenziazione cellulare, protegge i tessuti dagli effetti dannosi di radiazioni ionizzanti, è usato in patologie urinarie per il suo effetto analgesico e, a seconda della concentrazione utilizzata, può indurre o impedire l'apoptosi. In un solo studio su trapianti di lembi cutanei si fa riferimento ad una probabile, ma non dimostrata, azione angiogenetica del DMSO.

**obiettivi:**

Trattando con DMSO a varie concentrazioni la membrana corioallantoidea (MCA) di embrioni di pollo, modello sperimentale molto utilizzato per studi sull'angiogenesi, si intende indagare l'azione del DMSO e verificarne l'eventuale effetto vasoproliferativo.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005:**

Ci si attende di poter dimostrare in vivo gli effetti del DMSO su vari tipi cellulari, considerando che la MCA è costituita da due epiteli che racchiudono mesenchima vascolarizzato, e di accertare se il DMSO esercita anche un'attività angiogenetica.

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri:**

Dipartimento di Anatomia e Istologia dell'Università di Bari.  
Fondazione S. Maugeri, IRCSS, Bari.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti).**

**METODI E DIDATTICHE DELLE ATTIVITÀ MOTORIE - S.S.D. M-EDF/01 (Prof. Colella)**

**Titolo:** Attività motorie e composizione corporea nell'età evolutiva

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Nei Paesi più avanzati le persone in sovrappeso, obese e sedentarie, costituiscono la stragrande maggioranza degli individui. La crescente diffusione del benessere economico e delle tecnologie sono, prevalentemente, le cause storico-sociali, ormai condivise, di quella sindrome da mancato o ridotto esercizio fisico denominata "ipocinesi" (AA.VV., 1984; 1987; 1991; CONI-IEI, Roma; Silvij, S., 1988). Il fenomeno diviene particolarmente preoccupante nella misura in cui coinvolge soggetti in età evolutiva. Il grado di interessamento delle strutture organiche implicate comprende una vasta gamma di quadri paramorfici

che, durante l'età prepuberale e puberale, non riguardano unicamente difetti di portamento o atteggiamenti posturali non corretti. I paramorfismi riguardano, infatti, non solo gli apparati muscolo-scheletrico, cardiocircolatorio, muscolare ma anche le cosiddette disfunzioni metaboliche che possono essere fattori predisponenti di malattie degenerative quali l'obesità, il diabete, l'ipertensione che interessa, non solo nel nostro Paese, un numero in continua crescita di ragazzi e ragazze (Caldarone, G., 1994; Garn, S., et al., 1985; Giovannini, M. et al., 1986; Fredman, D.S., et al. 1987; Bazzano, C., et al., 1988).

La problematica del rapporto tra composizione corporea ed esercizio fisico nell'età evolutiva, determina da parte di ciascun Paese, europeo ed extraeuropeo, la predisposizione di azioni politico-educative diversificate coinvolgenti operatori di diversi settori, sanitari e socio-educativi, per la divulgazione dei benefici dell'esercizio fisico, l'analisi dei rapporti tra ipocinesi e alterazioni funzionali e dei rapporti tra abitudini alimentari, stili di vita e la pratica di attività motorie. Affrontando il tema delle relazioni tra attività fisica ed obesità è dimostrabile che l'inattività risulta essere un fattore determinante nella genesi dell'obesità. Allo scopo di adottare misure preventive comuni nei Paesi dell'UE, sono state diffuse le Raccomandazioni n. R (87) 9 che prevedono l'adozione dei Test Eurofit finalizzati a valutare sistematicamente l'efficienza fisica dei ragazzi in età scolare tra i 6-7 anni ed i 16-18 anni, assicurando un protocollo comune ed un coordinamento tra tutte le parti interessate dei dati rilevati

#### **obiettivi**

analizzare le differenze tra soggetti praticanti e non praticanti attività motorie e sportive in relazione a capacità motorie, variabili staturponderali, composizione corporea (percentuale di massa grassa);

confrontare l'evoluzione delle capacità motorie (forza rapida, rapidità), nei due sessi, in soggetti praticanti e non praticanti attività motorie di età compresa tra gli 8 e gli 11 anni;

analizzare e confrontare l'evoluzione delle capacità motorie, delle variabili staturponderali e della composizione corporea nelle fasce d'età 8 - 11 anni in soggetti praticanti e non praticanti;

confrontare l'evoluzione delle capacità motorie, delle variabili staturponderali e della composizione corporea tra praticanti sport individuali e sport di squadra durante il quadriennio;

determinare l'incidenza della pratica motoria sistematica sull'evoluzione delle capacità motorie e sulla composizione corporea (percentuale di massa) confrontare le abitudini alimentari ed il BMI (Body Mass Index) dei soggetti praticanti e non praticanti.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005 eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri** USR – Ufficio Scolastico Regionale

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

**Anno 2003**

Colella, D. (2003), **Sport individuali e autovalutazione**, in “Scuola e Didattica”, 10, 1° Febbraio 2003, p. 68.

Sannicandro, I., Colella, D. (2003), **Potenza aerobica e calciatori in età evolutiva: le evidenze scientifiche**, in Teknosport, 26, Mar.-Apr., pp. 21-28.

Colella, D. (2003), **Orienteering e sport per tutti**, in “Scuola e Didattica”, 12, 1° Marzo 2003, p. 84.

Colella, D., Cicogna, C., Perla, L. (2003), **Per un sapere transdisciplinare – 2 Relazionalità**, in: Scuola e Didattica, 1, 1° settembre 2003, pp. 27-30.

Colella, D. (2003), **Espressività e comunicazione motoria**, in Scuola e Didattica, 2, 15 settembre, p. 46.

Colella, D. (2003), **Giocare e cooperare**, in Scuola e Didattica, 3, 1° ottobre, p.40

Colella, D. (2003), **Attività motorie e funzioni organiche**, in: Scuola e Didattica, 1° novembre, p.42.

Colella, D. (2003), **Competenze motorie e Processo di Valutazione – Finalità e Metodi della valutazione nella Didattica delle Attività motorie per l'età evolutiva** – Pensa Multimedia, Lecce 2003.

Colella, D., Morano, M. (2003), **L'evoluzione delle capacità motorie nell'età puberale** – *Analisi descrittiva riferita ad una popolazione scolastica* – in Colella, D., *Competenze motorie e Processo di valutazione*, Pensamultimedia, Lecce 2003, pp. 187-250.

**Anno 2004**

Colella, D. (2004), **Piccoli attrezzi e coordinazione motoria**, *Scuola e Didattica*, 8, Gennaio, p. 42.

Colella, D., Rosa A. Rosa (2004), **L'attività fisica adattata nella scuola: quali fondamenti epistemologici ?** *Scuola e Didattica*, 9, pp.48; 65-67

Colella, D. (2004), **Abilità Motorie e autovalutazione**, *Scuola e Didattica*, 10, Marzo, p. 41

Colella, D., Rosa A. Rosa (2004), **L'attività fisica adattata nella scuola**. Percorsi didattici, *Scuola e Didattica*, 11, pp. 45-48.

Colella, D. (2004), **Attività motorie, alimentazione e benessere**, in *Scuola e Didattica*, 13, 15 marzo, pp. 84-88.

Colella, D. (2004), **I Giochi di squadra**, in *Scuola e Didattica*, 14, 1° aprile p. 44.

Colella, D. (2004), **Attività motorie e crescita della persona**, in *Scuola e Didattica*, 18/19, Giugno-Luglio, pp. 58-63.

Colella, D., Rosa, A., Rosa (2004), **Motor competences and the person development**, Bulletin F.I.E.P., Fédération Internationale d'Éducation Physique, 4 (in stampa).

Colella, D., Rosa, A. R, Sannicandro, I., Morano, M., **Motor competences and the person development** - F.I.E.P. Congress - Serbia 2-5 sept. 2004 - Lavoro accettato.

Colella, D. (cur.), **Studi e Ricerche in Scienze delle Attività Motorie e Sportive**, PensaMultimedia, Lecce 2004, in stampa.

## NEFROLOGIA - S.S.D. MED/14 (Prof. Gesualdo)

**Titolo:** Utilizzo delle cellule dendritiche di derivazione monocitica e staminale per la cura del cancro.

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Le cellule dendritiche sono le più potenti "antigen presenting cells" e svolgono un ruolo centrale nella regolazione, maturazione e mantenimento della risposta immune cellulare contro patogeni e antigeni tumorali. Con il presente studio si intende sviluppare un nuovo protocollo di immunoterapia, per il trattamento del cancro, utilizzando cellule dendritiche e staminali, trattate con estratti tumorali, peptidi sintetici o corpi apoptotici. Pertanto, il progetto si pone come obiettivo finale lo sviluppo di vaccini per la cura del cancro

**obiettivi**

Preparazione di vaccini anticancro

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Isolamento di linea tumorale antigenica da utilizzare nei protocolli di vaccino terapia

-standardizzazione dei metodi di attivazione delle cellule dendritiche

-valutazione del Profilo immunologico dei pazienti affetti da carcinoma renale

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Il progetto (sperimentale di base: sviluppo vaccino) sarà coordinato da Foggia dal Prof. L. Gesualdo e sarà svolto in collaborazione con i gruppi di ricerca del Prof. F.P.Schena/Dott.ssa E.Ranieri, Prof. V.Memeo/Prof. L.Lupo e Prof. F.P.Selvaggi/Prof. M.Battaglia (Università di Bari). Inoltre, sarà coinvolta l'Università di Pittsburgh, USA con i laboratori di immunoterapia dei Proff. W.J.Storkus e A.Gambotto dove attualmente lavora una dottoranda, la dott.ssa A.Montecalvo dell'Unità di ricerca del Prof. Gesualdo.

Il progetto (sperimentale applicativo: trial clinico) sarà coordinato da Bari dall' IRCCS (Istituto Oncologico: resp. Dott.ssa D.Casamassima) e sarà svolto in collaborazione con i gruppi di ricerca del Prof. L.Gesualdo (Università di Foggia), Prof. F.P.Schena/Dott.ssa E.Ranieri e Prof. F.P.Selvaggi/Prof. M.Battaglia (Università di Bari), IRCCS Bari (Dott. M.Guida), IRCCS Forlì (Dott. R.Ridolfi/Dott.ssa Riccobon), Centro Ricerca Sperimentale, Istituto Fitoterapico Ospitaliero Roma (Prof. Natali).

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Doerrsckuck A, Schmidt A, Schnuerer E, Glueckmann M, Albrecht C, Woelfel C, Lennerz V, Lifke A, Di Natale C, Ranieri E, **Gesualdo L**, Huber C, Karas M, Woelfel T, Herr W. CD8+ cytotoxic T lymphocytes isolated from allogeneic healthy donors recognize HLA-class Ia/Ib-associated renal carcinoma antigens with ubiquitous or restricted tissue expression. *Blood* 2004 Jul 1 [Epub ahead of print]

Tatsumi, L. S. Kierstead, E. Ranieri, **L. Gesualdo**, F.P. Schena, J.H. Finke, R.M. Bukowski, V. Brusic, J. Sidney, A. Sette, T.F. Logan, Y.L. Kasamon, J.M. Kirkwood, W. J. Storkus. MAGE-6 encodes HLA-DR1\*0401-presented epitopes recognized by CD4+ T cells from patients with melanoma or RCC. *Clin Cancer Res* 9: 947-954, 2003

Da brevettare: linea cellulare RCC BA-85.

**Titolo:** Meccanismi patogenetici della fibrosi renale

**Descrizione della ricerca :**

**Premesse**

Le malattie a carattere infiammatorio cronico e ad evoluzione fibro-sclerotica, quali l'aterosclerosi, le nefropatie sclerotiche, la fibrosi polmonare, la cirrosi epatica, e le pancreatiti croniche rappresentano una delle principali cause di morbilità e mortalità, soprattutto nel mondo occidentale. Pur nella diversità dell'etiologia, delle modalità di presentazione clinica, del decorso e della causa di morte, queste patologie condividono alcuni aspetti patogenetici, riconducibili all'attivazione di processi biologici di risposta al danno e diretti alla riparazione tessutale. Al momento attuale una particolare attenzione viene rivolta alla cosiddetta "progressione della lesione", cioè a quell'insieme di meccanismi "proinfiammatori" che, indipendentemente dalla causa iniziale del danno e del tessuto sede del danno stesso, sono responsabili della perdita delle finalità proprie del meccanismo generale di "wound-healing" e della conseguente evoluzione fibro-sclerotica della malattia. Questi meccanismi seguono "cascate" di innesco e di perpetuazione con caratteristiche simili in tutti i tessuti. L'approccio

interdisciplinare, mediante coinvolgimento di alcuni gruppi di ricerca dell'Università di Foggia e di altre Università Italiane si propone di utilizzare modelli cellulari tipici della fisiopatologia pro-fibrogenerica del fegato, dei vasi e del rene ed indagare alcuni meccanismi in comune tra le diverse patologie d'organo. Questa ricerca si propone di sviluppare strategie farmacologiche e biotecnologiche per il trattamento della maggior parte di questo tipo di affezioni diagnosticate in una fase in cui i meccanismi di "progressione della lesione" sono già ampiamente attivati.

### **Obiettivi**

Sviluppare un kit diagnostico/prognostico con riflessi di tipo terapeutico da poter brevettare per l'outcome delle malattie fibrotiche.

### **risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Valutazione del Profilo immunologico dei pazienti affetti da glomerulonefriti primitive e secondarie

Valutazione del ruolo patogenetico dei recettori del PRA!, PAR -2, del PDGF recettore, del C3, del MCP-1 nella fibrosi renale

### **eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Nell'ambito del progetto Caratterizzazione e modulazione dei meccanismi pro-infiammatori della fibrosi renale (PRIN 2002-MIUR)

Ricerca coordinata dal Prof. L.Gesualdo (Università di Foggia), svolta in collaborazione con i Proff. A.Onetti Muda (Università di Roma), M.Serio (Università di Firenze), A.Dal Canton (Università di Pavia), Antonello (Università di Padova).

Nell'ambito del progetto: Caratterizzazione e modulazione dei meccanismi pro-infiammatori della fibrosi d'organo (Fondazione Cassa di Risparmio di Puglia).

Ricerca coordinata dai Proff. L.Gesualdo e A.DelNobile, svolta in collaborazione con i Proff. della Facoltà di Medicina della A.O.U. "OO.RR." di Foggia (Proff. L.Gesualdo, A.Iolascon, G.Vendemiale, E.G.Ierardi, M.Cignarelli, M.Margaglione), i Proff. della Facoltà di Agraria di Foggia (Proff. A.Del Nobile, D.Centonze, A.Sevi, M.Sinigaglia) ed i Proff. della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Bari (Prof. G.Grandaliano/ Dott.ssa E.Ranieri).

### **prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Pontrelli P, Ranieri E, Ursi M, Ghosh-Choudhury G, **Gesualdo L**, Paolo Schena F, Grandaliano G. jun-N-terminal kinase regulates thrombin-induced PAI-1 gene expression in proximal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 65:2249-61, 2004.

Stallone G, Di Paolo S, Schena A, Infante B, Battaglia M, Ditonno P, **Gesualdo L**, Grandaliano G, Schena FP. Addition of sirolimus to

cyclosporine delays the recovery from delayed graft function but does not affect 1-year graft function. *J Am Soc Nephrol* 15:228-33, 2003.

Grandaliano G, Pontrelli P, Cerullo G, Monno R, Ranieri E, Ursi M, Loverre A, **Gesualdo L**, Schena FP. Protease-activated receptor-2 expression in IgA nephropathy: a potential role in the pathogenesis of interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 14: 2072-2083, 2003.

Stallone G, Di Paolo S, Schena A, Infante B, Grandaliano G, Battaglia M, **Gesualdo L**, Schena FP. Early withdrawal of cyclosporine A improves 1-year kidney graft structure and function in sirolimus-treated patients. *Transplantation* 75:998-1003, 2003.

**Titolo:** Progressione del danno renale e suscettibilità genetica

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Lo scopo principale di questo progetto è la valutazione del ruolo di specifici polimorfismi genici di citochine proinfiammatorie e antiinfiammatorie (IFN-g, TNF-a, IL-10, TGF-b1) nel determinare una condizione di suscettibilità nei confronti della terapia (corticosteroidi o ACE-inibitori/sartanici), in funzione della stretta correlazione con i livelli sierici delle citochine stesse e il tipo di glomerulonefrite.

Saranno perseguiti i seguenti obiettivi:

Valutazione del ruolo genetico delle citochine proinfiammatorie IFN-g e TNF-a

Valutazione del ruolo genetico di citochine antiinfiammatorie IL-10 e TGFb1

**obiettivi**

L'obiettivo finale è quello di sviluppare un kit diagnostico/prognostico con riflessi di tipo terapeutico da poter brevettare per l'outcome delle glomerulonefriti.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

In corso

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Ricerca coordinata dal Prof. L.Gesualdo (Università di Foggia), svolta in collaborazione con i Proff. A.Iolascon e M.Margaglione (Università di Foggia).

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Schena FP, D'Altri C, Cerullo G, Manno C, Gesualdo L. ACE gene polymorphism and IgA nephropathy: An ethnically homogeneous study and a meta-analysis. *Kidney Int* 60:732-40, 2001.

**Titolo:** Profilo genico della nefropatia diabetica

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

La nefropatia diabetica costituisce una delle principali cause di morbilità e mortalità del diabete mellito (DM). Essa è attualmente la causa più frequente di insufficienza renale terminale e contribuisce per il 30-40% alla quota di pazienti che necessitano di terapia dialitica. Attualmente, la maggioranza degli studi tesi a comprendere le basi molecolari della nefropatia diabetica è focalizzata sullo studio delle modificazioni funzionali e strutturali a livello glomerulare e dell'area tubulo-interstiziale. Infatti, il danno glomerulare e tubulo-interstiziale correla con gli indici di funzionalità renale e determina l'outcome clinico. Le informazioni disponibili nell'uomo sui sistemi genici e sulle vie del segnale intracellulare attivate nella nefropatia diabetica sono al momento frammentarie

**obiettivi**

Identificazione e la caratterizzazione dei numerosi geni coinvolti nella risposta infiammatoria e nei fenomeni di apoptosi indotti dallo stress iperglicemico, raffrontati al Profilo genico del rene normale in condizioni di normoglicemia;

Valutazione dell'attivazione delle vie di trasmissione del segnale intracellulare nelle cellule tubulari, glomerulari e vascolari, sottoposte a stress glicemico;

Sviluppo di un kit diagnostico/prognostico con riflessi di tipo terapeutico da poter brevettare per l'outcome delle malattie fibrotiche.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Progetto in corso

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Nell'ambito del progetto "Studio del Profilo Genico nella nefropatia diabetica" (Cofinanziamento FIRB MIUR):

Progetto coordinato dal Prof. L.Gesualdo (Università di Foggia) e svolto in collaborazione con i gruppi di ricerca del Prof. F.P.Schena/Prof. G.Grandaliano, Prof. F.Giorgino/Prof. M.Cignarelli.

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Strippoli GF, Di Paolo S, Cincione R, Di Palma AM, Teutonico A, Grandaliano G, Schena FP, Gesualdo L. Clinical and therapeutic aspects of diabetic nephropathy. J. Nephrol. 16: 00-00, 2003 (in press) (Impact Factor 2002: 0,971).

**Titolo:** Meccanismi molecolari della sindrome IMA (infiammazione, malnutrizione, aterosclerosi) in emodialisi. ruolo delle membrane dialitiche

**Descrizione della ricerca :**

**premesse**

Le patologie cardiovascolari rappresentano la prima causa di mortalità in emodialisi (ED). Studi recenti dimostrano che l'infiammazione, spesso osservata in ED, può essere associata alla malnutrizione ed all'aterosclerosi (sindrome IMA). E' ormai chiaro che la risposta immune, sia innata che acquisita, è la causa principale dell'infiammazione caratteristica dell'aterosclerosi. Numerosi studi suggeriscono l'attivazione dell'immunità innata nell'ED bioincompatibile, ma poco è noto sulla capacità delle membrane di modulare l'immunità acquisita in ED. Inoltre, non vi è alcuna prova definitiva che migliorando la biocompatibilità della membrana si possa ridurre l'incidenza di aterosclerosi. In considerazione delle somiglianze istologiche tra lesione aterosclerotica e stenosi della fistola artero-venosa (FAV), quest'ultima può essere considerata un modello ideale per valutare le relazioni esistenti tra il milieu dialitico e lo sviluppo di aterosclerosi.

E' previsto l'arruolamento di 120 pazienti (>18 anni) stabilmente in ED da almeno 12 mesi con la stessa membrana, suddivisi in due gruppi in base alla membrana dialitica, cellulosa modificata o sintetica, e stratificati per età dialitica. Il riscontro di BMI>25, patol. infiammatorie, neoplasie, diabete ed epatopatie rappresentano criteri di esclusione. Il periodo di osservazione previsto è di 20 mesi. End-point primari sono: mortalità e morbilità cardiovascolare. End-point secondari sono: infiammazione (PCR elevata), malnutrizione (riduzione>10% del BMI), aterosclerosi (aumento>10% dello spessore intima-media della carotide comune).

**obiettivi**

Valutare in modo prospettico se l'uso di una membrana biocompatibile possa modulare l'attivazione dell'immunità innata ed acquisita e migliorare la sindrome IMA in ED.

Definire i meccanismi molecolari alla base dell'infiammazione e correlarli con lo sviluppo dell'aterosclerosi.

**risultati conseguiti e/o attesi per il 2005**

Progetto in corso

**eventuale collaborazione con altri enti o istituti di ricerca italiani ed esteri**

Nell'ambito del progetto "Meccanismi molecolari della sindrome IMA (infiammazione, malnutrizione, aterosclerosi) in emodialisi. ruolo delle membrane dialitiche" (PRIN 2003)

Progetto coordinato dal Prof. G.Grandaliano (Università di Bari) e svolto in collaborazione con i gruppi di ricerca del Prof. G.Pertosa (Università di Bari), Prof. L.Gesualdo (Università di Foggia), Prof. B.Memoli (Università di Napoli) e Prof. M.Bonomini (Università di Chieti).

**prodotti della ricerca già conseguiti a partire dal 2003 (pubblicazioni, abstracts, brevetti)**

Grandaliano G, Teutonico A, Allegretti A, Losappio R, Mancini A, Gesualdo L, Schena FP, Pertosa G. The role of hyperparathyroidism, erythropoietin therapy, and CMV infection in the failure of arteriovenous fistula in hemodialysis. *Kidney Int* 64:715-719, 2003.