

S.S. Biopolimeri e Proteomica

Sviluppo di metodi per l'analisi multi-risoluzione e definizione di modelli strutturali/funzionali di proteine coinvolte nell'interazione cellula-matrice extracellulare, nella coagulazione del sangue, nelle metastasi tumorali e nell'angiogenesi

Linea di ricerca: 2 - Interazioni Tumore-Ospite

Programma: a – Ruolo del microambiente tumorale nella progressione neoplastica

Responsabile scientifico: Mattia Rocco

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: angiogenesi; struttura delle proteine; modelli idrodinamici; integrine; fibrinogeno; SAXS (small-angle x-ray scattering)

Altre strutture IST partecipanti: S.C. Nanobiotechnologie (C. Rosano)

Altri Enti coinvolti: University of Glasgow, Glasgow, UK (O. Byron); University of Nottingham, Nottingham, UK (S. Harding); EMBL-Hamburg, DE (M. Roessle); The Burham Institute, La Jolla, Ca, USA (N. Volkmann); University of Texas at San Antonio, USA (B. Demeler), University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA (S. Lord)

Tipologia progetto: tecnologie abilitanti

Area di interesse: descrittiva a fini conoscitivi

Background

L'interazione cellula-matrice extracellulare ha un ruolo fondamentale in molti processi fisiologici ed associate patologie, tra cui l'invasione e la migrazione di cellule tumorali metastatizzanti e l'angiogenesi. Tra le proteine coinvolte nell'interazione cellula-matrice extracellulare e nell'angiogenesi ci sono fibrinogeno/fibrina e le integrine alfaIIb-beta3 (GPIIb-IIIa) e alfav-beta3. Di queste proteine non sono disponibili strutture ad alta risoluzione dell'intera molecola, ma solo di moduli o domini anche estesi, a volte provenienti da varie molecole omologhe. Questa mancanza impedisce una comprensione più approfondita dei meccanismi che regolano le interazioni tra recettori cellulari e proteine della matrice, un aspetto fondamentale per esempio per poter sviluppare farmaci selettivi.

In precedenti progetti abbiamo cominciato a costruire modelli di queste proteine attraverso l'uso congiunto di tecniche ad alta e bassa risoluzione, utilizzando anche una serie di programmi al calcolatore da noi sviluppati. In particolare, le proprietà idrodinamiche e conformazionali in soluzione delle proteine misurate tramite tecniche di diffusione della luce, di velocità di sedimentazione all'ultracentrifuga analitica (AUC) e di viscosimetria, possono essere confrontate con quelle calcolate a partire da modelli ad alta risoluzione utilizzando il programma SOMO (Rai et al., Structure, 13, 723-734, 2005) ed il sistema BEAMS (Spotorno et al., Eur. Biophys. J. 25, 373-384, 1997). Il programma SOMO (SOLUTION MOdeller) genera modelli a media risoluzione di proteine a partire dalla loro struttura tridimensionale, mentre BEAMS calcola i parametri dei modelli. I vari modelli vengono generati a partire da strutture tridimensionali ad alta risoluzione adattate in mappe a minor risoluzione derivate da microscopia elettronica o small-angle X-ray scattering (SAXS). Più recentemente, questi programmi sono stati ricodificati all'interno di un pacchetto software per l'analisi di dati di AUC molto utilizzato, UltraS can (US), grazie ad una nuova collaborazione con il Prof. B. Demeler dell'University of Texas at San Antonio, USA. Una versione di base di SOMO (US-SOMO) è già perfettamente funzionale ed operante attraverso una sofisticata graphical user interface (GUI), e nuovi sviluppi sono previsti a breve anche all'interno di questo progetto.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

- Sviluppare e rifinire modelli del fibrinogeno e delle integrine alfa-v beta3 e alfa-IIb beta3, in modo che i parametri calcolati per ciascun modello siano il più possibile in accordo con i dati sperimentali. I modelli ottenuti per le singole proteine saranno poi impiegati per lo studio delle loro interazioni, applicando la stessa metodologia, con l'obiettivo di definire un modello del complesso e dei cambi conformazionali necessari a formarlo. Questi modelli saranno di utilità per lo sviluppo di farmaci mirati a modulare od impedire le interazioni tra queste proteine in diversi scenari biologici, quali la coagulazione del sangue e l'angiogenesi.

- Sviluppare ulteriormente il programma US-SOMO in modo da renderlo in grado di calcolare i parametri idrodinamici e conformazionali di proteine anche per strutture che presentano regioni di flessibilità, spesso molto importanti dal punto di vista funzionale, e che non sono al momento trattabili con accuratezza. Inoltre, nel programma verrà incluso un nuovo modulo in grado di simulare i dati di SAXS a partire da una struttura tridimensionale, e di variane la conformazione fino a raggiungere un buon accordo con i dati sperimentali. La tecnica SAXS è sempre più utilizzata per studiare complessi tra proteine e proteine/DNA, ed il nuovo modulo aumenterebbe decisamente le capacità di US-SOMO.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Non si prevede un impatto assistenziale a breve termine.

Consuntivo 2009 - Programmazione 2010

Risultati e prodotti 2009

Notevoli miglioramenti sono stati apportati al software US-SOMO (UltraScan SOLUTION MOdeler, scaricabile dal sito <http://www.ultrascan.uthscsa.edu/>), descritti in un manoscritto sottomesso a dicembre 2009 (Brookes, Demeler and Rocco, Developments in the US-SOMO Bead Modeling Suite: New Features in the Direct Residue-to-Bead Method, Improved Grid Routines, and Influence of Accessible Surface Area Screening, submitted to Macromolecular Biosciences). L'interfaccia grafica è stata completamente ri-disegnata, rendendola molto più semplice, e nuove funzionalità sono state introdotte, come il calcolo della funzione di distribuzione delle distanze da comparare con dati di SAXS o SANS e la possibilità di approssimare residui con parti mancanti o non ancora codificati dal programma.

Nuovi modelli sono stati sviluppati per l'integrina alfa-IIb beta3, basati sui più recenti dati cristallografici e NMR. I parametri in soluzione di questi modelli sono stati calcolati con US-SOMO e confrontati con i dati storici e con nuovi dati appena pubblicati di SANS e di velocità di sedimentazione all'ultracentrifuga, permettendo di discriminare ulteriormente tra vari modelli proposti. Un manoscritto che contiene questi nuovi dati verrà risottomesso a breve al FEBS Journal.

Per quanto riguarda il fibrinogeno, abbiamo appena pubblicato un nuovo lavoro contenente una caratterizzazione completa, idrodinamica, conformazionale e di spettrometria di massa, della molecola intatta e del suo frammento proteolitico frammento X (Cardinali et al., Arch. Biochem. Biophys. Epub Oct 22, 2009). Questi dati verranno utilizzati per raffinare ulteriormente i modelli per il fibrinogeno nativo attualmente in fase di sviluppo.

Pubblicazioni

Brookes E.-Demeler B.-Rosano C.-Rocco M.

The implementation of SOMO (SOLUTION MOdeller) in the UltraScan analytical ultracentrifugation data analysis suite: enhanced capabilities allow the reliable hydrodynamic modeling of virtually any kind of biomacromolecule.

Eur. J. Biophys. Epub Feb 21, 2009

Cardinali B.-Profumo A.-Aprile A.-Byron O.-Morris G.-Harding S.E.-Stafford W.S.-Rocco M. Hydrodynamic and mass spectrometry analysis of nearly-intact human fibrinogen, chicken fibrinogen, and of a substantially monodisperse human fibrinogen fragment X

Arch. Biochem. Biophys. Epub Oct 22, 2009

Cölfen H.-Laue T.N.-Wohlleben W.-Schilling K.-Karabudak E.-Langhorst B.W.-Brookes E.-Dubbs B.-Zollars D.-Rocco M.-Demeler B.

The Open AUC Project.

Eur. J. Biophys. Epub Mar 19, 2009

Attività previste e risultati attesi nel 2010

Verrà ulteriormente proseguito lo sviluppo del software US SOMO. Tra gli sviluppi previsti vi sono la capacità di simulare curve derivate da misure di SAXS e SANS, e un modulo per il calcolo della dinamica Browniana per lo studio dell'idrodinamica di strutture flessibili.

Per quanto riguarda lo studio del fibrinogeno, ci è stato allocato del tempo macchina a maggio 2010 presso il sincrotrone SOLEIL a Parigi, dove contiamo di fare misure di SAXS sul fibrinogeno praticamente intatto, e su varie specie ricombinanti (coll. con S. Lord e B. Cardinali, UNC-Chapel Hill, NC, USA) che includono un frammento X di composizione ben precisa, e due mutanti che non sono in grado di polimerizzare dopo attivazione con trombina. Questo ci permetterà di studiare i cambi conformazionali che avvengono sul fibrinogeno a seguito di attivazione. Ci attendiamo quindi di ottenere un modello dettagliato per la struttura del fibrinogeno in soluzione.

Lo sviluppo di modelli per l'integrina alfa-IIb beta 3 proseguirà tenendo in considerazione eventuali nuovi dati che appariranno in letteratura. Non si esclude di attivare nuove collaborazioni volte a studiare direttamente, specialmente con misure al sincrotrone, le interazioni integrina-fibrinogeno.

Studi di proteomica per l'identificazione di profili di rischio individuale nel paziente neoplastico e preneoplastico

Linea di ricerca: 3 - Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: a - Definizione del profilo di rischio individuale in pazienti con neoplasia in fase iniziale o avanzata

Responsabile scientifico: Aldo Profumo

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Mattia Rocco, Anna Aprile

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: melanoma uveale; mastopatia fibrocistica a grosse cisti, cromatografia multidimensionale, spettrometria di massa, stress ossidativo

Altre strutture IST partecipanti: S.C. Oncologia Medica B (F. Boccardo); S.S. Genomica Funzionale (U. Pfeffer, G. Angelini); S.C. Anatomia e Citoistologia Patologica (M. Truini, P. Romano)

Consuntivo 2009 - Programmazione 2010

Altri Enti coinvolti: Oncologia Oculare, Ospedali Galliera, Genova (C. Mosci); DOBIG, Università degli Studi di Genova (R. Mangerini); DIMES, Università degli Studi di Genova (G. Damonte); S.S.D. Microcitemia, Ospedali Galliera, Genova (G. Forni); S.C. Oncologia Medica, Ospedali Galliera, Genova (A. Decensi); ISA, CNR, Avellino (A. Facchiano); IEIIT, CNR, Genova (M. Muselli)

Tipologia progetto: clinico-epidemiologica sperimentale

Area di interesse: prevenzione primaria/secondaria

Background

Una delle sfide più stimolanti nel campo della ricerca oncologica è l'identificazione di marcatori biologici in grado di evidenziare, il più precocemente possibile, l'alterazione della condizione normale della cellula. Particolarmente intrigante risulta, tuttavia, anche la possibilità di disporre di uno strumento in grado di stabilire in anticipo se un paziente affetto da una particolare condizione morbosa corra o meno il rischio di andare incontro ad una progressione della malattia.

E' in quest'ottica che si inquadra la necessità di disporre di tecnologie in grado di valutare, in maniera rapida e precisa, la complessa componente proteica di un organismo. Lo sviluppo e l'affinamento delle tecniche di spettrometria di massa ha reso possibile l'identificazione di una proteina ignota attraverso la determinazione della massa esatta dei peptidi che la costituiscono. Questa operazione, che prende il nome di peptide mass fingerprinting (PMF), prevede la digestione con tripsina della proteina da identificare ed il successivo confronto tra le masse dei frammenti triptici ottenuti con quelle dei frammenti ottenibili dalla teorica digestione delle proteine la cui sequenza è contenuta in una banca dati. Per garantire una attendibile analisi spettrometrica di massa di una proteina è di importanza fondamentale una riduzione della complessità del campione quanto più efficace possibile. A tale scopo, risulta essere particolarmente utile la cromatografia multidimensionale, costituita da due, o più, separazioni cromatografiche successive (solitamente viene realizzata una prima separazione con un meccanismo a scambio ionico seguita da una seconda separazione secondo modalità a fase inversa). Questo tipo di approccio verrà impiegato in uno studio, condotto in collaborazione con la Dr.ssa Tosetti (S.C. Biologia Cellulare, IST) e i Dr. Forni e Decensi (Ospedali Galliera di Genova), nel corso del quale, accanto al dosaggio di biomarcatori di elezione dello stress ossidativo quali malondialdeide (MDA), formaldeide (FA) e isoprostani, si mirerà all'individuazione qualitativa di derivati proteici ottenuti in seguito a stress ossidativo e alla misura quantitativa di proteine direttamente o indirettamente coinvolte nella generazione di ROS e nell'oncogenesi. Un altro studio, realizzato questa volta in collaborazione con la S.S. Genomica Funzionale e con la S.C. Chirurgia Toracica dell'IST, utilizzerà la tecnologia della 2D-HPLC/MS nell'identificazione di nuovi marcatori proteici associati alla progressione del melanoma uveale. In questo ambito l'attenzione della nostra struttura sarà rivolta anche all'analisi comparativa MALDI/TOF del peptidoma del siero/plasma ottenuto da pazienti affetti da melanoma uveale metastatico e non-metastatico. Il nostro gruppo ha inoltre da tempo realizzato una collaborazione con la S.C. Oncologia Medica B dell'IST, diretta dal Prof. Boccardo, nel corso della quale è stato messo a punto un valido protocollo per l'analisi del profilo peptidomico del siero di pazienti afferenti al nostro centro a seguito dell'insorgenza di una mastopatia fibrocistica a grosse cisti. Lo studio, che si avvale della disponibilità del materiale biologico raccolto nel corso di molti anni di attività del centro, ha come obiettivo la valutazione, mediante l'analisi dell'insieme dei peptidi presenti nel siero, del rischio di sviluppo del carcinoma mammario nelle pazienti portatrici di questa patologia mammaria relativamente comune.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

Presso la S.S. Biopolimeri e Proteomica sono disponibili un cromatografo bidimensionale (2D HPLC) ed uno spettrometro di massa a tempo di volo (TOF) dotato di due sorgenti alternative: ESI e AP-MALDI. La disponibilità di tale strumentazione è fondamentale per un'efficace caratterizzazione dei peptidi e delle molecole proteiche. La nostra struttura ha da tempo instaurato una rete di collaborazioni con i servizi clinici e diagnostici dell'Istituto con l'obiettivo di avere accesso al materiale biologico proveniente dai pazienti afferenti. Questa interazione ci consentirà di lavorare all'identificazione di molecole potenzialmente rilevanti in campo oncologico sia dal punto di vista diagnostico, che per l'impostazione dei protocolli terapeutici. Vista la notevole competizione presente in campo proteomico nell'utilizzo della 2D gel elettroforesi per l'individuazione di nuovi marcatori biologici, è stata valutata l'opportunità di affrontare il problema mediante una tecnologia alternativa relativamente recente: la multidimensional HPLC-MS.

Un'altro degli obiettivi principali dell'attività della nostra struttura è la messa a punto di uno strumento in grado di evidenziare eventuali differenze presenti nel profilo peptidomico MALDI/TOF tra gruppi di pazienti affetti da patologia neoplastica. Tali dati potrebbero da un lato dare indicazioni sulla tendenza alla progressione neoplastica in pazienti affetti da neoplasia in fase iniziale e dall'altro predire la loro risposta ai possibili trattamenti. La nostra struttura ha inoltre accesso all'utilizzo (in uso condiviso con la S.S. Genomica Funzionale diretta dal Dott. U. Pfeffer) di una stazione robotizzata per la manipolazione dei liquidi. Questo strumento, che rende possibile la preparazione automatizzata dei campioni da sottoporre ad analisi, dovrebbe consentire il raggiungimento di numeri statisticamente significativi in tempi relativamente brevi. I dati ottenuti saranno quindi confrontati con i dati eventualmente presenti in letteratura o, dove disponibili, con i dati sui profili di espressione genica (microarray) per una ulteriore validazione.

Il nostro gruppo continuerà, inoltre, la collaborazione, che si è rivelata in questi ultimi anni estremamente proficua in termini di produzione scientifica, con il gruppo di spettrometria di massa dell'Università di Genova diretto dal Dott. G. Damonte, il cui laboratorio è dotato di una moderna strumentazione che può essere definita complementare a quella in nostro possesso.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Lo sviluppo di una metodologia in grado di segnalare, in maniera estremamente precoce e sicura, la tendenza in un determinato individuo a sviluppare una neoplasia oppure, in un paziente affetto da una patologia neoplastica in fase iniziale, la tendenza ad una progressione della stessa, potrebbe consentire l'adattamento della corretta terapia al singolo individuo evitando trattamenti non necessari, inefficaci e soprattutto molto debilitanti.

Consuntivo 2009 - Programmazione 2010

Risultati e prodotti 2009

La mastopatia fibrocistica a grosse cisti (MFCGC) è una condizione patologica, comune nella mammella, associata a un aumentato rischio di carcinoma mammario. Presso l'IST di Genova è presente una biobanca (Prof. Boccardo,) che crio-conserva i sieri delle pazienti, afferite tra il 1985 ed il 1993, con diagnosi di mastopatia MFCGC. E' stato identificato un training-set costituito da 16 pazienti che avevano, nel corso del follow-up, sviluppato un carcinoma (MFCGC +), 14 che non lo avevano sviluppato (MFCGC -) e 15 sieri normali di controllo crio-conservati. Le pazienti sono state scelte secondo criteri quali: età, stato menopausale e tempo di osservazione. Lo studio aveva come obiettivo la possibile associazione tra la cancerogenesi mammaria e i profili peptidomici nel siero delle pazienti. L'analisi AP-MALDI/TOF è stata realizzata, utilizzando lo spettrometro a tempo di volo 6210 prodotto da Agilent, su sequenze amminoacidiche a basso peso ($MW < 5000$) estratte dal siero mediante microsfere magnetiche funzionalizzate C18. La procedura di estrazione è stata ottimizzata utilizzando peptidi sintetici con diversi valori di massa e idrofobicità; uno di essi è stato in seguito impiegato come standard interno durante le analisi. Nel corso della messa a punto dell'analisi AP-MALDI/TOF sono stati testati: tipo di matrice, rapporto matrice/campione, composizione del solvente, volume dello spot, potenza del laser e tempo di acquisizione. L'analisi degli spettri di massa risultanti è stata effettuata in parallelo sia manualmente che tramite metodi bioinformatici. L'approccio bioinformatico (Ing. Romano, IST) ha sfruttato dapprima PROTEO, un software per l'identificazione dei picchi sopra-soglia che utilizza una soglia variabile (a linea spezzata), accorpa i picchi attribuibili allo stesso peptide (abbondanze isotopiche), e normalizza i valori dei picchi sulla base di un valore di riferimento (standard interno). In seguito, gli spettri sono stati allineati tramite ALI-SPECTRA (Dr. Facchiano, Laboratorio di Bioinformatica, Istituto di Scienze dell'Alimentazione, CNR, Avellino), limitatamente ai picchi selezionati. Gli spettri allineati sono quindi stati sottoposti a clusterizzazione sia con il software commerciale Gene Spring (Agilent), che con un metodo di shadow clustering (Dr. Muselli, IEIIT, CNR, Genova) in grado di determinare l'insieme minimo di regole necessarie per distinguere gli spettri delle tre classi (MFCGC+, MFCGC-, controlli).

Attività previste e risultati attesi nel 2010

I dati preliminari ottenuti nell'ambito dello studio del peptidoma serico nelle pazienti affette da mastopatia fibrocistica a grosse cisti (MFCGC) hanno consentito l'identificazione di interessanti associazioni di segnali caratterizzanti le differenti condizioni patologiche (MFCGC+, MFCGC-, controlli). Per quanto concerne l'approccio dello "shadow clustering", la validazione del protocollo potrà essere ottenuta confrontando il siero della singola paziente con l'insieme di regole generato. Per quanto riguarda invece la procedura di "hierarchical clustering" è previsto sia un ampliamento della casistica, sia il confronto dei dati ottenuti con quelli generati dall'analisi del peptidoma serico in pazienti con diagnosi di carcinoma mammario. Verranno inoltre, in collaborazione con il Dr. Damonte (DIMES, Università degli studi di Genova), realizzati esperimenti di tandem MS finalizzati all'identificazione dei segnali più caratterizzanti. Questo approccio potrebbe consentire di ricondurre le differenze riscontrate nel peptidoma dei diversi campioni di siero ad eventuali differenze presenti a livello di contenuto proteico originale.

Nell'ambito del filone di ricerca sullo stress ossidativo, un metodo HPLC messo a punto per il dosaggio della malondialdeide verrà impiegato nell'analisi di campioni biologici reali. Parallelamente verranno preparati protocolli di analisi per altri marcatori di elezione dello stress ossidativo come, ad esempio, gli isoprostani. Sempre in collaborazione con il Dr. Damonte verrà presa in considerazione la possibilità di introdurre l'uso della GC/MS in questo tipo di dosaggi.

Passando infine allo studio da realizzare in collaborazione con la S.S. Genomica Funzionale dell'IST e gli Ospedali Galliera di Genova, dovrebbe avere inizio l'analisi del peptidoma serico nei pazienti con diagnosi di melanoma uveale e l'eventuale analisi 2D-HPLC/MS nell'identificazione di nuovi marcatori proteici associati alla progressione di questo tumore.

Sviluppo e caratterizzazione dei gel di fibrina come veicoli per il rilascio locale di chemioterapici

Linea di ricerca: 3 - Ottimizzazione e personalizzazione delle strategie terapeutiche

Programma: c - Innovazioni terapeutiche: sviluppo dalle fasi precoci, incluse le correlazioni biologiche, agli studi di efficacia, inclusa la verifica di applicabilità nella pratica clinica

Responsabile scientifico: Mattia Rocco

Altro personale della struttura partecipante al progetto: Aldo Profumo, Anna Aprile

Anno di inizio: 2009

Durata: 36 mesi

Parole chiave: gel di fibrina; cancro; chemioterapia; rilascio localizzato; microscopia confocale; diffusione della luce

Altre strutture IST partecipanti: S.C. Terapia Immunologica (M. Viale); S.C. Nanobioteologie (C. Rosano); S.S. Animal Facility (M. Cilli); S.C. Chirurgia Plastica Ricostruttiva (P.L. Santi, E. Raposio)

Altri Enti coinvolti: Università dell'Insubria, Como (F. Ferri); DCCI, Università di Genova (C. Cuniberti); Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova (S. Cafaggi); Istituto G. Gaslini, Genova (M. Ponzoni)

Tipologia progetto: preclinica

Area di interesse: terapeutica/quality of life

Consuntivo 2009 - Programmazione 2010

Soggetti cofinanziatori: Domande di finanziamento presentate nel 2009 alla Fondazione San Paolo e al Ministero della Salute – Bando Malattie Rare (Neuroblastoma)

Background

La rimozione chirurgica di lesioni neoplastiche è spesso il trattamento d'elezione, ma un'eradicazione totale non sempre può essere ottenuta, con conseguenti recidive e formazione di metastasi. Il ricorso a chemioterapia sistemica è quindi spesso obbligato, con severi effetti collaterali e problemi nel raggiungere il bersaglio desiderato. Gel a base di fibrina sono potenzialmente degli ottimi veicoli per il rilascio locale di una varietà di agenti, quali farmaci, proteine e cellule, data la loro totale biocompatibilità, la possibilità di modularne forma, porosità, elasticità e degradazione e la facilità di preparazione. Film, adesivi, spugne e colle a base di fibrina sono in uso chirurgico da decenni, mentre il loro impiego quali carriers è ancora in fase di sviluppo e rappresenta un campo in forte espansione.

Nonostante la formazione della fibrina sia studiata da molto tempo, parecchi punti rimangono ancora oscuri. Una conoscenza più approfondita della cinetica di formazione e delle proprietà strutturali dei gel di fibrina potrebbe portare a correlare queste caratteristiche con le capacità di rilascio di agenti in essi inglobati. Su questa linea il nostro gruppo è impegnato da tempo, e verrà sviluppata ulteriormente in questo progetto. Questo ci consentirà di esplorare la fattibilità tecnica e valutare vantaggi e svantaggi della veicolazione locale di agenti chemioterapici in alcuni tipi di tumore, impiegando modelli animali in cui verranno impiantati tumori di origine umana.

Obiettivo generale del progetto ed eventuali obiettivi secondari

L'obiettivo generale del progetto è verificare la fattibilità tecnica e valutare vantaggi e svantaggi della veicolazione locale di agenti chemioterapici utilizzando gel di fibrina in almeno un modello animale di tumore umano. Propedeutica e complementare a questa attività vi è la caratterizzazione cinetica e strutturale dei gel di fibrina, in modo da poter tenere sotto controllo alcuni parametri fondamentali dei gel, quali dimensioni dei pori e delle fibre, loro resistenza, elasticità e degradabilità in vivo. Per ragioni principalmente di budget, solo questa seconda parte del progetto è stata perseguita nel triennio 2006-2008, rimandando lo studio del rilascio di farmaci in vivo e in vitro al presente progetto.

Impatto assistenziale certo o potenziale

Il progetto ha un notevole potenziale impatto assistenziale, qualora si riuscisse a dimostrare la fattibilità di questo approccio in un modello animale. Due sono le forme tumorali che saranno oggetto dello studio: il neuroblastoma ed il melanoma.

Risultati e prodotti 2009

In attesa di conoscere l'esito delle domande di finanziamento esterno presentate, senza la cui approvazione non sarà possibile passare a studi su modelli animali, abbiamo proseguito lo sviluppo dei metodi che permettono la misura delle dimensioni di maglia, frattalità, e diametro delle fibre di gel di fibrina a partire sia da misure di LAELS/turbidità, che da microscopia confocale. Due manoscritti sono in fase avanzata di preparazione, nei quali queste tecniche, e la loro validazione tramite simulazioni al computer, verranno descritte in dettaglio. In particolare, la tecnica di analisi di immagini al microscopio confocale è particolarmente innovativa, e potrebbe trovare ampia diffusione nel campo.

Attività previste e risultati attesi nel 2010

Per i suoi costi, questo progetto è fortemente dipendente dal livello di finanziamento esterno che saremo in grado di ottenere. Al momento, non abbiamo ricevuto ancora notizie dei due progetti presentati, che contiamo eventualmente di ripresentare, con opportune modificazioni, in caso di mancato finanziamento. Nel frattempo, verrà mantenuta un'attività minima di base volta alla caratterizzazione in vitro dei gel di fibrina.