



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



Id. proposta – linea di attività: AIM1844221 – 1

Area: “Salute”

Mesi all'estero: 6

S.C. 05/G1 “Farmacologia, Farmacologia Clinica e Farmacognosia”

posti RTDA n. 1

S.S.D. BIO/14 “Farmacologia”

Sintetica descrizione dello stato dell'arte e delle collaborazioni eventualmente già in essere

Deficit della neurotrasmissione dopaminergica rappresentano un substrato neurobiologico comune (Russo and Nestler, 2013) di patologie psichiatriche, come le dipendenze e i disturbi depressivi (American Psychiatric Association 2013). La riduzione del rilascio di dopamina è associata a ridotta motivazione e anedonia, che possono indurre turbe dell'affettività e comportamenti maladattivi (Brancato et al., 2016; 2018), come ricerca e assunzione compulsiva di sostanze d'abuso (Plescia et al., 2013; Spiga et al., 2014). L'approccio farmacologico classico, che mira a modulare il signaling dei neurotrasmettitori in tutto il cervello, ha avuto finora un successo limitato. Lo stesso neurotrasmettitore è infatti implicato in numerosi processi, laddove è la combinazione integrata di numerose neurotrasmissioni in specifici circuiti neuronali a controllare funzioni complesse e comportamenti. Al fine di ripristinare l'omeostasi nella neurotrasmissione, un approccio innovativo è rappresentato dall'uso di fattori neurotrofici, quali il brain-derived neurotrophic factor, BDNF, e il glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF (Tenenbaum and Humbert-Claude, 2017; Kumar et al. 2017). Tali molecole interagiscono con i neuroni dopaminergici promuovendo il rilascio sinaptico di dopamina (Paredes et al., 2007), favoriscono la neurogenesi e la neuroprotezione, modulano la plasticità sinaptica, rimodellando così la rete neurale (Deng et al., 2018). Peraltro, polimorfismi a singolo nucleotide nei geni per il BDNF e GDNF incrementano la suscettibilità alla depressione (Frielingsdorf et al., 2010) e alla dipendenza da alcol (Grzywacz et al., 2010; Kumar et al., 2017).

Alla luce degli attuali limiti delle terapie farmacologiche, degli effetti indesiderati di terapia cellulare e genica, e della ridotta biodisponibilità delle proteine ricombinanti (Chao et al., 2006; Monteggia, 2011), la messa a punto di terapie che sfruttino il potenziale dei fattori neurotrofici è una strategia innovativa e promettente. Una importante applicazione in questo senso riguarda la somministrazione esogena a lungo termine di BDNF attraverso un Encapsulated BDNF-Producing Cells Device, da inserire in specifiche aree cerebrali. Questo device, impiantato nell'ippocampo di ratti ha ridotto la frequenza delle scariche neuronali ectopiche e migliorato le funzioni cognitive (Falcicchia et al., 2018) senza alterare il normale comportamento dell'animale. Tale ricerca è stata sviluppata, tra gli altri, dalla dott.ssa Giovanna Paolone (NsGene Inc., Providence, RI, USA) afferente al gruppo di ricerca del prof. Chiamulera dell'Università di Verona con cui la Prof Carla Cannizzaro (coordinatore del gruppo di ricerca in Neuropsicofarmacologia del Dip. ProSaMI) ha una lunga collaborazione.

Tuttavia, nonostante la caratterizzazione cellulare e molecolare dei meccanismi di neuro-protezione e neuro-rigenerazione, il loro reale significato funzionale rimane speculativo. A riguardo tecnologie



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



innovative come l'optogenetica, in grado di attivare o inibire circuiti neuronali con estrema accuratezza, permettono una valutazione funzionale circuito-centrica dell'applicazione dei fattori neurotrofici nella terapia di patologie neuropsichiatriche (Song et al., 2015). La tecnologia optogenetica può definire il ruolo delle diverse proiezioni e dei diversi tipi neuronali nel contesto di comportamenti legati ai disordini della motivazione, come addiction e depressione (Walsh and Han, 2014). Inoltre, è stata recentemente utilizzata per una elegante valutazione funzionale di innesti di neuroni dopaminergici mesencefalici derivati da cellule staminali embrionali umane in un modello murino di malattia di Parkinson (Steinbeck et al., 2015). Sarà dunque utile per determinare il ruolo del delivery localizzato di fattori neurotrofici nel realizzare una connettività neuronale funzionale e determinare un recupero di specifici circuiti neuronali disfunzionali (Song et al., 2015).

Descrizione delle attività previste

L'attività proposta mirerà a sviluppare una nuova tecnologia nell'ambito della medicina rigenerativa e personalizzata. Si tratta infatti di implementare il delivery di BDNF attraverso l'encapsulated cell biodelivery (ECB) device" arricchito con cellule umane geneticamente modificate per produrre e rilasciare BDNF, fattore di crescita fondamentale per la funzionalità di neuroni e circuiti neuronali. L'attività di un ricercatore di linea 1, esperto in modelli animali di depressione e abuso di alcol e farmacologia comportamentale, sarà orientata allo sviluppo di questo approccio, trascorrendo un periodo di ricerca di 4 mesi nel primo anno, 3 mesi nel secondo anno e 2 mesi nel terzo anno, presso la start up NsGene Inc., Providence, RI, USA. Durante tale soggiorno di ricerca, una linea cellulare umana verrà ingegnerizzata per secernere i fattori neurotrofici BDNF ed GDNF. Tali cellule verranno quindi incapsulate in una matrice biocompatibile, e tenute separate dal tessuto cerebrale ospite adiacente da una sottile membrana polimerica. La membrana possiede dei pori che permettono al BDNF di diffondere nel tessuto circostante e permettono all'ossigeno e ai nutrienti di entrare dal tessuto circostante per nutrire le cellule incapsulate. Le reazioni immunologiche sono pertanto ridotte perché la membrana semipermeabile impedisce al sistema immunitario di accedere alle cellule, prevenendo così eventuale rigetto. I dispositivi ECB offrono il vantaggio del delivery locale a lungo termine di fattori trofici, ma offrono anche la possibilità di una facile rimozione se necessario o desiderato.

In seguito, presso il laboratorio di Neuropsicofarmacologia del dipartimento Prosami dell'Università di Palermo, il ricercatore di linea 1 si occuperà della valutazione dell'effetto di tali devices, impiantati in aree cerebrali specifiche per mezzo di chirurgia stereotassica, in modelli animali di patologie neuropsichiatriche di elevato valore traslazionale, comprendenti modelli di depressione da stress cronico variabile e da stress sociale, e modelli di abuso e dipendenza da alcol, come paradigmi di autosomministrazione operante, binge-drinking, dieta liquida, oltre a modelli generici di polimorfismi a carico dei geni per le neurotrofine, attraverso batterie di test comportamentali, quali open field test; elevated plus maze test; forced swim test; sucrose preference; social interaction; novelty suppressed feeding; operant self-administration; progressive ratio, drug-seeking e drug-taking in presenza di condizioni aversative; in aggiunta alla valutazione istologica dei tessuti cerebrali per la caratterizzazione dei tipi neuronali e dei meccanismi coinvolti.



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



La capacità del device di creare una connettività neuronale funzionalmente rilevante sarà indagata attraverso la possibilità di inattivare o riattivare selettivamente uno specifico circuito neuronale attraverso tecniche di optogenetica. Ciò potrà consentire di registrare l'attività del device in aree diverse, amplificarne l'azione e sfruttarne il suo potenziale terapeutico su diverse patologie neuropsichiatriche. L'optogenetica consente infatti la manipolazione funzionale reversibile di circuiti neuronali, definiti geneticamente e spazialmente, in animali che si muovono liberamente in tempo reale, compresi modelli sperimentali di patologie neuropsichiatriche.

Un ricercatore di linea 2.1, esperto nell'utilizzo di vettori virali per l'espressione delle proteine-canale fotosensibili channelrhodopsin2, eccitatoria, o halorhodopsin eNpHR3.0, inibitoria, e nell'impianto cerebrale di fibre ottiche, attraverso chirurgia stereotassica, per il controllo optogenetico in vivo di neuroni dopaminergici dell'area ventrale tegmentale, si occuperà di implementare tale tecnologia nel laboratorio di Neuropsicofarmacologia del Dipartimento ProSaMI dell'Università degli Studi di Palermo. Tale attività sarà volta allo scopo di analizzare l'effetto funzionale del delivery di fattori neurotrofici in regioni cerebrali diverse del circuito della gratificazione nell'ambito dei comportamenti controllati dai neuroni dopaminergici dell'area tegmentale ventrale. A tale fine, il ricercatore di linea 2 trascorrerà un periodo di ricerca di mesi 3 nel primo anno, presso il gruppo di ricerca del Prof. Chiamulera dell'Università degli Studi di Verona, per mettere a punto le tecniche di modulazione neuronale optogenetica in modelli sperimentali già validati per gli effetti del device. In seguito, gli effetti del delivery di neurotrofine attraverso l'ECB device verranno indagati in maniera sistematica, in aree cerebrali diverse, dal punto di vista comportamentale, anatomico e farmacologico, presso il laboratorio di Neuropsicofarmacologia del dipartimento Prosami dell'Università di Palermo. Nello specifico, l'attività dell'innesto del device verrà valutata in modelli animali di abuso di alcol e depressione, nel contesto di batterie di test comportamentali quali open field test; elevated plus maze test; forced swim test; sucrose preference; social interaction; novelty suppressed feeding; comportamenti di autosomministrazione operante, nell'animale freely moving, soggetto a stimolazione e inibizione optogenetica di specifiche proiezioni dopaminergiche.

Aspetti di coerenza della richiesta con l'area di specializzazione prevalente

Il progetto proposto è coerente con l'area di specializzazione della medicina rigenerativa e personalizzata perchè mirerà a sviluppare una biotecnologia innovativa per ripristinare, attraverso cellule umane geneticamente modificate, i livelli di BDNF, fattore di crescita fondamentale per la funzionalità di neuroni e circuiti neuronali, in condizioni patologiche di carenza. A tal proposito, la valutazione dell'efficienza del device in presenza di alterazioni a carico del gene per il BDNF, che sono implicate in una varietà di disturbi affettivi, può rappresentare una via promettente verso la medicina personalizzata e rigenerativa in psichiatria.

Il sistema nervoso adulto ha infatti limitate capacità di riparazione. Tuttavia, le neurotrofine, quali BDNF e GDNF, promuovono lo sviluppo di branche assionali collaterali, che reinnervano i neuroni



UNIONE EUROPEA
Fondo Sociale Europeo
Fondo Europeo di Sviluppo Regionale



denervati. Inoltre, neuroni danneggiati possono essere salvati dall'atrofia degenerativa e dall'apoptosi dopo trattamento con BDNF.

Tale dispositivo è stato testato per la sicurezza in modelli animali di grandi dimensioni ed è risultato ben tollerato in uno studio clinico, in cui fino a quattro dispositivi sono stati impiantati bilateralmente nel proencefalo basale colinergico in pazienti affetti da Malattia di Alzheimer, e facilmente recuperati intatti 12 mesi dopo (Karami et al., 2015; Wahlberg et al., 2012).

L'uso di ECB device come piattaforma di delivery per neurotrofine, in particolare BDNF, è molto promettente per promuovere l'uso clinico della sostituzione o integrazione di neurotrofine. La facilità con cui ECB device può essere implementato apre nuove prospettive alla possibilità di utilizzare questo sistema di delivery basato su cellule per far avanzare poli-terapie come supporto trofico neuronale per trattare non solo patologie psichiatriche, ma anche per la medicina rigenerativa in altre malattie neurologiche o danni al sistema nervoso centrale.