

Progetto di Ricerca

**Cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) e ingegneria genetica nello studio e nella cura delle sindrome di Williams**

**Dott. Giuseppe Merla, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo**

**Dott. Giuseppe Testa, IRCCS Istituto Europeo di Oncologia, Milano**

Negli ultimi anni la ricerca di base in medicina ha conosciuto una vera e propria rivoluzione nel modo di studiare e curare le malattie genetiche grazie al processo definito di 'riprogrammazione cellulare', cioè di quel processo che consente a cellule adulte, ad es. quelle della pelle, di essere riprogrammate e generare così cellule staminali dalle caratteristiche molecolari del tutto simili a quelle staminali embrionali.

Le cellule embrionali staminali, normalmente ottenute dagli embrioni ai primissimi stadi di sviluppo, sono pluripotenti, possono cioè differenziarsi dando luogo a tutti i tipi di cellule che compongono il nostro corpo in quantità praticamente illimitate. Questa capacità di differenziarsi rappresenta un grandissimo vantaggio nella ricerca della comprensione e cura delle malattie genetiche umane perché permette di aver accesso alle cellule dei pazienti in quantità sufficienti per poter compiere i più sofisticati esperimenti di biologia molecolare. Questo aspetto è particolarmente rilevante per le malattie che coinvolgono il cervello, per le quali è quasi impossibile lavorare su cellule prelevate direttamente dai pazienti.

Tuttavia, produrre cellule staminali da embrioni umani presenta una serie di problemi tecnici, legali ed etici, che ne hanno limitato l'utilizzo e hanno prodotto pochi e non sempre esaltanti risultati.

Queste difficoltà possono essere facilmente superate utilizzando le cellule pluripotenti indotte (iPSC dall'Inglese *induced Pluripotent Stem Cells*): pluripotenti, perché sono in grado di produrre, in laboratorio, tutti i tipi di cellule del nostro corpo; e indotte, perché la pluripotenza viene indotta artificialmente in laboratorio a partire da cellule adulte di tessuti diversi (es: pelle, sangue, capelli).

Questo progetto di ricerca unisce la riprogrammazione cellulare ai più avanzati strumenti di ingegneria genetica per generare un modello cellulare della Sindrome di Williams con l'obiettivo di definire i meccanismi responsabili della malattia e identificare nuove terapie. Come per tutti i progetti di ricerca che partono dai meccanismi di base della malattia, si tratta di sforzi complessi e di lungo termine, in cui non è possibile prevedere in quanto tempo verranno raggiunti i risultati sperati. Se infatti l'impostazione innovativa del progetto consentirà senza dubbio di acquisire nuove e importanti conoscenze sulla sindrome di Williams, è al momento difficile stabilire se e quando queste nuove conoscenze potranno trasformarsi direttamente in nuove terapie. Le famiglie che entrano a far parte di questo progetto con la donazione di un prelievo di cute lo fanno sapendo che il loro dono è una scommessa per il futuro, un aiuto per le future generazioni di bambini e famiglie Williams.

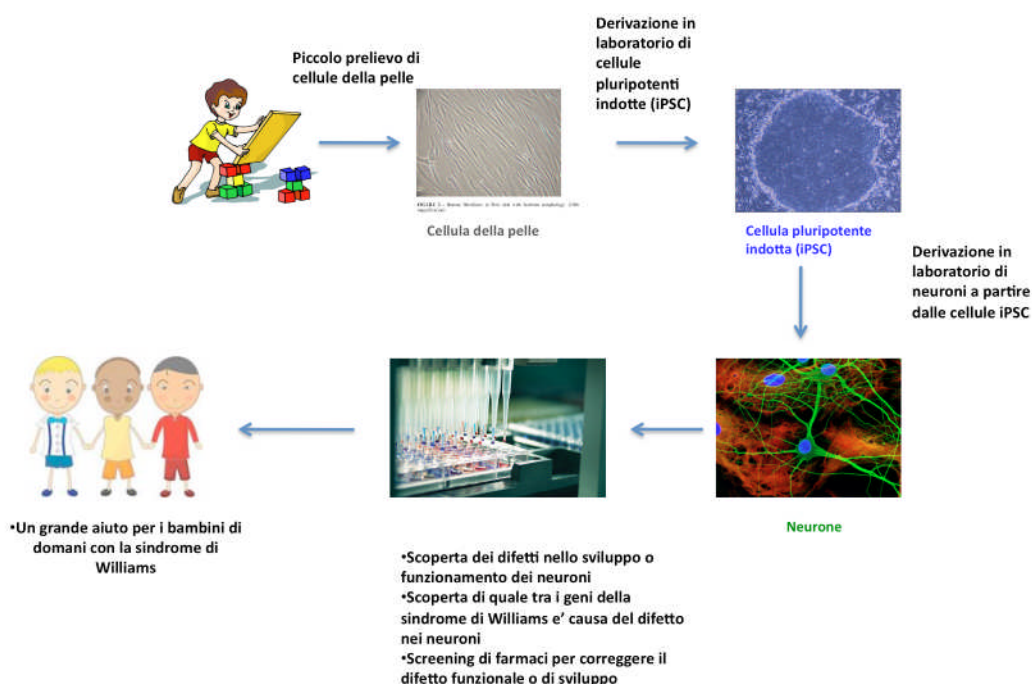
Il progetto si basa dunque sulla riprogrammazione di cellule prelevate principalmente dalla cute di bambini affetti da sindrome di Williams in cellule iPSC, che verranno poi differenziate in vitro nei vari tipi cellulari

ritenuti più rilevanti per la malattia (neuroni, cardiomiociti, miociti, cellule intestinali etc.). L'assoluta novità consiste dunque nell'ottenimento, per la prima volta, di quantità illimitate di cellule dei vari tessuti portatrici della delezione genetica, e dunque utilizzabili come modello per studiare i diversi meccanismi molecolari alla base della malattia. Attraverso l'analisi di queste cellule, una serie di approcci genomici e bioinformatici di ultima generazione consentirà di identificare i principali difetti molecolari che caratterizzano la malattia nei vari tessuti e che potranno dunque essere sperabilmente bersagli di terapie farmacologiche mirate. Infine, la validazione rigorosa del modello sperimentale e della potenziale efficacia terapeutica dei composti identificati sarà completata grazie ad elaborate tecniche di ingegneria genetica (note come BAC recombineering) con le quali sarà possibile testare l'effetto biologico e le conseguenze molecolari di ciascuno dei circa 30 geni associati alla malattia nelle diverse cellule adulte che saranno prodotte.

Lo studio proposto apre scenari davvero promettenti, e finora insperati, per la comprensione delle basi di questa malattia. La possibilità di manipolare le cellule iPSC costituisce un ottimo supporto/modello per lo screening e sviluppo su larga scala di farmaci per un futuro scopo terapeutico che possa beneficiare le future generazioni di pazienti Williams.

Il progetto sarà articolato nei seguenti punti (schematizzati nella figura sottostante):

1. Prelievo di cute da individui affetti da sindrome di Williams e dai loro genitori
2. Indizione e produzione di cellule indotte pluripotenti (iPSC)
3. Differenziazione delle cellule iPSC in cellule adulte (es: neuroni di varia tipologia)
4. Analisi funzionale e biochimica delle cellule adulte differenziate
5. Screening di molecole per testare la loro possibile efficacia terapeutica.



Questo progetto è stato ideato e sarà sviluppato dai gruppi di ricerca del Dott. Merla e del Dott. Testa, in collaborazione con il Dott. Selicorni. Il Dott. Merla dirige un proprio gruppo di ricerca presso l'IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza di San Giovanni Rotondo, occupandosi dello studio delle cause molecolari di sindromi genetiche e genomiche rare. In particolare l'attività di ricerca del Dott. Merla negli ultimi anni si è concentrata nello studio delle basi molecolari della sindrome di Williams, patologia della quale il Dott. Merla è diventato uno dei ricercatori europei di riferimento. Inoltre, grazie ad un'intense rete di collaborazioni il Dott. Merla sta coordinando la prima biobanca italiana di oltre 300 pazienti affetti da sindrome di Williams ([www.operapadrepio.it/gdbbank](http://www.operapadrepio.it/gdbbank)).

Il dott. Testa dirige il laboratorio di Epigenetica delle Cellule Staminali all'Istituto Europeo di Oncologia di Milano. L'obiettivo del suo laboratorio è identificare i meccanismi epigenetici che presiedono alla formazione dei neuroni e alla riprogrammazione cellulare. In particolare, il laboratorio del dott. Testa ha maturato grande esperienza nella tecnologia della riprogrammazione cellulare. Inoltre, durante la sua formazione in Germania, il dott. Testa ha sviluppato e messo a punto quelle tecnologie pionieristiche di ingegneria genetica che, nel caso della sindrome di Williams, costituiscono uno strumento unico per poter definire, in vitro, quale dei geni è responsabile dei disturbi associati alla sindrome.

È importante porre l'accento che il dott Selicorni, punto di riferimento della AFSW di Lombardia, ha condiviso con il dott. Merla e il dott. Testa lo sviluppo e la stesura di questo progetto. Infatti egli sarà direttamente coinvolto nel reclutamento e prelievo degli individui che accetteranno di partecipare a questo studio.