

Denominazione:

Laboratorio di Citoimmunopatologia dell'Apparato Cardio Respiratorio

Responsabile:

Dr. Antonino Di Stefano

e-mail: antonino.distefano@fsm.it

Istituto di appartenenza:

Fondazione Salvatore Maugeri, IRCCS, Istituto Scientifico di Veruno (NO)

Ubicazione:

Via per Revislate 13, 28010 Veruno (NO)

Tel. 0322 884963

Personale del Laboratorio: Signora Isabella Gnemmi



Attività del Laboratorio:

Nell'Istituto Scientifico di Veruno (NO) viene svolta attività di ricerca clinica di base e applicata. Alcune applicazioni hanno inoltre un utilizzo in termini di compendio diagnostico nell'ambito della tipizzazione della Bronchite Cronica Ostruttiva, asma, e della fibrosi polmonare. L'attività di laboratorio include una parte di analisi "ex vivo" e una parte "in vitro". La parte di analisi "ex vivo" utilizza campioni biologici di pazienti selezionati e controlli secondo protocolli di studio definiti. In particolare processiamo e studiamo liquido di Lavaggio Broncoalveolare, sputo e biopsie bronchiali di soggetti con bronchite cronica ostruttiva, asma e fibrosi polmonare. Siero/plasma di soggetti con scompenso cardiaco cronico. Ai campioni biologici applichiamo tecniche di istochimica, immunostochimica, immunofluorescenza, tecniche di quantificazione morfometrica, tests ELISA, RT-PCR, Western blotting. Eseguiamo inoltre, colture cellulari di cellule epiteliali bronchiali, fibroblasti e cellule endoteliali cardiache sottoposte a diversi stimoli, infiammatori e ossidativi, presenti in bronchite cronica ostruttiva e scompenso cardiaco, allo scopo di analizzare alcuni meccanismi molecolari indotti o inibiti da tali stimoli. L'integrazione dei dati "ex vivo" con i dati molecolari "in vitro" ci consente di stabilire quali vie molecolari hanno maggior rilevanza nelle patologie da noi studiate. Tale attività è resa possibile anche dalla collaborazione di personale non strutturato (attualmente un dottorando di ricerca e uno studente in tesi di laurea).

Gli ambiti di studio principali sono i seguenti:

1) Ambito Cardiologico; 2) Ambito Pneumologico

Ambito Cardiologico:

Studi Casi-Controllo: Abbiamo valutato la presenza di marcatori sierici di stress ossidativo e nitrosativo e marcatori di flogosi sistemica in soggetti con scompenso cardiaco cronico (CHF) di gravità crescente e

soggetti di controllo. La presenza di tali marcatori è correlata positivamente con marcatori biologici di gravità della malattia (proBNP). Le concentrazioni sieriche di angiopoietina 2 correlano meglio di proBNP con il consumo di ossigeno in pazienti scompensati. Stiamo attualmente valutando marcatori di rimodellamento e fibrosi cardiaca presenti nel siero, in relazione ai parametri principali di decadimento funzionale d'organo.

Studio longitudinale (follow-up): Abbiamo valutato pazienti con scompenso cardiaco cronico in due occasioni diverse: in fase iniziale e dopo tre mesi di allenamento fisico standardizzato. Il gruppo di "allenati" è stato confrontato con un gruppo di "non allenati" e con soggetti sani di controllo. Abbiamo osservato un aumento di cellule endoteliali totipotenti e di angiopoietina 2 dopo allenamento. Sono allo studio altri marcatori di rimodellamento d'organo negli stessi soggetti.

Studio in vitro: Cellule endoteliali ottenute da tessuto cardiaco di pazienti con CHF esposte a stress ossidativo producono maggiori quantità di mieloperossidasi e nitrotirosina. Sono in corso studi di caratterizzazione di cellule staminali provenienti da tessuto cardiaco.

Ambito Pneumologico:

Studi casi-controllo e follow-up: Abbiamo valutato la presenza di citochine e chemochine ad attività pro-neutrofilica in biopsie bronchiali e lavaggi broncoalveolari (BAL) di pazienti con bronchite cronica ostruttiva (BPCO) di gravità crescente da lieve a grave e soggetti di controllo. Abbiamo dimostrato il coinvolgimento di alcune di queste molecole nella aumentata neutrofilia che si riscontra nei nostri pazienti. Più di recente abbiamo valutato molecole legate alla risposta immunitaria innata e abbiamo osservato un aumento di molecole e di specifici patterns molecolari responsabili dell'aumento di queste molecole in biopsie bronchiali e BAL dei nostri pazienti. Sono attualmente in corso anche studi di quantizzazione della carica virale e batterica, caratteristica della BPCO, nello sputo dei nostri pazienti, in relazione alla espressione dei principali dati di funzione polmonare e dello stato clinico dei pazienti (pazienti in fase di stabilità clinica o in fase di riacutizzazione della malattia e dopo trattamento farmacologico).

Studi in vitro: Le molecole che vengono giudicate come potenziali responsabili di processi flogistici e di rimodellamento negli studi "ex vivo" (studi casi-controllo e follow-up) vengono valutate "in vitro". A questo scopo eseguiamo colture cellulari di cellule epiteliali bronchiali e fibroblasti bronchiali esposte a stress ossidativo (H₂O₂), stimoli infiammatori (citomix) e stimoli batterici (LPS), caratteristici della BPCO. In cellule esposte e di controllo valutiamo i possibili meccanismi di up e down-regolazione delle molecole in studio, esplorando quali patterns molecolari (intermedi di reazione) sono principalmente coinvolti.

Principali obiettivi di ricerca raggiunti:

Alcuni dei parametri biologici da noi studiati in BAL sono regolarmente utilizzati come compendio diagnostico e di monitoraggio clinico dei pazienti con fibrosi polmonare e malattie ostruttive del polmone (differenziazione tra asma e BPCO). La concentrazione di fosfatasi alcalina nel BAL, la presenza e stato di attivazione dei neutrofili ed eosinofili nello sputo, biopsie e BAL, consentono una stadiazione e monitoraggio più accurato dei pazienti. Queste valutazioni biologiche direzionano meglio anche il trattamento terapeutico.

Principali obiettivi di ricerca futuri:

Riteniamo di poter estendere questo contributo mediante la valutazione della carica virale e batterica dello sputo dei nostri pazienti, attualmente in fase di messa a punto e proseguendo nella valutazione dei biomarcatori a significato patogenetico.

Attività Educazionale

Il laboratorio svolge attività educativa interna (corsi ECM) ed esterna. Partecipa a corsi e convegni sia nazionali che internazionali. Accoglie tesisti e dottorandi delle Facoltà di Medicina di Varese, Milano e Palermo.