

PROGETTO DI RICERCA

Identificazione di molecole ad attività anti-Leishmania e di nuovi target terapeutici e/o markers di infezione nella cellula ospite.

La leishmaniosi è una malattia negletta che colpisce l'uomo e altri mammiferi, causata dal protozoo *Leishmania*, un parassita intracellulare che infetta principalmente i macrofagi. Nell'uomo la malattia si presenta in tre forme: leishmaniosi cutanea (CL), leishmaniosi mucocutanea (MCL) e leishmaniosi viscerale (VL) che, se non trattata, può portare al decesso del paziente. L'Europa mediterranea, compresa l'Italia, è endemica per la leishmaniosi causata da *L. infantum*, che può colpire l'uomo e altri mammiferi (cani in particolare). La leishmaniosi è considerata un problema sanitario crescente a causa della mancanza di un vaccino e di una terapia farmacologica efficace. Le terapie disponibili sono infatti limitate e caratterizzate da costi elevati e da elevata tossicità; inoltre, negli ultimi anni sta emergendo un importante problema di resistenza ai farmaci. Recentemente, presso i laboratori del dipartimento di scienze biomolecolari dell'Università di Urbino sono state individuate diverse molecole (derivati indolici e ibridi indoli-pirroli) che hanno mostrato una promettente attività anti-*Leishmania* in vitro [1,2,3] e che possono essere considerate come lead compounds da cui sviluppare molecole efficaci, biodisponibili e stabili in ambiente acquoso. Un primo obiettivo del progetto sarà quindi quello di individuare molecole che mostrino una attività biologica sul parassita in coltura e contestualmente una bassa tossicità sulle cellule ospiti, in modo da ottenere un selectivity index >10. Inoltre, le molecole dovranno anche mostrare di essere attive in modelli di infezione in vitro. A questo scopo, in collaborazione con il gruppo del prof. Lucarini che si occuperà della sintesi chimica delle molecole da testare, sarà inizialmente svolto uno screening fenotipico tramite saggi MTS sul parassita in coltura (forma promastigote) e sulle cellule ospiti. Le molecole che mostreranno un IC50 <10 µM sul parassita e un selectivity index >10 potranno essere testate in modelli di infezione in vitro, nei quali verrà valutata la riduzione dell'indice di infezione rispetto alle cellule non trattate.

Contestualmente alla individuazione di nuove molecole ad attività anti-*Leishmania*, saranno investigati i pathways molecolari della cellula ospite coinvolti nella risposta all'infezione, nel tentativo di individuare target terapeutici dell'ospite ed evitare quindi eventuali problemi dovuti a insorgenza di resistenze da parte del parassita. Ad oggi, sono note e caratterizzate diverse le vie di signaling ed espressione genica che sono perturbate dal parassita *Leishmania*, che in questo modo riesce a sopravvivere e replicare all'interno del macrofago, ma i meccanismi molecolari alla base di questi processi non sono completamente chiariti. Recentemente, i miRNA sono emersi come molecole regolatrici con un ruolo importante nell'infiammazione e nelle risposte immunitarie, come evidenziato da studi in cui la disregolazione dei miRNA nell'ospite risultava avere un ruolo nelle malattie infettive, potendo essere associata o all'eradicazione o alla suscettibilità all'infezione. Un secondo obiettivo del progetto sarà quindi la individuazione di miRNA disregolati associati all'infezione e/o secreti dalle cellule infettate che potranno quindi essere valutati come markers di infezione. L'individuazione di tali miRNA sarà effettuata tramite approcci biomolecolari, inclusi quelli basati su NGS e il loro ruolo potrà essere valutato in sistemi di infezione in vitro tramite approcci cell-based e di editing genomico.