



All. 1

Il presente progetto propone un approccio innovativo e sostenibile, volto a ridurre progressivamente l'uso di modelli animali nello studio del dolore neuropatico, attraverso l'impiego di iPSCs derivate da pazienti Fabry e da soggetti sani. Queste cellule saranno differenziate in nocicettori umani funzionali (neuroni DRG-like), in grado di riprodurre in vitro il fenotipo sensoriale patologico. Il modello permetterà di indagare in modo preciso i meccanismi alla base del DN e di disporre di una piattaforma sperimentale eticamente sostenibile e traslazionalmente rilevante, pienamente coerente con i principi delle 3R (Replacement, Reduction, Refinement), favorendo al contempo risultati più rappresentativi della fisiologia umana. Questo modello consentirà di investigare in modo diretto e preciso i meccanismi molecolari alla base del dolore neuropatico, offrendo una piattaforma sperimentale eticamente sostenibile e altamente rilevante per la ricerca traslazionale. Lo scopo di questo progetto è lo studio del dolore neuropatico in vitro, attraverso l'utilizzo di una tecnologia di biostampa 3D, accoppiata alla riprogrammazione di fibroblasti umani in neuroni sensoriali, isolati da pazienti con neuropatie congenite, fra cui la malattia di Fabry. Lo scopo finale è lo sviluppo ed il testing di un modello alternativo a quello animale per lo studio preclinico del dolore e nello sviluppo di farmaci e approcci terapeutici.

Attività di ricerca proposta. La ricerca proposta per la vincitrice o il vincitore della borsa di ricerca ha i seguenti obiettivi specifici:

- a. Ottimizzazione della generazione di neuroni primari sensoriali funzionali da iPSCs, con caratterizzazione morfo-funzionale mediante microscopia avanzata, calcio-imaging ed elettrofisiologia, per riprodurre la fisiologia dei DRG umani.
- b. Realizzazione dei sistemi O-DRG/DO-DRG derivati da fibroblasti di pazienti Fabry. Si procederà quindi anche in questo caso con lo studio delle proprietà elettrofisiologiche dei due modelli.

Il lavoro di ricerca sarà strutturato in tre fasi successive di seguito descritte.

Fase 1. Generazione e caratterizzazione delle iPSCs. Al fine di evitare la formazione di teratomi (rischio intrinseco alla pluripotenza), si effettueranno i classici controlli con tecniche Immunocitochimiche e conseguentemente differenziamento delle iPSCs in neuroni sensoriali.

Fase 2. sviluppo di un sistema dermale con fibroblasti e messa a punto dei materiali e parametri di biostampa. Verranno studiate le proprietà reologiche dei materiali per scegliere la formulazione migliore da utilizzare nella stampa ad estrusione e minimizzare lo stress meccanico subito dalle cellule.

Fase 3. caratterizzazione molecolare approfondita, attraverso markers specifici, e successiva caratterizzazione funzionale, mediante le tecniche di patch-clamp in configurazione whole-cell, per verificare l'avvenuto differenziamento in senso neuronale.