

I CHEMIOTERAPICI ANTIVIRALI¹

CARLO FEDERICO PERNO (*)

SUNTO. – Il concetto di sviluppo di farmaci ad azione specifica antivirale è piuttosto recente. La scoperta, alla fine degli anni '70, che gli analoghi nucleosidici aciclici potevano inibire la replicazione del DNA dell'Herpes Simplex virus (HSV), fu la tappa fondamentale che aprì la strada della ricerca sui farmaci in grado di affrontare le malattie causate da virus. Negli anni '80 la necessità di combattere un'altra malattia relazionata ad un virus, l'AIDS causata dall'HIV, diede un ulteriore decisivo impulso alla ricerca nel campo della chemioterapia antivirale. Attualmente sono a disposizione numerose classi di farmaci per il trattamento di virus quali: il virus dell'influenza, il virus respiratorio sinciziale, il virus herpes simplex, il virus varicella-zoster, i virus epatitici HBV e HCV, citomegalovirus e HIV. Nonostante questi incredibili successi, è necessario un continuo e progressivo sviluppo della chemioterapia antivirale e della ricerca ad essa correlata che possa contribuire a risolvere il problema dell'inefficacia dei vaccini antivirali, dell'emergenza di nuove patologie e delle patologie provocate dall'immunosoppressione. In tale contesto, la ricerca del professor Paolo Mantegazza ha dato un prezioso contributo nella comprensione del ruolo trasformante che hanno alcuni virus come i poliomavirus, tra cui il virus vacuolante della scimmia SV40. Mantegazza ha dato inoltre un notevole contributo alla sintesi di composti per le encefalopatie spongiformi trasmissibili, causate dai prioni.

ABSTRACT. – The concept of drug development with specific antiviral action is quite recent. The discovery, in the late '70s, that acyclic nucleoside analogs could inhibit the replication of the Herpes Simplex virus (HSV) DNA, was the fundamental step that opened the way to the research on drugs able to deal with diseases caused by viruses. In the '80s, the need to fight another disease related to a virus, AIDS caused by HIV, gave a further boost to the research in the field of viral chemotherapy. Currently, several classes of drugs are available for the treatment of viruses such as influenza virus, respiratory syncytial virus, herpes simplex virus, varicella-zoster virus, HBV and hepatitis viruses, cytomegalovirus and HIV. Nevertheless, we however need a continuous and

(*) Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Italia.

E-mail: cf.perno@uniroma2.it

¹ Trascrizione non corretta dall'Autore.

progressive development of antiviral chemotherapy and of the research related to it that can cope with the problem of the effectiveness of antiviral vaccines, the emergence of new diseases related to immunosuppression. In this context, the research of professor Paolo Mantegazza has made a valuable contribution to the understanding of the transforming role of some viruses such as polyomaviruses, including the SV40 monkey vacuolar virus. Professor Mantegazza also made a significant contribution to the synthesis of compounds for transmissible spongiform encephalopathies caused by prions.

L'invito, che considero istituzionale essendo io Presidente del Collegio dei Microbiologi italiani, mi consente di inquadrare in modo appropriato il ruolo del professor Mantegazza: per me romano, egli è infatti sempre stato un modello di come dovrebbe essere un Rettore, dal momento che non ha mai trascurato gli aspetti scientifici del proprio lavoro. È stato infatti un vero piacere ripercorrere la sua produzione scientifica nel corso degli anni, quella di una persona che, come ricordava il professor Martini, ha lavorato in tanti campi, ma è riuscito anche a produrre tanta ricerca entrando anche nel settore della microbiologia e apportandovi contributi significativi. Vorrei quindi ripercorrere insieme a voi quello che Mantegazza ha fatto nell'ambito dei chemioterapici. Dal momento che la mia relazione tratta i chemioterapici antivirali, mi sono tuttavia permesso di ampliarla ai chemioterapici antimicrobici, perché in realtà Mantegazza ha lavorato a fondo in molti di questi settori apportandovi contributi duraturi. Ho consultato le sue pubblicazioni a partire dal 1951 fino ai giorni nostri, rimanendone molto colpito; riferendosi ai concorsi si parla infatti di "attività continuativa nel tempo", intendendo fornire un modello di come dovrebbero essere i curricula scientifici.

Il settore del quale vorrei parlarvi oggi è la terapia antimicrobica, settore che ha registrato negli anni profondissimi cambiamenti. I ricordi del professore sono i ricordi di tutti noi e di come sono cambiate, tanto l'Università quanto la Medicina. Purtroppo la gestione accademica non sempre ha tenuto il passo con una ricerca esplosiva che ha mutato le prospettive di base della medicina e del quadro clinico-terapeutico. Quando mi sono laureato non c'erano infatti né l'ecografia, né la TAC, gli esami erano pochi, la conta degli eosinofili per valutare il cortisone non era poi così lontana. Oggi disponiamo, nell'ambito degli antimicrobici, di una cultura scientifica profondamente diversa e anche di tanti nuovi farmaci. Si tratta delle nuove scoperte, nonché dei più grandi successi della chimica farmaceutica del ventesimo secolo, e

la stragrande maggioranza sono antimicrobici (Fig. 1). Le malattie infettive costituivano infatti, allora e spesso anche oggi, un problema reale al quale un po' tutti noi laureati in Medicina, ognuno nel proprio tempo, si è dedicato. Il lavoro di Mantegazza in questo campo è stato molto articolato e anche molto equilibrato, andando dagli antibatterici agli antiprionici (Fig. 2). Vorrei quindi toccare rapidamente questi tre punti, dal momento che la microbiologia è una scienza estremamente variegata il cui termine fondante, "micro", costituisce l'elemento comune, anche se tra un batterio e un prione molte sono le differenze, Mantegazza ha toccato tutti questi temi, microbiologia e chemioterapia antimicrobica. Basti pensare ai nuovi antitubercolari dell'inizio degli anni '60. Ricordiamo che Giorgio Oru e tanti altri morirono in quel periodo di tubercolosi e quello della tubercolosi è un problema che sta tornando: personalmente, infatti, vedo più di un nuovo malato la settimana. Abbiamo quindi bisogno ancora oggi di nuovi antitubercolari. Ebbene, c'è un contributo sostanziale di Mantegazza proprio ai nuovi chemioterapici antitubercolari e antimicrobici (Fig. 3) e noi ogni giorno constatiamo quanto sia diventato di nuovo cruciale lavorare su nuovi farmaci antibatterici. Abbiamo infatti, negli ospedali, tassi di infezione dal 10 al 15%: una persona che entra in ospedale ha cioè una probabilità tra il 10 e il 15% di contrarre un'infezione ospedaliera e in molti casi si tratta di microbi-resistenti. Quindi gli antimicrobici che abbiamo scoperto 50-60 anni fa, che sembravano avere risolto il problema, costituiscono oggi un problema ancora più grande, perché non funzionano più e abbiamo quindi bisogno di nuovi farmaci. Ebbene, Mantegazza lavorava già anni fa in un contesto nel quale di farmaci ne avevamo veramente pochi, per non dire quasi nessuno.

Ma il campo che più mi ha colpito è quello degli antivirali. Questi sono infatti sfuggenti. Il primo antivirale disponibile è degli anni '50: era un antierpetico, che però funzionava poco ed era molto tossico (Fig. 4). Farmaci antivirali veri ne abbiamo sempre avuti pochi, fino all'arrivo dell'AIDS: questa patologia per la sua drammatica evoluzione clinica e, anche, per le sue implicazioni sociali, ha prodotto una rivoluzione che ha portato non soltanto cambiamenti radicali in termini di farmaci antivirali anti AIDS, ma in genere per tutti i virus, e oggi la diagnosi di patologia virale è finalizzata a una terapia precisa (Fig. 5). Basti pensare alle problematiche della terapia dell'epatite C e ai nuovi farmaci contro questo virus che probabilmente permetteranno di trattare e di guarire milioni di persone altrimenti destinate al cancro del

fegato. Ebbene, anche in questo caso c'è un obiettivo rilevante progresso. Abbiamo infatti cominciato con gli antierpetici, che tutti conosciamo, e oggi abbiamo farmaci per combattere virus che ci aggrediscono tutti i giorni e proprio grazie a questi nuovi farmaci antivirali la qualità della vita e anche l'esito della malattia sono cambiati. Ma qualcuno ci ha lavorato con costanza e convinzione per far sì che questi farmaci esistessero. Considerate, ad esempio, questi studi sul polio virus. Non si tratta dei polio virus ma dei virus a DNA molto pericolosi, che hanno la peculiarità di integrarsi nel genoma della cellula ospite e di trasformarla determinando fenomeni di trasformazione neoplastica. In particolare, questi virus possono provocare tumori negli animali da esperimento e rappresentano un modello di come sono i tumori di origine virale nell'uomo (Fig. 6). Vi ricordo che il 20% di tutti i tumori dell'uomo sono oggi di origine virale. Questo modello è quello che Mantegazza ha studiato quaranta anni fa o più, quando questi studi erano praticamente inesistenti: egli ha infatti individuato il virus vacuolante della scimmia, il cosiddetto SV40, che è un polio virus che ha la capacità di integrarsi nel genoma della cellula ospite. Dopo l'integrazione, esso determina una riproduzione incontrollata della cellula perché blocca determinati sistemi di controllo della replicazione cellulare: si tratta di un fenomeno estremamente pericoloso perché, bloccandosi la differenziazione, le cellule replicano in maniera smisurata, ma ormai il danno è genetico e pertanto il mancato arresto del ciclo cellulare diventa un fenomeno trasmissibile. L'SV40 era un virus che nessuno aveva studiato fino in fondo come modello di oncogenesi virale: si tratta di un tumore che può provocare patologie a livello cerebrale, e Mantegazza si è occupato molto proprio del livello cerebrale. Guardate i suoi lavori, sono originali del 1984, quando Mantegazza aveva già 61 anni, ma conservava una grande capacità di seguire la produzione scientifica e le sue novità (Fig. 7). I suoi studi erano allora assolutamente originali, perché si occupava, tra l'altro con il mio maestro, il professor Garaci dell'Università di Roma, delle caratteristiche ultrastrutturali delle cellule trasformate da SV40, scoprendo che l'aneuploidia tipica di queste cellule era una condizione necessaria per poter sviluppare successivamente tumori. Noi sappiamo che le cellule tumorali sono tendenzialmente poliploidi o aneuploidi, hanno cioè un corredo cromosomico diverso da quello delle cellule normali, a 46 cromosomi. Studiando queste cellule trasformate dal SV40, Mantegazza ha dimostrato che un elemento caratteristico di queste cellule era appunto

l'alterazione cromosomica che produceva un'alterazione strutturale la quale, alla fine, avrebbe portato alla trasformazione oncogena. Si tratta di scoperte veramente originali di un farmacologo che si occupava di chemioterapici, oltre a fare il Rettore. Egli riusciva infatti a produrre studi estremamente aggiornati non soltanto nel campo della chemioterapia, ma anche in quello della microbiologia pura, che ancora oggi rappresentano dei modelli di come individuare le caratteristiche oncogene di una cellula trasformata da un virus. Il mio intervento di oggi è quindi inteso a far capire come ci si possa occupare di antimicrobici guardandoli da fuori, con un occhio intelligente, direi quasi olistico; pensare infatti di sezionare la scienza in parti pre-specificate ritenendo di fare un lavoro adeguato è molto difficile. C'è chi invece, venendo dalla chemioterapia, è riuscito a trovare farmaci antivirali studiando le caratteristiche biologiche della cellula trasformata: Mantegazza è stato un esempio in questo campo. Considerate un altro esempio, i prioni: tutti sappiamo che questi sono legati, nell'immaginario popolare, al problema della "mucca pazza". In realtà si tratta di un fenomeno molto più complesso: sono infatti proteine alterate al limite tra la vita e la non vita, senza corredo genetico e che hanno la capacità di autoreplicarsi determinando un'alterazione delle cellule nelle quali sono presenti e che lentamente muoiono (Fig. 8). E' il caso della sindrome di Creutzfeldt-Jakob nell'uomo, cioè l'alterazione dell'encefalopatia spongiforme, tipica della malattia prionica. Questi prioni erano un po' come l'araba fenice, dal momento che nessuno era riuscito a caratterizzarli fino in fondo perché mancavano anche degli elementi strutturali per poterli riconoscere: per esempio essi colpiscono soltanto il sistema nervoso ma non si capisce come ci arrivino e soprattutto quale sia il meccanismo attraverso il quale si fanno strada all'interno dell'organismo. Quindi sono rimasti un mito: avevano infatti una caratterizzazione strutturale che riuscivamo in qualche misura a identificare, ma che non capivamo: non abbiamo cioè mai capito fino in fondo nei primi anni come facesse a replicarsi una proteina. Ebbene, anche in questo campo Mantegazza ha dato uno straordinario contributo. Mi permetto di soffermarmi sull'ambito antimicrobico, il più innovativo dal punto di vista di un microbiologo. Ci ricordiamo tutti della "mucca pazza", che ha fatto strage di mucche e disastri anche negli uomini; centinaia di migliaia sono state le mucche infettate, riconosciute tali negli allevamenti, e poi abbattute. Si è scoperto dopo molte ricerche che la malattia era dovuta al prione delle pecore affette da Scrapie. Questo non era stato previsto

in quanto fino ad allora non si era visto un salto di specie in queste malattie e quindi si riteneva che gli ovini ammalati potessero essere usati come cibo per i bovini. Nelle fattorie inglesi avevano trasformato i bovini in carnivori, perché invece di nutrirli con l'erba e il fieno davano loro da mangiare i derivati delle carcasse degli ovini, gli scarti della carne. Questi contenevano lo Scrapie, che è un prione dell'ovino, che non fa salto di specie naturale, ma lo fece entrando nei bovini per via orale e andando quindi nel cervello. Mangiando i bovini, noi a nostra volta ci siamo infettati. I prioni sono molti e ognuno è specifico del proprio animale di riferimento: lo Scrapie per la pecora, l'encefalopatia spongiforme o sindrome di Creutzfeldt-Jakob per l'uomo, ecc. Queste sono le patologie tipiche: una volta si trasferivano nei cannibali della Nuova Guinea, che morivano per l'encefalopatia spongiforme mangiando il cervello delle loro vittime. Storie antiche, che speriamo non si ripetano. (Fig. 9). Quello che mancava era capire come fosse possibile che un prione, cioè una proteina, entrasse per via alimentare, raggiungesse il cervello e facesse danno solo al cervello. Ci voleva qualcuno che riflettesse: ebbene Mantegazza ha fatto un'operazione molto elegante, introducendo il prione per via sistemica. Si è constatato che questo, non introdotto direttamente nel cervello, andava ad alterare le vie nervose adrenergiche, che a loro volta guidavano il prione all'interno del neurone e davano la possibilità di risalire lentamente al cervello, portando alla malattia prionica (Fig. 10). Con questo modello sperimentale egli, avvalendosi della collaborazione di molti ricercatori con esperienze multidisciplinari, ha portato contributi farmacologici importanti per la comprensione della fisiopatologia dei prioni ma ha anche posto le basi per un possibile intervento farmaco-terapeutico (Figg. 11 e 12). Questo dà la sensazione di come tutto abbia avuto un senso: siamo cioè passati dal microbo più grande, il microbatterio tubercolare, che è uno dei più grandi ma è sempre un microbo, ai virus e poi ai prioni. C'è un filo conduttore in questa ricerca ed è la capacità di pensare sempre in un modo diverso. Credo che il maggior contributo che posso apportare al ricordo di Mantegazza è quello di sottolineare la sua capacità di guardare le cose sempre in maniera articolata, cioè in maniera olistica e diversificata, perché la scienza avanza per passi costanti, ma il vero scienziato è colui che sa guardare, e camminare, di lato (Fig. 13).

Alcuni importanti successi della Chimica Farmaceutica nel XX secolo

In gran parte sono chemioterapici antimicrobici

- scoperta dei sulfamidici (1935)
- sintesi di nuovi antimalarici derivati dalla chinina
- avvento della penicillina G (1942)
- produzione di ormoni steroidei semisintetici (anni '50)
- scoperta dell'isoniazide (1952)
- introduzione in terapia degli antibiotici a largo spettro:
cloramfenicolo (1949), ossitetraciclina (1950), ampicillina (1964),
cefaloridina (1965)
- scoperta delle benzodiazepine (1960)
- scoperta dell'acido nalidixico (1962)
- avvento dei fluorochinoloni: norfloxacina (1981)
- avvento degli antifungini imidazolici: chetoconazolo (1983)
- introduzione in terapia della AZT, primo farmaco anti-AIDS (1987)

Fig. 1.

CONTRIBUTO DEL PROF. MANTEGAZZA NELLA RICERCA SUI CHEMIOTERAPICI ANTIBATTERICI (anni 50-60)

NEW SUBSTANCES WITH ANTIBACTERIAL ACTION. HALOGENO-METHYL-ARYL-KETONES. II]. CAVALLINI G, MASSARANI E, MAURI L, NARDI D, PACCHIANO F, **MANTEGAZZA P**. Boll Chim Farm. 1964 Jan;103:48-64.

ANTIBACTERIAL AGENTS. SOME NEW HALOMETHYL ARYL KETONES. CAVALLINI G, MASSARANI E, NARDI D, MAURI L, TENCONI F, PACCHIANO F, **MANTEGAZZA P**. J Med Chem. 1963 Sep;6:573-8.

Antibacterial agents. Some new guanyldrazone derivatives. CAVALLINI G, MASSARANI E, NARDI D, MAURI L, **MANTEGAZZA P**. J Med Pharm Chem. 1961 Jul 1;4:177-82.

Antibacterial activity of some guanyldrazones. **MANTEGAZZA P**, PACCHIANO F, CAVALLINI G. Antibiot Chemother (Northfield). 1961 Jun;11:405-8.

Effect of certain thiourea and thiazole derivatives on Mycobacterium tuberculosis in vitro. **MANTEGAZZA P**, TOMMASINI R, TRAVE R. Boll Soc Ital Biol Sper. 1952 Aug-Oct;28(8-10):1596-9.

New synthetic antituberculosis drugs. FUSCO R, **MANTEGAZZA P**, ROSSI S, TOMMASINI R. Boll Soc Ital Biol Sper. 1951 Dec;27(12):1730-2.

Chemotherapeutic thiosemicarbazones with extensive antibacterial activity. CAVALLINI G, RAVENNA F, **MANTEGAZZA P**, TOMMASINI R. Farmaco. 1951 Nov-Dec;6(7):826-34.

Effect on the Koch bacillus, in vitro, of some sterols and respective thiosemicarbazones. **MANTEGAZZA P**, TOMMASINI R. Boll Soc Ital Biol Sper. 1951 Mar-Apr;27(4):631-3.

Extensive in vitro antibacterial activity of some benzaldehyde thiosemicarbazones against various bacteria other than the Koch bacillus. **MANTEGAZZA P**, TOMMASINI R. Farmaco. 1951 Mar-Apr;6(2):264-8.

Fig. 2.

CONTRIBUTO DEL PROF. MANTEGAZZA NELLA RICERCA DI NUOVI ANTITUBERCOLARI

September, 1963

ANTIBACTERIAL HALOMETHYL ARYL KETONES

573

Antibacterial Agents. Some New Halomethyl Aryl Ketones

G. CAVALLINI,¹ E. MASSARANI,² D. NARDI, L. MAURI, F. TENCONI, F. PACCHIANO, AND P. MANTEGAZZA*Medicinal Chemistry Research Laboratories, Vister, Casatenovo Brianza (Como), Italy*

Received April 19, 1963

The antibacterial activity of chloroacetyl, dichloroacetyl, and dibromoacetyl derivatives of biphenyl, diphenylmethane, diphenylethane, diphenyl ether, diphenyl sulfide, diphenyl sulfoxide, and diphenyl sulfone was studied. The chloromethyl aryl ketones and the dibromomethyl aryl ketones are active against the *Micrococcus pyogenes*, but their activity is greatly reduced in the presence of serum. The dichloromethyl aryl ketones are active against *Mycobacterium tuberculosis* and their activity is not reduced by serum.

1726

809

RICERCHE SU NUOVI ANTITUBERCOLARI DI SINTESI (*)

R. FUSCA, P. MANTEGAZZA, S. ROSI e R. TENCONI

(Dipartimento di Farmacologia e di Chimica Industriale della Università di Milano)
Sezione di Milano - Seduta del 13 novembre 1961.

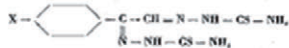
Nelle ricerche su nuovi composti ad azione antitubercolare, che hanno fatto seguito alla scoperta di Domagk dell'attività dei tiosemicarbazoni, ci si orienta sempre più verso prodotti che ad una effettiva azione contro il bacillo di Koch, uniscano una scarsa tossicità per l'ospite.

Nel quadro di queste direttive e proseguendo gli studi che da due anni stiamo conducendo in questo campo (1), abbiamo preparato una nuova serie di composti strutturalmente collegati ai tiosemicarbazoni e riconducibili ai tre tipi fondamentali:

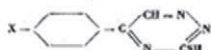
A) tiosemicarbazoni di arilglicosali



B) bistiosemicarbazoni di arilglicosali



C) 5-aryl-3-mercapto-1,2,4-triazine.



In A) si tratta di composti che si possono considerare derivati dal tibilone per inserzione di un gruppo carbonilico tra la catena tiosemicarbazonica e il nucleo; in B) anche il secondo gruppo carbonilico è divenuto punto di attacco di una catena tiosemicarbazonica e in C) infine la catena di A) si è chiusa ad anello triazinico perdendo un molecola d'acqua.

Abbiamo per ora considerato solo le sostituzioni in *para* nell'anello benzentrico, scegliendo particolarmente quei gruppi che anche nei corrispondenti tibiloni manifestano una marcata influenza. Questi sono:

$$X=\text{H}-; \text{C}_2\text{H}_5-; \text{C}_2\text{H}_5-\text{S}-; \text{C}_2\text{H}_5-\text{SO}_2-; -\text{NO}_2-\text{CN}-\text{NH}_2-\text{CH}_2-\text{CONH}-$$

(gli ultimi due solo per il derivato triazinico).

(*) Dai più completi comprendenti anche la parte chimica sono attualmente in corso di pubblicazione nella Gazzetta Chimica Italiana.

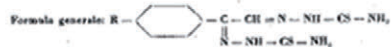
Attività antitubercolare in vitro determinata, sia in presenza che in assenza di siero, sul ceppo H₃₇Rv.

Monotiosemicarbazoni



R =	Minima concentrazione attiva in Tbe		L. D. ₅₀ nel siero via siero mg/kg (*)
	in assenza di siero	in presenza di siero	
H-	75	150	— 750
CN-	110	150	1000
NO ₂ -	60	150	— 750
C ₂ H ₅ -S-	35	60	600
C ₂ H ₅ -S-	20	60	850
C ₂ H ₅ -SO ₂ -	190	260	+ 1600
Tibilone	0,9	6	950

Bistiosemicarbazoni



R =	Minima concentrazione attiva in Tbe		L. D. ₅₀ nel siero via siero mg/kg (*)
	in assenza di siero	in presenza di siero	
H-	30	50	+ 2000
CN-	12	35	—
NO ₂ -	12	25	—
C ₂ H ₅ -S-	8	25	—
C ₂ H ₅ -S-	10	15	—
C ₂ H ₅ -SO ₂ -	30	75	—
Tibilone	0,9	6	950

Sviluppo della chemioterapia antivirale

Trent'anni fa solo 3 farmaci erano disponibili per il trattamento delle infezioni di origine virale; oggi il clinico ha a disposizione più di 40 di queste molecole.

Alla fine degli anni '70 la scoperta che gli analoghi nucleosidici aciclici, in particolare Aciclovir, potevano inibire la replicazione del DNA dell'Herpes Simplex virus (HSV), fu la tappa fondamentale che aprì la strada della ricerca sui farmaci in grado di affrontare le malattie causate da virus.

Negli anni '80, la necessità di combattere una nuova grande malattia dovuta ad un virus, l'AIDS causata dall'HIV, diede un ulteriore decisivo impulso alla ricerca in questo campo e dopo la scoperta della zidovudina nel 1987, sono stati registrati quasi 30 antiretrovirali di cui 26 a partire dal 1995!

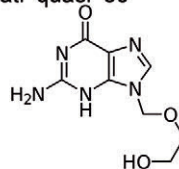


Fig. 4.

Lo sviluppo di una chemioterapia antivirale è in continuo progresso.

Attualmente abbiamo a disposizione numerosi classi di farmaci per il trattamento di:

- **Influenza**
- **Virus respiratorio sinciziale**
- **Virus Herpes Simplex**
- **Virus Varicella-Zoster**
- **Epatiti virali**
- **Citomegalovirus**
- **HIV**



Fig. 5.

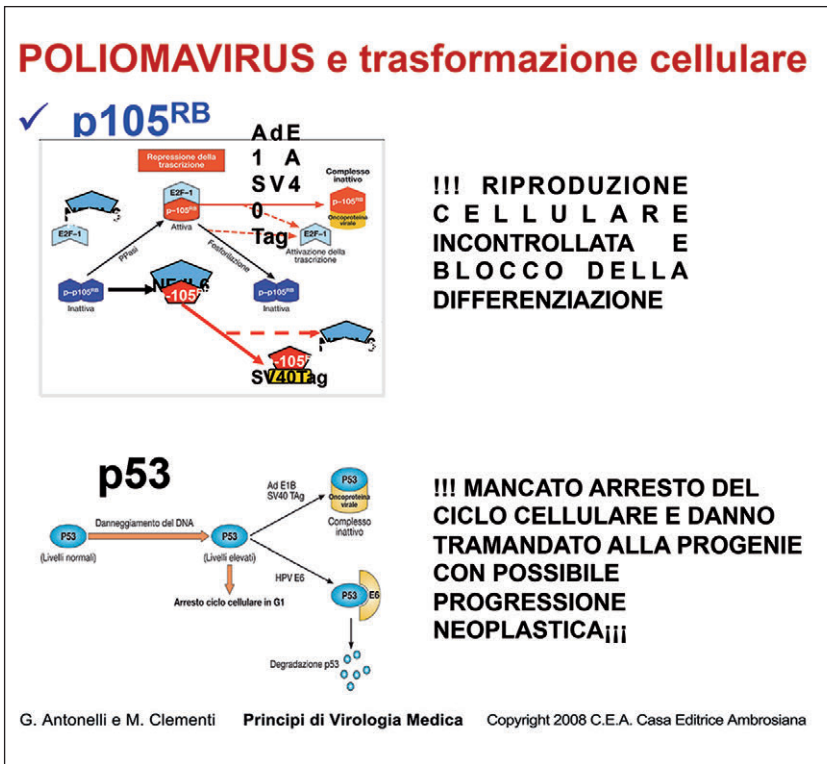


Fig. 6.

J. SUBMICROSC. CYTOL., 17 (1), 21-30, 1985

Differential expression of surface proteins, virus receptors and histocompatibility antigens in SV40-transformed human choroid cells and their clones

G. CARRUBA, P. MANTEGAZZA^a, E. GARACI, A. RADAELLI[†] and C. DE GIULI MORGHEN^{a†}

Dipartimento di Medicina Sperimentale, II Università di Roma; ^a Dipartimento di Farmacologia Chemioterapia e Tossicologia Medica, Università di Milano; [†] Centro del C.N.R. per lo Studio delle Infrastrutture Cellulari, Milano, Italia

SUMMARY - Human choroid (HC) cells transformed by Simian virus 40 (HC/SV40) and some of their soft agar-derived clones were utilized to study the influence of SV40 transformation on the expression of some differentiation parameters. The presence of receptors for DNA and RNA viruses, known to induce cytopathic effects in target cells, always occurred in normal HF and HC/SV40 cells as well as in their derived clones, whereas differences were observed in the expression of influenza A and Sindbis virus receptors. Immunofluorescence assays showed an increase in the expression of class I (HLA-A/B/C) and class II (DR) histocompatibility antigens in hyperdiploid clones compared with both the hypodiploid clones and the normal human cell counterpart. The two surface glycoproteins, fibronectin and laminin, appear only partially correlated with the transformed phenotype of the cells both at optical (immunofluorescence) and supraoptical (immunoelectron microscopy) level. This study confirms that SV40 transformation induces in human choroid cells a modulation of the considered differentiation parameters and that this may be due to a different insertion mode of the SV40 genome in HC cells.

La trasformazione delle cellule coroidi umane induce una modulazione dei parametri di differenziamento e questo può essere dovuto a differenti modi di inserzione del genoma di SV40 nelle cellule umane coroidi.

Fig. 7.

Prioni

- I **prioni**, sono agenti **infettanti subvirali** costituiti da soli frammenti glicoproteici autoreplicanti, senza acido nucleico.
- Alcuni **di essi colpiscono il sistema nervoso**, determinando malattie mortali tutt'oggi incurabili (**kuru**, **scrapie**, **malattia di Creutzfeld-Jacob**). Sono al limite tra forma vivente e non vivente.
- Il termine **Prion** (PRoteinaceous Infective ONly particle) è stato coniato da Stanley B. Prusiner, ricercatore statunitense nel campo delle "neuropatologie spongiformi" che isolò per la prima volta questi agenti infettivi.

Fig. 8.

Le TSE degli animali e dell'uomo

Animali

- Scrapie (Pecora, capra, muflone)
- Encefalopatia spongiforme bovina (BSE) (Bovino)
- Encefalopatia spongiforme felina (FSE) (Gatto, puma, ocelot, ghepardo, tigre, leone)
- Encefalopatia trasmissibile del visone (TME) (Visone)
- Malattia del dimagrimento cronico (CWD =Chronic wasting disease)(Cervidi)

Uomo

- Malattia di Creutzfeld-Jakob (CJD)
 - CJD sporadica
 - CJD iatrogena
 - CJD familiare
- Malattia di Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)
- Insonnia familiare fatale (FFI)
- Insonnia sporadica fatale
- Kuru
- Variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (vCJD)

Fig. 9.

Veterinary Research Communications, 31(Suppl. 1) (2007) 249–252
DOI: 10.1007/s11259-007-0089-1

© Springer 2007

Plasma Noradrenalin as Marker of Neuroinvasion in Prion Diseases

C. Pollera^{1,3,*}, G. Bondiolotti^{2,3}, E. Formentin^{1,3}, M. Puricelli^{1,3}, P. Mantegazza^{2,3}, S. Bareggi^{2,3}, G. Poli^{1,3} and W. Ponti^{1,3}

DISCUSSION

The results of this study clearly indicate a specific altered sympathetic nerve function because the levels of noradrenaline (but not adrenaline) were markedly increased in the animals infected peripherally, but not in those infected intracerebrally. This finding confirms the fact that, in a subsequent phase, prion neuroinvasion uses the SNS to spread from the periphery to the CNS after invading LRS organs, such as the spleen. Although the mechanism of peripheral nerve prion transport is not fully understood, the present results indicate that prions markedly perturb the nerve terminals, thus leading to an increase in noradrenaline turnover. Further experiments are necessary to determine whether this phenomenon occurs early or late in the neuroinvasion process, and whether it has any functional consequences. Once the time-course of such alterations during the pathogenetic process of the infection has been fully elucidated, the evaluation of plasma noradrenaline level may be a valuable marker of PrP neuroinvasion.

Fig. 10.

Terapia antiprionica

Fino a qualche tempo fa le malattie prioniche venivano considerate malattie non curabili ad evoluzione sicuramente fatale.

Recentemente sono state identificate delle sostanze in grado di inibire la PrP* e stimolarne la degeradazione. Si tratta di derivati delle **fenotiazine** e della **quinacrina**. Le prime sono sostanze da sempre utilizzate come neurolettiche, la seconda è un noto antimalarico.

Il Prof. Mantegazza con il suo gruppo di ricerca ha dato un notevole contributo alla sintesi di composti con attività antiprionica.

Fig. 11.

Contributo del Prof. Mantegazza nella progettazione di composti antiprionici



Journal of Chromatography B, 769 (2002) 27-33

JOURNAL OF
CHROMATOGRAPHY B
www.elsevier.com/locate/jchromb

Determination of sodium 3,4-diaminonaphthalene-1-sulfonate, a Congo Red derivative, in plasma and brain of hamsters by high-performance liquid chromatography after solid-phase extraction and ultraviolet absorbance

R. Pirola^a, M. Gervasoni^a, C. Pollera^b, S. Villa^c, P. Mantegazza^a, S.R. Bareggi^{a,*}

Sintesi di composti analoghi del colorante Rosso Congo, e messa a punto di una cromatografia liquida per il rilevamento di tali composti nel cervello e nel plasma di criceti.



Available online at www.sciencedirect.com



IL FARMACO

Il Farmaco 58 (2003) 929-937

www.elsevier.com/locate/farmac

Congo red analogues as potential anti-prion agents

Stefania Villa^{a,*}, Giorgio Cignarella^a, Daniela Barlocco^a, Marco Gervasoni^b,
Gabriella Carcassola^c, Laura Giannino^c, Paolo Mantegazza^b

^a Istituto di Clinica Farmacologica e Tossicologica, Università degli Studi di Milano, Viale Abruzzi 42, I-20133 Milan, Italy

^b Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Università degli Studi di Milano, Via Vanvitelli 32, I-20129 Milan, Italy

^c Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Via Corfidi 30, I-20133 Milan, Italy

Received 13 December 2002; accepted 28 January 2003

Valutazione di 6 analoghi del Rosso Congo sul loro ruolo potenziale anti-prionico nelle encefalopatie spongiformi trasmissibili.

ArzneimForschDrugRes

Antibiotika - Chemotherapie - Virostatika - Zytostatika

Antibiotics - Antiviral Drugs - Chemotherapeutics - Cytostatics

2004

Evaluation of Anti-Prion Activity of Congo Red and its Derivatives in Experimentally Infected Hamsters

Giorgio Poli¹, Piera Anna Martino¹, Stefania Villa², Gabriella Carcassola³, Maria Laura Giannino³,
Paola Dall'Ara¹, Claudia Pollera³, Selma Jovicki³, Vito M. Irsanquillo³, Silvio Bareggi¹, Paolo Mantegazza²,
and Wilma Pozzi¹

Valutazione dei meccanismi di azione nell'attività anti-prionica dei derivati del rosso Congo nelle BSE e vCJD.

Pion 6:1, 62-72; January/February/March 2012; © 2012 Landes Bioscience

Therapeutic effect of CHF5074, a new γ -secretase modulator, in a mouse model of scrapie

Giorgio Poli,¹ Erica Corda,¹ Barbara Lucchini,¹ Maria Puricelli,¹ Piera Anna Martino,¹ Paola Dall'Ara,¹ Gino Villetti,²
Silvio R. Bareggi,¹ Cristiano Corona,⁴ Elena Vallino Costasso,⁴ Paola Gazzuola,⁴ Barbara Iulini,⁴ Maria Mazza,⁴ Pierluigi Acutis,⁴
Paolo Mantegazza,³ Cristina Casalone⁴ and Bruno P. Imbimbo¹

Nuova prospettiva terapeutica antiprionica

¹Department of Veterinary Pathology, Hygiene and Public Health, Microbiology and Immunology Unit, School of Veterinary Medicine, University of Milan, Milan, Italy; ²Research and Development, Chiesi Farmaceutici, Parma, Italy; ³Department of Pharmacology, Chemotherapy and Medical Toxicology, School of Medicine, University of Milan, Milan, Italy; ⁴ITA, Italian Reference Laboratory for TSE, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Turin, Italy

Key words: TSE, prion, murine model, γ -secretase modulator, therapy

Prion 6:1, 62-72; January/February/March 2012; © 2012 Landes Bioscience

Therapeutic effect of CHF5074, a new γ -secretase modulator, in a mouse model of scrapie

Giorgio Poli,^{1,*} Erica Corda,¹ Barbara Lucchini,¹ Maria Puricelli,¹ Piera Anna Martino,¹ Paola Dall'Ara,¹ Gino Villetti,² Silvio R. Bareggi,³ Cristiano Corona,⁴ Elena Vallino Costassa,⁴ Paola Gazzuola,⁴ Barbara Iulini,⁴ Maria Mazza,⁴ Pierluigi Acutis,⁴ Paolo Mantegazza,³ Cristina Casalone⁴ and Bruno P. Imbimbo²

¹Department of Veterinary Pathology, Hygiene and Public Health; Microbiology and Immunology Unit; School of Veterinary Medicine; University of Milan; Milan, Italy; ²Research and Development; Chiesi Farmaceutici; Parma, Italy; ³Department of Pharmacology, Chemotherapy and Medical Toxicology; School of Medicine; University of Milan; Milan, Italy; ⁴CEA; Italian Reference Laboratory for TSEs; Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte; Liguria e Valle d'Aosta; Turin, Italy

Key words: TSE, prion, murine model, γ -secretase modulator, therapy

In transmissible spongiform encephalopathies (TSEs) and Alzheimer disease (AD) both misfolding and aggregation of specific proteins represent key features. Recently, it was observed that PrP^{Sc} is a mediator of a synaptic dysfunction induced by A β oligomers. We tested a novel γ -secretase modulator (CHF5074) in a murine model of prion disease. Groups of female mice were intracerebrally or intraperitoneally infected with the mouse-adapted Rocky Mountain Laboratory prions. Two weeks prior infection, the animals were provided with a CHF5074-medicated diet (375 ppm) or a standard diet (vehicle) until they showed neurological signs and eventually died. In intracerebrally infected mice, oral administration of CHF5074 did not prolong survival of the animals. In intraperitoneally-infected mice, CHF5074-treated animals showed a median survival time of 21 d longer than vehicle-treated mice ($p < 0.001$). In these animals, immunohistochemistry analyses showed that deposition of PrP^{Sc} in the cerebellum, hippocampus and parietal cortex in CHF5074-treated mice was significantly lower than in vehicle-treated animals. Immunostaining of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in parietal cortex revealed a significantly higher reactive gliosis in CHF5074-treated mice compared with the control group of infected animals. Although the mechanism underlying the beneficial effects of CHF5074 in this murine model of human prion disease is unclear, it could be hypothesized that the drug counteracts PrP^{Sc} toxicity through astrocyte-mediated neuroprotection. CHF5074 shows a pharmacological potential in murine models of both AD and TSEs thus suggesting a link between these degenerative pathologies.

Fig. 13.