

# Alessandra BERTONI

Nata a Lodi, residente a Novara  
Ricercatore confermato  
BIO/10 Biochimica

Facoltà di Medicina, Chirurgia e Scienze della Salute  
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale  
Tel.: 0321 660 610/677 Fax: 0321 620 421  
E-mail: alessandra.bertoni@med.unipmn.it

**CARRIERA ACCADEMICA:** 2004-2006: Ricercatore non confermato.  
2006-: Ricercatore confermato

**INSEGNAMENTI.** Chimica e Propedeutica Biochimica, Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia  
Biochimica, Corso di Laurea in Infermieristica, Infermieristica Pediatrica e Ostetricia  
Meccanismi di Segnalazione endocrina, Corso di Laurea Magistrale in Biotecnologie Mediche

**CURRICULUM.** Nel 1995 si laurea in Scienze Biologiche; dal 2000 al 2003 svolge attività di ricerca presso il laboratorio del Prof. Sanford J Shattil, The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA; dal 2001 al 2004 frequenta il Dottorato di Ricerca in Biochimica presso l'Università degli Studi di Pavia. Dal 2004 è ricercatore di Biochimica presso l'Università del Piemonte Orientale, Facoltà di Medicina e Chirurgia.

**CAMPI DI INDAGINE NELLA RICERCA.** Meccanismi di attivazione e aggregazione piastrinica; studio della funzionalità delle integrine piastriniche  $\alpha 2\beta 3$   $\alpha 2\beta 1$ ; studio dei meccanismi di differenziamento megacariocitario.

## TEMI CORRENTI DI RICERCA

*Maturazione e differenziamento megacariocitario in cellule staminali: trasduzione del segnale indotta da endocannabinoidi*

Gli endocannabinoidi sono una nuova classe di mediatori lipidici endogeni che mimano alcuni degli effetti psicotropici, ipnotici ed analgesici dei cannabinoidi, i costituenti naturali della Cannabis sativa. I cannabinoidi endogeni comprendono ammidi, esteri ed eteri di acidi grassi poliinsaturi a lunga catena derivanti dall'acido arachidonico. I maggiori esponenti di questa classe di molecole sono l'anandamide ed il 2-arachidonilglicerolo (2-AG). La loro azione si esplica mediante il legame a specifici recettori associati a proteine G eterotrimeriche, di cui si conoscono due isoforme: il recettore CB1, quasi esclusivamente localizzato nel sistema nervoso, ed il recettore CB2, localizzato prevalentemente nei tessuti periferici. Oltre ai recettori cannabici, l'anandamide può anche legare il recettore vanilloide di tipo 1 (TRPV1) e può essere così considerata un vero e proprio "endovanilloide". Data l'ampia distribuzione dei recettori CB, gli endocannabinoidi svolgono numerose funzioni in un organismo. Recenti evidenze sperimentali hanno dimostrato un nuovo ruolo fisiologico per gli endocannabinoidi quali molecole coinvolte nel controllo della proliferazione e del differenziamento cellulare, sia nel sistema nervoso che a livello periferico. Tuttavia, ancora pochi sono i dati disponibili riguardo al differenziamento di cellule ematopoietiche. Recentemente è stato dimostrato che cellule ematopoietiche staminali embrionali di topo non solo esprimono i recettori CB1 e CB2 ma sono anche in grado di sintetizzare endocannabinoidi. Questi dati suggeriscono che i recettori cannabici ed i suoi ligandi sono coinvolti nel mantenimento delle cellule staminali embrionali e che il sistema endocannabinoido possa essere essenziale per la sopravvivenza e il differenziamento delle cellule staminali ematopoietiche. In questo progetto verranno utilizzati due diversi modelli di cellule staminali ematopoietiche, uno murino di cellule ematopoietiche derivate dal midollo osseo, e uno umano di cellule ematopoietiche derivate dal sangue di cordone ombelicale. Con questa ricerca ci proponiamo di analizzare (1) il pattern di espressione e localizzazione subcellulare dei recettori per gli endocannabinoidi CB1, CB2 e TRPV1 in cellule ematopoietiche staminali e di valutare come la loro espressione/distribuzione cambi durante i processi di differenziamento megacariocitario e piastrinogenesi. (2) Quale siano le vie di trasduzione del segnale attivate dalla stimolazione endocannabinoido sia in cellule indifferenziate che differenziate. (3) Quale sia ruolo degli endocannabinoidi nel differenziamento megacariocitario e nella formazione delle piastrine.

*L'inibizione delle diacilglicerolo chinasi come una strategia innovativa per regolare il differenziamento megacariocitario*

Le diacilglicerolo chinasi (DGK) sono enzimi che fosforilano il diacilglicerolo (DAG) producendo acido fosfatidico (PA). Le DGK regolano quindi la segnalazione mediata da lipidi, tramite l'interruzione degli eventi stimolati dal DAG e la generazione di PA in modo spazio- e tempo-dipendente. L'importanza del DAG nella trasduzione del segnale è ben determinata ed è stato ampiamente dimostrato che anche il PA prodotto dalla DGK è in grado di regolare diverse proteine segnale. Il ruolo di questi secondi messaggeri impone l'esistenza di un preciso controllo della loro interconversione, infatti la localizzazione delle DGK e la loro attività sono fisiologicamente regolate nei diversi contesti cellulari. Questa regolazione permette una fine modulazione del metabolismo del DAG, contribuendo alla limitazione delle vie di segnalazione controllate dal DAG. Inoltre, l'inibizione farmacologica delle DGK potrebbe rappresentare un modo per incrementare la segnalazione DAG-dipendente. Le piastrine sono cellule anucleate del sangue che giocano un ruolo chiave nell'emostasi e nello sviluppo delle patologie trombotiche. In seguito alla lesione della parete vasale, le piastrine aderiscono alle molecole della matrice sottoendoteliale esposta e vengono attivate. L'attivazione piastrinica culmina con l'aggregazione delle piastrine e la formazione del tappo emostatico. A causa del ruolo fondamentale giocato nella formazione del trombo, le piastrine sono il bersaglio preferenziale nella terapia antitrombotica delle patologie cardiovascolari. La formazione delle piastrine implica il differenziamento delle cellule staminali ematopoietiche in megacariociti e la successiva frammentazione delle protrusioni pseudopodiali chiamate propiastri del megacariocita maturo. Difetti nella produzione delle piastrine causano trombocitopenia e possono provocare diverse patologie da sanguinamento. La produzione di DAG mediata dalla fosfolipasi C (PLC) gioca un ruolo chiave sia nel controllo della formazione delle piastrine, sia nell'attivazione mediata da agonisti nelle piastrine mature. Infatti, la segnalazione dipendente dal DAG è implicata nella stimolazione del differenziamento e della maturazione delle piastrine. Quindi le DGK potrebbero intervenire come modulatori negativi della formazione delle piastrine controllando l'accumulo del DAG e la segnalazione mediata da questo secondo messaggero, ma fino ad oggi questo campo di studio non è ancora stato esplorato. La produzione di DAG mediata dalla PLC e indotta dalla stimolazione con agonisti, svolge un ruolo fondamentale anche nel controllo dell'attivazione delle piastrine mature. La PLC

idrolizza il fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato producendo DAG, che stimola la PKC, e inositolo-3,4,5-trisfosfato, che promuove il rilascio di Ca<sup>2+</sup> dai depositi intracellulari. Questi messaggeri cooperano nel promuovere l'attivazione e l'aggregazione piastrinica. In virtù dell'importanza del DAG nell'attivazione piastrinica, le DGK possono essere considerati modulatori ideali delle risposte delle piastrine. Sebbene diverse isoforme di DGK siano state purificate nelle piastrine, il ruolo di questi enzimi è ancora poco conosciuto. Questo progetto si focalizzerà sull'analisi del ruolo delle DGK nella regolazione della segnalazione dipendente dal DAG durante la trombopoiesi e nell'aggregazione piastrinica. Il lavoro proposto sarà eseguito da due unità di ricerca separate che coopereranno per chiarire l'importanza della regolazione dell'attività della DGK nella formazione e nella funzionalità delle piastrine.

## PUBBLICAZIONI PIÙ RECENTI

Di Vito C, Bergante S, Balduini A, Rastoldo A, Bagarotti A, Surico N, Bertoni A, Sinigaglia F The oestrogen receptor GPR30 is expressed in human haematopoietic stem cells but not in mature megakaryocytes Br J Haematol 2009 in press

Catani MV, Fezza F, Baldassarri S, Gasperi Valeria, Bertoni A, Pasquariello N, Finazzi-Agrò A, Sinigaglia F, Avigliano L, Maccarrone M Expression of the endocannabinoid system in the bi-potential HEL cell line: commitment to the megakaryoblastic lineage by 2-arachidonoylglycerol J Mol Med. 2009;87:65-74

Baldassarri S\*, Bertoni A\*, Bagarotti A, Sarasso C, Zanfa M, Catani MV, Avigliano L, Maccarrone M, Torti M, Sinigaglia F. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol activates human platelets through non-CB1/CB2 receptors J Thromb Haemost. 2008;6:1772-92008 \*Co-authorship

Reineri S, Bertoni A, Sanna E, Baldassarri S, Sarasso C, Zanfa M, Canobbio I, Torti M, Sinigaglia F. Membrane lipid rafts coordinate estrogen-dependent signaling in human platelets. Biochim Biophys Acta 2007;1773: 273-8

Campus F, Lova P, Bertoni A, Sinigaglia F, Balduini C, Torti M. Thrombopoietin complements Gi- but not Gq dependent pathways for integrin alpha IIb beta 3 activation and platelet aggregation. J Biol Chem. 2005; 280: 24386-95

Moro L, Reineri S, Piranda D, Pietrapiana D, Lova P, Bertoni A, Graziani A, Defilippi P, Canobbio I, Torti M, Sinigaglia F. Nongenomic effects of 17(beta)-estradiol in human platelets: potentiation of thrombin-induced aggregation through estrogen receptor {beta} and Src kinase. Blood 2005;105: 115-121

Guidetti GF, Greco F, Bertoni A, Giudici C, Viola M, Tenni R, Tira EM, Balduini C, Torti M. Platelet interaction with CNBr peptides from type II collagen via integrin alpha2beta1. Biochim Biophys Acta. 2003;1640:43-51

Eto K, Murphy R, Kerrigan SW, Bertoni A, Stuhlmann H, Nakano T, Leavitt AD, Shattil SJ. Megakaryocytes derived from embryonic stem cells implicate CalDAG-GEFI in integrin signaling. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99:12819-24

Guidetti G\*, Bertoni A\*, Viola M, Tira E, Balduini C, Torti M. The small proteoglycan decorin supports adhesion and activation of human platelets. Blood. 2002;100:1707-14 \*Co-authorship

Bertoni A, Tadokoro S, Eto K, Pampori N, Parise LV, White GC, Shattil SJ. Relationships between Rap1b, affinity modulation of integrin alpha IIb beta 3, and the actin cytoskeleton. J Biol Chem. 2002;277:25715-21

Canobbio I, Bertoni A, Lova P, Paganini S, Hirsch E, Sinigaglia F, Balduini C, Torti M. Platelet activation by von Willebrand factor requires coordinated signaling through thromboxane A2 and Fc gamma IIA receptor. J Biol Chem. 2001;276:26022-9

Torti M, Bertoni A, Sinigaglia F, Balduini C, Payrastra B, Plantavid M, Chap H, Mauco G. The platelet cytoskeleton regulates the aggregation-dependent synthesis of phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate induced by thrombin. FEBS Lett. 2000;466:355-8

### *Orario di Ricevimento*

*su appuntamento presso il Dip. Medicina*

*Clinica e Sperimentale*

*Via Solaroli, 17 Novara*