

Elena GROSSINI

Nata a Novara, residente a Novara
Ricercatore confermato
BIO/09 Fisiologia

Facoltà di Medicina e Chirurgia
Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale
Tel.: 0321 660 680 Fax: 0321 373 3537
E-mail: elena.grossini@med.unipmn.it

CARRIERA ACCADEMICA: 2002-2005: Ricercatore non confermato; 2005-2009: Ricercatore confermato.

INSEGNAMENTI. 2001-2009: Fisiologia.

CURRICULUM. Allieva interna presso il Laboratorio di Fisiologia Umana della Facoltà di Medicina e Chirurgia di Novara dall'anno accademico 1992/1993, dove ha costantemente partecipato all'attività di ricerca nel campo della Fisiologia Cardiovascolare.

Laureata in Medicina e Chirurgia nell'anno accademico 1994/1995, con votazione 110/110 e lode, discutendo una tesi sperimentale in Fisiologia Umana, giudicata degna di stampa, dal titolo: "Effetti emodinamici riflessi della distensione della cistifellea". Le viene inoltre conferita la menzione d'onore, sulla base della votazione ottenuta negli esami di profitto del corso di Laurea.

E' stata ammessa nell'anno accademico 1995/1996 all'undicesimo ciclo del Dottorato di Ricerca in Medicina Molecolare con sede amministrativa prima Torino e successivamente Vercelli. Al termine del corso di Dottorato ha elaborato una tesi dal titolo: "Effetti cardiovascolari della cicloviobuxina D", che ha discusso con esito positivo il 15 marzo 2000 presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia di Novara.

E' risultata vincitrice di una borsa di studio per laureati (disciplina Fisiologia) finalizzata allo svolgimento di attività di studio e di perfezionamento per l'anno 2000.

E' risultata vincitrice, in data 24 ottobre 2000, di un assegno di collaborazione ad attività di ricerca nell'area di Scienze Biologiche settore scientifico-disciplinare E04B Fisiologia Umana, con programma di ricerca dal titolo: "Effetti emodinamici del testosterone".

E' risultata vincitrice, nel dicembre 2001, del concorso per un posto da ricercatore nel settore scientifico disciplinare BIO/09 (Fisiologia Umana). Ha preso servizio nel marzo 2002 presso il Dipartimento di Scienze Mediche della Facoltà di Medicina e Chirurgia della Università degli Studi "A. Avogadro" in qualità di ricercatore nel settore scientifico disciplinare BIO/09.

E' socia della Società Italiana di Fisiologia e dell'American Physiological Society.

CAMPI DI INDAGINE NELLA RICERCA. Effetti emodinamici riflessi indotti dalla distensione di visceri cavi; effetti emodinamici riflessi indotti dalla somministrazione endovenosa di ormoni; effetti emodinamici indotti dalla somministrazione endovenosa di farmaci (cicloviobuxina D; levosimendan); regolazione nervosa dell'apparato cardiovascolare; meccanismi farmacologici ed intracellulari di farmaci; effetto di ormoni, peptidi e farmaci sul modello animale di ischemia/riperfusion; modulazione dei processi di apoptosi ed autofagia in cellule endoteliali, miocardiche ed epatociti.

TEMI CORRENTI DI RICERCA.

Effetti emodinamici della somministrazione intracoronarica di Levosimendan. Lo scopo della ricerca è stato quello di valutare l'effetto della somministrazione intracoronarica di Levosimendan, capostipite dei farmaci calcio sensitizzanti, nel maiale anestetizzato, esaminando anche il ruolo del sistema nervoso autonomo e del monossido d'azoto (NO). Il Levosimendan è un farmaco ad azione inotropica e cronotropica positiva e vasodilatante. Mentre è chiaro dai dati riportati in letteratura come questo farmaco induca un aumento della sensibilità dei miofilamenti di troponina C al calcio, inibisca la fosfodiesterasi III e attivi i canali del potassio ATP dipendenti, non è altrettanto chiaro quale possa essere il ruolo del sistema nervoso parasimpatico ed ortosimpatico e di NO nella genesi degli effetti cardiovascolari esercitati dal Levosimendan. La presente ricerca si è pertanto proposta di studiare gli effetti in vivo, nel maiale anestetizzato, della somministrazione acuta di Levosimendan sulla pressione arteriosa, sulla frequenza cardiaca, sulla contrattilità miocardica e sul flusso ematico coronarico. Il farmaco in questione è stato somministrato direttamente in coronaria al fine di evitare il ben descritto e svantaggioso effetto ipotensivo che si osserva con la sua infusione endovenosa. Le dosi di Levosimendan somministrate (6, 12 e 24 microg/Kg) sono state quelle comunemente utilizzate in clinica come bolo,

ricalcolate in relazione al flusso ematico coronarico misurato. Nel primo gruppo di maiali la somministrazione di Levosimendan alle dosi corrispondenti a 12 e 24 microg/kg ha determinato un aumento del flusso ematico coronarico, in maniera linearmente correlata alla dose somministrata, in assenza di variazioni degli altri parametri emodinamici. La dose più piccola di farmaco non ha invece determinato alcun effetto cardiovascolare. In un secondo gruppo di animali la somministrazione intra-coronarica di Levosimendan è stata ripetuta dopo il blocco dei recettori colinergici, adrenergici e della nitrossido sintetasi (NOS), enzima chiave nella sintesi di NO. Mentre dopo il blocco del sistema nervoso autonomo l'infusione di Levosimendan continuava a determinare un aumento del flusso ematico coronarico, proporzionale alla dose somministrata, dopo il blocco della NOS il farmaco in questione non determinava più alcun effetto sul flusso ematico coronarico. Questo studio ha pertanto dimostrato che la somministrazione intra-coronarica di Levosimendan causa una vasodilatazione del distretto vascolare coronarico dose-dipendente. I meccanismi di questa risposta sono legati all'aumentato rilascio di NO da parte dell'endotelio.

Immunoreattività c-Fos indotta a livello troncoencefalico dalla stimolazione di meccano-recettori gastrici. La parete dello stomaco contiene meccano-recettori le cui fibre decorrono con il nervo splanchnico e il nervo vago. Sono stati riconosciuti due tipi di meccano-recettori gastrici: quelli a bassa soglia e quelli a alta soglia. Tali recettori trasportano stimoli nocivi e non-nocivi verso i nuclei troncoencefalici che presiedono alla funzione gastrointestinale. Dal momento che la distensione dello stomaco interessa in via riflessa il controllo nervoso autonomo dell'apparato cardiovascolare, è stato condotto questo studio allo scopo di valutare dal punto di vista morfofunzionale il pattern di attivazione delle vie nervose troncoencefaliche coinvolte dalla stimolazione di tali recettori. Allo scopo è stata utilizzata la ben nota tecnica della rivelazione dell'immunoreattività al proto-oncogene c-Fos. Questa ricerca ha dimostrato che la distensione dello stomaco provoca l'attivazione di numerosi circuiti troncoencefalici inibitori ed eccitatori coinvolti sia nella regolazione della funzione gastrointestinale sia nel controllo cardiovascolare, respiratorio e del dolore. Le differenze nella espressione del c-Fos indotte da differenti schemi di distensione dello stomaco, dimostrano che esiste un'interazione tra i diversi gruppi di afferenze vagali e splanchniche.

L'urocortina II stimola la produzione di ossido nitrico nelle cellule endoteliali attraverso una via di segnalazione che coinvolge il cAMP e il calcio. Come dimostrato in un precedente studio condotto nel maiale anestetizzato l'urocortina II è in grado di indurre un aumento del flusso ematico coronarico che è abolito dalla somministrazione del LNAME, bloccante della isoforma endoteliale dell'NO sintasi (eNOS), ed è mediato dall'interazione dell'urocortina 2 col sottotipo 2 di recettori appartenenti ai fattori rilascianti corticotropina (CRFR2). Erano tuttavia scarse le informazioni sui meccanismi intracellulari coinvolgenti il CRFR2 e il suo legame con la eNOS. Per questi motivi l'obiettivo di questo studio è stato quello di esaminare le vie di signalling intracellulari implicate nella vasodilatazione indotta dall'urocortina II coinvolgenti il rilascio di NO. Questo studio, condotto in vitro su cellule porcine aortiche endoteliali (PAE), ha quindi valutato la produzione di NO indotta dall'urocortina II attraverso il reattivo di Griess e i relativi meccanismi d'azione. A questo scopo gli esperimenti sono stati condotti somministrando l'urocortina II in presenza e in assenza di vari agenti, quali il forskolin (agonista dell'adenilato ciclasi), la 2',5'-dideossadenosina (antagonista dell'adenilato ciclasi), l'A23187 (calcio-ionoforo), il KN93 (inibitore della calcio calmodulina chinasi), l'astressina 2B (bloccante del CRFR2), l'UO126 (inibitore di ERK), la wortmannina (inibitore di Akt) e l'SB203580 (inibitore di p38). Nelle PAE è stato osservato che l'urocortina II induce un significativo aumento della produzione di NO, che è amplificato in presenza di forskolin e A23187 ed è abolito dal trattamento delle PAE con: LNAME, 2',5'-dideossadenosina, KN93, astressina 2B, UO126, wortmannina e SB203580. Attraverso l'analisi dei livelli di fosforilazione ottenuti mediante Western Blot è stato possibile confermare il coinvolgimento di ERK, Akt e p38 nell'attivazione di eNOS. Quindi nelle PAE l'urocortina II, interagendo con il suo recettore CRFR2 e attraverso il coinvolgimento della via di segnalazione di cAMP e del calcio, è in grado di indurre, attraverso la fosforilazione di ERK, Akt e p38, l'attivazione della eNOS e la produzione di NO.

Analisi delle vie di segnalazione intracellulare coinvolte nella produzione di NO indotta dal levosimendan in cellule endoteliali porcine di derivazione coronarica. Ruolo dei canali del potassio ATP dipendenti. Il levosimendan, farmaco calcio-sensitizzante, è noto per indurre vasodilatazione attraverso l'attivazione dei canali del potassio ATP dipendenti delle cellule muscolari lisce e, come da poco scoperto nel maiale anestetizzato, anche attraverso il rilascio endoteliale di ossido nitrico (NO). Le vie di segnalazione intracellulari implicate nel rilascio di NO indotto dal levosimendan non erano ancora state chiarite. Perciò lo scopo di questo studio è stato quello di esaminare gli effetti del levosimendan sulla produzione di NO in cellule endoteliali coronariche (CEC) porcine, di valutare il ruolo dei canali del potassio ATP dipendenti e di studiare le vie intracellulari coinvolte. Nelle CEC la produzione di NO indotta dal levosimendan, in associazione o meno con vari agenti e in diverse condizioni di potassio nell'ambiente extracellulare, è stata valutata tramite il reattivo di Griess. Sono stati, inoltre, esaminati, mediante Western Blot, i livelli di fosforilazione di Akt, ERK, p38 ed eNOS. Nelle CEC il levosimendan ha indotto un aumento della produzione di NO dose-dipendente e potassio dipendente. Gli effetti sulla produzione di NO erano notevolmente amplificati dagli agonisti dei canali del potassio ATP dipendenti ed erano invece aboliti dagli antagonisti degli stessi, dall'inibitore dell'adenilato ciclasi e dagli inibitori selettivi delle chinasi coinvolte nella produzione di NO. Attraverso il Western Blot è, inoltre, emerso che la

fosforilazione di ERK, Akt e p38 da parte del levosimendan porta all'attivazione dell'isoforma endoteliale dell'NO sintasi (eNOS), che, in ultima analisi, induce la produzione di NO nelle CEC. Quindi nelle cellule endoteliali il levosimendan induce la fosforilazione della eNOS attraverso Akt, ERK e p38, causando la produzione di NO. Questa via di segnalazione intracellulare dipende dai livelli di potassio extracellulari e dall'apertura dei canali del potassio ATP dipendenti.

Effetti cardioprotettivi della somministrazione intracoronarica di levosimendan durante l'ischemia-riperfusion. Il levosimendan, capostipite dei calcio-sensitizzanti, è un farmaco ampiamente utilizzato per il trattamento dello scompenso cardiaco. Dati precedenti ottenuti nel maiale anestetizzato avevano evidenziato un effetto coronarodilatatore indotto dalla somministrazione intracoronarica del levosimendan correlato all'aumentato rilascio di NO. Gli studi condotti su cellule endoteliali coronariche di maiale hanno, inoltre, evidenziato il coinvolgimento dei canali del potassio ATP dipendenti e delle chinasi intracellulari (ERK, Akt, p38) nell'attivazione della eNOS. Lo scopo del presente progetto di ricerca è stato quello di esaminare gli effetti protettivi della somministrazione intracoronarica di levosimendan (alle dosi di 1,5-3-6-12 µg/min ognuna somministrata in 10 min) nell'ischemia miocardica regionale di 4 ore effettuata nel maiale anestetizzato. In ogni animale sono stati esaminati i parametri emodinamici, quali la pressione arteriosa, la frequenza cardiaca, il flusso ematico coronarico e gli indici di funzionalità miocardica globale e regionale. In alcuni animali la somministrazione di levosimendan è stata effettuata dopo il blocco dei canali del potassio ottenuto con la somministrazione di glibenclamide. Inoltre sono stati effettuati prelievi biotici prima dell'ischemia, al termine dell'ischemia e alla fine di ogni somministrazione di levosimendan per esaminare l'espressione dei geni apoptotici, quali Bax, citocromo C, caspasi 3, 8, 9 e FLIP, dei geni anti-apoptotici come Bcl-2 e dei geni autofagici come LC3 e Beclin1. Inoltre è stata valutata l'espressione di ERK e Akt. I risultati ottenuti hanno evidenziato come la somministrazione di levosimendan determini un aumento dose-dipendente del flusso ematico coronarico e dei parametri di funzionalità miocardica. Inoltre è stato evidenziato un effetto dose-dipendente anti-apoptotico accompagnato da un effetto pro-autofagico. Le risposte osservate, infine, sono risultate abolite dalla somministrazione di glibenclamide. Sulla base dei suddetti risultati è possibile ipotizzare un effetto cardio-protettivo del levosimendan mediato dai canali del potassio ATP dipendenti volto a ostacolare la morte cellulare per apoptosi.

Effetti protettivi della rMnSOD nel danno da ischemia/riperfusion. Le lesioni tissutali causate dai radicali liberi dell'ossigeno prodotti in grande quantità durante l'ischemia/riperfusion (I/R) rappresentano uno dei maggiori problemi per l'esito del trapianto d'organo. La conservazione degli organi è, infatti, attualmente possibile solo per poche ore, il che limita la diffusione dei trapianti d'organo per il trattamento delle malattie croniche. Sulla base di queste premesse lo studio in esame è stato indirizzato a esaminare gli effetti protettivi della isoforma ricombinante umana di manganese-superoossido-dismutasi (rMnSOD) contro i danni da I/R. I cuori e reni di topo sono stati conservati in una soluzione di Custodiol in presenza di 1,5 µM di rMnSOD o della variante commerciale di SOD, per 4 e 8 ore a 4°C. Sono state quindi effettuate analisi istologiche atte a esaminare l'entità del danno tissutale. I risultati ottenuti hanno dimostrato che gli organi conservati in presenza di rMnSOD erano protetti dalla degenerazione strutturale rispetto a quelli mantenuti nella soluzione Custodiol addizionata di SOD commerciale. Risultati simili sono stati ottenuti anche in vivo nel maiale anestetizzato sottoposto a ischemia renale a freddo della durata di 1 ora seguita da una fase di riperfusion di 20 minuti. In alcuni di questi animali la rMnSOD (1,5µM), sciolta in soluzione di Custodiol, era stata infusa nell'arteria renale immediatamente prima della riperfusion, mentre in animali di controllo era stata somministrata la variante commerciale della SOD. Negli animali trattati con la rMnSOD all'analisi istologica sono stati evidenziati solo segni iniziali di danno da I/R rappresentati da un lieve assottigliamento dell'epitelio tubulare e dalla vacuolizzazione delle cellule. Infine, il confronto dello score di danno e dei parametri di funzionalità renale ha dimostrato che i maiali trattati con rMnSOD erano protetti rispetto a quelli trattati con SOD commerciale o con la sola Custodiol. Perciò lo studio in esame ha confermato l'efficacia della rMnSOD come strumento farmacologico per prolungare i tempi di conservazione degli organi per il trapianto e per prevenire la sindrome da riperfusion.

PUBBLICAZIONI PIÙ RECENTI.

GROSSINI E, MOLINARI C, MARY DA, UBERTI F, CAIMMI PP, VACCA G. INTRACORONARY INTERMEDIIN 1-47 AUGMENTS CARDIAC PERFUSION AND FUNCTION IN ANESTHETIZED PIGS. ROLE OF CALCITONIN RECEPTORS AND {BETA}-ADRENERGIC-NITRIC OXIDE RELEASE. J APPL PHYSIOL. 2009 IN PRESS

CAIMMI PP, DITERLIZZI M, GROSSINI E, KAPETANAKIS EI, GAVINELLI M, CARRIERO A, VACCA G. IMPACT OF PROSTHETIC MITRAL RINGS ON AORTOMITRAL APPARATUS FUNCTION: A CARDIAC MAGNETIC RESONANCE IMAGING STUDY. ANN THORAC SURG. 88:740-4, 2009.

GROSSINI E, MOLINARI C, MARY DA, UBERTI F, RIBICHINI F, CAIMMI PP, VACCA G. UROCORTIN II INDUCES NITRIC OXIDE PRODUCTION THROUGH CAMP AND CA2+ RELATED PATHWAYS IN ENDOTHELIAL CELLS. CELL PHYSIOL BIOCHEM. 23:87-96, 2009

GROSSINI E, MOLINARI C, CAIMMI PP, UBERTI F, VACCA G. LEVOSIMENDAN INDUCES NO PRODUCTION THROUGH P38 MAPK, ERK AND AKT IN PORCINE CORONARY ENDOTHELIAL CELLS: ROLE FOR MITOCHONDRIAL K(ATP) CHANNEL. BR J PHARMACOL. 56:250-61, 2009.

- GROSSINI E, MOLINARI C, MARY DA, MARINO P, VACCA G. THE EFFECT OF UROCORTIN II ADMINISTRATION ON THE CORONARY CIRCULATION AND CARDIAC FUNCTION IN THE ANAESTHETIZED PIG IS NITRIC-OXIDE-DEPENDENT. EUR J PHARMACOL 578:242-248, 2008.
- GROSSINI E, MOLINARI C, MARY DA, UBERTI F, CAIMMI PP, SURICO N, VACCA G. INTRACORONARY GENISTEIN ACUTELY INCREASES CORONARY BLOOD FLOW IN ANESTHETIZED PIGS THROUGH BETA-ADRENERGIC MEDIATED NITRIC OXIDE RELEASE AND ESTROGENIC RECEPTORS. ENDOCRINOLOGY 149:2678-2687, 2008.
- SABBATINI M, MOLINARI C, GROSSINI E, PIFFANELLI V, MARY DA, VACCA G, CANNAS M. GABAA RECEPTORS EXPRESSION PATTERN IN RAT BRAIN FOLLOWING LOW PRESSURE DISTENSION OF THE STOMACH. NEUROSCIENCE 152:449-458, 2008.
- GROSSINI E, MOLINARI C, MARY DA, GHIGO E, BONA G, VACCA G. INTRACORONARY GHRELIN INFUSION DECREASES CORONARY BLOOD FLOW IN ANESTHETIZED PIGS. ENDOCRINOLOGY 148:806-812, 2007.
- MOLINARI C, GROSSINI E, MARY DA, UBERTI F, GHIGO E, RIBICHINI F, SURICO N, VACCA G. PROLACTIN INDUCES REGIONAL VASOCONSTRICTION THROUGH THE BETA2-ADRENERGIC AND NITRIC OXIDE MECHANISMS. ENDOCRINOLOGY 148:4080-4090, 2007
- GROSSINI E, MOLINARI C, BATTAGLIA A, MARY DA, RIBICHINI F, SURICO N, VACCA G. HUMAN PLACENTAL LACTOGEN DECREASES REGIONAL BLOOD FLOW IN ANESTHETIZED PIGS. J VASC RES. 43: 205-213, 2006.
- MOLINARI C, SABBATINI M, GROSSINI E, MARY DA, CANNAS M, VACCA G. CARDIOVASCULAR EFFECTS AND C-FOS EXPRESSION IN THE RAT HINDBRAIN IN RESPONSE TO INNOCUOUS STOMACH DISTENSION. BRAIN RES BULL. 69: 140-146, 2006.
- MOLINARI M, GROSSINI E, MARY DA, RIBICHINI F, SURICO N, VACCA G. THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE PERIPHERAL VASOCONSTRICTION CAUSED BY HUMAN PLACENTAL LACTOGEN IN ANAESTHETIZED PIGS. EXP PHYSIOL. 91: 603-610, 2006.
- CAIMMI PP, GROSSINI E, MOLINARI C, VACCA G, TEODORI G. INTRACORONARY INFUSION OF LEVOSIMENDAN TO TREAT POSTPERICARDIOTOMY HEART FAILURE. ANN THORAC SURG. 82: 33-34, 2006
- E. GROSSINI, P. P. CAIMMI, C. MOLINARI, G. TEODORI, G. VACCA, Hemodynamic Effect of Intracoronary Administration of Levosimendan in the Anesthetized Pig, in "J Cardiovasc Pharmacol" 46 (2005), pp. 333-342
- E. GROSSINI, G. C. AVANZI, M. GALLICCHIO, C. MOLINARI, G. VACCA, G. BELLOMO, Regulation of Ca²⁺ Movements by Cycloviobuxine D in ECV304 Endothelial Cells, in "Pharmacol Res" 52 (2005), pp. 154-161
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, D. A. MARY, C. VASSANELLI, G. VACCA, The Effect of Dehydroepiandrosterone on Regional Blood Flow in Prepubertal Anaesthetized Pigs, in "J Physiol." 557 (2004), pp. 307-319
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, D. A. MARY, C. VASSANELLI, G. VACCA, The Effect of Dehydroepiandrosterone on Coronary Blood Flow in Prepubertal Anaesthetized Pigs, in "J. Physiol." 549 (2003), pp. 937-944
- E. GROSSINI, A. BATTAGLIA, G. BONA, D. A. MARY, C. MOLINARI, G. VACCA, The Effects of Insulin on Mesenteric Blood Flow in Anaesthetized Pigs, in "Exp Physiol." 89 (2004), pp. 363-371
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, S. FLORIO, D. A. MARY, C. VASSANELLI, G. VACCA, Activation of the Renin-Angiotensin System Contributes to the Peripheral Vasoconstriction Reflexly caused by Stomach Distension in Anaesthetized Pigs, in "Exp. Physiol." 88 (2003), pp. 359-367
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, D. A. MARY, C. VASSANELLI, G. VACCA, The Effect of Testosterone on Regional Blood Flow in Prepubertal Anaesthetized Pigs, in "J. Physiol." 543 (2002), pp. 365-372
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, D. A. MARY, G. BONA, E. SCOTT, G. VACCA, Effects of Insulin on Coronary Blood Flow in Anesthetized Pigs, in "J Vasc Res." 39 (2002), pp. 504-513
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, E. GROSSINI, D. A. S. G. MARY, J. B. STOKER, N. SURICO, G. VACCA, The Effect of Progesterone on Coronary Blood Flow in Anaesthetized Pigs, in "Exp. Physiol." 86 (2001), pp. 101-108
- C. MOLINARI, A. BATTAGLIA, G. BONA, E. GROSSINI, D. A. S. G. MARY, G. VACCA, The Role of Nitric Oxide in the Coronary Vasoconstriction Caused by Growth Hormone in Anaesthetized Pigs, in "Exp. Physiol." 85 (2000), pp. 203-208

Orario di Ricevimento

Laboratorio di Fisiologia, via Solaroli 17, Novara
Martedì e venerdì pomeriggio dalle ore 14 alle ore 15.
Il ricevimento degli studenti viene anche concordato telefonicamente o via email.