

RELAZIONE DI DOTTORATO

RESPONSIVITA' ALLA SOSTANZA P DI MONOCITI ISOLATI DA PAZIENTI AFFETTI DA DISTURBI DELL'UMORE

XIX Ciclo - Dottorato di Medicina Molecolare

**Tutore:
Prof.ssa Sandra Brunelleschi**

**Dottorando:
Claudio Bardelli**

INTRODUZIONE

Con il termine Disturbi dell'umore si intende una serie di condizioni morbose caratterizzate da riduzione del tono dell'umore e dell'energia e dalla perdita di interesse o di piacere per quasi tutte le attività. Nella IV edizione del Manuale Statistico Diagnostico per i disturbi mentali (DSM-IV-TR) vengono descritti due principali tipi di disordini affettivi: la depressione maggiore e il disturbo bipolare.

La depressione maggiore unipolare è una malattia molto comune, la cui prevalenza nell'arco della vita nella popolazione è stimata tra il 50% e il 20%; le donne hanno un maggior rischio di essere affette, con un rapporto di circa 2:1 rispetto agli uomini. In accordo al DSM-IV-TR, "la caratteristica essenziale di un disturbo depressivo maggiore è un decorso clinico caratterizzato da uno o più episodi depressivi maggiori senza storia di episodi maniacali, misti o ipomaniacali".

Il disturbo bipolare è invece un disturbo ciclotimico, caratterizzato dall'alternanza di episodi depressivi ed episodi maniacali. La fase maniacale è caratterizzata da sintomi che sono esattamente l'opposto di quelli della fase depressiva ed infatti l'esaltazione è il sintomo principale. Gli individui in fase maniacale si sentono infallibili, pieni di energia, esilaranti e molto loquaci; non sentono il bisogno di dormire, la loro testa è una fucina di idee e sono altamente impulsivi nel prendere qualsiasi tipo di decisione. La prevalenza nel corso della vita varia da 0.4% a 1.6% nella popolazione generale; l'età media di esordio è di circa 20 anni, sia negli uomini che nelle donne.

Secondo la "classica" ipotesi monoaminergica, nella depressione si verificherebbe un deficit di noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT) a livello di alcune sinapsi critiche nel sistema nervoso centrale, mentre la mania sarebbe dovuta ad un eccesso di monoamine. La teoria monoaminergica è stata un punto di partenza importante per lo sviluppo della terapia antidepressiva, ma è certo alquanto semplicistica e non esaustiva. Nel tentativo di spiegare le cause che sottendono l'elevato tempo di latenza dei farmaci antidepressivi, l'attenzione si è spostata sui recettori cerebrali per i neurotrasmettitori NA e 5-HT (evidenziando, ad es., una riduzione del numero e della sensibilità di alcuni sottotipi recettoriali in seguito a terapia prolungata) e sul ruolo di altri neurotrasmettitori, in particolare acetilcolina, GABA, endorfine e neuropeptidi.

Considerevoli progressi sono stati fatti per capire i circuiti neuronali coinvolti nella patogenesi della depressione e tra le nuove ipotesi vi è quella che coinvolge il neuropeptide Sostanza P (SP), che, come noto, è il più importante ligando endogeno del recettore NK-1.

Tecniche immunoistochimiche hanno permesso di evidenziare recettori NK-1 (NK-1R) nel "locus coeruleus", sede primaria di innervazioni noradrenergiche, fornendo una prova della potenziale interazione di SP, e di antagonisti della SP, con il sistema noradrenergico (Santarelli et al., 2001).

Ma una più intrigante localizzazione anatomica della SP è la sua intima associazione con i neuroni 5-HT nel cervello umano, dove circa il 50% dei neuroni del nucleo dorsale del rafe (da cui originano le più importanti proiezioni 5-HT) co-esprimono SP e 5-HT (Baker et al., 1991; Segeyev et al., 1999). E' quindi possibile che, almeno in alcune circostanze, la SP sia co-rilasciata con 5-HT. Nel cervello dei primati e delle cavie, c'è una bassa densità di recettori NK-1 nel nucleo dorsale del rafe; nel ratto e nel topo c'è una più alta densità ma i recettori non sono localizzati sui neuroni 5-HT (Conley et al., 2002). NK-1R è espresso ad alti livelli anche nel rafe dorsale di topo (Santarelli et al., 2001; Froger et al., 2001), ma non nei neuroni 5-HT all'interno del rafe dorsale. Pertanto la modulazione dei neuroni nel rafe indotta dagli antagonisti NK-1 potrebbe essere mediata sia da cellule non 5-HT sia da neuroni NK-1R positivi localizzati più distalmente nel "locus coeruleus", noto per modulare le funzioni serotoninergiche (Santarelli et al., 2001; Haddjeri et al., 2000). In precedenza, studi neuro-anatomici avevano localizzato il recettore NK-1 in regioni cerebrali coinvolte nella difesa emotiva (Mantyh et al., 1984; Hokfelt et al., 1978) ed era stato evidenziato che la somministrazione diretta di agonisti della SP in animali produceva una reazione comportamentale tipica della paura e cambiamenti cardiovascolari di difesa (Elliott et al., 1988; Krase et al., 1994). Altri studi avevano anche dimostrato cambiamenti dei livelli di SP in queste regioni cerebrali in seguito a stress (Siegel et al., 1987).

Nel 1998, Kramer et al. pubblicano il primo trial clinico (in un piccolo numero di pazienti, fase II) su MK-869 (Aprepitant), un antagonista selettivo del recettore NK-1. Nello studio clinico effettuato su 20 pazienti affetti da depressione maggiore, MK-869 esibiva un'efficacia antidepressiva e ansiolitica paragonabile a quella della paroxetina, un antidepressivo di largo impiego, così suggerendo un possibile ruolo della SP nella depressione (Kramer et al., 1998). Differenti studi, sia in vitro che in vivo, hanno dimostrato che gli antagonisti della SP agiscono in maniera indipendente dai classici antidepressivi. Antagonisti NK-1 modulano il tono dell'umore, agendo direttamente nell'amigdala e sulle sue connessioni (Kramer et al., 1998; Conley RK et al., 2002); altre evidenze suggeriscono che il blocco dei recettori NK-1 nelle regioni riceventi dall'amigdala (ipotalamo, nucleo reticolopontino) inibisce la risposta allo stress.

Sfortunatamente, però, i risultati positivi ottenuti con MK-869 nello studio di fase II, non sono stati confermati nello studio più ampio (fase III), soprattutto a causa dell'alto tasso di risposta placebo (Rupniak, 1999; Kramer, 2000). Tuttavia, sono stati sintetizzati altri antagonisti NK-1, capaci di meglio passare la barriera emato-encefalica, che sono attualmente in fase II- III di sperimentazione. Quindi il coinvolgimento della sostanza P e del recettore NK-1 è accertato da numerosi studi, ma ancora molto c'è da scoprire, ad es. su possibili variazioni nell'espressione del recettore nel cervello dei pazienti depressi.

Numerosi lavori hanno dimostrato che i pazienti affetti da disturbo depressivo maggiore sono esposti ad un rischio di mortalità doppio rispetto alla popolazione generale, per patologie di tipo organico. Questo sembra, in qualche misura, essere dovuto al fatto che i disturbi depressivi maggiori sono accompagnati da una disfunzione del sistema immunitario, con riduzione dell'attività delle cellule natural killer ed aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie, quali TNF- α , IL-6, IL-1 β e INF- γ (Condoret al., 1998; J Licinio et al., 1999). Che ci sia una stretta correlazione tra sistema immunitario e disturbo depressivo è dimostrato anche dal fatto che diversi farmaci antidepressivi possono alterare la produzione e l'attività delle citochine (Neveu & Castanon, 1999). Il fattore di trascrizione nucleare κ B (NF- κ B), presente nella maggior parte dei tipi cellulari, è largamente coinvolto nella sintesi di numerose citochine. Come ampiamente documentato, NF- κ B è localizzato in forma inattiva nel citoplasma ancorato ad una proteina detta I κ B α . In seguito a diversi stimoli (UV, virus, batteri, radicali liberi dell'ossigeno, fitogeni ed alcune citochine infiammatorie) NF- κ B si dissocia da I κ B α e trasloca nel nucleo all'interno del quale si lega ad alcune sequenze specifiche del DNA inducendo la trascrizione di oltre 150 geni, tra cui alcuni che codificano per citochine. Alcuni antidepressivi (ad es., i triciclici e gli inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina) inducono morte cellulare in linee neuronali, in quanto causano stress ossidativo e riduzione delle capacità antiossidanti delle cellule. Inoltre, inducono frammentazione del DNA ed aumentano l'attività di NF- κ B (Post et al., 2000; Bartholoma P et al., 2002), con conseguente up-regolazione dei geni pro-apoptotici e, quindi, morte cellulare.

SCOPO DEL LAVORO

Considerato il ruolo svolto da SP a livello centrale nelle patologie depressive, nonché l'importanza del sistema monocito/macrofagico, in quanto maggiore produttore di citochine pro-infiammatorie, in particolare TNF- α ed IL-6, ci siamo proposti in primo luogo di verificare l'espressione e i livelli di recettore NK-1 ed NK-2 nei monociti di pazienti affetti da disturbo dell'umore, confrontandoli a quelli ottenuti in individui sani.

Inoltre abbiamo voluto valutare la capacità di sostanza P e dell'agonista [$\text{Sar}^9\text{Met}(\text{O}_2)^{11}$]SP, selettivo per il recettore NK-1, di indurre attivazione funzionale, valutata come liberazione di citochine pro-infiammatorie ed attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B. Nostre precedenti osservazioni avevano documentato la presenza di recettori NK-1 in macrofagi alveolari di donatori sani e di pazienti e la capacità di SP di indurre l'attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B.

MATERIALI E METODI

Attraverso l'utilizzo della SCID-1, un'intervista clinica strutturata in base ai criteri diagnostici del DSM-IV TR per la diagnosi di disturbi di asse I, sono stati selezionati i pazienti afferenti alla SCU Psichiatria dell'Azienda Ospedaliera Maggiore della Carità di Novara ed il DSM Nord dell'ASL 13 di Novara che presentavano una fra le seguenti diagnosi: Disturbo Depressivo Maggiore Ricorrente, Disturbo Bipolare tipo I e Disturbo Bipolare II.

Ai pazienti selezionati sono state somministrate le seguenti scale di valutazione: HAM-A (Hamilton Rating Scale for Anxiety) ed HAM-D (Hamilton Rating Scale for Depression) e, previo consenso informato, sono stati prelevati 30-40 ml di sangue. Sono stati inoltre reclutati donatori sani in ambito universitario.

I monociti sono stati isolati dal sangue periferico mediante procedura standard di sedimentazione con destrano e centrifugazione su gradiente di Ficoll-Paque e purificati per adesione (2 ore, 37°C, 5% CO₂). I monociti sono stati cimentati con SP, agonisti selettivi NK-1 e/o antagonisti: i loro effetti sono stati quindi confrontati con quelli indotti da forbole miristato acetato (PMA).

La valutazione dell'espressione dei recettori NK-1 e NK-2 è stata condotta con metodologie di immunoblotting di estratti proteici di membrana cellulare, utilizzando un anticorpo policlonale commerciale (Abcam: cod. ab466) e monoclonale (gentilmente fornito dal Prof. Krause, Germania), rispettivamente.

La misurazione delle citochine liberate (TNF- α , IL-1 β e IL-10), in seguito a stimolazione con SP, agonisti selettivi per NK-1R o PMA per 24h, è stata effettuata con kit specifici ELISA (Pelikine Compact TM ELISA kit).

Infine, la valutazione del fattore NF- κ B attivato e, quindi, traslocato nel nucleo, è stata condotta con kit ELISA specifici per le subunità p50 e p65 (Chemi NF- κ B p50, Chemi NF- κ B p65).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Lo studio è stato per ora condotto su un numero limitato di pazienti depressi, 8 unipolari, 3 bipolari e 6 individui sani non fumatori. All'interno del campione di pazienti depressi la variabile fumo per ora non è stata considerata. Nei fumatori sani, i monocito/macrofagi sono basalmente più attivati (Bardelli, 2005; Gunella, 2006).

Negli immunoblotting condotti su proteine di membrana (fig. 1A, 1B, 1C e fig. 2) l'espressione dei recettori NK-1 e NK-2 di entrambe le tipologie di pazienti è stata confrontata con quella di individui sani fumatori e non fumatori ed assumendo come controllo positivo la linea cellulare monocito/macrofagica murina J774 A1.

Mentre il recettore NK-1 nei bipolari (pazienti 1, 7, 12) sembra individuare una banda a 53 KDa (fig. 1) decisamente più marcata rispetto agli unipolari e di entità simile a quella osservata nei fumatori sani, il recettore NK-2 presenta un andamento simile anche se meno espresso. Il solo paziente 11, pur non essendo un bipolare, sembra presentare livelli di recettore NK-1 simile ai bipolari, essendo un forte fumatore da più di 30 anni (40 sigarette/die).

I pazienti unipolari, invece, sembrano presentare livelli di recettori NK-1 e NK-2 più bassi rispetto agli individui sani non fumatori.

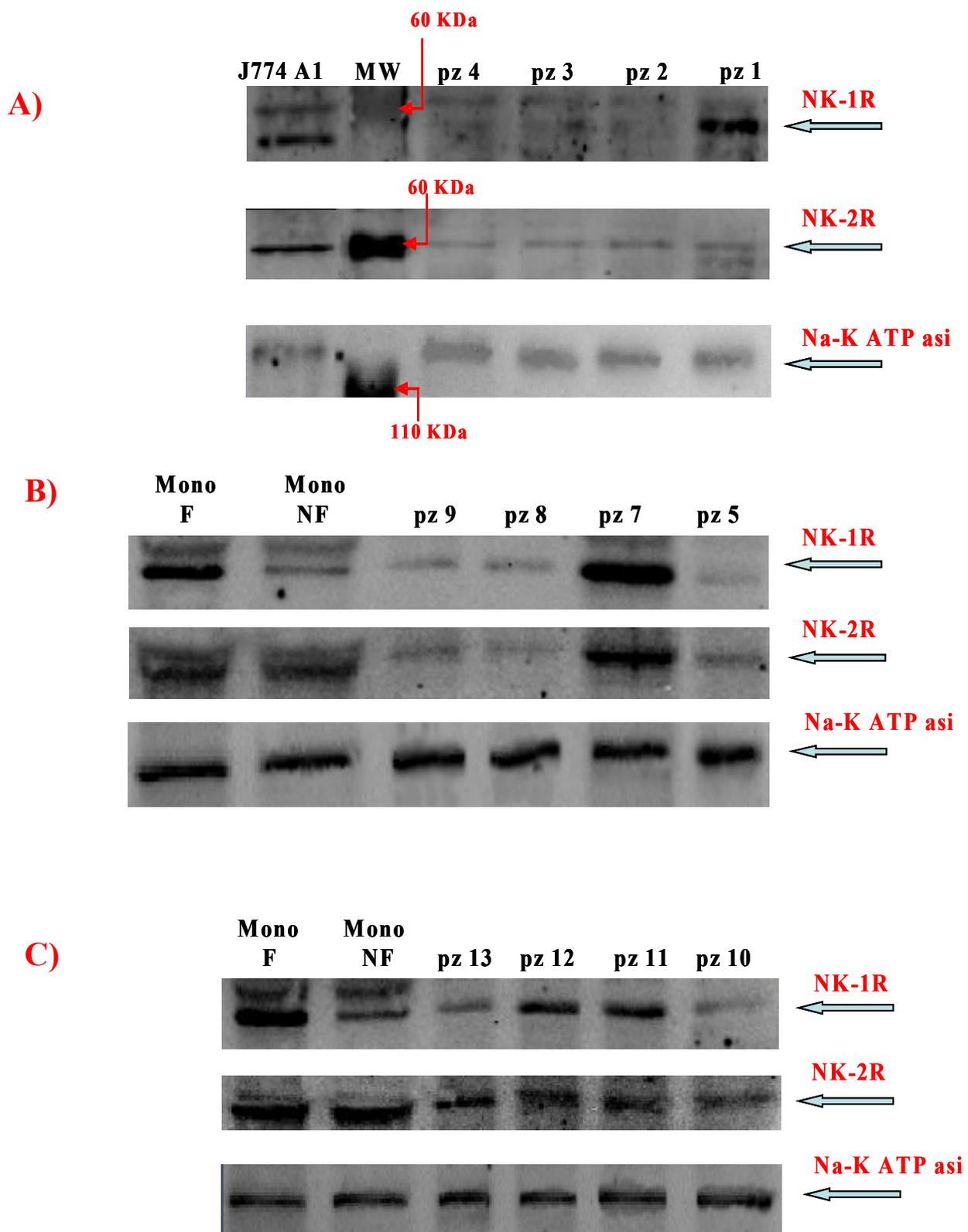
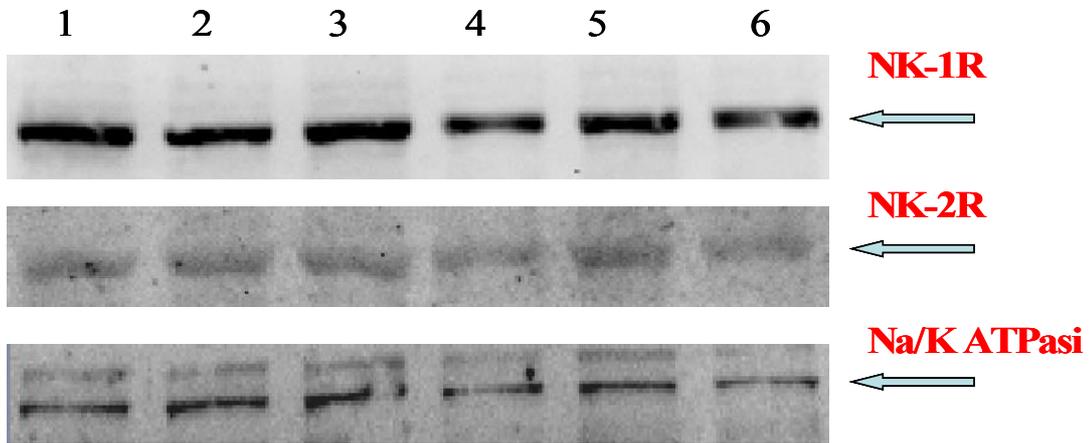


Fig.1) *Espressione del recettore NK-1 e NK-2 in monociti: confronto fra individui volontari sani e pazienti con depressione unipolare e bipolare.*

Monociti donatori sani

Non fumatori



Fumatori

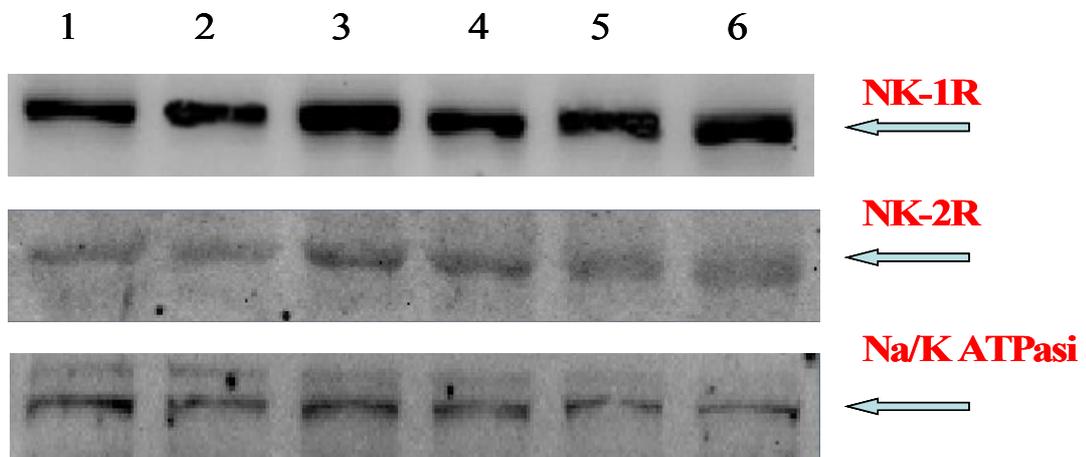


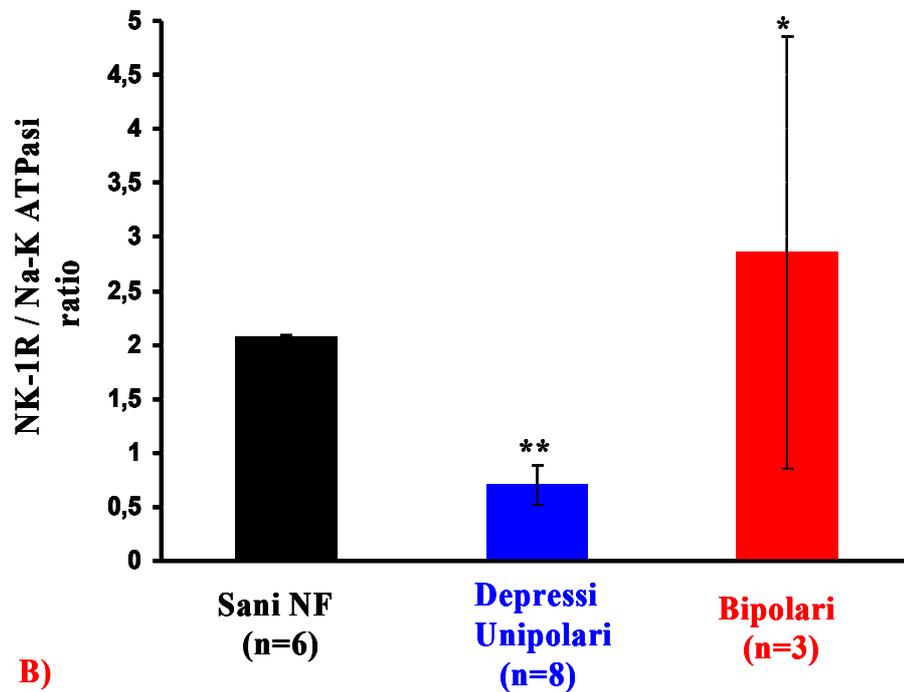
Fig. 2) *Espressione dei recettori NK-1 e NK-2 in individui fumatori e non fumatori sani.*

Per ottenere un'immagine quantitativa più chiara sono stati calcolati i rapporti di espressione fra i livelli proteici dei recettori NK-1 e NK-2 con quelli del gene house-keeping Na/K ATPasi (fig. 3A e 3B), sebbene poco espresso in tali cellule. E' stato scelto tale marker come gene house-keeping perché le proteine estratte sono solo di membrana.

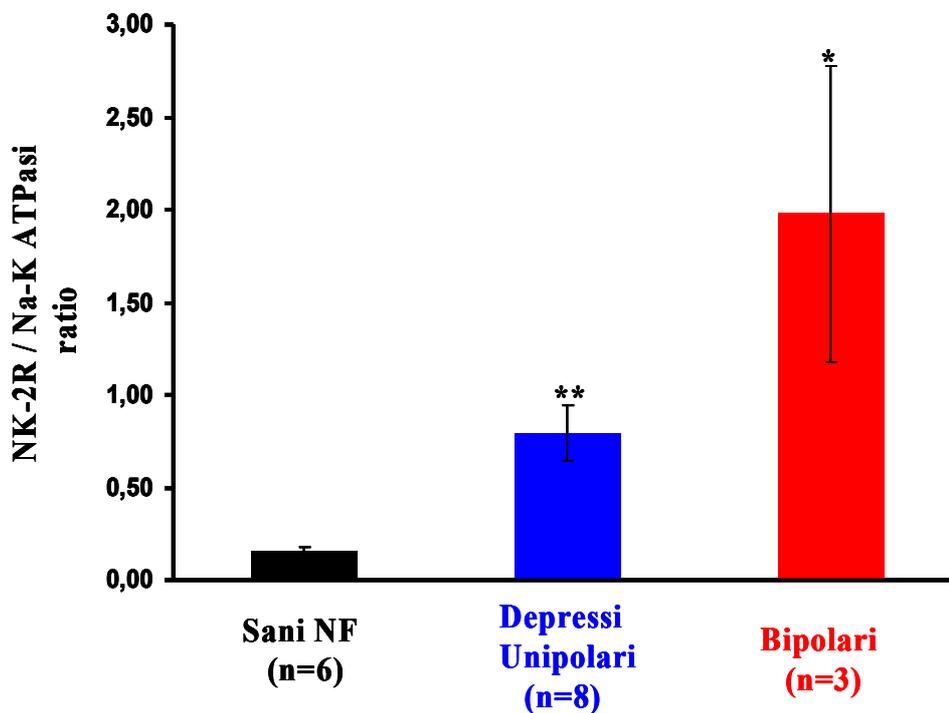
Dai rapporti emerge che il recettore NK-1 è decisamente meno espresso nei pazienti unipolari sia rispetto agli individui non fumatori sani che ai bipolari, ed il dato è decisamente significativo se si confrontano i depressi unipolari con i sani non fumatori ($p < 0,001$). Per quanto riguarda i bipolari,

dato il numero minimo di pazienti per ora presi in esame (n = 3), non c'è significatività verso i sani non fumatori.

A)



B)

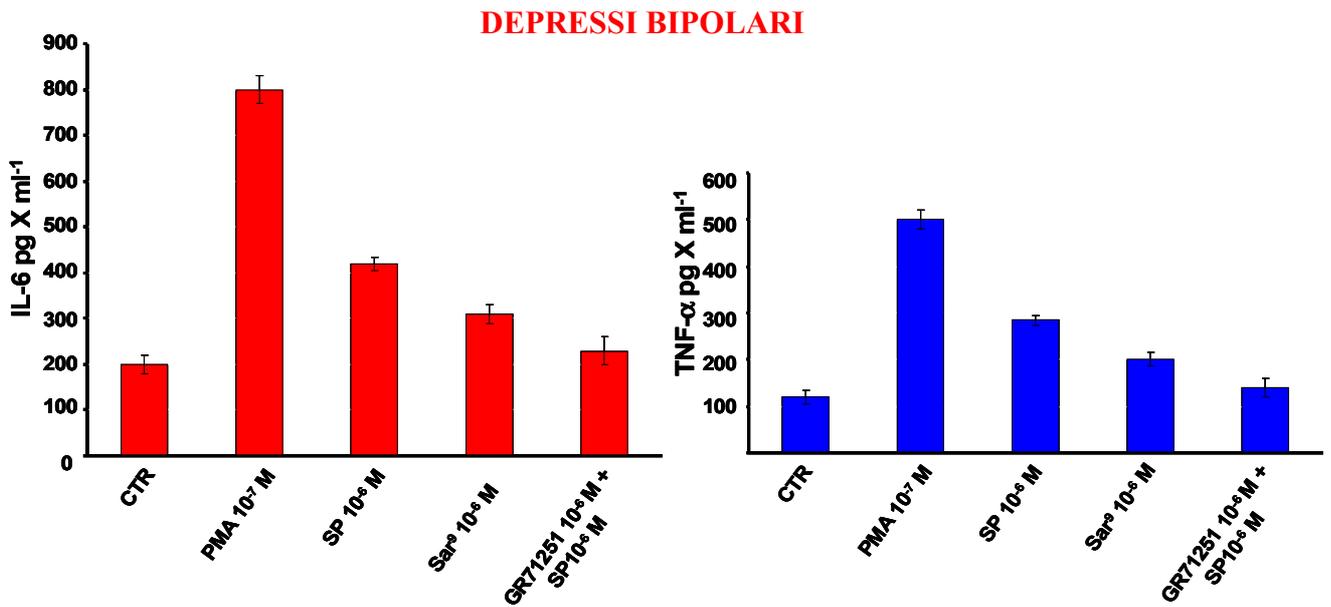


** p < 0,001 verso Sani NF; * p < 0,05 verso depressi unipolari

Fig. 3) Rapporti quantitativi d'espressione fra i livelli di recettore NK-1 e NK-2 ed il gene house-keeping Na/K ATPasi.

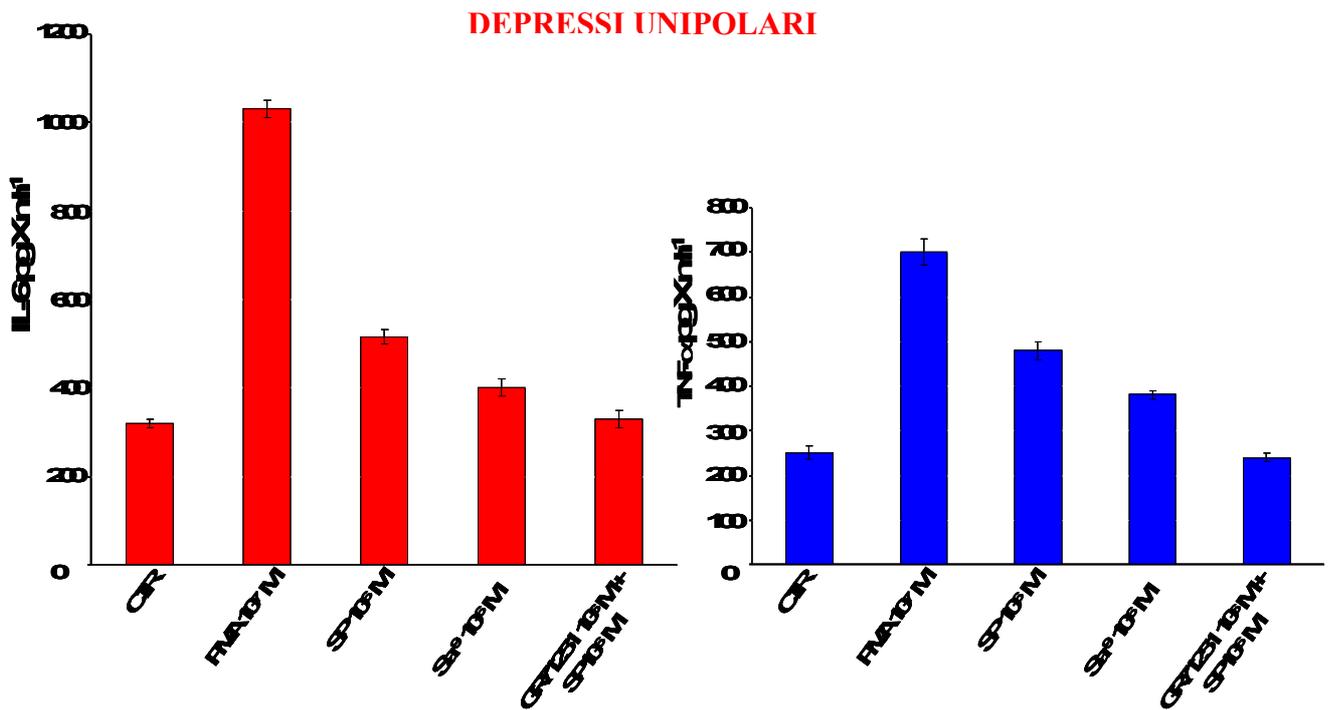
Al contrario, il recettore NK-2 sembra significativamente più espresso nei pazienti depressi rispetto ai sani non fumatori (fig.3B).

A)



n = 3

B)



n = 4

Fig.4) Liberazione di IL-6 e TNF-α da monociti di pazienti con depressione bipolare (A) ed unipolare (B).

L'analisi funzionale del recettore NK-1 è stata effettuata valutando la capacità della SP e dell'agonista selettivo [Sar⁹Met(O₂)¹¹]SP di indurre la produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-6 e

TNF- α) sia nei pazienti bipolari che negli unipolari (fig. 4A e 4B, rispettivamente). Per entrambi le tipologie di pazienti tali citochine vengono indotte sia da SP (e dall'agonista selettivo del recettore NK-1) che da PMA. Il fatto che l'antagonista specifico GR71251 sia in grado di antagonizzare competitivamente il rilascio sia di TNF- α che di IL-6 indotto da SP, conferma la natura recettoriale dell'effetto. Tuttavia sarà necessario reclutare altri pazienti per poter verificare differenze significative fra le due casistiche.

Lo studio dell'attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B condotta su entrambe le tipologie di pazienti, nonostante il basso numero di casi esaminati, permette di osservare un aumento dei rapporti nucleo/citosol in seguito a somministrazione sia di SP che dell'agonista selettivo [Sar⁹Met(O₂)¹¹]SP, come si può osservare in fig. 5 per la subunità p50 (analogamente è stato osservato per p65). Ancora una volta l'antagonista competitivo GR71251 è in grado di inibire selettivamente l'attivazione di NF- κ B, confermando la natura recettoriale dell'effetto.

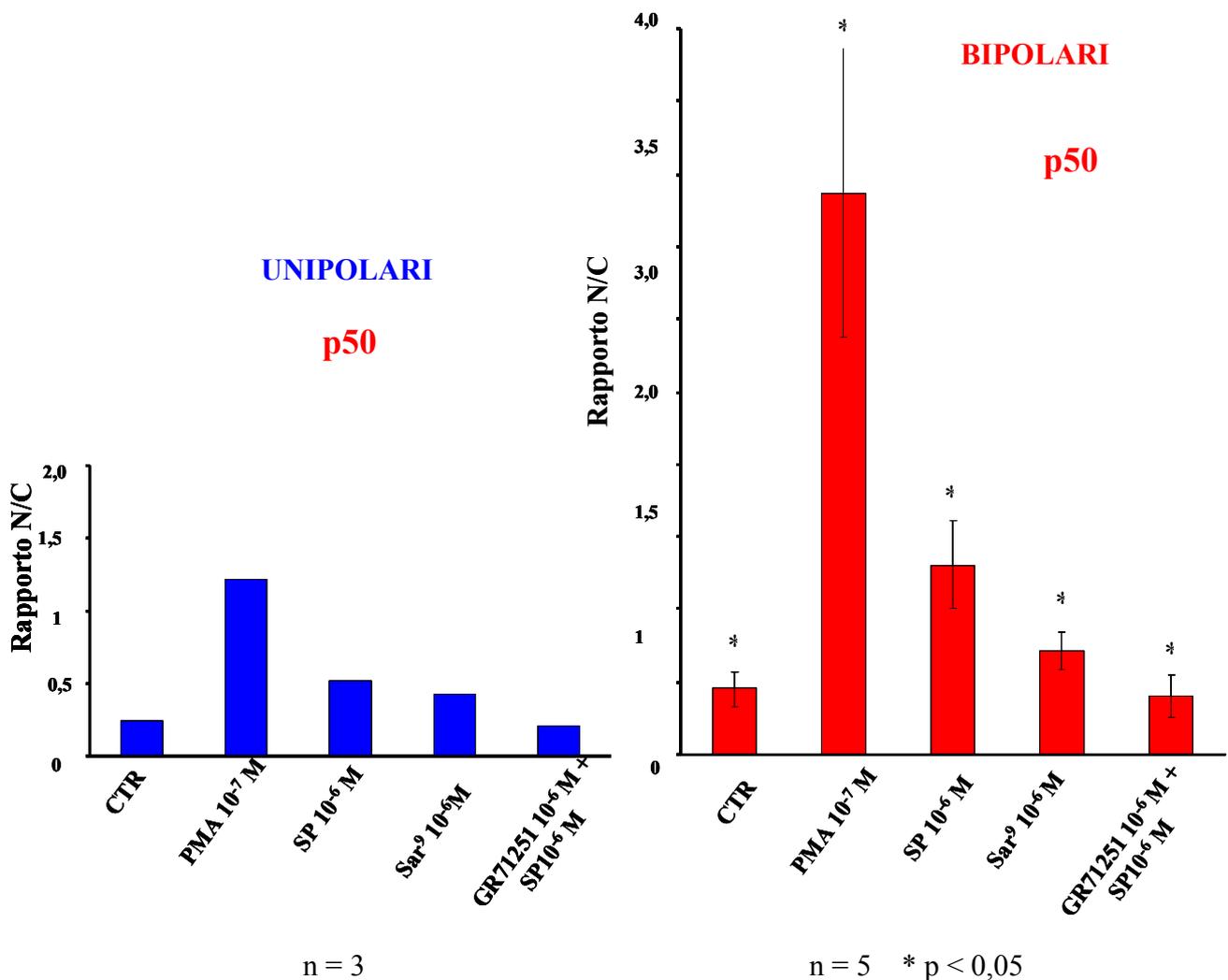


Fig. 5) Rapporti di attivazione del fattore di trascrizione p50 in pazienti unipolari e bipolari

Nei prossimi esperimenti verrà studiata anche l'attivazione da parte dell'agonista neurochinina A (NK-A), selettivo per il recettore NK-2, nonché antagonisti specifici come GR94800 e GR83074, in quanto come osservato dai risultati ottenuti in western blotting (fig.1 e 2) si ha anche una considerevole espressione di NK-2.

BIBLIOGRAFIA

Baker KG, Halliday GM, Hornung JP, Geffen LB, Cotton RG, Tork I. Distribution, morphology and number of monoaminesynthesizing and substance P-containing neurons in the human dorsal raphe nucleus. *Neuroscience* 1991; 42: 757–775.

Bartholoma P, Erlandsson N, Kaufmann K, Rossler OG, Baumann B, Wirth T, Giehl KM, Thiel G, Conley, R.K., Cumberbatch, M.J., Mason, G.S., Williamson, D.J., Harrison, T., Locker, K., Swain, C., Maubach, K., O'Donnell, R., Rigby, M., Hewson, L., Smith, D. & Rupniak, N.M. Substance P (neurokinin 1) receptor antagonists enhance dorsal raphe neuronal activity. *J. Neurosci.* 2002; **22**, 7730–7736.

Connor TJ, Leonard BE Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci.* 1998;62(7):583-606.

Elliott, P. J., Place aversion induced by the substance P analogue, dimethyl-C7, is not state dependent: implication of substance P in aversion, *Experimental Brain Research*; 1988,73, 2: 354-356.

Froger, N., Gardier, A.M., Moratalla, R., Alberti, I., Lena, I., Boni, C., De Felipe, C., Rupniak, N.M., Hunt, S.P., Jacquot, C., Hamon, M. & Lanfumey, L. 5-Hydroxytryptamine (5-HT)_{1A} autoreceptor adaptive changes in substance P (neurokinin 1) receptor knock-out mice mimic antidepressant-induced desensitization. *J. Neurosci.* 2001; **21**, 8188–8197.

Haddjeri N, Blier P. Effect of neurokinin-1 receptor antagonists on the function of 5-HT and noradrenaline neurons. *Neuroreport* 2000;11:1323-1327.

Hokfelt t; Ljungdahl A; Steinbusch H; Verhofstad A; Nilsson G; immunohistochemical evidence of substance p-like immunoreactivity in some 5-hydroxytryptamine-containing neurons in rat central nervous-system. *Neuroscience.* 1978;3(6):517-38.

J Licinio and M-L Wong. The role of inflammatory mediators in the biology of major depression: central nervous system cytokines modulate the biological substrate of depressive symptoms, regulate stress-responsive systems, and contribute to neurotoxicity and neuroprotection. *Molecular Psychiatry* (1999) 4, 317–327.

Kramer M.S., Cutler N., Feighner J., Shrivastava R., Carman J., Sramek J.J., Reines S.A., Liu G., Snively D., Wyatt-Knowles E., Hale J.J., Mills S.G., MacCoss M., Swain C.J., Harrison T., Hill R.G., Hefti F., Scolnick E.M., Cascieri M.A., Chicchi G.G., Sadowski S., Williams A.R., Hewson L., Smith D., Rupniak N.M. Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science* 1998; 281: 1640–1645.

Kramer MS. Update on Substance P (NK-1 receptor) antagonists in clinical trials for depression. *Neuropeptides* 2000; 34(5): 255.

Krase W, Koch M, Schnitzler HU. Substance P is involved in the sensitization of the acoustic startle response by footshocks in rats. *Behav Brain Res* 1994; 29:81–8.

Mantyh PW, Hunt SP, Maggio JE. Substance P receptors: localization by light microscopic autoradiography in rat brain using [3H]SP as the radioligand. *Brain Res* 1984; 307:147–65.

Neuronal cell death induced by antidepressants: lack of correlation with Egr-1, NF-kappa B and extracellular signal-regulated protein kinase activation. *Biochem Pharmacol.* 2002 Apr 15;63(8):1507-16.

Neveu PJ, Castanon N (1999) Is there evidence for an effect of antidepressant drugs on immune function? In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R (eds) *Cytokines, stress, and depression*. Plenum, New York, pp 267-281

Neveu PJ, Castanon N. Is there evidence for an effect of antidepressant drugs on immune function? *Adv Exp Med Biol.* 1999;461:267-81.

Post A, Crochemore C, Uhr M, Holsboer F, Behl C. Differential induction of NF-kappaB activity and neural cell death by antidepressants in vitro. *Eur J Neurosci.* 2000 Dec;12(12):4331-7.

Rupniak NM, Kramer MS. Discovery of the antidepressant and anti-emetic efficacy of substance P receptor (NK1) antagonists. *Trends Pharmacol Sci.* 1999 Dec;20(12):485-90.

Santarelli L, Gobbi G, Debs PC, Sibille ET, Blier P, Hen R. Genetic and pharmacological disruption of neurokinin 1 receptor function decreases anxiety-related behaviors and increases serotonergic function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:1912-1917.

Sergeyev, V., Hökfelt, T. & Hurd, Y. Serotonin and substance P co-exist in dorsal raphe neurons of the human brain. *Neuroreport* 1999; **10**, 3967–3970.

Siegel RA, Duker EM, Pahnke U, Wuttke W. Stress-induced changes in cholecystokinin and substance P concentrations in discrete regions of the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1987; 46:75–81.

SEMINARI 2005 / 2006

19 gennaio 2006– Prof.ssa Maria Grano (Dipartimento di Anatomia e Istologia, Facoltà di Medicina, Università di Bari): **Mechanisms of osteolytic lesions in multiple myeloma: uncoupling between bone resorption and formation.**

13 febbraio 2006– Prof. Ferdinando Nicoletti (Dipartimento di Fisiologia Umana e Farmacologia, Università “La Sapienza”, Roma): **New Perspectives in Metabotropic Glutamaterceptors Neurobiology.**

15 febbraio 2006– Prof. Daniele Sblattero (Dipartimento di Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale, Novara): **Anticorpi ricombinanti: un potente tool biotecnologico.**

20 febbraio 2006– Prof.ssa Daniela Furlan (Facoltà di Medicina, Università dell'Insubria): **Tecniche di biologia e genetica molecolare nella diagnostica del carcinoma del colon.**

13 marzo 2006– Dott.ssa Antonia Follenzi (Dipartimento di Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale, Novara): **Il Trapianto di cellule endoteliali (LSCE) nel fegato di topo ha implicazioni per la terapia cellulare e genica dell'emofilia.**

20 marzo 2006– Prof. Mikael Knip (Hospital for children and adolescents, University of Helsinki, Finland): **The Natural course of preclinical Type I Diabetes.**

23 marzo 2006– Dott.ssa Susanna Ceffa (Dipartimento di Oncologia,, Università di Pisa; Comunità di Sant' Egidio – DREAM Program): **La prevenzione della trasmissione verticale di HIV in Africa Sub Sahariana. L'esperienza del programma DREAM.**

6 aprile 2006- Dr Francesco Forconi (Divisione di Ematologia, Università degli Studi di Siena): **Aspetti immunogenetici e terapeutici della “hairy cell leukemia”.**

20 aprile 2006- Dott.ssa Daniela Cilloni (Divisione di Ematologia, Università di Torino- Polo S. Luigi, Orbassano): **Terapie molecolari nelle malattie mieloproliferative.**

4 maggio 2006- Prof. Mutti Luciano (Ospedale SS Pietro e Paolo, Borgosesia): **Il Mesotelioma: un modello di terapia traslazionale.**

30 maggio 2006- Prof.ssa Marialuisa Lavitrano (Università Milano Bicocca): **Sperm Mediated Gene Transfer. Storia e Applicazioni.**

27 giugno 2006- Prof.ssa Lia Rimondini (Università del Piemonte Orientale, Novara): **Osteointegrazione e superfici implantari.**

5 luglio 2006- Dott.ssa Renata Grifantini (Novartis Vaccines, Siena): **DNA and protein arrays in infection diseases: from basic research to vaccine design.**

11 settembre 2006- Prof. Dieter Broemme (University of British Columbia): **The role of cathepsin K in arthritis and atherosclerosis.**

29 settembre 2006- Prof. Ulrich Pfeffer (Istituto Nazionale per la ricerca sul cancro -IST- Genova):

La rete di regolazione delle attività anti-angiogeniche degli interferoni.

PUBBLICAZIONI E CONGRESSI 2005-2006

GUNELLA G, BARDELLI C, AMORUSO A, VIANO I, BALBO P & S. BRUNELLESCHI.
Macrophage-stimulating protein differently affects human alveolar macrophages from smoker and non-smoker patients: evaluation of respiratory burst, cytokine release and NF-kappaB pathway.
Br J Pharmacol. 2006 Jun;148(4):478-89. Epub 2006 Apr 24.

AMORUSO A.,BARDELLI C.,GUNELLA G.,FRESU LG.,FERRERO V.,BRUNELLESCHI S.
Quantification of PPAR- γ protein in monocyte/macrophages from healthy smokers and non-smokers: a possibile direct effect of nicotine. *Submitted settembre 2006*

BARDELLI C, AMORUSO A, GUNELLA G, FRESU LG., & S. BRUNELLESCHI. Effects of nicotine on human monocyte/macrophages in smokers and non-smokers; XII Convegno Monotematico: Nicotina, neurobiologia, neuropsicofarmacologia, 5 giugno 2006, Genova.