



**-Università del Piemonte Orientale-**

**“Amedeo Avogadro”**

**DIFFERENZE DI GENERE NELL' ESPRESSIONE  
DI PPAR- $\alpha$  E PPAR- $\gamma$  IN MONOCITI/MACROFAGI  
DA PAZIENTI CON CORONAROPATIA (CAD:  
CORONARY ARTERY DISEASE)**

**XIX Ciclo di Dottorato in Medicina Molecolare**

***Tutor: Prof. Sandra Brunelleschi***

***Dottorando: Dott.ssa Angela Amoruso***

# Introduzione

## Le differenze di genere

Solo in questi ultimi vent'anni le differenze di genere hanno trovato una loro giusta collocazione nell'ambito scientifico; per quanto concerne la farmacologia, esse fanno parte del grande capitolo delle variazioni alle risposte ai farmaci, variabilità che origina sia dal patrimonio genetico che da fattori ambientali (Kalow et al, 1998). Tali differenze furono dapprima individuate negli animali da esperimento, quando nel 1932 Nicholas e Barrow (citati in Skett 1988) evidenziarono che, nelle ratte femmine, la dose ipnoinducente di barbiturico era inferiore (50%) rispetto a quella dei ratti maschi. Sfortunatamente, in clinica, sono state a lungo sottovalutate (Kato, 1974; Giudicelli e Tillment, 1977) anche perché, fino all'ultimo decennio del secolo scorso, solo pochi, per non dire rari, studi clinici includevano le donne. Ricerche recenti, tuttavia, evidenziano che tali differenze sono più frequenti di quelle sospettate (Beierle, 1999; Meibohm et al, 2002) ed hanno un'entità variabile dal 20-50% (Fletcher et al, 1994; Beierle, 1999; Meibohm et al, 2002). Le differenze di genere nella risposta ai farmaci dipendono dalle differenze anatomiche, fisiologiche e patologiche esistenti tra i due sessi, inclusa la ciclicità della vita riproduttiva femminile (O'Malley et al, 1971) e in questo ambito bisogna altresì considerare le problematiche correlate all'assunzione di associazioni estro-progestiniche. Ad esempio, l'uso di alcuni antiepilettici e della rifampicina può accelerare il metabolismo degli estrogeni (Graves et al, 1999); d'altra parte le associazioni di estro-progestinici possono modificare la risposta del sistema GABAergico (Olsen e Delorey, 1998; Berg, 2001). E' evidente che il problema delle interazioni non coinvolge solo i farmaci, ma si estende ai nutrienti, ai supplementi, ai rimedi botanici; ad esempio, è stata descritta la perdita dell'efficacia dei contraccettivi orali con l'uso dell'iperico (Hall et al, 2003; Pfrunder et al, 2003). Come si può osservare in tabella 1, tutte le fasi della farmacocinetica possono essere influenzate dalla differenza di genere, variando in funzione del ciclo mestruale, della gravidanza, dell'allattamento, della menopausa, ma non è ancora ben noto il loro

significato clinico. Inoltre, scarse sono anche le notizie sulle differenze tra uomo e donna dei sistemi di trasporto intestinali dei farmaci (Morris et al, 2003) e queste, se individuate, potrebbero rivestire una certa rilevanza. Le variazioni del volume di distribuzione legate alla diversa composizione corporea sembrano avere un certo significato clinico (Beierle et al, 1999), come nel caso della vancomicina e dei chinolonici (Ducharme et al, 1994; Overholser et al, 2004) ed, essendo esse spesso collegate a differenze di peso corporeo, possono essere evitate normalizzando la dose per la superficie o il peso corporeo.

Fattore biologico	Effetto
Peso corporeo	Le donne, in genere, pesano meno dell'uomo, perciò il dosaggio dovrebbe essere normalizzato per il peso.
Grasso corporeo e massa muscolare	Le donne hanno una quantità di grasso superiore e una minore quantità di massa muscolare rispetto a quella maschile, il che può portare a variazioni del volume di distribuzione (Beierle et al, 1999).
Svuotamento gastrico	Lo svuotamento è più lento nella donna ed è influenzato dalla fase mestruale e dalla gravidanza (Wilson, 1984; Kando et al, 1995).
Secrezione gastrica	Lo stomaco delle donne ha un pH superiore e ciò può influenzare l'assorbimento dei farmaci (Wilson, 1984).
Metabolismo	Le donne hanno una minore quantità d'alcool deidrogenasi con conseguente rallentamento del metabolismo dell'etanolo. Esistono inoltre differenze legate al genere per quanto riguarda le CYP ed altri enzimi: ad es. la glicuronconiugazione è maggiore nell'uomo (Riester et al, 1980; Beierle et al, 1999; Harris et al, 1995; Pollock, 1997).
Legame farmaco-proteico	Le variazioni fra uomo e donna sembrano di scarsa importanza (Beierle et al, 1999; Meibohm et al, 2002) però una diminuzione delle albumine può essere presente in gravidanza (Perucca e Crema, 1982).
Rene	La Filtrazione glomerulare può essere influenzata dal sesso perché è proporzionale al peso e alla massa muscolare (Wright et al 1997).

Le differenze di genere legate al metabolismo dei farmaci sono notevoli (Riester et al, 1980); poniamo però attenzione al fatto che sono molti e diversi i fattori che ne influenzano la complessa regolazione endogena (polimorfismi, ormoni etc) ed esogena (alcool, fumo, supplementi, rimedi botanici etc) e ciò rende difficile identificare e valutare correttamente le differenze di genere (Morgan et al 1998). Ciò nonostante, ben note sono le differenze tra uomo e donna

imputabili all'attività degli enzimi citocromo P450. Ad esempio, l'attività del CYP 3A4, che rappresenta circa il 60% delle ossidasi citocromo P450, e che metabolizza numerosi farmaci (ciclosporina, diazepam, imipramina, midazolam, nifedipina, nimodipina, diltiazem, verapamil, chinidina, warfarin, ormoni steroidei, tamoxifen, etc), è maggiore nel sesso femminile ed è modulata dagli estrogeni e dai progestinici (Beierle et al, 1999; Harris et al, 1995; Pollock, 1997). A livello dell'escrezione renale, ci possono essere delle differenze e ciò potrebbe spiegare la ridotta clearance (12-14%) della digossina nelle donne (Yukawa et al 1992).

Nonostante le differenze farmacodinamiche siano più difficili da individuare rispetto a quelle farmacocinetiche, ne sono state descritte alcune che riguardano farmaci di largo impiego come gli oppioidi, gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina, i fibrinolitici, le benzodiazepine ecc. Le donne, infatti, rispondono meglio agli oppioidi presentando, nel contempo, un maggior numero di effetti collaterali (Kaiko et al, 1996; Zacny, 2001; Craft, 2003); mentre con i fibrinolitici esse hanno una maggiore incidenza di emorragie intracraniche (Gurwitz et al, 1998), incidenza che permane anche dopo la correzione della dose per il peso corporeo e per la funzionalità renale (Van de Werf, 2002; Becker et al, 1999). Inoltre, le donne anziane, sembrano essere meno sensibili agli effetti terapeutici degli inibitori dell'enzima di conversione in confronto ai maschi della stessa età (Flather et al, 2000), e questi farmaci sembrano poi indurre più effetti avversi (tosse) nel sesso femminile (Os et al, 1992). Infine, sono state descritte differenze di genere su base farmacodinamica, anche per le benzodiazepine (Romano-Torres, 2002). Quel che ci si auspica è che in futuro le segnalazioni sulle differenze farmacodinamiche aumentino e che sia possibile arrivare a progettare farmaci che tengono conto di queste.

Le donne sembrano essere più sensibili agli effetti avversi dei farmaci (Domecq et al, 1980; Lazarou et al, 1998; Martin et al, 1998; Makkar et al, 1993; Szarfman, 2000; GAO-01-286R, 2001), o per una particolare vulnerabilità femminile (ad esempio, medicinali di largo consumo quali antiaritmici, antibiotici, anti-istaminici, antipsicotici possono indurre aritmia ventricolare che

può essere fatale; Makkar et al, 1993; Woosley, 2000; Drici et al, 1998) e/o perché le donne sono trattate con dosaggi individuati per i soggetti di sesso maschile e/o per il fatto che le reazioni avverse nel genere femminile potrebbero dipendere direttamente o indirettamente dalle fluttuazioni ormonali che caratterizzano la vita riproduttiva femminile e che rivestono una grande rilevanza ai fini dell'efficacia e della sicurezza del trattamento.

## Differenze di genere nelle malattie cardiovascolari

Le malattie cardiovascolari rappresentano, globalmente, la principale causa di morte nel XXI secolo (Murray, 1996).

Nonostante in questi ultimi anni siano stati notevolmente implementati gli interventi di prevenzione, nel sesso femminile la malattia cardiovascolare resta la principale patologia killer (American Heart Association, 2003) e i dati indicano un numero maggiore di vittime rispetto al sesso maschile. Solo negli Stati Uniti, più di mezzo milione di donne all'anno muore per le malattie cardiovascolari.

Ai dati finora citati, se ne aggiunge uno peculiare relativo all'epoca d'insorgenza delle malattie cardiovascolari nel sesso femminile, cioè in menopausa. Infatti, al di sotto dei 55 anni, l'incidenza di coronaropatia (CAD) (che tra le malattie cardiovascolari è la principale causa di morte) nel sesso femminile è circa 1/3 di quella del sesso maschile, mentre a 75 anni, essa eguaglia (Barrett-Connor et al, 1991) o, secondo altri autori, è superiore a quella del sesso maschile (Gu et al, 1999).

La menopausa rappresenta, quindi, il momento della vita della donna che segna il passaggio da una condizione di basso rischio cardiovascolare ad una di aumentato rischio, tale da annullare la differenza nell'incidenza di eventi tra i due sessi (National Center for Health Statistics, 1998; The World Health Report 2002).

La cessazione dell'attività ovarica con le relative modificazioni ormonali sarebbe responsabile dell'aumentato rischio cardiovascolare in maniera diretta. Inoltre, il rischio cardiovascolare aumenta anche indirettamente, sia attraverso le altre modificazioni che si verificano in menopausa e che interessano il

metabolismo osseo, il tessuto adiposo, il metabolismo glucidico e lipidico, sia a causa dell'aumentata incidenza di patologie sistemiche come l'osteoporosi e la sindrome metabolica.

Pertanto gli sforzi nel settore della ricerca medico-scientifica devono essere volti, prima che all'identificazione di una terapia idonea, alla definizione dei meccanismi coinvolti nella patogenesi dell'aterosclerosi in menopausa.

Negli ultimi 20 anni un ruolo preminente nel determinismo dell'aterosclerosi è stato attribuito alla carenza di estrogeni ed i primi studi epidemiologici avevano confermato tale ipotesi.

Quest'ultima è stata, però, confutata da una rigorosa valutazione scientifica (Hulley et al, 1998; Rossouw et al, 2002). Infatti, gli studi di intervento sulla terapia ormonale sostitutiva (HRT) hanno fatto sorgere dubbi circa la priorità del ruolo degli estrogeni nella protezione della donna dalle malattie cardiovascolari e hanno fatto ipotizzare che esistano meccanismi diversi. Da qui è sorta la necessità di identificare nuovi fattori di rischio cardiovascolare nella donna in menopausa. Infatti, dai suddetti studi si è compreso che probabilmente solo "perpetuando" le condizioni ormonali esistenti in premenopausa è possibile mantenere "basso" il rischio cardiovascolare nelle donne. Pertanto è fondamentale esplorare le funzioni degli altri ormoni sessuali la cui produzione cessa con la menopausa, vale a dire gli androgeni, che possono rappresentare i nuovi target nella prevenzione cardiovascolare della donna in menopausa, dopo il fallimento della terapia ormonale sostitutiva.

Relativamente ai nuovi fattori di rischio, che direttamente potrebbero favorire lo sviluppo dell'aterosclerosi, non sono da trascurare i risultati di recenti studi che hanno enfatizzato come lo sviluppo delle calcificazioni vascolari aterosclerotiche sia un processo simile a quello della mineralizzazione dell'osso (Elhage et al, 2001; Parhami et al, 2001; Watson et al, 1997; Moon et al, 1992). Infine, anche nelle donne in menopausa, è utile considerare la prevalenza della cosiddetta "sindrome metabolica", considerata attualmente una patologia emergente di questo periodo della donna. Essa è una condizione caratterizzata dalla costellazione d'alterazioni lipidiche e non, d'origine metabolica. La sindrome metabolica è molto frequente nella popolazione adulta

e nella postmenopausa (Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. 2001; Ford et al 2002). Gli studi hanno dimostrato una associazione tra la sindrome metabolica e gli eventi cardiovascolari (Lakka et al, 2002; Isomaa et al, 2001; Ridker et al 2003; Alexander et al 2003).

È proprio in questo ambito di eventi cardiovascolari che si sta sempre più affermando il ruolo dei recettori PPAR. Ruolo decisamente controverso soprattutto per PPAR $\gamma$ , in quanto tale recettore esercita da un lato complessi effetti anti-aterogenici, quali l'inibizione del rilascio di citochine pro-infiammatorie, la riduzione dell'espressione delle metalloproteinasi e degli scavenger receptor SR-A (Ricote et al., 1998, 1999; Chawla et al., 2001; Chinetti et al., 2001; Moore et al., 2001), dall'altro molti lavori riportano come i ligandi di PPAR $\gamma$  siano responsabili della stimolazione dell'espressione di recettori pro-infiammatori (es. CD14 e CD11/CD18), dell'up-regolazione di scavenger receptor come CD36 (responsabile dell'uptake delle LDL ossidate) e come siano coinvolti nella formazione delle foam cells (Tontonoz et al., 1998; Nagy et al., 1998; Chinetti et al., 2000), tutti eventi pro-aterogenici.

Inoltre, è da poco stato pubblicato uno studio dove si è dimostrato che il rosiglitazone, noto ligando sintetico di PPAR $\gamma$ , della famiglia di farmaci antidiabetici orali di ultima generazione, i tiazolidindioni, è associato ad un significativo aumento del rischio di infarto del miocardio nell'uomo (Nisseem & Wolski, 2007).

## **Scopo**

Poiché le malattie cardiovascolari rappresentano, globalmente, la principale causa di morte nel XXI secolo e vista l'importanza che la famiglia dei PPAR sta assumendo in questi ultimi anni nell'evoluzione delle malattie cardiovascolari, con questo studio si è voluta valutare l'espressione dei recettori PPAR (alfa e gamma) in monociti (M) e macrofagi-derivanti da monociti (MDM) di pazienti affetti da Coronaropatia (CAD), uomini e donne, fumatori e non fumatori, sondando l'esistenza di una possibile differenza di genere nell'espressione dei recettori nucleari PPAR, ed ipotizzando così un loro eventuale ruolo come marcatori predittivi di rischio cardiovascolare.



# Materiali e metodi

## Popolazione

Sono stati arruolati pazienti in maniera consecutiva, 20 uomini e 20 donne in postmenopausa, con età compresa fra i 45 e i 75 anni, afferiti all'ambulatorio di Coronarografia dell'Ospedale Maggiore della Carità di Novara.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad analisi ematochimiche per la valutazione di glicemia, colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi, proteina C reattiva; inoltre i pazienti sono stati sottoposti ad un questionario relativo alla storia clinica, assunzione attuale e pregressa di farmaci, fumo, presenza di malattie cardiovascolari e ad un esame fisico per la determinazione dell'indice di massa corporea (BMI) e di altri parametri, quali circonferenza vita/fianchi.

## Preparazione di monociti umani (M) e Monocyte-Derived Macrophages (MDM)

I monociti umani (M) sono stati isolati da 30cc di sangue prelevato ai pazienti al mattino a digiuno. Il sangue prelevato viene fatto sedimentare con una soluzione di destrano in rapporto 1:1 e centrifugato a 400g per 30' a temperatura ambiente su gradiente di Hystopaque (densità = 1.077 g/cm<sup>3</sup>). L'anello di cellule mononucleate viene trasferito in un altro tubo e lavato con PBS (phosphate-buffered saline pH 7.4) per 10' a 250g per tre volte; le cellule così recuperate vengono piastrate in RPMI 1640 medium, con l'aggiunta di FBS al 5% (*fetal bovine serum* scomplementato), 2 mM di glutammmina, 50 µg ml<sup>-1</sup> di streptomina, 5 U ml<sup>-1</sup> di penicillina e 2.5 µg ml<sup>-1</sup> di anfotericina B (Brunelleschi *et al.*, 1998). La popolazione purificata di monociti viene ottenuta per adesione (90', 37°C, 5% CO<sub>2</sub>) e le cellule in sospensione (principalmente linfociti) vengono rimosse con tre lavaggi di PBS; la vitalità cellulare viene valutata con "trypan blue dye exclusion" ed è normalmente > 98% (Brunelleschi *et al.*, 1998). Attraverso la citofluorimetria sono stati valutati diversi marker di superficie che hanno permesso di appurare che fosse una popolazione pura di monociti (> 90% CD14<sup>+</sup>, < 2% CD3<sup>+</sup>). I *Monocyte-Derived Macrophages* (MDM) sono ottenuti da monociti incubati a 37°C per 8-

10 giorni con RPMI 1640 completo con l'aggiunta del 20% di FBS, con cambi di terreno ogni 2-3 giorni. Gli MDM vengono considerati cellule "macrophage-like", in accordo a Gantner *et al.* (1997), grazie alla diminuzione dei marker di superficie CD14 (soltanto il 25-30% degli MDM sono CD14) ed all'assenza dell'espressione del marker CD1a che dimostra che nelle preparazioni di MDM non ci sono cellule che si stanno differenziando in cellule dendritiche (Brunelleschi *et al.*, 2001).

### **Espressione proteica e quantificazione dei PPAR**

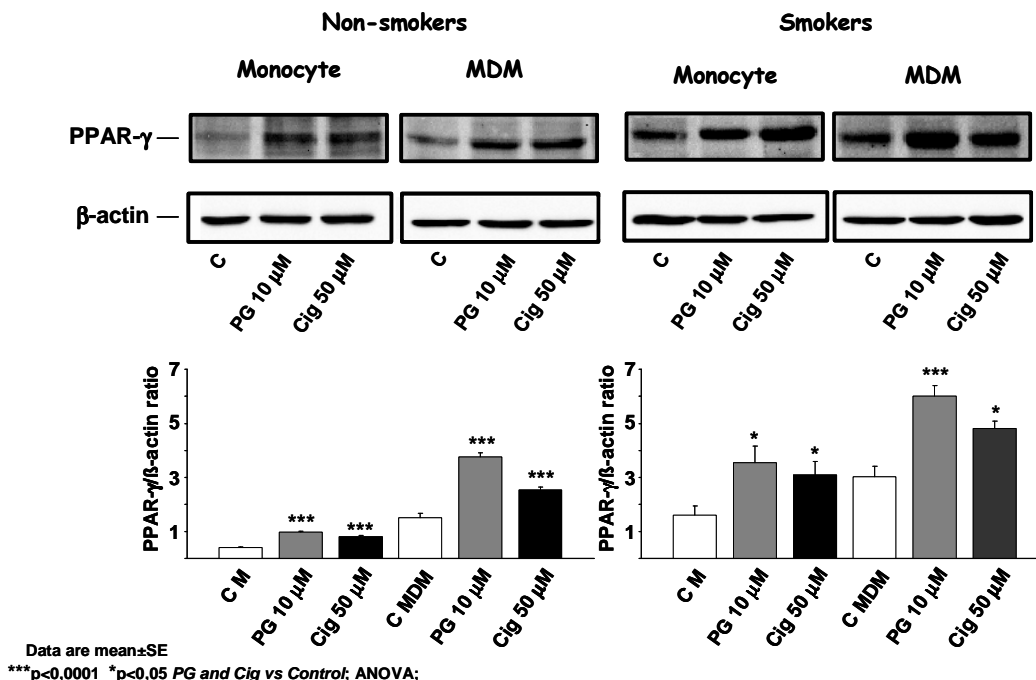
Le cellule isolate da donatori sani, fumatori e non-fumatori, sono state utilizzate come cellule controllo (in cui si valuta l'espressione basale costitutiva di PPAR gamma e alfa) rispetto a quelle dei pazienti coronaropatici. Le cellule ( $2 \times 10^6$ ), sono state lavate due volte con PBS freddo e staccate in tampone di lisi (3% SDS, 0.25 M Trizma base e 1 mM PMSF, phenyl-methyl-sulfonyl fluoride). Le cellule lisate sono state sonicate in immersione per circa 2 min. ed inoltre gli estratti sono stati sottoposti a shock termico. La determinazione delle concentrazioni proteiche è stata fatta con metodo BCA. I campioni di proteina (20 µg) sono stati analizzati con SDS-PAGE (10% acrilammide) e trasferiti su membrane di nitrocellulosa. Gli *immunoblots* sono stati eseguiti con metodiche standard utilizzando i seguenti anticorpi: anticorpo monoclonale anti-PPAR-gamma (Santa Cruz 1:1000 in TBS-Tween 5% latte) anticorpo monoclonale anti-PPAR-alfa (ABCAM 1:1000 in TBS-Tween 5% latte) ed anticorpo monoclonale β-actina (Sigma; 1:5000 in TBS-Tween 3% BSA). L'anticorpo secondario utilizzato è associato con la perossidasi (Amersham Biosciences). Le proteine sono state visualizzate attraverso un sistema di intensificazione della chemiluminiscenza (ECL, Perkin Elmer). Il segnale di chemiluminiscenza è stato analizzato con un densitometro in condizioni non saturanti (Versadoc, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). La quantificazione delle proteine PPAR è stata fatta calcolando il rapporto tra l'espressione proteica di PPAR e quella della β-actina, quest'ultima utilizzata come proteina *house-keeping*.

## Risultati

Con questo studio si è voluta valutare l'espressione proteica dei recettori PPAR $\gamma$  e PPAR $\alpha$ , in monociti ed MDM di pazienti con CAD, fumatori e non-fumatori, uomini e donne, ed è stato possibile quantificare l'espressione di tali recettori rapportandoli all'espressione di una proteina housekeeping, la  $\beta$ -actina.

Come controllo di espressione proteica, rispetto ai pazienti, si sono studiati i valori basali delle proteine PPAR $\alpha$  e PPAR $\gamma$  (attraverso tecniche di Western blot) in M e MDM di donatori sani, fumatori e non fumatori.

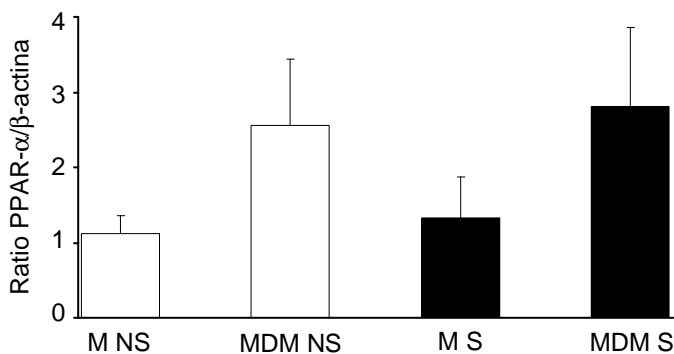
Come si può vedere in Figura 1 l'espressione di PPAR $\gamma$  è risultata up-regolata durante il differenziamento dei monociti a MDM. Inoltre, 6 ore di incubazione con il ligando endogeno 15d-PGJ $_2$  (usato a 10  $\mu$ M) o il ligando sintetico, ciglitazone (usato a 50  $\mu$ M), aumentano fortemente l'espressione di PPAR $\gamma$  in M e in macrofagi totalmente differenziati (MDM), confermando così precedenti osservazioni, fatte anche dal nostro laboratorio (Amoruso *et al.*, 2007; Chinetti *et al.*, 1998; Tontonoz *et al.*, 1998).



(Figura 1: espressione, basale ed indotta dai ligandi, di PPAR $\gamma$  in M e MDM di donatori sani, fumatori e non-fumatori )

Come mostrato in Figura 1, il rapporto di PPAR $\gamma$ / $\beta$ -actina negli MDM è 1.47  $\pm$

0.2 (n = 12), ed è circa quattro volte più alto che nei M ( $0.38 \pm 0.08$ ; n = 12;  $p < 0.001$  vs MDM), ed entrambi i ligandi di PPAR $\gamma$  ne aumentano l'espressione. Alla concentrazione di 10  $\mu$ M, la 15d-PGJ<sub>2</sub> incrementa l'espressione di PPAR $\gamma$  di circa 2.4 volte e 2.5 volte in M e MDM, rispettivamente (n = 12;  $p < 0.01$  vs controllo; Figura 1). Il ciglitazone (50  $\mu$ M), invece, incrementa l'espressione di PPAR $\gamma$  di 2 volte circa nei M e di 1.7 volte negli MDM, (n = 12;  $p < 0.05$  vs controllo; Figura 1).



**(Figura 2: espressione basale di PPAR $\alpha$  in M e MDM di donatori sani, fumatori e non-fumatori)**

Sono stati quindi valutati i valori basali di PPAR $\alpha$  espressi nelle cellule dei donatori sani, fumatori e non-fumatori. Come si può vedere dalla Figura 2, l'espressione della proteina PPAR $\alpha$  subisce un incremento, non statisticamente significativo, di quasi 2 volte durante il differenziamento e valutando le diverse espressioni tra fumatori e non-fumatori, non si è osservata alcuna differenza significativa (n= 5;  $p > 0.05$ ).

Questo dato potrebbe far ipotizzare un non-coinvolgimento di tale proteina nella cascata d'attivazioni geniche scatenate da fattori infiammatori, quali il fumo.

Visto l'ormai confermato ruolo dei recettori PPAR in diverse patologie, quali l'aterosclerosi, diabete, trombosi..etc, è' stato quindi interessante andare a valutare l'espressione dei recettori PPAR in pazienti con coronaropatia, fumatori e non, e osservarne le differenze rispetto ai donatori sani.

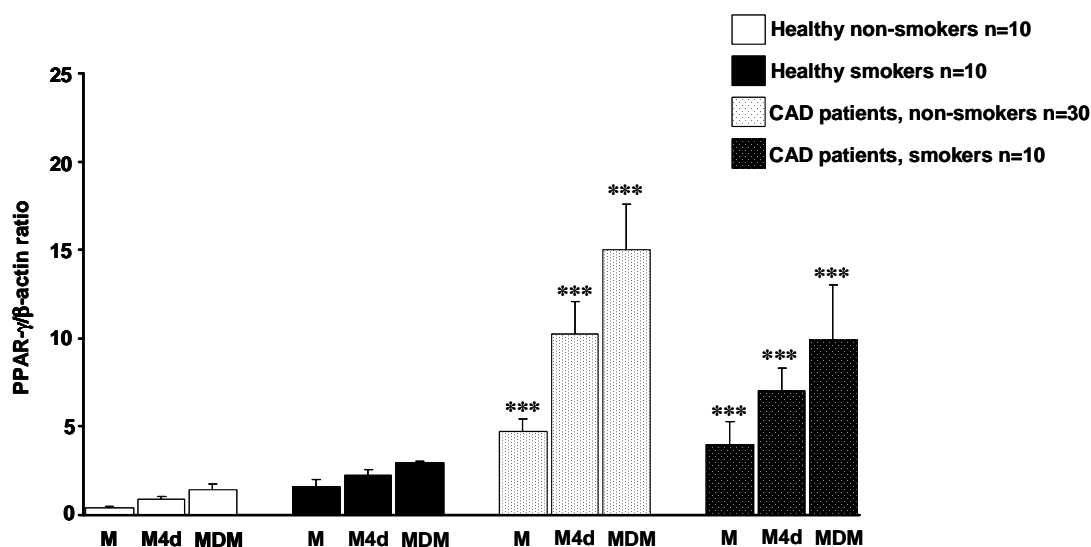
Sono stati arruolati per questo studio, pazienti con caratteristiche comparabili, quali l'età, il BMI, i trattamenti farmacologici (naturalmente non sono stati inclusi pazienti sottoposti a trattamento con ligandi PPAR).

Qui di seguito sono riportate le tabelle con i vari parametri biochimici e i risultati delle analisi ematochimiche dei pazienti, suddivisi in maschi e femmine:

<b>Female patients</b>	<b>20</b>
<b>Age (years)</b>	<b>64± 3 (38-85)</b>
<b>Weight</b>	<b>66,54±3,2</b>
<b>Height</b>	<b>161±11</b>
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>26±2 (19.2-34.6)</b>
<b>Smokers</b>	<b>5 (25%)</b>
<b>Non-smokers</b>	<b>15 (75%)</b>
<b>Glycemia</b>	<b>132±14</b>
<b>Total Cholesterol</b>	<b>171±10</b>
<b>HDL Cholesterol</b>	<b>43±4</b>
<b>LDL Cholesterol</b>	<b>101±8,43</b>
<b>Triglycerides</b>	<b>104±12</b>

<b>Male patients</b>	<b>20</b>
<b>Age (years)</b>	<b>66± 1,6 (55-83)</b>
<b>Weight</b>	<b>81±2,3</b>
<b>Height</b>	<b>172±11</b>
<b>BMI (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>28±1 (21,9-34,6)</b>
<b>Smokers</b>	<b>5 (25%)</b>
<b>Non-smokers</b>	<b>15 (75%)</b>
<b>Glycemia</b>	<b>118±6</b>
<b>Total Cholesterol</b>	<b>181±8</b>
<b>HDL Cholesterol</b>	<b>43±2</b>
<b>LDL Cholesterol</b>	<b>120±8</b>
<b>Triglycerides</b>	<b>102±9</b>

Comparando l'espressione della proteina PPAR $\gamma$  nei sani con l'espressione nei pazienti, si è notato che la proteina è costitutivamente più elevata rispetto ai donatori sani, sia a livello di monociti che di macrofagi.

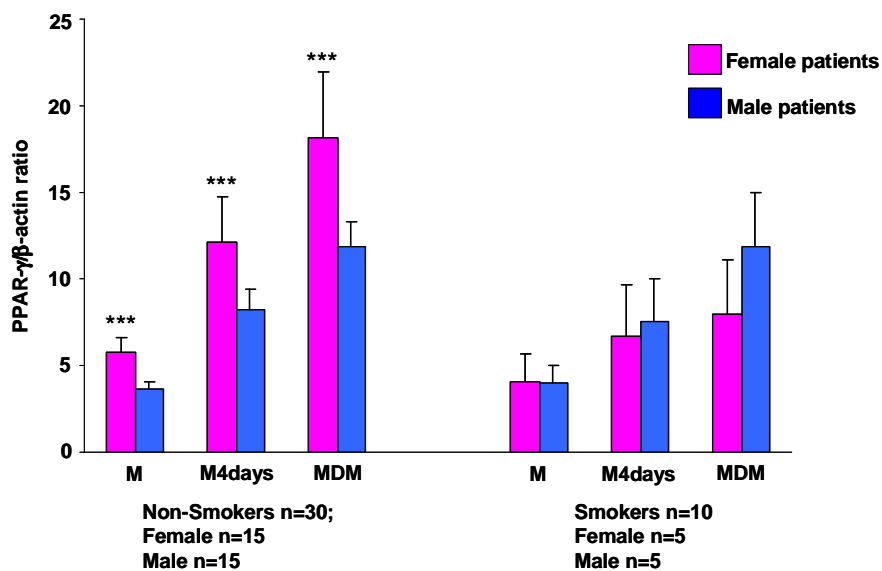


Data are mean±SE; \*\*\*p< 0,005 CAD patients vs healthy donors; ANOVA

**(Figura 3: comparazione dell'espressione basale di PPAR $\gamma$  in M e MDM tra sani e pazienti, fumatori e non-fumatori)**

Inoltre, come si evince dalla Figura 3, i M e MDM di pazienti con coronaropatia (CAD) presentano livelli di espressione di PPAR $\gamma$  significativamente più rilevanti rispetto ai volontari sani. I pazienti CAD non-fumatori esprimono di più il recettore rispetto ai pazienti fumatori: addirittura, negli MDM, i non fumatori hanno un incremento di 4.3 volte dell'espressione di PPAR $\gamma$ , rispetto ai fumatori che aumentano l'espressione della proteina di solo 2.7 volte.

Considerata la maggior espressione di PPAR nei pazienti CAD e le differenze di genere finora identificate (v. Introduzione), si è andati a valutare l'espressione di PPAR $\gamma$  nei pazienti CAD, maschi e femmine.



Data are mean $\pm$ SE

\*\*\*p < 0,005 female non-smokers vs male non-smokers;  
p ns female smokers vs male smokers; ANOVA

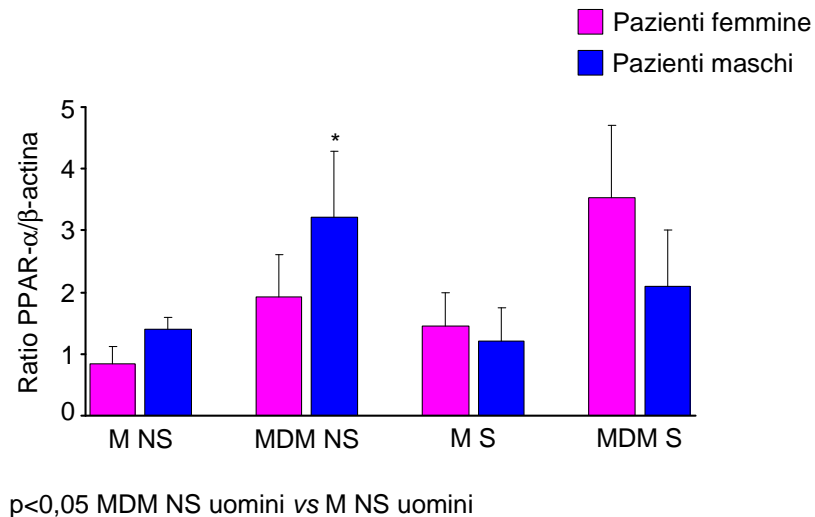
p < 0,05 female non-smokers vs female smokers;  
p ns male non-smokers vs male smokers; ANOVA

**(Figura 4: espressione basale di PPAR $\gamma$  in M e MDM di pazienti maschi e femmine, fumatori e non-fumatori)**

Come si può ben vedere dalla Figura 4, le donne non fumatrici esprimono maggiormente la proteina, in maniera significativa, rispetto agli uomini non fumatori, ed inoltre l'incremento della proteina nelle donne non fumatrici è significativamente più alto rispetto a uomini e donne fumatrici.

Non vi è, invece, una rilevanza statistica fra uomini e donne fumatori e neppure fra uomini fumatori e uomini non-fumatori.

Andando ad indagare l'espressione di PPAR $\alpha$  in pazienti, uomini e donne, fumatori e non-fumatori, non si è trovata una grossa variabilità di espressione



**(Figura 5: espressione basale di PPAR $\alpha$  in M e MDM di pazienti maschi e femmine, fumatori e non- fumatori)**

proteica, tranne che una differenza, marginalmente significativa, tra uomini non-fumatori e uomini fumatori. D'altra parte l'espressione di PPAR $\alpha$  non mostra nessun tipo di alterazione nemmeno nel confronto tra sani e pazienti CAD fumatori e non, essendo le ratio PPAR $\alpha$ / $\beta$ -actina del tutto confrontabili (Figura 5; v. per controllo Figura 2).

Pertanto, almeno per quanto riguarda M e MDM, il recettore PPAR-g sembra avere un ruolo predominante.

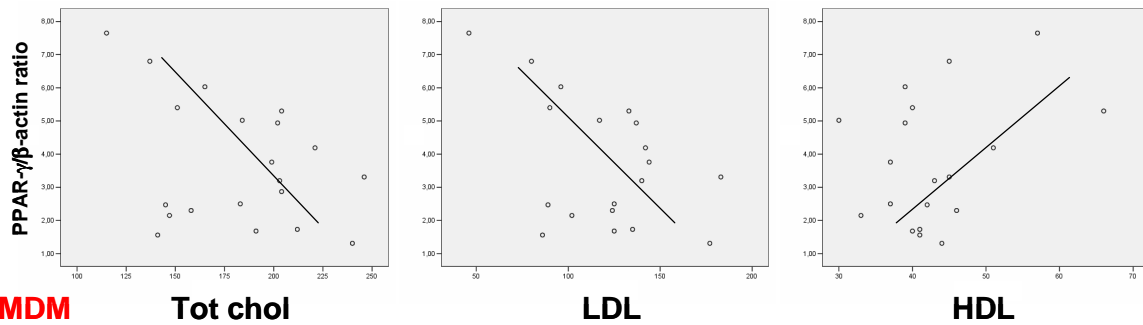
Si è passati quindi a valutare le possibili correlazioni esistenti tra l'espressione di PPAR $\gamma$  in uomini e donne ed i vari parametri rilevanti per la CAD, quali: colesterolo totale, HDL, LDL, BMI e Trigliceridi.

Si è dunque cercato di correlando i valore di espressione di PPAR $\gamma$  (in M e MDM) con i livelli plasmatici di colesterolo totale, HDL e LDL. Come si può vedere dalla Figura 6, esiste un'ottima correlazione per quanto riguarda espressione di PPAR nei monociti isolati da pazienti di sesso maschile e "assetto" del colesterolo. Infatti, con l'aumentare dell'espressione della proteina, si osserva una diminuzione dei livelli di colesterolo totale e LDL ed un concomitante aumento dei livelli di HDL, dato, quest'ultimo, che viene osservato anche negli MDM. Questi dati suggeriscono un potenziale ruolo anti-aterogenico del recettore PPAR $\gamma$ .

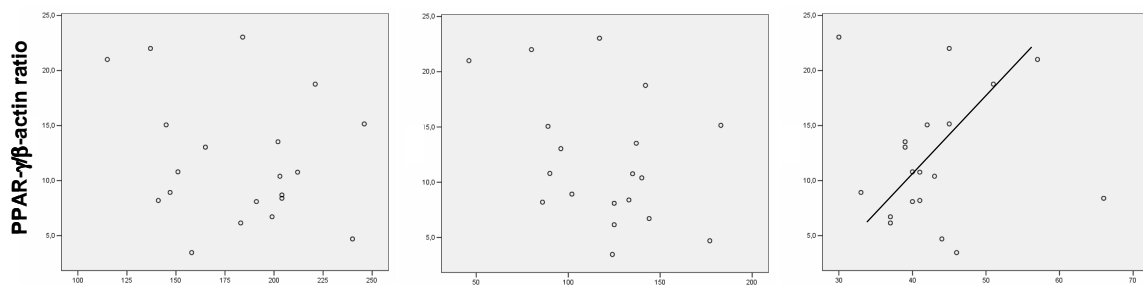
Nelle donne la situazione è molto meno chiara (Figura 7): infatti si sono trovate due evidenti correlazioni solo tra l'aumento di PPAR $\gamma$  e la diminuzione di

LDL nei M e l'aumento rispettivamente di PPAR $\gamma$  e HDL negli MDM. Non abbiamo una esaustiva spiegazione per tale situazione; dobbiamo però evidenziare come i dati ematochimici delle pazienti di sesso femminile fossero non completi.

**M**

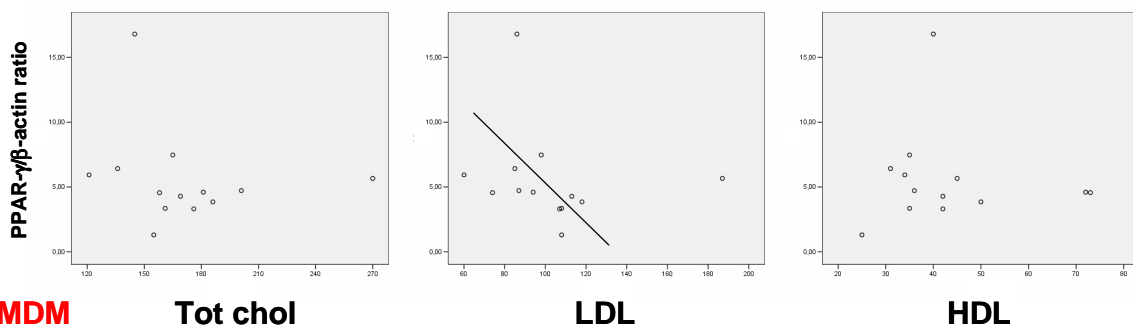


**MDM**

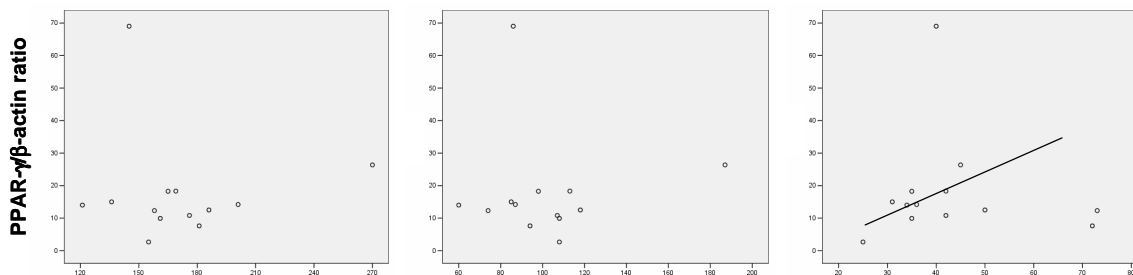


(Figura 6: correlazioni tra espressione di PPAR $\gamma$  e livelli colesterolo totale, LDL e HDL in M e MDM di pazienti maschi.)

**M**



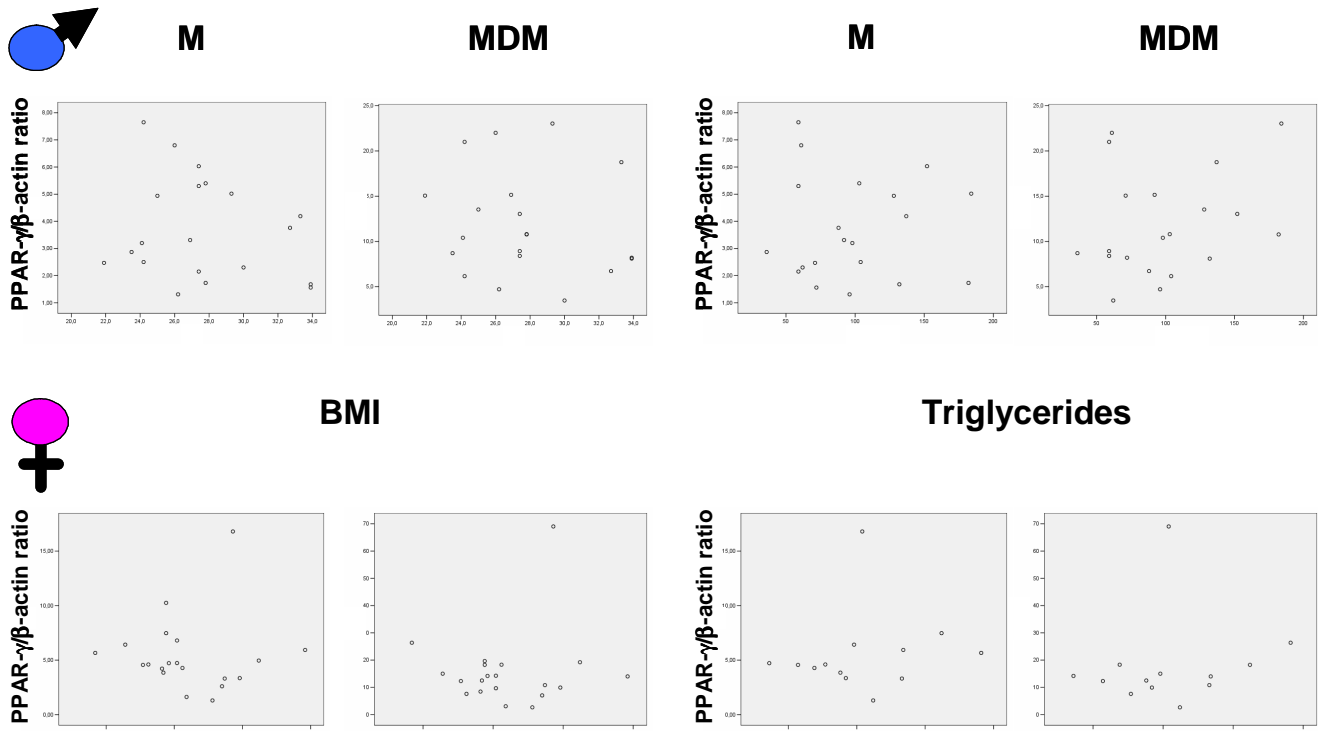
**MDM**



(Figura 7: correlazioni tra espressione di PPAR $\gamma$  e livelli colesterolo totale, LDL e HDL in M e MDM di pazienti femmine)



Come ultima analisi, si è deciso di comparare i livelli di espressione di PPAR $\gamma$  in M e MDM, con altri due parametri biofisici, quali BMI e Trigliceridi, per i pazienti maschi e femmine. Come risulta dalla Figura 8, non vi è nessuna correlazione tra il recettore e questi ulteriori parametri.



**(Figura 8: correlazioni tra espressione di PPAR $\gamma$  e livelli di trigliceridi e BMI in M e MDM di pazienti maschi e femmine)**

Quindi, concludendo, con questi risultati è possibile riconfermare le valutazioni già fatte negli anni precedenti, cioè che nei pazienti affetti da coronaropatie il recettore PPAR $\gamma$  è costitutivamente espresso, sia nei monociti che negli MDM, ad alti livelli se comparato ai donatori sani. Inoltre, per quanto nei pazienti è evidente una larga variabilità di espressione di PPAR $\gamma$  in monociti e macrofagi, dovuta alla variabilità individuale di ciascun paziente, una notevole espressione di PPAR $\gamma$  è presente soprattutto nei monociti e negli MDM dei non-fumatori, e questo dato sembrerebbe dipendere da una differenza di genere, dovuta al fatto che le donne non-fumatrici esprimerebbero maggiormente il recettore PPAR $\gamma$ . Visto che le donne arruolate in questo studio sono tutte in menopausa (e considerato che la menopausa rappresenta il momento della vita della

donna che segna il passaggio da una condizione di basso rischio cardiovascolare ad una di aumentato rischio, tale da annullare la differenza nell'incidenza di eventi cardiovascolari tra i due sessi), l'aumentata espressione del recettore PPAR $\gamma$  nelle donne ribadisce, ancora una volta, il possibile ruolo anti-aterogenico e quindi citoprotettivo della proteina. Questo dato sembra essere ulteriormente supportato dalle evidenti correlazioni esistenti tra i parametri dei pazienti presi in considerazione (livelli di colesterolo totale, LDL,) e l'espressione della proteina PPAR $\gamma$ .

## Bibliografia

- Amoruso A, Bardelli C, Gunella G, Fresu LG, Ferrero V, Brunelleschi S. Quantification of PPAR $\gamma$  protein in monocyte/macrophages from healthy smokers and non-smokers: A possibile direct effect of nicotine. *Life Sci.* 81(11), 906-15 (2007). Epub 2007 Jul 28.
- Beierle I et al, *Int J Clin Pharmacol Ther* 37, 529, 1999
- Berg MJ, Principles of Clinical Pharmacology eds Atkinson AJ, Daniels CE, Dedrick Grudzinskas RL, CV, Markey SP *Academic Press NY*, pag 265, 2001
- Bardelli C, Gunella G, Varsaldi F, Balbo P, Del Boca E, Seren Bernardone I, Amoruso A, Brunelleschi S (2005). Expression of functional NK $_1$  receptors in human alveolar macrophages: superoxide anion production, cytokine release and involvement of NF- $\kappa$ B pathway. *Br J Pharmacol* 145: 385-396.
- Barret-Connor E., Bush TL., *JAMA*, 1991; 265: 1861-1867
- Berger JP, Akiyama TE, Meinke PT (2005). PPARs: therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmac Sci* 26: 244-251.
- Brunelleschi S, Bordin G, Colangelo D, Viano I (1998). Tachykinin receptors on human monocytes: their involvement in rheumatoid arthritis. *Neuropeptides* 32: 215-223.
- Brunelleschi S, Guidotto S, Viano I, Fantozzi R, Pozzi E, Ghio P, Albera C (1996). Tachykinin activation of human alveolar macrophages in tobacco smoke and sarcoidosis: a phenotypical and functional study. *Neuropeptides* 30: 456-464.
- Brunelleschi S, Penengo L, Lavagno L, Santoro C, Colangelo D, Viano I, Gaudino G (2001). Macrophage Stimulating Protein (MSP) evokes superoxide anion production by human macrophages of different origin. *Br J Pharmacol* 134: 1285-1295.
- Chawla A, Barak Y, Nagy L, Liao D, Tontonoz P, Evans RM (2001). PPAR- $\gamma$  dependent and independent effects on macrophage gene expression in lipid metabolism and inflammation. *Nature Med* 7: 48-52.
- Chinetti G, Griglio S, Antonucci M, Pineda Torra I, Delerive P, Majd Z, Fruchart JC, Chapman J, Najib J, Staels B (1998). Activation of proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$  induces apoptosis of human monocyte-derived macrophages. *J Biol Chem* 273: 25573-25580.
- Daynes, R.A., Jones, D.C., 2002. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 748–759.
- Ducharme M et al, *Ther Drug Monit* 16, 513, 1994
- Duval C, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Staels B (2002). The role of PPARs in atherosclerosis. *Trends Mol Med* 8: 422-430.
- Elhage R. et al, *Atherosclerosis* 2001; 156:315-320
- Fletcher CV et al, *J Adolescent Health* 15, 619, 1994
- Forman BM, Tontonoz P, Chen J, Brun RP, Spiegelman BM, Evans RM (1995). 15-deoxy-delta<sup>12,14</sup>-prostaglandin J $_2$  is a ligand of the adipocyte determination factor PPAR $\gamma$ . *Cell* 83: 803-812.
- Gantner F, Kupferschmidt R, Schud C, Wendel A, Hatzelmann A (1997). In vitro differentiation of human monocytes to macrophages: change of PDE profile and its relationship to suppression of tumour necrosis factor- $\alpha$  release by PDE inhibitors. *Br J Pharmacol* 121: 221-231.
- Giudicelli JF e Tillment JP, *Clin Pharmacokinet* 2, 157, 1977
- Graves NM et al, Pharmacotherapy; a pathophysiological approach eds Dipiro TJ, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BC, Posey LM pag 952, 1999
- Glass, C.K., Rosenfeld, M.G., 2000. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev.* 14, 121–141.

- Gu K et al, Cowie CC, Harris ML, *JAMA* 1999; 281: 1291
- Gunella G, Bardelli C, Amoruso A, Viano I, Balbo P, Brunelleschi S (2006). Macrophage Stimulating Protein (MSP) differently affects human alveolar macrophages from smoker and non-smoker patients: evaluation of respiratory burst, cytokine release and NF- $\kappa$ B pathway. *Br J Pharmacol* 148: 478-489.
- Hall SD et al, *Clin Pharmacol Ther* 74, 525, 2003
- Harris RZ et al, *Drugs* 50, 222, 1995
- Hinz B, Brune K, Pahl A (2003). 15-Deoxy-delta<sup>12,14</sup>-prostaglandin J<sub>2</sub> inhibits the expression of proinflammatory genes in human blood monocytes via a PPAR- $\gamma$ -independent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 302: 415-420.
- Hulley S et al, *Hearth and Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) research group. JAMA* 1998; 280: 605-613
- Jepsen, K., Hermanson, O., et al., 2000. Combinatorial roles of the nuclear receptor corepressor in transcription and development. *Cell* 102, 753–763.
- Jiang C, Ting AT, Seed B (1998). PPAR $\gamma$  agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 391: 82-86.
- Kalow W et al, *Pharmacogenetics* 8, 283, 1998
- Kando JC et al, *Drugs*, 50, 1, 1995
- Kato R, *Drug Metab Rev* 3, 1, 1974
- Kelly, D., Campbell, J.I., et al., 2004. Commensal anaerobic gut bacteria attenuate inflammation by regulating nuclear-cytoplasmic shuttling of PPAR-gamma and RelA. *Nat. Immunol.* 5, 104–112.
- Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkinson WO, Wilson TM, Kliewer SA (1995). An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). *J Biol Chem* 270: 12953-12956.
- McKay, L.I., Cidlowski, J.A., 1999. Molecular control of immune/inflammatory responses: interactions between nuclear factor-kappa B and steroid receptor-signaling pathways. *Endocr. Rev.* 20, 435–459.
- McKenna, N.J., O'Malley, B.W., 2002. Combinatorial control of gene expression by nuclear receptors and coregulators. *Cell* 108, 465–474.
- Meibohm B et al, *Clin Pharmacokinet.* 41, 329, 2002
- Morris M et al, *Pharmacol Rev* 55, 229, 2003
- Moore KJ, Rosen ED, Fitzgerald ML, Randow F, Andersson LP, Althuler D, Milstone DS, Mortensen RM, Spiegelman BM, Freeman MW (2001). The role of PPAR- $\gamma$  in macrophage differentiation and cholesterol uptake. *Nature Med* 7: 41-47.
- Murray CJL, The global burden of disease. Geneva: *World Health Organization*, 1996.
- Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JGA, Chen H, Evans RM (1998). Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPAR $\gamma$ . *Cell* 93: 229-240.
- Neve PL, Fruchart JC, Staels B (2000). Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPAR) in atherosclerosis. *Biochem Pharmacol* 60: 1245-1250.
- Olsen RW e Delorey TR, Basic Neurochemistry: molecular cellular and medical aspects eds Siegel GJ, Agranof BW, Albers RW, Fisher SK, Uher MB eds Lippincott –Raven Philadelphia, pag 335, 1998
- O'Malley K et al, *Br Med J* 3, 60, 1971
- Overholser BR et al, *J Clin Pharmacol* 44, 1012, 2004
- Parhami F. et al., *J Bone Miner Res* 2001; 16: 182-188
- Perucca E e Crema A, *Clin Pharmacokinet* 7, 336, 1982
- Pfrunder A et al, *Br J Clin Pharmacol* 56, 683, 2003
- Pollock BG, *Psychopharmacol Bull* 33, 325, 1997

- Riester EF et al, *J Pharmacol Exp Ther* 28, 284, 1980
- Ricote M, Huang J, Fajas L, Li A, Welch J, Najib J, Witztum JL, Auwerz J, Palinki W, Glass CK (1998b). Expression of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) in human atherosclerosis and regulation in macrophages by colony stimulating factors and oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 7614-7619.
- Ricote M, Huang JT, Welch J, Glass CK (1999). The peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma as a regulator of monocyte/macrophage function. *J Leukoc Biol* 66: 733-739.
- Ricote M, Li AC, Willson TM, Kelly CJ, Glass CK (1998a). The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 391: 79-82.
- Rossouw JE et al, *JAMA* 2002; 288:321-333
- Skett P, *Pharmacol Ther* 38, 269, 1988
- Skold CM, Lundahl J, Hallden M, Eklund A (1996). Chronic smoke exposure alters the phenotype pattern and the metabolic response in human alveolar macrophages. *Clin Exp Immunol* 106: 108-113.
- Staels B, Koenig W, Habib A, Merval R, Lebret M, Pineda-Torra I, Delerive P, Fadel A, Chinetti G, Fruchart JC, Najib J, Maclouf J, Tedgui A (1998). Activation of human aortic smooth muscle cells is inhibited by PPAR $\gamma$  but not by PPAR $\alpha$  activators. *Nature* 393: 790-793.
- Subbaramaiah K, Lin DT, Hart JC, Dannenberg AJ (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands suppress the transcriptional activation of cyclooxygenase-2. Evidence for involvement of activator protein-1 and CREB-binding protein/p300. *J Biol Chem* 276: 12440-12448.
- Taylor BV, Oudit GY, Kaalman PG, Liu P (1998). Clinical and pathophysiological effects of active and passive smoking on cardiovascular system. *Can J Cardiol* 14: 1129-1139.
- The World Health Report 2002. Geneva: World Health Organization
- Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JG, Thomazy VA, Evans RM (1998). PPAR $\gamma$  promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 93: 241- 252.
- Valkonen M, Kuusi T (1998). Passive smoking induces atherogenic changes in low-density lipoprotein. *Circulation* 97: 2012-2016.
- Valledor AF, Ricote M (2004). Nuclear receptor signaling in macrophages. *Biochem Pharmacol* 67: 201-212.
- Vayssier M, Favatier F, Pinot F, Bachelet M, Polla BS (1998). Tobacco smoke induces coordinate activation of HSF and inhibition of NF-kappaB in human monocytes: effects on TNF-alpha release. *Biochem Biophys Res Commun* 252: 249-256.
- Watson KE et al., *Circulation*
- Wilson K, *Clin Pharmacokinet* 9, 189, 1984
- Wright CE et al, *J Clin Pharmacol* 37, 520, 1997

## *Seminari e Corsi 2006 / 2007*

(corsi in grassetto)

- 19 ottobre 2006 - Prof. Di Nardo Paolo (Laboratorio di cardiologia molecolare e cellulare; Dip. Medicina interna; Facoltà di Medicina; Università Tor Vergata - Roma): Stem cells in cardiac pathophysiology and treatment.
- 29 marzo 2007 - Prof. Enrico Mini (Università di Firenze): Marcatori farmacogenomici nel carcinoma colonrettale: quali prospettive per una terapia personalizzata?
- **12 aprile 2007 - Prof. Milanesio Marco (DISTA - Alessandria): Relazioni tra struttura e funzione delle proteine mediante analisi del Protein Data Base. Lezione di bioinformatica.**
- 25 maggio 2007 - Prof. Stefan Carlsson (Università di Lund-Svezia): The regulation of hematopoietic stem cells by smad signalling.
- 28 maggio 2007 - Prof. Steve Ellis (Università di Louisville-Kentucky): Translating basic science into therapeutic strategies for shwachman diamond syndrome.
- **21 giugno 2007 – Dr Flavio Mignone (Università di Milano): Bioinformatics tools for the analysis of UTRs and for the prediction of alternative spliced transcripts. Lezione di bioinformatica.**

## *Seminari e Corsi 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.

## ***Seminari e Corsi 2004 / 2005***

(corsi in grassetto)

- 5 novembre 2004 LA SPERIMENTAZIONE CLINICA DEI FARMACI IN ITALIA: ASPETTI APPLICATIVI. Corso organizzato dalla SISF (Società Italiana di Scienze Farmaceutiche) presso l'Università degli Studi di Milano.
- 2 dicembre 2004 REPERTAXIN, UN NUOVO INIBITORE DI IL-8: RISULTATI PRECLINICI E IDENTIFICAZIONE DEL MECCANISMO D'AZIONE Dr. Riccardo Bertini (Centro Ricerche Dompé, L'Aquila)
- 11 Marzo 2005 PROTEOMICA DELL'EPITELIO INTESTINALE Prof.ssa Margherita Ruoppolo (Dip.di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Napoli "Federico II")
- 21 Marzo 2005 SCLEROSI MULTIPLA: RICERCA DI GENI DI SUSCETTIBILITA' NELLA POPOLAZIONE FINLANDESE Dott.ssa Rosanna Asselta (Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano)
- 23 Marzo 2005 LE CELLULE DENDRITICHE, UN GIOCATORE CHIAVE NELLA RISPOSTA IMMUNITARIA: QUALI E QUANTI TIPI? Dott.ssa Stefania Nicola (Dip. Scienze Mediche, Università del Piemonte Orientale "A. Avogadro")
- 6 Aprile 2005 TOWARDS REGULATION OF GENE EXPRESSION BY CHROMATIN MODIFICATION: SOME BIOMEDICAL MODEL. Prof. Gerardo Lopez-Rodas (Dipartimento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat de Valencia)
- **Ottobre 2004-aprile 2005: corso d'inglese tenuto dal prof. Colin Irving-Bell**
- 30 Maggio 2005 IL DOLORE ARTICOLARE: UN PROBLEMA CLINICO O BIOCHIMICO? Prof. Giampiero Pescarmona (Dip. Genetic, Biologia e Biochimica, Università di Torino)
- 1 Giugno 2005 GENI E TRAPIANTI Prof. Antonio Amoroso (Dipartimento di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino)
- 8 Giugno 2005 PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA: ASPETTI MEDICI, BIOLOGICI E LEGALI Prof. Torre (Procreazione assistita: aspetti psicologici) Dott.ssa Fortina (Fecondazione medicalmente assistita: aspetti tecnici) Prof. Somigliano (Diagnosi genetica pre-impianto) Prof. Pelissero (Il difficile equilibrio tra procreazione medicalmente assistita e diritti del concepito) Prof. Prat (Cellule staminali: stato dell'arte)
- 17 Giugno 2005 LA TOSSINA DELLA PERTOSSE ED IL SUO B-OLIGOMERO: NUOVI FARMACI IMMUNOSTIMOLANTI E ANTI-HIV Guido Poli (DIBIT, Istituto San Raffaele, Milano)
- 15 luglio 2005 MOLECULAR MECHANISMS OF PARKINSON'S DISEASE Prof. Stefano Gustincich (SISSA di Trieste)
- **Giugno 2005-luglio 2005: corso di statistica tenuto dal prof. Magnani e coadiuvato dalla dr.ssa Migliore e dal dr. Vidali.**

## ***Seminari e Corsi 2003 / 2004***

(corsi in grassetto)

- 27/09/2004 Prof. Antonio De Flora (dip. di Med. Sper. Università di Genova) Traffico intra ed extra-cellulare di nucleotidi-segnale attivi nella regolazione del calcio cellulare.
- 07/07/2004 Prof. Martin Ronis (Arkansas Children's Nutrition Center, Little Rock, USA.) Ethanol metabolism and Toxicity in Pregnancy
- 05/07/2004 Prof. A. Bartolazzi (Università La Sapienza-Roma) From the bench to the bedside: Galectin-3 immunodetection for improving the preoperative diagnosis of the follicular thyroid lesions
- 30/06/2004 Prof. Manlio Ferrarini (IST e Università di Genova) Meccanismi patogenetici della Leucemia Linfatica Cronica
- 29/06/2004 Prof. Emilio Hirsch (Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica, Torino) PI 3-kinase controls cardiac contractility and hypertrophy through kinase- dependent and independent functions
- 14/06/2004 Prof. Christopher Day (Università di Newcastle) Pitfalls of genetic studies in liver disease
- 14/06/2004 Prof. David Murphy (Università di Bristol) Biomedical discovery using microarrays: principles, prospects and problems
- 11/06/2004 Dott. Antonio Puccetti (Università di Genova) Virus e malattie autoimmuni
- 28/05/2004 Dott. Angiolo Benedetti ( Dip. di Fisiopatologia e Medicina Sperimentale dell'Università di Siena) *Il Reticolo Endoplasmatico: un labirinto metabolico*
- 20/05/2004 Dott. Alberto Martini ( Istituto Scientifico Gaslini e Università di Genova) *Le artriti croniche del bambino*
- 13/05/2004 Dott. A. Santosuosso, dott. Paolo Radice, dott.ssa Adele Savastano *Scienze della vita e casi giudiziari: Un laboratorio Il caso Sergeant: test genetici predittivi, riservatezza e lavoro (Tribunale di Milano)*
- **11/05/2004 Prof. G. Cossu, Prof. P. Vezzoni, Prof. P. Cattorini, Dott. C. Galli, Dott.ssa M. Fiumanò, Dott. A. Santosuosso. *Cellule staminali e clonazione (corso di Bioetica – Milano)***
- 10/05/2004 Dr. Federico Dajas (Università di Montevideo, Uruguay) – DISCAFF *Neuroprotective medicinal plants from South America*
- 05/05/2004 Dr.ssa Bice Fubini (Università di Torino) – DISCAFF Come comprendere i meccanismi di patogenicità delle fibre di amianto? Necessità di un approccio multidisciplinare.
- 28/04/2004 Dott. Marco Brambilla (Università del Piemonte Orientale, Novara) *Norme operative di protezione e sicurezza per i laboratori di ricerca*
- 27 /04/2004 Dott.ssa S. Ceffa (Comunità di Sant'Egidio, Novara) *Progetto DREAM (Drug Resource Enhancement Against AIDS in Mozambico)*
- 23/04/2004 Network per la valorizzazione della ricerca universitaria (Università del Piemonte Orientale, DISCAFF, Novara) *Seminario di cultura brevettale*
- 31/03/2004 Dott.ssa Antonia Follenzi (Albert Einstein College of Medicine, Liver Research Center 1300 Morris Park Avenue, Bronx, NY 10461 – USA) *Espressione epato-specifica del fattore IX antiemofilico mediante l'uso di vettori lentivirali*
- 10 /03/2004 Prof. Guido Valesini (Cattedra di Reumatologia, Università la Sapienza di Roma) *TNF, anti-TNF ed autoimmunità*
- 18/02/2004 Dott.ssa Bice Chini (CNR Istituto di Neuroscienze, Sezione di Farmacologia cellulare e molecolare, Milano) *Lipid rafts e recettore per l' ossitocina: modulazione del signalling e del controllo della proliferazione cellulare*
- 03/02/2004 Dr.ssa Rita Clementi (Università di Pavia) *Alterazioni del gene della perforina nelle patologie linfoproliferative*



## ***Pubblicazioni***

MIGLIO G., MINASSI A., AMORUSO A., BARDELLI C., BRUNELLESCHI S., LOMBARDI G. The isosteric polyphenolic compounds clovamide and rosmarinic acid exert protective effects, reduce oxidative stress and modulate gene expression in neuronal cells. Submitted: *J. Neurochem.*

BRUNELLESCHI S, BARDELLI C, AMORUSO A, GUNELLA G, IERI F, ROMANI A, MALORNI W, FRANCONI F. Minor polar compounds extra-virgin olive oil extract (MPC-OOE) inhibits NF-kB translocation in human monocyte/macrophages. Submitted: *Pharm. Res.*

AMORUSO A, BARDELLI C, GUNELLA G, RIBICHINI F & BRUNELLESCHI S. A novel activity for Substance P: stimulation of Peroxisome Proliferator Activated Receptor-gamma protein expression in human monocyte/macrophages. Submitted: *Br. J. Pharmacol.*

AMORUSO A, BARDELLI C, GUNELLA G, FRESU LG, FERRERO V, BRUNELLESCHI S. Quantification of PPAR- $\gamma$  protein in monocyte/macrophages from healthy smokers and non-smokers: A possible direct effect of nicotine. *Life Sci.* 81(11), 906-15 (2007). Epub 2007 Jul 28.

AMORUSO A., TOTO B., BARDELLI C., FRESU LG., FERRERO V., RIBICHINI F., BRUNELLESCHI S. Coronary Artery Disease: a possible role for PPAR- $\gamma$  receptors. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 16(7): 503 (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* 148(4), 478-89 (2006). Epub 2006 Apr 24.

BARDELLI C, GUNELLA G, VARSALDI F, BALBO P, DEL BOCA E, SEREN BERNARDONE I, AMORUSO A & S. BRUNELLESCHI. Expression of functional NK1 receptors in human alveolar macrophages: superoxide anion production, cytokine release and involvement of NF-kB pathway. *Br J Pharmacol* 145, 385-396 (2005).

AMORUSO A, VIANO I & S. BRUNELLESCHI. PPAR- $\gamma$  and CD36 receptor expression in monocyte/macrophages of healthy smokers and non-smokers. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 14: 301 (2004).

## **Partecipazioni ai congressi**

### **NAZIONALI:**

AMORUSO A., BARDELLI C, RIBICHINI F, FERRERO V, VASSANELLI C & S. BRUNELLESCHI. Differenze di genere nell'espressione di PPAR-gamma in pazienti affetti da coronaropatie; 33° Congresso Nazionale della SIF, 6-9 giugno 2007, Cagliari. (abstract su CD) **(presentazione orale)**

GUNELLA G., BARDELLI C, AMORUSO A, FRESU LG., ZEPPEGNO P. & S. BRUNELLESCHI. Sostanza P e Depressione: espressione del recettore NK1, attivazione di NF- $\kappa$ B e rilascio di citochine in monociti di pazienti psichiatrici; 33° Congresso Nazionale della SIF, 6-9 giugno 2007, Cagliari. (abstract su CD)

BARDELLI C, GUNELLA G, AMORUSO, S. BRUNELLESCHI, ROMANI A, IERI F, COINU R, FRANCONI F. A tuscan olive oil extract inhibits NF- $\kappa$ B activation in monocyte/macrophages from healthy donors; 33° Congresso Nazionale della SIF, 6-9 giugno 2007, Cagliari. (abstract su CD) **(presentazione poster)**

BARDELLI C., AMORUSO A., TOTO B., FERRERO V., RIBICHINI F., VASSANELLI C., BRUNELLESCHI S CORONARY ARTERY DISEASE (CAD): Gender differences in PPAR-gamma expression; 2nd World Congress on Gender-specific Medicine and Ageing – the Endocrine Impact, 8-11 marzo 2007, Roma. (abstract p. A-64)

AMORUSO A., TOTO B., BARDELLI C., FRESU LG., FERRERO V., RIBICHINI F., BRUNELLESCHI S. Coronary Artery Disease: a possible role for PPAR- $\gamma$  receptors. XX Congresso Nazionale SISA, 16-19 novembre 2006, Bologna. (abstract p. 503). **(presentazione poster)**

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. (Abstract p. 20).

AMORUSO A., GUNELLA G, RONDANO E, RIBICHINI F, BARDELLI C, VASSANELLI C & S. BRUNELLESCHI. PPAR- $\gamma$  expression in monocyte/macrophages of healthy smokers, healthy non-smokers and patients with cardiovascular diseases. 32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 June 2005, (abstract p.97). **(presentazione orale)**

BARDELLI C., GUNELLA G, AMORUSO A, BALBO P, VIANO I. & S. BRUNELLESCHI. NK1 receptors induce superoxide anion production, cytokine release and NF- $\kappa$ B activation in alveolar macrophages from healthy smokers and non-smokers. 32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 June 2005, (abstract p. 147).

GUNELLA G., BARDELLI C, AMORUSO A, FRESU LG & S. BRUNELLESCHI. Effects of nicotine on human monocyte/macrophages: cytokine release, superoxide anion production and NF- $\kappa$ B activation. 32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 June 2005, (abstract p.187).

AMORUSO A., VIANO I, S. BRUNELLESCHI. PPAR- $\gamma$  and CD36 receptor expression in monocyte/macrophages of healthy smokers and non-smokers. Palermo 26-29 novembre 2004: XVIII

Congresso Nazionale SISA: “Arteriosclerosi e malattie cardiovascolari: dalla scienza di base alla clinica” (abstract pg. 301). **(presentazione poster)**

AMORUSO A., GUNELLA G., VASSANELLI C., BRUNELLESCHI S. Espressione del recettore PPAR- $\gamma$  in monocito/macrofagi di volontari sani, fumatori e non. Milano 16 ottobre 2004: IV congresso regionale SISA Lombardia, giornata di studio: “Il controllo dei fattori di rischio cardiovascolare: quando e come intervenire” (abstract pg. 3). **(presentazione orale)**

#### **INTERNAZIONALI:**

AMORUSO A, BARDELLI C, GUNELLA G, BRUNELLESCHI S, RIBICHINI F, FERRERO V, VASSANELLI C. Gender-Differences in PPAR-gamma expression in monocyte/ macrophages from coronary artery disease (CAD) patients; 4th International Summit on Acute Coronary Care, 19-21 giugno 2007, Verona. (abstract su CD) **Premio miglior abstract.**

AMORUSO A., RONDANO E., MACCIÒ S., RIBICHINI F., VASSANELLI C., BRUNELLESCHI S. PPAR- $\gamma$  receptor expression in monocytes and macrophages: their role in cardiovascular diseases. Lido di Venezia 12-14 maggio 2005: 3rd International Summit on Acute Coronary Care. (abstract su CD) **Premio miglior abstract. (presentazione poster)**

BARDELLI C., GUNELLA G., BALBO P., AMORUSO A., BRUNELLESCHI S. Functional NK<sub>1</sub> receptors are present on human alveolar macrophages (AM): comparison between healthy smokers and non-smokers. Breckenridge (Colorado) 2-4 febbraio 2005: First Annual Winter Tachykinin Meeting 2005.