

**Università degli Studi del Piemonte Orientale
“Amedeo Avogadro”**



Dottorato di Ricerca

in

Medicina Molecolare

Ciclo XX

Relazione IV anno

**Attività di sostanza P sull'espressione proteica
del recettore PPAR γ in monocito/macrofagi umani**

Candidato: Gabriele Gunella

Tutor: Prof.ssa Sandra Brunelleschi

Introduzione

La sostanza P, identificata originariamente intorno agli anni '30 del secolo scorso, è un undecapeptide appartenente alla classe delle tachichinine, famiglia di neurotrasmettitori accomunati dalla sequenza aminoacidica Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂; in posizione X è riscontrabile un aminoacido aromatico, Tyr o Phe, oppure idrofobico, Val oppure Ile.

Sono state identificate 5 tachichinine: Sostanza P, Neurochinina A (NKA), Neurochinina B (NKB), Neuropeptide γ e Neuropeptide K (O'Connor *et al.*, 2004).

SP deriva dal gene di Preprotachichinina A (PPT-A), che codifica per altre tachichinine quali NKA; viene sintetizzata a partire dal suo precursore grazie all'azione di convertasi ribosomiali, quindi mediante trasporto assonico si localizza sui terminali nervosi per un'ultima processazione enzimatica (Harrison & Geppetti, 2001)

La SP è un mediatore chiave della "neurogenic inflammation" (Holzer, 1998; Richardson & Vasko, 2002) e differenti studi, sia in modelli murini che su pazienti, ne hanno dimostrata la liberazione da cellule infiammatorie (ad es., macrofagi, linfociti, eosinofili e cellule dendritiche) (Maggi, 1997; Severini *et al.*, 2002).

In particolare, sia linee cellulari macrofagiche che macrofagi alveolari sono in grado di codificare per mRNA sia di SP sia del suo recettore, NK₁ (Kranefeld *et al.*, 2001). Inoltre, SP potrebbe avere un ruolo come regolatore della funzione autocrina, paracrina ed endocrina (O'Connor *et al.*, 2004; Severini *et al.*, 2002).

Precedenti osservazioni dimostrano che la SP e gli agonisti selettivi del recettore NK₁ sono in grado di attivare i monocito/macrofagi umani, inducendo, in maniera concentrazione-dipendente, la produzione di anione superossido, la liberazione di TNF- α e l'attivazione del fattore di trascrizione NF- κ B (Brunelleschi *et al.*, 1998; Bardelli *et al.*, 2005).

I PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) sono una classe di fattori di trascrizione impegnati nella regolazione del metabolismo dei nutrienti, nell'omeostasi energetica e nel processo di differenziazione degli adipociti: sono noti i sottotipi PPAR- α , PPAR- γ e PPAR- δ , con diversa localizzazione tissutale e differenti ligandi specifici (Berger *et al.*, 2005). In particolare, PPAR- γ viene riscontrato in molte tipologie cellulari, tra cui i monocito/macrofagi (Tontonoz *et al.*, 1998, Amoruso *et al.*, 2007).

PPAR- γ viene attivato sia da specifici ligandi endogeni, quali la 15-deossi- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandina J₂ (15d-PGJ₂) e lipoproteine ossidate a bassa densità (ox-LDL), sia da molecole sintetiche di utilizzo terapeutico: tiazolidindioni (ad es., rosiglitazone e ciglitazone) e alcuni FANS (indometacina ed ibuprofene) (Jiang *et al.*, 1998).

Quest'ultima affermazione suggerisce un ruolo per PPAR- γ nel controllo dei processi infiammatori: in macrofagi attivati con PMA, i ligandi selettivi riducono l'espressione dei geni codificanti per TNF- α , IL-6 ed IL-1 β (Jiang *et al.*, 1998). Si noti inoltre come tale inibizione non si verifichi in monociti attivati con LPS, suggerendo un effetto antiinfiammatorio dei ligandi PPAR- γ indipendente dall'espressione del recettore stesso (Chawla *et al.*, 2001; Moore *et al.*, 2001).

Scopo del lavoro

Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione della possibilità di interazione dei recettori PPAR- γ e NK₁, entrambi espressi in monocito/macrofagi umani, osservando la modulazione dell'espressione recettoriale di PPAR γ indotta da SP, ligando endogeno del recettore NK₁, e da agonisti ed antagonisti NK₁. Inoltre è stata valutata l'influenza di SP e di ligandi PPAR- γ sulla secrezione di citochine pro-infiammatorie, quali TNF- α .

Materiali e metodi

Isolamento di monocito/macrofagi umani

I monociti (M) vengono raccolti da campioni di sangue periferico di tipo “buffy-coat” di volontari sani fumatori e non fumatori, isolati attraverso metodiche standard di sedimentazione in destrano, separazione mediante centrifugazione (400g, 30 min, RT) con gradiente liquido di Ficoll-Paque ($d=1.077$, Histopaque®, Sigma) e recupero dall’interfaccia mediante attenta aspirazione (Brunelleschi *et al.*, 2001). Le cellule così ottenute vengono lavate due volte in PBS e risospese in terreno (RPMI 1640, 5% FBS, glutamina 2mM, HEPES 10mM, streptomycina 50µg/ml, penicillina 5U/ml) per la conta cellulare (vitalità al test del blu tripano >98%).

L’isolamento dei monociti viene condotto per adesione su piastra di coltura (90 min, 37°C, 5%CO₂): le cellule non adese, prevalentemente linfociti, vengono eliminate mediante delicato lavaggio con PBS ed aspirazione.

I macrofagi derivati da monociti (MDM) vengono ottenuti da monociti mantenuti in coltura (37°C, 5%CO₂) per 8-10 giorni con terreno RPMI 1640 arricchito da FBS al 20%. Le cellule così trattate vanno incontro a cambiamenti conformazionali e vengono riconosciute come macrofagi mediante la valutazione della diminuzione della presenza del marcatore di superficie CD14 ed un aumento di CD68. Il processo di differenziazione non conduce alla formazione di cellule dendritiche, come si dimostra dall’assenza di espressione del marcatore CD-1a (Brunelleschi *et al.*, 2001).

Release di citochine in monociti ed MDM

Le cellule (1×10^6 /well) sono state pre-incubate con 15d-PGJ₂ (da 1 a 10µM) per 30 minuti, e poi stimulate con SP (10^{-8} – 10^{-6} M) per 24 ore, tempo d’elezione per ottenere la massima secrezione di citochine (Bardelli *et al.*, 2005; Gunella *et al.*, 2006).

Studi di antagonismo recettoriale sono stati condotti mediante pretrattamento (30 min) con un antagonista NK₁ (GR71251, 10^{-8} – 10^{-6} M) e un antagonista PPAR-γ (GW9662, 10^{-6} M), seguito da stimolazione con SP 10^{-6} M.

La presenza di TNF-α nei surnatanti cellulari è stata quantificata mediante kit ELISA (Pelipair, CLB/Sanquin, Olanda) secondo le istruzioni del produttore, ed espressa in pg ml⁻¹

Espressione recettoriale di PPAR-γ e NK1 in monociti ed MDM

Attraverso metodiche di immunoblotting è stata valutata sia l’espressione basale del recettore PPAR-γ, su estratti totali di cellule non trattate, sia quella indotta da SP (10^{-10} – 10^{-6} M; 6 ore). 15d-PGJ₂, agonista endogeno per PPAR-γ, è stato utilizzato (10µM) come controllo interno. La conferma dell’effetto recettoriale dei risultati è stata ottenuta con l’impiego di un agonista selettivo NK₁, [Sar⁹Met(O₂)¹¹]SP, e di un antagonista NK₁, GR71251 ([D-Pro⁹(spiro-γ – lattam)Leu¹⁰Trp¹¹]sostanza P)

La quantificazione di PPAR-γ è stata calcolata mediante rapporto dell’espressione recettoriale di PPAR-γ e quella di β-actina, proteina “housekeeping” di riferimento.

Analoghe tecniche sono state utilizzate per determinare l’espressione del recettore NK₁; in tal caso il rapporto densitometrico utilizzato è stato quello tra l’espressione di NK₁ e della Na⁺/K⁺ ATPasi, utilizzata come proteina di membrana di riferimento.

Risultati

Le osservazioni in WB denotano un'espressione basale di PPAR- γ in monociti, che aumenta con la differenziazione ad MDM. Come rappresentato in figura 1, la stimolazione per 6 ore con SP, in un range da 10^{-10} M a 10^{-6} M, potenzia in maniera concentrazione-dipendente l'espressione recettoriale: l'effetto provocato dalla dose massima di SP è paragonabile a quello ottenuto impiegando 15d-PGJ₂ 10 μ M. L'osservazione per via densitometrica viene confermata dall'analisi del rapporto tra PPAR- γ e β -actina in cellule di donatore sano non fumatore, stimulate con 15d-PGJ₂ e SP a concentrazione crescente: l'effetto massimo, pari ad un aumento del doppio dell'espressione di PPAR γ , si ottiene con SP 10^{-6} M. In monociti ed MDM il valore di EC₅₀ è paragonabile: 19 nM in monociti e 17 nM in MDM (Figura 2).

Valutando l'espressione di PPAR- γ in cellule ottenute da fumatori sani, rappresentata in figura 3 si può documentare un significativo aumento dei livelli basali di recettore, rispetto ai non fumatori, a conferma di osservazioni precedenti (Amoruso *et al.*, 2007). Anche nei monocito/macrofagi di fumatore, SP stimola, in maniera concentrazione-dipendente, l'espressione di PPAR γ , pur con valori di EC₅₀ più bassi rispetto al non- fumatore.

La capacità di SP di indurre l'espressione della proteina PPAR- γ è attribuibile ad un effetto recettoriale: infatti, gli effetti di SP su monociti ed MDM sono riprodotti, seppur in minor misura, da [Sar⁹Met(O₂)¹¹]SP, un agonista selettivo del recettore NK₁, e sono revertiti da GR71251, antagonista selettivo del recettore NK₁. Si può inoltre osservare in figura 4 come il pre-trattamento per 30 minuti con GW 9662 (2-cloro-5-nitrobenzanilide), antagonista PPAR- γ , inibisca potentemente l'espressione proteica di PPAR- γ indotta da SP.

In figura 5 vediamo che nel range di concentrazione 10^{-9} M– 10^{-6} M, l'antagonista GR71251 riduce, in maniera concentrazione-dipendente, l'espressione di PPAR- γ evocata da SP: alla massima concentrazione testata i livelli di espressione di PPAR- γ sono simili a quelli dei controlli

Possiamo confermare la presenza del recettore NK1 in monociti ed MDM, a sostegno delle nostre precedenti osservazioni condotte su macrofagi alveolari (Bardelli *et al.*, 2005). In figura 6 si osserva una maggior espressione recettoriale NK₁ su MDM rispetto a monociti; inoltre è possibile notare un maggior livello di recettore NK₁ in cellule da soggetti fumatori rispetto a non fumatori. Infatti nei soggetti fumatori il rapporto densitometrico tra l'espressione di NK₁ e quella di Na⁺/K⁺ ATPasi, proteina di riferimento, è circa 2 volte maggiore rispetto a quello ottenuto da soggetti non fumatori.

E' noto come agonisti PPAR- γ inibiscano il release di citochine pro-infiammatorie, e come SP ed agonisti NK₁ ne inducano la secrezione. Le nostre osservazioni dimostrano che sia un antagonista recettoriale NK1 (GR71251) che un agonista PPAR- γ (15d-PGJ₂) inibiscono la produzione di TNF- α in cellule stimulate con SP. L'impiego di un antagonista PPAR- γ come GW9662, mediante pretrattamento per 30 minuti alla concentrazione 10^{-6} M, potenzia il rilascio di TNF- α in monociti stimolati con SP (Tabella 1).

Discussione

I risultati da noi ottenuti suggeriscono una possibile interazione tra i recettori NK₁ e PPAR- γ , attraverso l'azione della sostanza P; quest'ultima infatti, attivando i recettori NK₁ promuove l'espressione del recettore PPAR- γ in monocito/macrofagi umani ottenuti da sangue periferico.

PPAR- γ è riscontrabile in una grande varietà di cellule: viene espresso in maggior misura grazie alla stimolazione sia con ligandi endogeni come 15d-PGJ₂ ed ox-LDL, sia con molecole sintetiche come i farmaci della classe dei glitazoni (Ricote *et al.*, 1998; Tontonoz *et al.*, 1998; Amoruso *et al.*, 2007). Inoltre, gli agonisti PPAR- γ inibiscono l'attivazione di monociti e macrofagi, e l'espressione di mediatori di infiammazione quali citochine, iNOS, COX-2 (Chinetti *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 1998; Subbaramajah *et al.*, 2001), in differenti modelli murini di infiammazione, ossia condizioni in cui è stata descritta un'azione per Sostanza P (Reed *et al.*, 2005; O'Connor *et al.*, 2004; Keeble *et al.*, 2005).

Nel 2005 abbiamo dimostrato, impiegando estratti cellulari totali, che l'espressione del recettore NK₁ in macrofagi alveolari umani, è maggiore in soggetti fumatori rispetto ai non fumatori; le attuali osservazioni sono state condotte con estratti di membrana di monociti e MDM, per analizzare i recettori NK₁ effettivamente presenti ed attivi. In accordo con i nostri precedenti risultati (Bardelli *et al.*, 2005), abbiamo mostrato che cellule di fumatori sani presentano un'espressione recettoriale NK₁ doppia rispetto ai non fumatori, e che i livelli di recettore NK₁ sono più alti nei MDM rispetto ai monociti. Il livello di espressione recettoriale NK₁ non è quindi solo associata all'elevata espressione di PPAR- γ indotta da SP, ma si può pensare che ne sia responsabile.

I nostri dati mostrano come antagonisti PPAR- γ inibiscano l'espressione recettoriale indotta da SP, e come i ligandi PPAR- γ inibiscano il release di citochine indotto da SP.

E' noto, dalla letteratura, che la sostanza P stimola il rilascio di TNF- α (Bardelli *et al.*, 2005; Delgado *et al.*, 2003), e che gli agonisti PPAR- γ inibiscono tale processo (Amoruso *et al.*, 2007; Subbaramaiah *et al.*, 2001). Nei nostri esperimenti si nota come il release di TNF- α sia inibito in maniera concentrazione-dipendente dal ligando endogeno di PPAR γ , 15d-PGJ₂, e stimolato da GW9662, antagonista PPAR- γ : ciò induce a ipotizzare un possibile cross-talk tra SP e PPAR- γ .

Inoltre, in monocito/macrofagi umani, TNF- α e altre citochine pro-infiammatorie inducono l'espressione di elevati livelli di recettore NK₁ (Arsenescu *et al.*, 2005; Simeonidis *et al.*, 2003); SP induce la liberazione di citochine che, a loro volta, inducono il release di SP o stimolazione del recettore NK₁.

In conclusione, le nostre osservazioni suggeriscono che un mediatore pro-infiammatorio, la SP, promuove l'espressione di un mediatore antinfiammatorio, PPAR- γ , e che entrambi vengono a loro volta influenzati dagli effetti del fumo. Monociti e MDM da fumatori sani presentano elevati livelli di recettore NK₁: in questi tipi cellulari l'espressione di PPAR- γ indotta da SP è più elevata rispetto a quella riscontrabile in monociti ed MDM di soggetti non fumatori.

Bibliografia

- Amoruso *et al.* 2007, Life Sci 81: 906-915
Arsenescu *et al.*, 2005, J Immunol 174: 3906-3911
Bardelli *et al.*, 2005, Br J Pharmacol 145: 385-396
Berger *et al.* ,2005, TRENDS in Pharmac Sci 26 (5): 244-251
Brunelleschi *et al.*, 1990, Br J Pharmacol 100:417-420
Brunelleschi *et al.*, 1998, Neuropeptides, 32:215-223
Brunelleschi *et al.*, 2001, Br J Pharmacol 134: 1285-1295
Chawla et al, 2001, Nature Med 7: 48-52
Chinetti et al, 1998, J. Biol Chem 273:25573-25580
Delgado *et al.*, 2003, Neuropeptides 37:355-361
Gunella *et al.*, 2006. Br J Pharmacol 148: 478-489
Harrison S., Geppetti P., 2001 Int J Biochem Cell Biol. 33(6):555-76.
Holzer, 1998, Gen.Pharmac 30 (1): 5-11
Jiang et al, 1998, Nature 391:82-86
Keeble *et al.*, 2004, Neurosci Lett 361:176-179
Kraneveld *et al.*, 2001, Int Immunopharmacol. 1(9-10):1629-50
Maggi, 1997, Reg Peptides 70:75-90
Moore et al, 2001, Nature Med 7: 41-47
O'Connor et al, 2004, J Cell Physiol 201:167-180
Reed *et al.*, 2005, Dig Dis Sci 50:2366-2378
Richardson & Vasko, 2002, J.Pharmacol Exp Ther 302 (3):839-45
Ricote *et al.* ,1998, Proc Natl Acad Sci USA 95:7614-7619
Severini et al, 2002, Pharmacol Rev 54: 285-322

Simeonidis *et al.*, 2003, Proc Natl Acad Sci USA, 100:2957-2962
Subbaramajah *et al.*, 2001, J Biol Chem 276:12440-12448
Tontoz *et al.*, 1998, Cell 93: 241-252

Figura 1

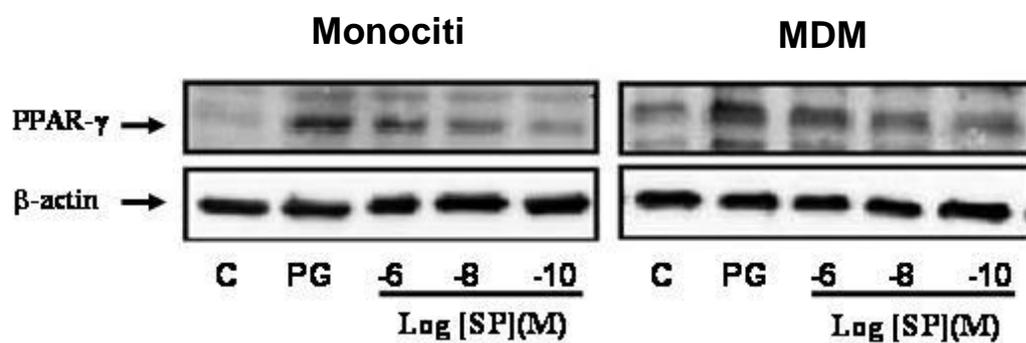


Figura 1: Effetti concentrazione-dipendente di SP sull'espressione di PPAR- γ in monociti e macrofagi. WB da estratti cellulari di donatore sano non fumatore.
PG = 15d-PGJ₂

Figura 2

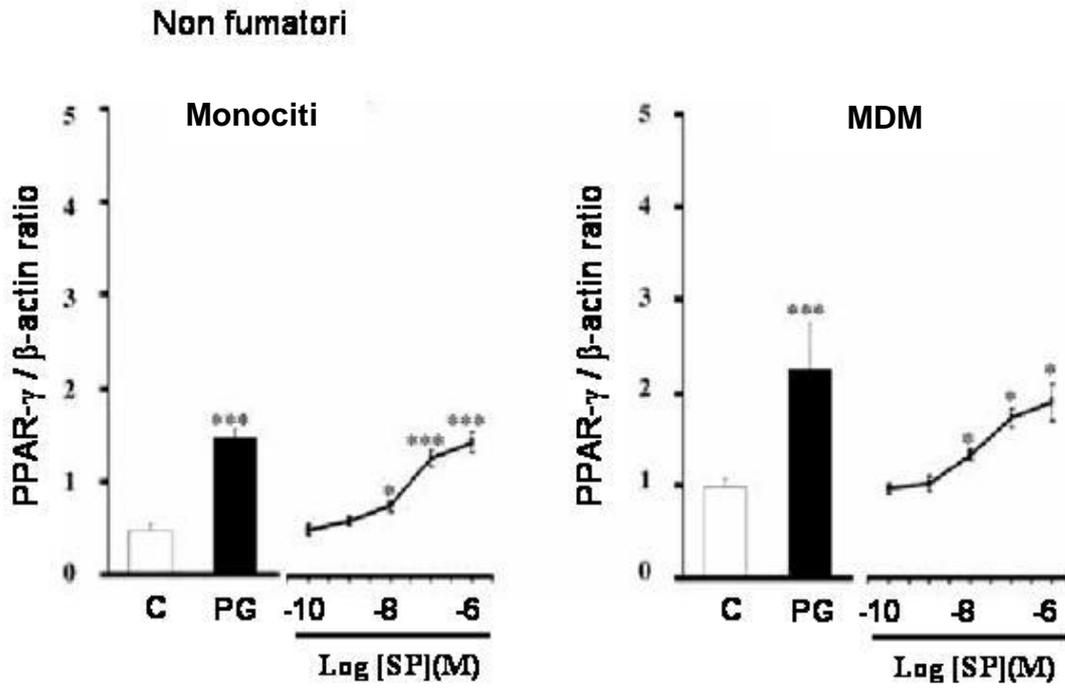


Figura 2: SP induce l'espressione di PPAR- γ in soggetti sani non fumatori.

n=5; PG=15d-PGJ₂; t=6h;

Risultati espressi come media \pm e.s. ; *** P <0.0001, ** P <0.001, * P <0.05 vs controllo (C)

Figura 3

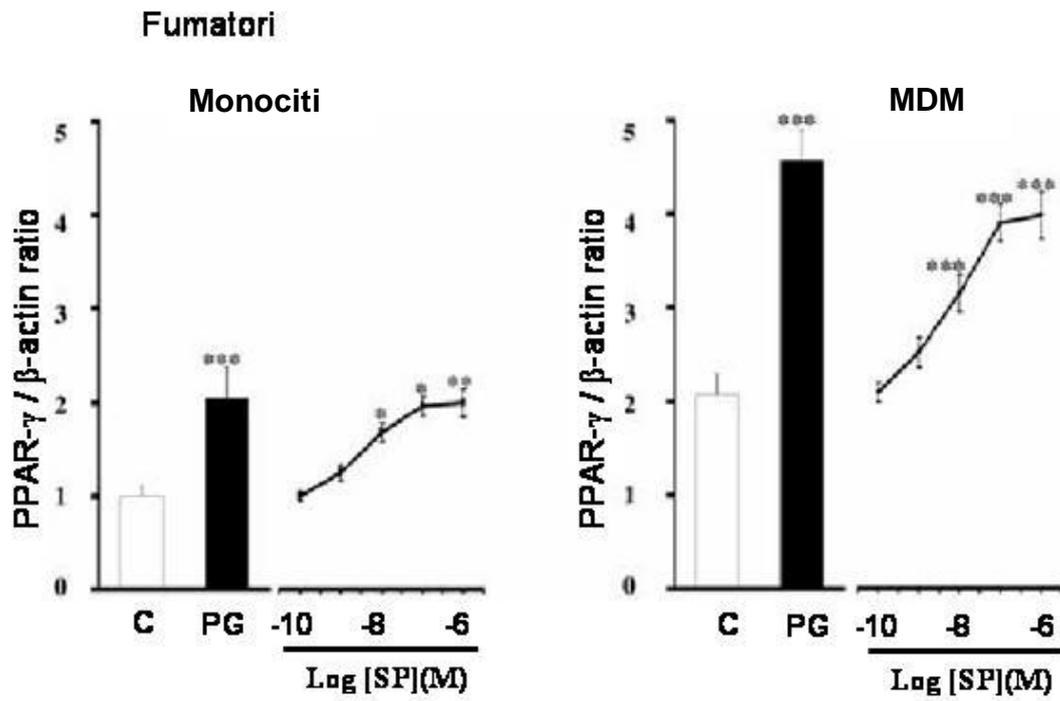


Figura 3: SP induce l'espressione di PPAR- γ in soggetti sani fumatori.

n=4; PG=15d-PGJ₂; t=6h;

Risultati espressi come media \pm e.s. ; *** P <0.0001, ** P <0.001, * P <0.05 vs controllo (C)

Figura 4

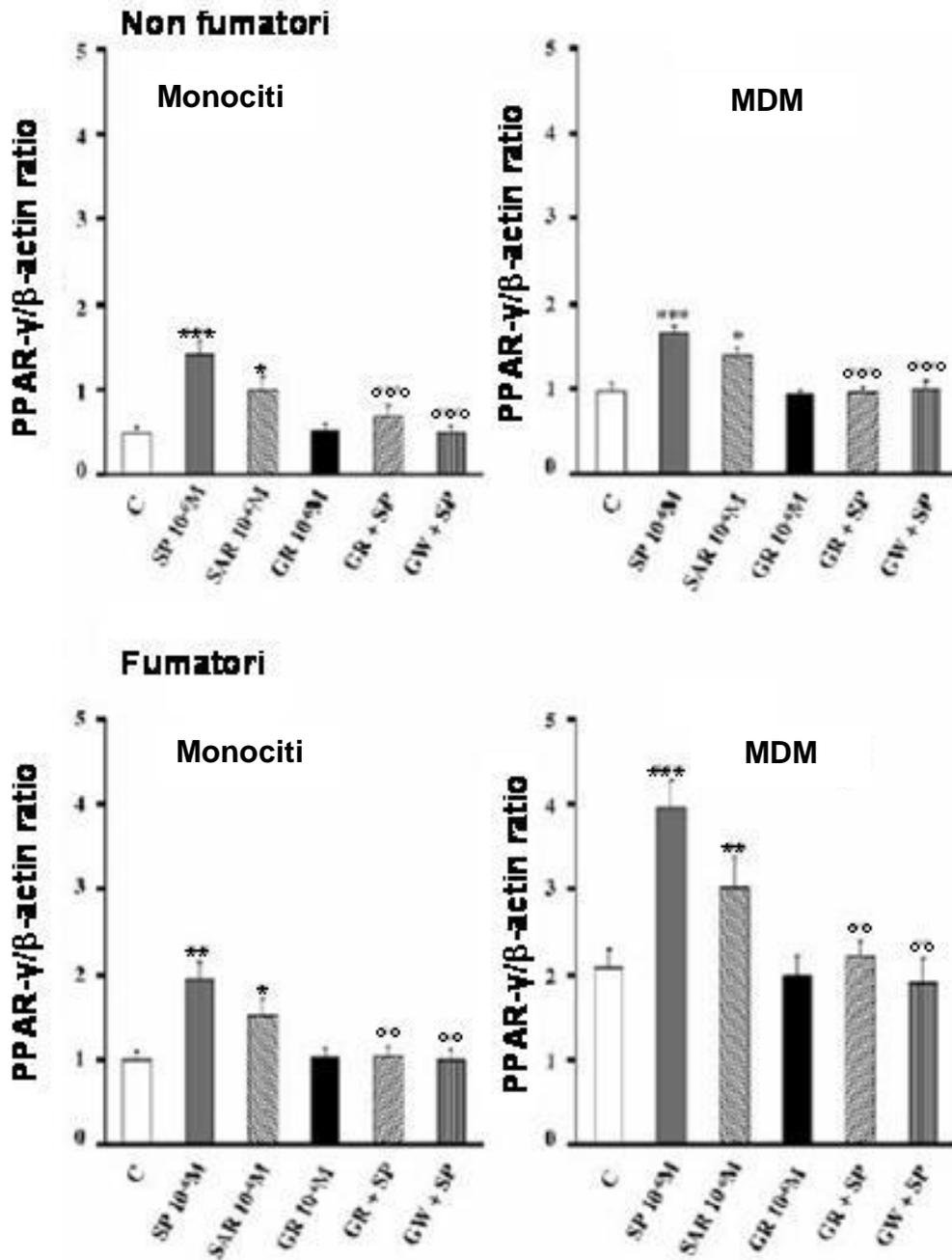


Figura 4: Effetti di agonisti ed antagonisti NK₁ sull'espressione del recettore PPAR-γ
n=4-5; t=6h;

Stimoli: Sostanza P (SP); [Sar⁹Met(O₂)¹¹]SP (SAR), agonista selettivo NK₁; GR71251, antagonista selettivo NK₁ (GR); GW9662, antagonista PPAR-γ (GW).

Figura 5

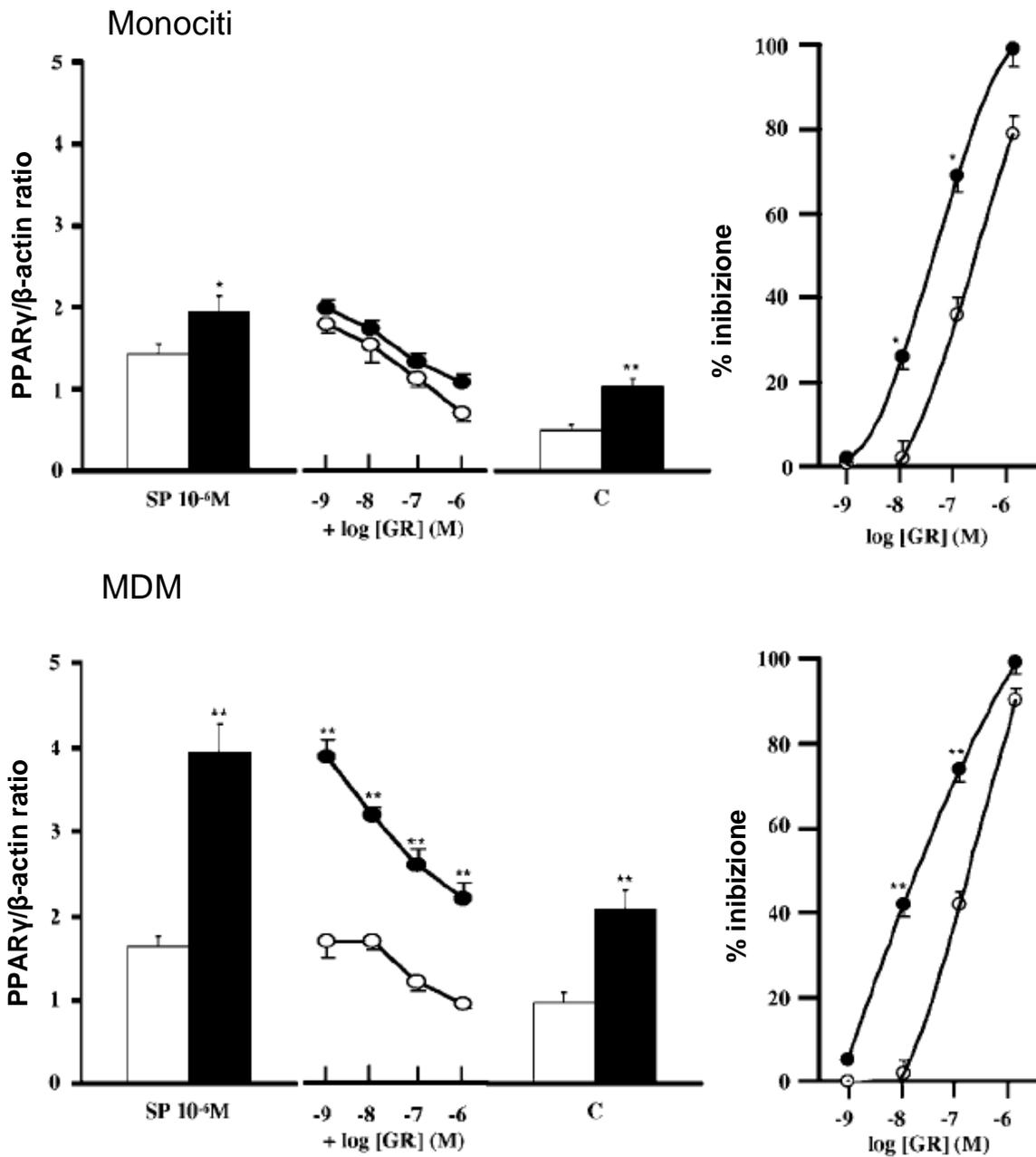


Figura 5. L'induzione di espressione PPAR- γ indotta da SP è mediata dal recettore NK₁: reversione dell'effetto da parte di GR 71251, antagonista NK₁, utilizzato a concentrazioni (10⁻⁹ - 10⁻⁶M) crescenti. Valori espressi sia come ratio tra PPAR- γ e β -actina, sia come percentuale di inibizione

□ = non fumatori

■ = fumatori

n=4 ; **P<0.001, *P<0.05 vs non fumatori

Figura 6

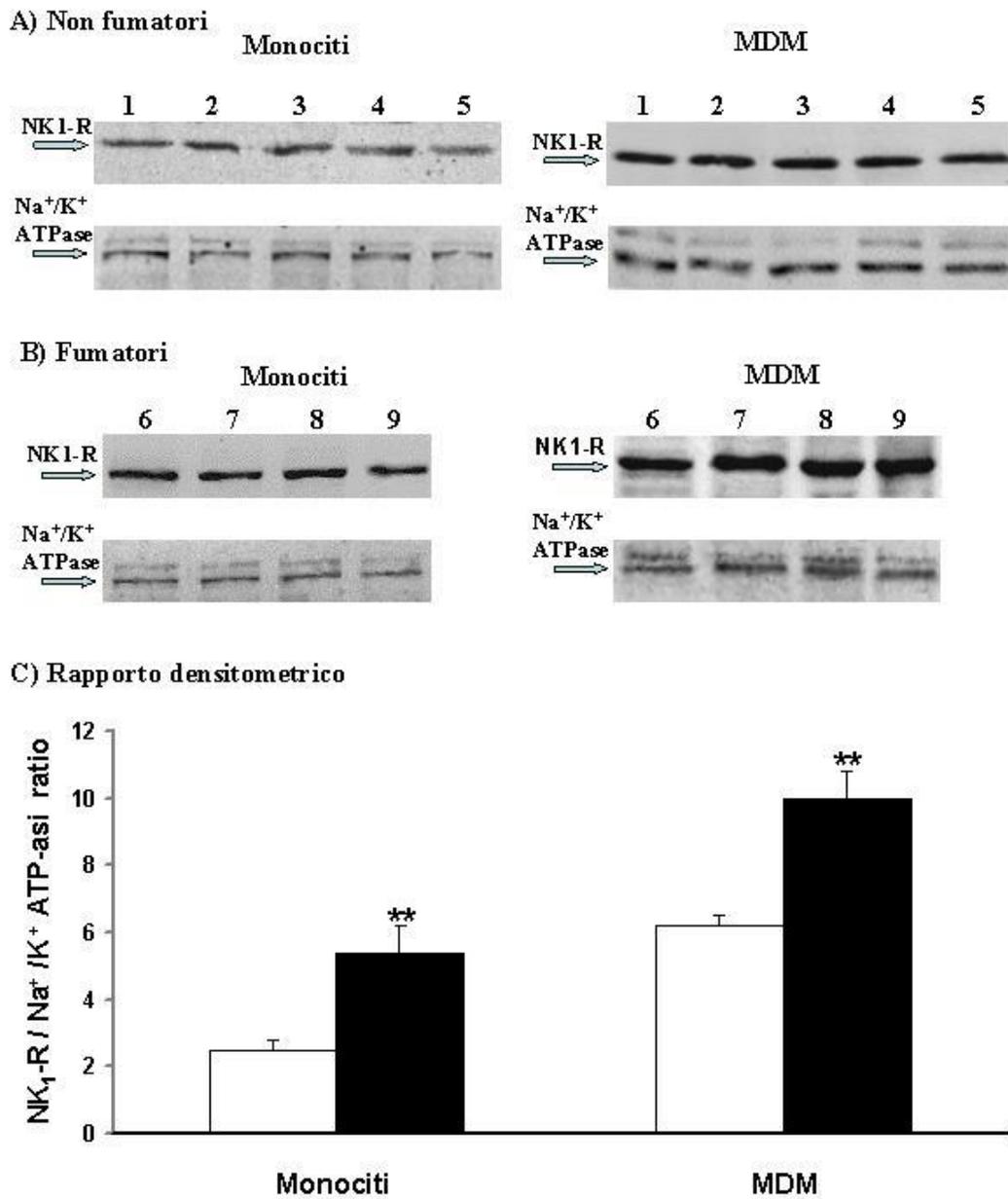


Figura 6. WB di recettore NK₁ e di Na⁺/K⁺ ATPasi da A) monociti ed MDM di 5 (1-5) differenti soggetti non fumatori; B) monociti ed MDM di 4 (1-5) differenti soggetti fumatori. C) rapporto densitometrico tra espressione di NK₁ e Na⁺/K⁺ ATPasi in monociti ed MDM di non fumatori (n=5) e fumatori (n=4) Dati espressi come media ± e.s. **P<0.001 vs non fumatori

Tabella 1. Release di TNF- α (pg ml⁻¹) in monociti isolati da donatori sani fumatori e non fumatori

Stimolo	Non fumatori (n=4)	Fumatori (n=4)
Ctrl	110±10	280±15
Ctrl + 15d-PGJ ₂ 10 ⁻⁶ M	90±10	268±10
Ctrl + 15d-PGJ ₂ 10 ⁻⁵ M	63±8**	170±15**
SP 10 ⁻⁸ M	200±20*	420±12*
SP 10 ⁻⁶ M	270±15**	600±15**
GR71251 10 ⁻⁸ M + SP 10 ⁻⁶ M	200±10	520±10
GR71251 10 ⁻⁶ M + SP 10 ⁻⁶ M	125±15°	290±12°°
GW9662 10 ⁻⁶ M + SP 10 ⁻⁶ M	340±10°°	740±15°°
15d-PGJ ₂ 10 ⁻⁶ M + SP 10 ⁻⁶ M	238±12	560±8
15d-PGJ ₂ 10 ⁻⁵ M + SP 10 ⁻⁶ M	140±10°°	310±10°°

Dati espressi come media ± e.s. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs ctrl; ° $P < 0.05$, °° $P < 0.01$ vs SP10⁻⁶M

Elenco corsi seguiti :

Corso di statistica tenuto dal Prof. Magnani, coadiuvato dalla Dott.sa Migliore e dal Dott. Vidali. (termine 5 ottobre 2005)

Corso di inglese tenuto dal Prof. Irving-Bell, anno accademico 2005-2006

Elenco seminari seguiti l'anno dottorato.

25 / 11 / 2004, Novara, Dip. Sci. Med.

REPERTAXIN, UN NUOVO INIBITORE DI IL-8: RISULTATI PRECLINICI E IDENTIFICAZIONE DEL MECCANISMO D'AZIONE

Dr. Riccardo Bertini, Centro Ricerche Dompé, L'Aquila

11 / 03 / 05, Novara, Dip. Sci. Med.

PROTEOMICA DELL'EPITELIO INTESTINALE

Prof. Margherita Ruoppolo, Dip. Biochimica e Biotecnologie, Facoltà di Medicina, Università Federico II, Napoli

06 / 04 / 2005, Novara, Dip. Sci. Med.

TOWARDS REGULATION OF GENE EXPRESSION BY CHROMATIN MODIFICATION: SOME BIOMEDICAL MODEL.

Prof. Gerardo Lopez-Rodas, Dipartimento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat de Valencia.

30 / 05 / 2005 Novara, Dip. Sci. Med.

IL DOLORE ARTICOLARE: UN PROBLEMA CLINICO O BIOCHIMICO?

Prof. Giampiero Pescarmona, Dipartimento di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino

1 / 06 / 05 Novara, Dip. Sci. Med

GENI E TRAPIANTI

Prof. Antonio Amoroso, Università di Torino

8 Giugno 2005 Novara, Dip. Sci. Med

PROCREAZIONE MEDICALMENTE ASSISTITA: ASPETTI MEDICI, BIOLOGICI E LEGALI

Prof. Torre (Procreazione assistita: aspetti psicologici)

Dott.ssa Fortina (Fecondazione medicalmente assistita: aspetti tecnici)

Prof. Momigliano (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 / 06 / 2005 Novara, Dip. Sci. Med.

LA TOSSINA DELLA PERTOSSE ED IL SUO B-OLIGOMERO: NUOVI FARMACI IMMUNOSTIMOLANTI ED ANTI-HIV?

Dr. Guido Poli, DIBIT-Ist. San Raffaele, Milano

12 / 09 / 05 Novara, Dip. Sci. Med.

CARATTERISTICHE E POTENZIALITA' DELLE CELLULE FETALI ISOLATE DALLE MEMBRANE FETALI UMANE: AMNION E CORION

Dr. Ornella Parolini, Centro Ricerche E. Menni (CREM), Fondazione Istituto Ospedaliero Poliambulanza, Brescia

13 / 09 / 05 Dip. Sci. Med.

FUNCTION OF RIBOSOMAL PROTEIN S19: IMPLICATIONS FOR DIAMOND-BLACKFAN ANEMIA

Prof. Steven R. Ellis, Dept. of Biochemistry and Molecular Biology, University of Louisville, Louisville, Kentucky

20 / 09 / 05 Dip. Sci. Med.

REGOLAZIONE DELL'APOPTOSI DA PARTE DI GLUCOCORTICOIDI E ANNESSINA-1

Prof. Luca Parente, Dip. Scienze Farmaceutiche, Facoltà di Farmacia, Università di Salerno.

Elenco seminari seguiti Il anno dottorato.

18 / 10 / 05 Novara, Dip Sci Med

GENETICA DELLA SORDITA'

Prof. Paolo Gasparini, Università di Trieste, Ist. Burlo Garofolo

18 / 11 / 05 Novara, Dip. Sci. Med.

CARDIAC POTASSIUM CHANNEL REGULATION BY ACCESSORY SUBUNITS

Dr. Diego Cotella, Dept. of Pharmacology, Dresden University of Technology, Germany

23 / 11 / 05 Novara, Dip. Sci. Med.

HCV-RELATED STEATOSIS: PATHOGENIC MECHANISMS AND CLINICAL IMPLICATIONS

Prof. Luigi Elio Adinolfi, Dip. Medicina interna ed Epatologia, Il Università di Napoli

25 / 11 / 05 Novara, Dip. Sci. Med.

MECHANISMS OF TRANSCRIPTIONAL REGULATION AND DISEASE

Prof. Robert Tjian, Dept. of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley

19 / 01 / 2006

MECHANISMS OF OSTEOLYTIC LESION IN MULTIPLE MYELOMA: UNCOUPLING BETWEEN BONE RESORPTION AND FORMATION

Prof.ssa Maria Grano, Dip. Anatomia e Istologia, fac. Medicina Università di Bari

20 / 01 / 2006

TECNICHE DI BIOLOGIA E GENETICA MOLECOLARE NELLA DIAGNOSTICA DEL CARCINOMA DEL COLON

Dott.ssa Daniela Furlan, Università dell'Insubria, Varese

15 / 02 / 2006

ANTICORPI RICOMBINANTI: UN POTENTE TOOL BIOTECNOLOGICO

Dott. Daniele Sblattero, Università del Piemonte Orientale, Novara

20 / 03 / 2006

THE NATURAL COURSE OF PRECLINICAL TYPE 1 DIABETES

Prof. Mikael Knip, Professor of Pediatrics, Hospital for children and adolescents, University of Helsinki, Finland

30 / 05 / 2006:

SPERM MEDIATED GENE TRANSFER. STORIA E APPLICAZIONI-

Prof.ssa Marialuisa Lavitrano, Università Milano Bicocca

5 / 07 / 2006-

DNA AND PROTEIN ARRAYS IN INFECTION DISEASES: FROM BASIC RESEARCH TO VACCINE DESIGN.

Dott.ssa Renata Grifantini, Novartis Vaccines, Siena

11 / 09 / 2006-:

THE ROLE OF CATHEPSIN K IN ARTHRITIS AND ATHEROSCLEROSIS

Prof. Dieter Broemme, University of British Columbia

Elenco seminari seguiti III anno dottorato

19 / 10 / 2006

STEM CELLS IN CARDIAC PATHOPHYSIOLOGY AND TREATMENT.

Prof. Paolo Di Nardo (Laboratorio di cardiologia molecolare e cellulare; Dip. Medicina interna; Facoltà di Medicina; Università Tor Vergata - Roma)

12 / 4 / 2007

RELAZIONI TRA STRUTTURA E FUNZIONE DELLE PROTEINE MEDIANTE ANALISI DEL PROTEIN DATA BASE.

Prof. Marco Milanesio (DISTA - Alessandria)

25 / 5 / 2007

THE REGULATION OF HEMATOPOIETIC STEM CELLS BY SMAD SIGNALLING..

Prof Stefan Carlsson (Università di Lund-Svezia)

28 / 5 / 2007

TRANSLATING BASIC SCIENCE INTO THERAPEUTIC STRATEGIES FOR SHWACHMAN DIAMOND SYNDROME.

Prof. Steve Ellis (Università di Louisville-Kentucky)

21 / 6 / 2007

BIOINFORMATICS TOOLS FOR THE ANALYSIS OF UTRS AND FOR THE PREDICTION OF ALTERNATIVE SPLICED TRANSCRIPTS.

Dr Flavio Mignone (Università di Milano)

Elenco seminari seguiti IV anno dottorato

14 / 1 / 2008, Novara, Dip.Sci.Med.

Biologia molecolare e genetica in ambito forense, principali applicazioni e sviluppo delle nuove tecniche

Dott. G. Portera

7 / 2 / 2008, Novara, Dip.Sci.Med.

La proteina HMGB1 e un segnale di danno tissutale

Prof. M.E. Bianchi, DIBIT, Università San Raffaele, Milano

21 / 02 / 2008 Novara, Dip. Sci. Med

“NEW TREATMENT STRATEGIES FOR MULTIPLE MYELOMA”

Prof. A. Palumbo, Divisione Universitaria di Ematologia, Azienda Ospedaliera Universitaria S. Giovanni Battista Torino

28 / 02 / 2008 Novara, Dip. Sci. Med

“CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA LEUCEMIA LINFATICA CRONICA”

Prof. Valter Gattei, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio e per le Terapie Cellulari
Centro di Riferimento Oncologico, I.R.C.C.S, Aviano.

06 / 03 / 2008 Novara, Dip. Sci. Med

“APPLICATIONS OF GENE EXPRESSION PROFILING TO CANCER RESEARCH”

Prof. Enzo Medico, Laboratorio di Genomica Funzionale,
I.R.C.C. Candiolo(TO)

7 / 03 / 2008 Novara, Dip.Sci.Med.

“Fatty liver preservation against ischemia-reperfusion injury”

Joan Rossello Catafau
Experimental Hepatology Unit
Institut d'Investigacions Biomèdiques Barcellona

13 / 3 / 08 Novara, Dip. Sci. Med.

“Il sistema Ghrelin: aspetti endocrini e metabolici”

Prof. F. Broglio, Dipartimento di Medicina Interna e Prof.C. Gauna, Dipartimento di Anatomia, Farmacologia e Medicina Legale Università di Torino

13 / 3 / 08 Novara, Dip. Sci. Med.

“To repress gene expression just take out vinegar: role of the class II histone deacetylase HDAC4”

Prof. Claudio Brancolini, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biomediche
MATI Center of Excellence Università di Udine

18 / 03 / 08 Novara, DiSCAFF

“Il nerve growth factor controlla la produzione di beta-amiloide. un collegamento contro il morbo di Alzheimer”

Prof. Pietro Calissano, Istituto di Neurobiologia e Medicina Molecolare, CNR,

Dipartimento di Neuroscienze, Facoltà di Medicina, Università di Tor Vergata,
European Brain Research Institute (EBRI), Roma

22/5/2008 Novara, Dip.Sci.Med.

La ricerca farmacologica, dal laboratorio alla clinica

Dott. D. Valle

5 / 6 / 08 Novara, Dip. Sci. Med

Cap-Analysis Gene Expression (CAGE)

Analysis of transcriptional complexity and regulation"

Dr. Piero Carninci, RIKEN Genome Sciences Laboratory (Japan

Seminari esterni

06 / 05 / 2005, Torino, Facoltà di Farmacia

THE JOURNEY OF CO FROM SEAL TO MAN

Prof. P.F. Mannaioni, Università di Firenze

14 / 06 / 2005

Convegno: "Le sperimentazioni cliniche ed il ruolo del comitato etico"

A cura del Comitato Etico dell' AO "Maggiore della Carità" di Novara

Partecipazione a congressi

32° Congresso Società Italiana di Farmacologia (SIF)

Napoli, 1-4 Giugno 2005

- XII Convegno Monotematico: Nicotina, neurobiologia, neuropsicofarmacologia.

Genova, 5 giugno 2006

- 33° Congresso Società Italiana di Farmacologia (SIF)

Cagliari 6-9 giugno 2007

- 4th International Summit on Acute Coronary Care

Verona 19-21 giugno 2007

“Farmaci biologici, tecnologie e nuove prospettive di utilizzo”

Novara, 23 / 5 / 08 Facoltà di Farmacia

“Allergie e intolleranze alimentari: dalla clinica alle biotecnologie”

Novara, 6 / 6 / 2008, Facoltà di Farmacia

Comunicazioni a congressi

A) *Personalmente presentate*

Gunella G., Bardelli C., Amoruso A., Fresu LG., Brunelleschi S.

Effects of nicotine on human monocyte/macrophages: cytokine release, superoxide anion production and NF-kB activation.

32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 giugno 2005, p.187 . Poster

Gunella G., Bardelli C, Amoruso A., Fresu L.G., Zeppego P., Brunelleschi S.

Sostanza P e depressione: espressione del recettore NK1, attivazione di NF-kB e rilascio di citochine in monociti di pazienti psichiatrici.

33° Congresso SIF, Cagliari 6-9 giugno 2007, abstract su CD. Comunicazione orale

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, Verona 19-21 giugno 2007. Abstract su CD. Premio per il miglior poster

B) *Altre comunicazioni*

Bardelli C., Gunella G., Balbo P., Amoruso A., Brunelleschi S.

Functional NK1 receptors are present on human alveolar macrophages (AM): comparison between healthy smokers and non-smokers.

First Annual Winter Tachykinin Meeting 2005, Breckenridge (Colorado) 2-4 febbraio 2005.

Amoruso A., Gunella G., Rondano E., Ribichini F., Bardelli C., Vassanelli C., Brunelleschi S.

PPAR- γ expression in monocyte/macrophages of healthy smokers, healthy non-smokers and patients with cardiovascular diseases.

32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 Giugno 2005, p. 97. Poster

Bardelli C., Gunella G., Amoruso A., Balbo P., Viano I., Brunelleschi S.

NK1 receptors induce superoxide anion production, cytokine release and NF- κ B activation in alveolar macrophages from healthy smokers and non-smokers.

32° Congresso SIF, Napoli, 1-4 Giugno 2005, p. 147. Poster

Bardelli C., Amoruso A., Gunella G., Fresu LG., Brunelleschi S

Effects of nicotine on human monocyte/macrophages in smokers and non-smokers

XII Convegno Monotematico: Nicotina, neurobiologia, neuropsicofarmacologia, 5 giugno 2006, Genova. Poster

Bardelli C., Gunella G., Amoruso A., Brunelleschi S., Romani A., Ieri F., Coinu R., Franconi F.

A tuscan olive oil extract inhibits Nuclear Factor Kappa B activation in monocyte/macrophages from healthy donors

33° Congresso SIF, Cagliari 6-9 giugno 2007, abstract su CD. Poster.

Articoli Pubblicati nel corso del Dottorato

BARDELLI C., GUNELLA G., VARSALDI F., BALBO P., DEL BOCA E., SERENBERNARDONE I., AMORUSO A., BRUNELLESCHI S.

Expression of functional NK1 receptors in human alveolar macrophages: superoxide anion production, cytokine release and involvement of NF- κ B pathway.

Br J Pharmacol. 2005 Jun;145(3):385-96.

GUNELLA G., BARDELLI C., AMORUSO A., VIANO I., BALBO P., BRUNELLESCHI S.

Macrophage-stimulating protein differently affects human alveolar macrophages from smoker and non-smoker patients: evaluation of respiratory burst, cytokine release and NF- κ B 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-gamma protein in monocyte/macrophages from healthy smokers and non-smokers: A possible direct effect of nicotine.

Life Sci. 2007 Aug 23;81(11):906-15. Epub 2007 Jul 28.

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- κ B translocation in human monocyte/macrophages

Pharmacological Research, 2007 Dec;56(6):542-9

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

British Journal of Pharmacology, 2008 May;154(1):144-52