



# IL PROMETEO



Bollettino di Dottorato

Direttore: Prof. Filippo Drago



DOTTORATO  
INTERNAZIONALE  
DI  
NEUROFARMACOLOGIA

Università degli Studi di Catania

**Dipartimento di Biomedicina  
Clinica e Molecolare**

*Sezione di Farmacologia e Biochimica*

Viale Andrea Doria, 6 - Catania

Tel.: +39 095 7384237

Tel.: +39 095.7384238

[il\\_prometeo@email.it](mailto:il_prometeo@email.it)  
<http://www.unict.it/dfsc>

## Retreat 2013



**A**lle pendici del vulcano più alto d'Europa, presso l'Et-na Hotel di Giarre, il 15 e 16 giugno scorso si è svolta la IVa edizione del Retreat organizzato dal Dottorato di ricerca internazionale in Neurofarmacologia.

Questo appuntamento permette, ogni anno, a tutti i PhD students di condividere e confrontare le proprie esperienze e relazionare l'attività di ricerca finora svolta in un contesto educativo sereno e stimolante. Il retreat 2013 ha visto

impegnati gli studenti del terzo anno (XXVI ciclo) Elisabetta Aloisi, D'Amico Agata Grazia, Michele Malaguarnera e Chiara Platania; gli studenti del secondo anno (XXVII ciclo) Sabrina Castellano, Barbara Di Marco, Giulia Malaguarnera e Soraya Scuderi; lo studente del primo anno (XXVIII ciclo) Sebastiano Torrisi. L'attività svolta dai singoli dottorandi è stata analizzata e criticata scientificamente dal gruppo dei senior scientists, il Prof.re Drago, la Prof.ssa D'Agata, il Prof.re Salomone, il Prof.re

Caraci, il Prof.re Bucolo e dai ricercatori Gianmarco Leggio ed Alessandro Castorina.

Elisabetta Aloisi, entusiasta della sua esperienza francese, ha presentato i dati sull'alterato trafficking di superficie dei recettori mGlu5 a livello della sinapsi in un modello animale della sindrome dell'X-fragile, ottenuti con tecniche innovative come il live-cell imaging ed il single molecule tracking.

Agata Grazia D'Amico ha invece mostrato il coinvolgimento del recettore D3 nella formazione della memoria approfondendo lo studio del signaling in un modello di passive avoidance.

Michele Malaguarnera, forte dell'attività di ricerca svolta nell'ultimo semestre a Valencia, Spagna, ha presentato un progetto sull'encefalopatia epatica ed il tremore.

Chiara Platania ha mostrato invece i dati di un interessante lavoro computazionale, di molecular modeling, sulla selettività del ligando cabergolina, ipotensivo oculare, nei confronti del recettore D3.

Sabrina Castellano ha messo a confronto l'efficacia di due categorie di farmaci antidepressivi (SSRI e SNRI) con strumenti psicometrici innovativi.

Barbara Di Marco ha studiato l'effetto di alcuni agenti stressanti su astrociti WT e fmr1KO ed il ruolo dell'attivazione del recettore mGlu5 sulla formazione dei granuli di stress e la sopravvivenza cellulare.

Giulia Malaguarnera sta conducendo uno studio double-blind su pazienti affetti da retinopatia diabetica e non per studiare il ruolo dell'omocisteina nella patologia.

Soraya Scuderi ha mostrato i dati riguardo il coinvolgimento dei membri della famiglia dell'IL-1 nel danno neurodegenerativo a carico della retina dei ratti diabetici, analizzando anche la loro distribuzione tissutale.

Sebastiano Torrisi, con un progetto di ricerca sulla schizofrenia, ha invece mostrato i dati preliminari di Startle e PPI e la differente risposta dei topi WT e D3KO.

Infine anche il Post Doc Gianmarco Leggio si è messo in gioco esponendo i risultati di un brillante lavoro, molto articolato i cui risultati suggeriscono che la delezione del gene D3 o l'impiego di antagonisti D3 è in grado di contrastare l'assunzione di etanolo nei topi.

## Omocisteina, fattore di rischio nella Retinopatia Diabetica

di Giulia Malaguarnera

La Retinopatia Diabetica è una severa complicanza microvascolare del Diabete che può portare alla perdita della vista. È classificata, secondo la gravità, in Retinopatia Non Proliferativa (NPDR) e Proliferativa (PDR). La patogenesi è molto complessa: si tratta di una complicanza neurovascolare del Diabete dovuta a eventi flogistici, apoptosi e stress ossidativo causato da iperglicemia, scompensi ormonali, ipertensione, iperlipidemia e fattori di crescita (M.S. Ola et al. 2012). Diversi studi hanno dimostrato che soggetti con stessa durata e controllo del diabete possono sviluppare la Retinopatia Non Proliferativa o Proliferativa o non avere nessun danno a carico della Retina. Questo dato ha portato alla necessità di investigare la presenza di fattori di rischio.

Molti soggetti diabetici con retinopatia hanno evidenziato la presenza di alti livelli di omocisteina nel sangue. L'iperomocisteinemia è un fattore di rischio in patologie cardiovascolari e studi recenti hanno dimostrato che alti livelli di quest'amminoacido sulfurato sono presenti in soggetti con malattie neurodegenerative, e in particolare Alzheimer, Parkinson e glaucoma. L'esatto meccanismo che coinvolge l'omocisteina in queste patologie non è stato del tutto chiarito.

Durante questi due anni di dottorato, mi sono occupata di studiare i livelli di omocisteina nei soggetti con diabete (senza retinopatia), nei pazienti con NPDR e con PDR per vedere se l'iperomocisteinemia potesse rappresentare un fattore di rischio nella severità della patologia diabetica (pubblicazione sotto-messa). Abbiamo reclutato 175 pazienti (81 donne, 84 uomini con un'età media di  $65.2 \pm 11.8$  anni, con una durata media di diabete di  $7.6 \pm 5.4$  anni).

Da Settembre mi sono trasferita nel dipartimento di "Visual Neuroscience" presso l'Istituto di Oftalmologia dell'University College of London (UCL). Qui sto portando avanti uno studio in vitro sulla retina.

## **Activity report di Roberto Motterlini**

During the last two years I have concentrated my research efforts on investigating the protective effects of a group of substances that activate the Nrf2/heme oxygenase-1 (HO-1) defensive system. The transcription factor Nrf2 is currently considered the master regulator of the oxidative stress response in the cell and is responsible for the up-regulation of genes with anti-oxidants and anti-inflammatory activities, including HO-1. The substances selected for our studies possess an important chemical features, called 'Michael acceptor functionality', that renders them reactive with Nrf2 and therefore control its translocation in the nucleus. Curcumin, chalcones and other naturally-derived substances are classical examples of Nrf2 activators. We have studied some of these substances in microglia cells in vitro and assessed their capacity to induce HO-1, their effect on heme metabolism and their modulation of the inflammatory response in cells challenged with bacterial lipopolysaccharide (LPS) and interferon- $\gamma$ , stimulators of acute and chronic inflammation, respectively. We have recently published the results of this study in the journal *Pharmacological Research*. I am now working on a second project that involves the study of Nrf2 activators in human retinal pigment epithelial cells. We want to determine whether selected molecules can protect these cells against oxidative stress and hyperglycemia, conditions that are typically found in the retina during diabetes and that may lead to retinal degeneration and damage. In addition to my laboratory commitments, during these two years I have participated to several scientific conferences (Heme oxygenase conference (2012), Summer school of Neuropharmacology (2012), Oxygen and Metabolism (2013), Pharmacology of Gases (2013)) and attended many seminars relevant for my research.

## **Abstract**

### ***Small molecules activators of the Nrf2-HO-1 antioxidant axis modulate heme metabolism and inflammation in BV2 microglia cells***

*Roberta Forestia<sup>a,b</sup>, Sandip K. Bains<sup>c</sup>, Tamil Selvi Pitchumony<sup>c</sup>, Lisandra E. de Castro Brás<sup>c,d</sup>, Filippo Dragod<sup>e</sup>, Jean-Luc Dubois-Randéa<sup>e</sup>, Claudio Bucolod and Roberto Motterlini<sup>a,b</sup>*

*a*Université Paris-Est, UMR\_S955, UPEC, F-94000, Créteil, France

*b*Inserm U955, Equipe 3, F-94000, Créteil, France

*c*Department of Drug Discovery and Development, Italian Institute of Technology, 16163 Genova, Italy

*d*Department of Clinical and Molecular Biomedicine, Section of Pharmacology and Biochemistry, University of Catania, 95125 Catania, Italy

*e*AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Service de Cardiologie 1, F-94010 Créteil, France

The nuclear factor erythroid derived 2-related factor 2 (Nrf2) and the antioxidant protein heme oxygenase-1 (HO-1) are crucial components of the cellular stress response. These two systems work together to combat oxidative stress and inflammation and are attractive drug targets for counteracting different pathologies, including neuroinflammation. We aimed to identify the most effective Nrf2/HO-1 activators that modulate the inflammatory response in microglia cells. In the present study, we searched the literature and selected 56 compounds reported to activate Nrf2 or HO-1 and analysed them for HO-1 induction at 6 and 24 h and cytotoxicity in BV2 microglial cells in vitro. Approximately 20 compounds up-regulated HO-1 at the concentrations tested (5 to 20  $\mu$ M) with carnosol, supercurcumin, cobalt protoporphyrin-IX and dimethyl fumarate exhibiting the best induction/low cytotoxicity profile. Up-regulation of HO-1 by some compounds resulted in increased cellular bilirubin levels but did not augment the expression of proteins involved in heme synthesis (ALAS 1) or biliverdin reductase. Bilirubin production by HO-1 inducers correlated with their potency in inhibiting ni-

trite production after challenge with interferon- (INF-) or lipopolysaccharide (LPS). The compounds down-regulated the inflammatory response (TNF-, PGE2 and nitrite) more strongly in cells challenged with INF- than LPS, and silencing HO-1 or Nrf2 with shRNA differentially affected the levels of inflammatory markers. These findings indicate that some small activators of Nrf2/HO-1 are effective modulators of microglia inflammation and highlight the chemical scaffolds that can serve for the synthesis of potent new derivatives to counteract neuroinflammation and neurodegeneration.

### ***Fortified extract of red berry, Ginkgo biloba, and white willow bark in experimental early diabetic retinopathy***

*Bucolo C, Marrazzo G, Platania CB, Drago F, Leggio GM, Salomone S.*

Diabetic retinopathy is a complex condition where inflammation and oxidative stress represent crucial pathways in the pathogenesis of the disease. Aim of the study was to investigate the effects of a fortified extract of red berries, Ginkgo biloba and white willow bark containing carnosine and -lipoic acid in early retinal and plasma changes of streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes was induced by a single streptozotocin injection in Sprague Dawley rats. Diabetics and nondiabetic (control) rats were treated daily with the fortified extract for the ten days. Retina samples were collected and analyzed for their TNF- and VEGF content. Moreover, plasma oxidative stress was evaluated by thiobarbituric acid reacting substances (TBARS). Increased TNF- and VEGF levels were observed in the retina of diabetic rats. Treatment with the fortified extract significantly lowered retinal cytokine levels and suppressed diabetes-related lipid peroxidation. These data demonstrate that the fortified extract attenuates the degree of retinal inflammation and plasma lipid peroxidation preserving the retina in early diabetic rats.



International PhD Program in Neuropharmacology

University of Catania  
International Ph.D. Program in Neuroscience  
CONTINUOUS EDUCATION IN MEDICINE

## European Frontiers in Neuropsychopharmacology

Twelfth Series

November 2015

June 2014

ECA CREDITS

Corpo Aule e Biblioteca  
Policlinico G. Rodolico  
University of Catania

Promoted by  
Prof. Filippo Drago  
Department of Clinical and Molecular Biomedicine  
Section of Pharmacology and Biochemistry  
University of Catania

Under the auspices of the  
ITALIAN SOCIETY OF PHARMACOLOGY

# Novembre Giugno

## CATANIA

AULA MAGNA

CORPO AULE E BIBLIOTECA

A.O.U. "V. EMANUELE - POLICLINICO"