

/ Adattamento del saggio RT-QuIC per la rilevazione di prioni nelle urine /

Le cellule tumorali presentano caratteristiche alterazioni metaboliche, consistenti in un aumento dell'attività glicolitica e una diminuzione della respirazione mitocondriale (effetto Warburg) rispetto alle cellule normali. Recentemente, è stato identificato lo chaperone mitocondriale Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Protein 1 (TRAP1), come un importante mediatore di tali alterazioni metaboliche. Legando e inibendo l'enzima succinato deidrogenasi (SDH), TRAP1 provoca una down-regolazione della respirazione mitocondriale (Fig. 1).

Lo scopo di questo lavoro è stato:

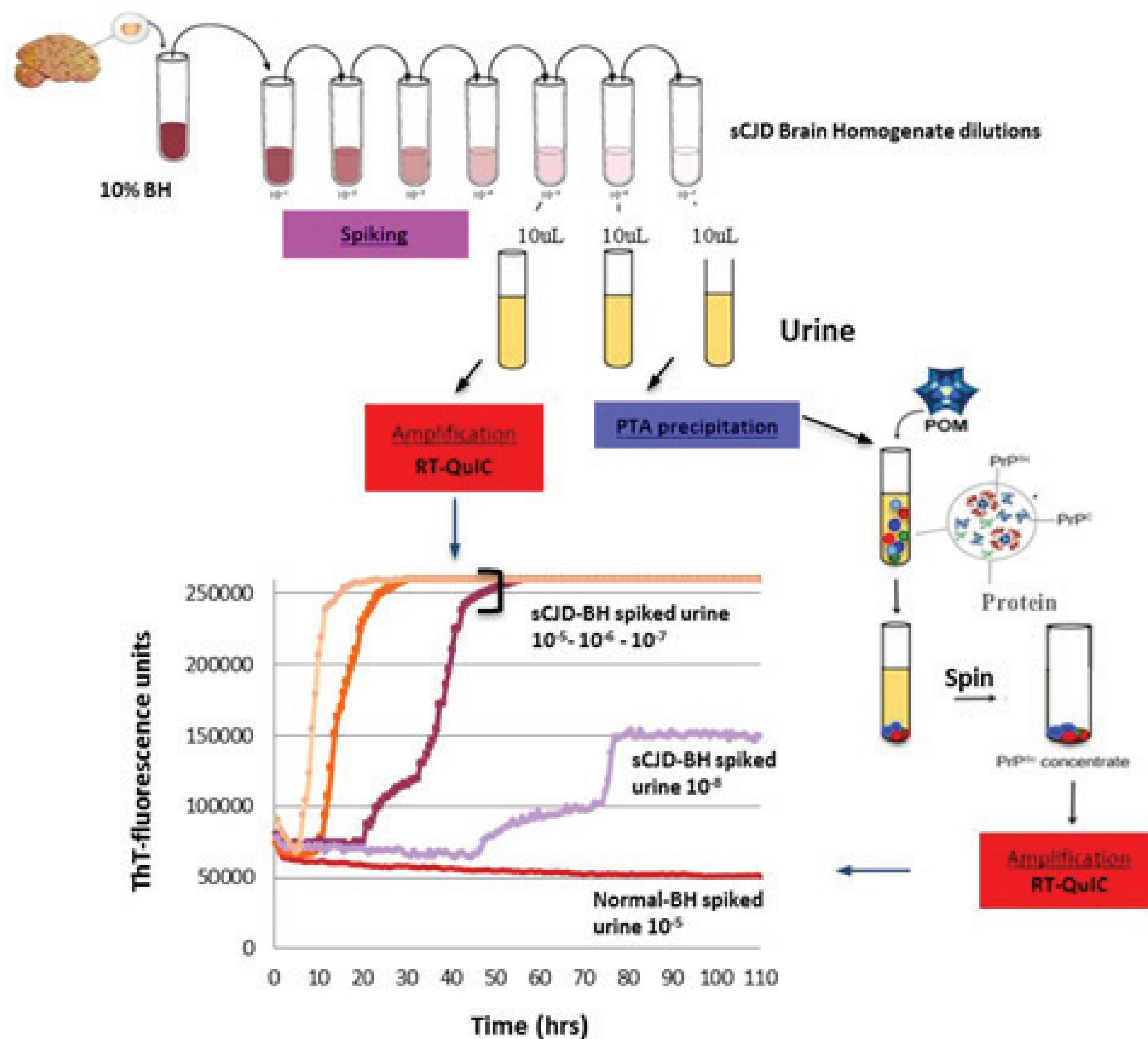
1. analizzare, mediante il modello sperimentale dell'Epatocita Resistente (Fig.2), l'espressione di TRAP1 e della SDH negli stadi precoci di epatocancerogenesi;
2. valutare una possibile relazione tra l'espressione di TRAP1 e la positività per la citocheratina 19 (KRT-19), un marcatore delle lesioni più aggressive.

I risultati dimostrano che soltanto nei noduli KRT-19 positivi si ha un aumento dell'espressione di TRAP1 (Fig.3). Negli stessi noduli, inoltre, è stata osservata una significativa riduzione dell'attività della SDH (Fig. 4), confermando il meccanismo d'azione descritto in letteratura. Dato il suo coinvolgimento nelle principali alterazioni metaboliche che favoriscono la crescita e la sopravvivenza della cellula tumorale, TRAP1 potrebbe rappresentare un importante target terapeutico, contribuendo allo sviluppo di farmaci antineoplastici che agiscono a livello mitocondriale.

Tesi di **Lavinia Cabras** AA 2013/14

Relatore: **Prof.ssa G. M. Ledda**

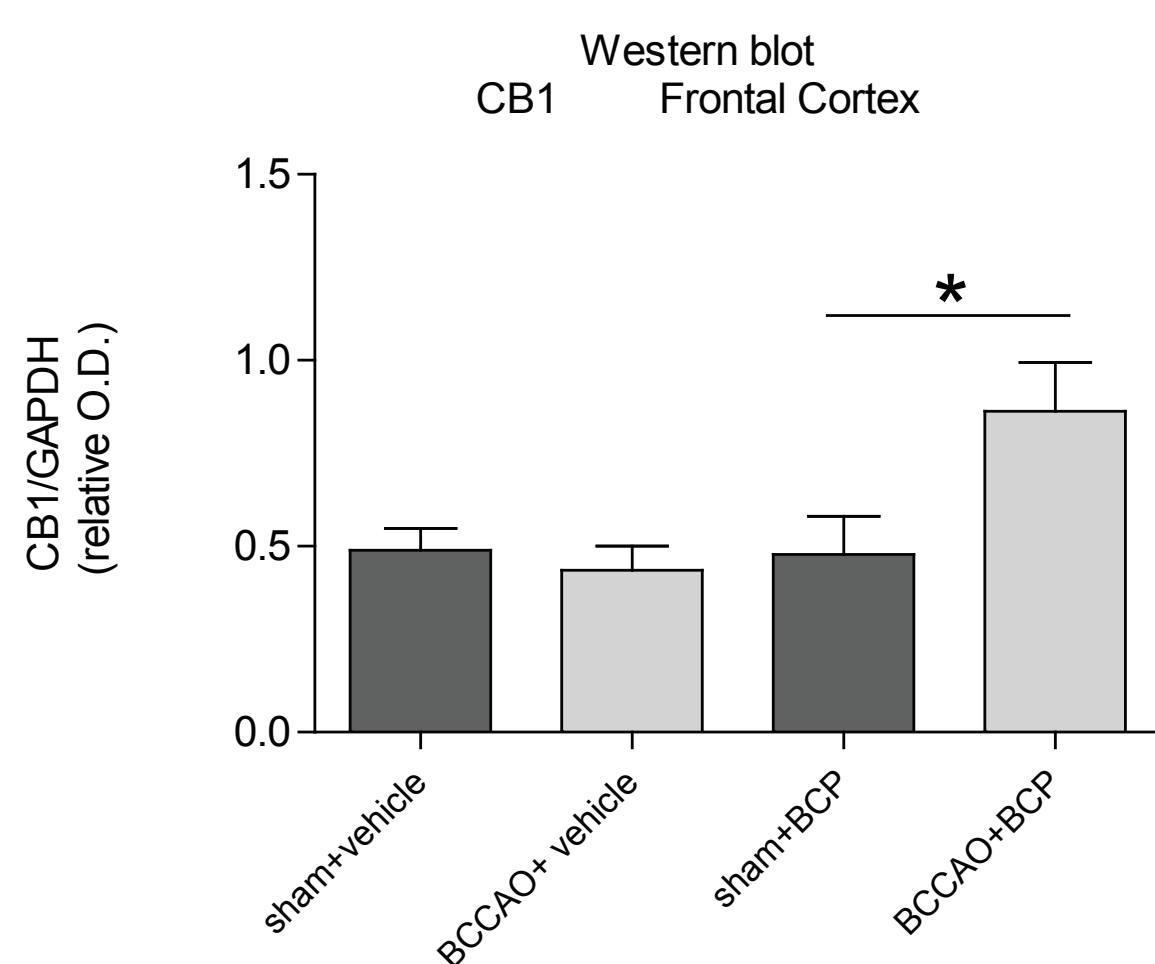
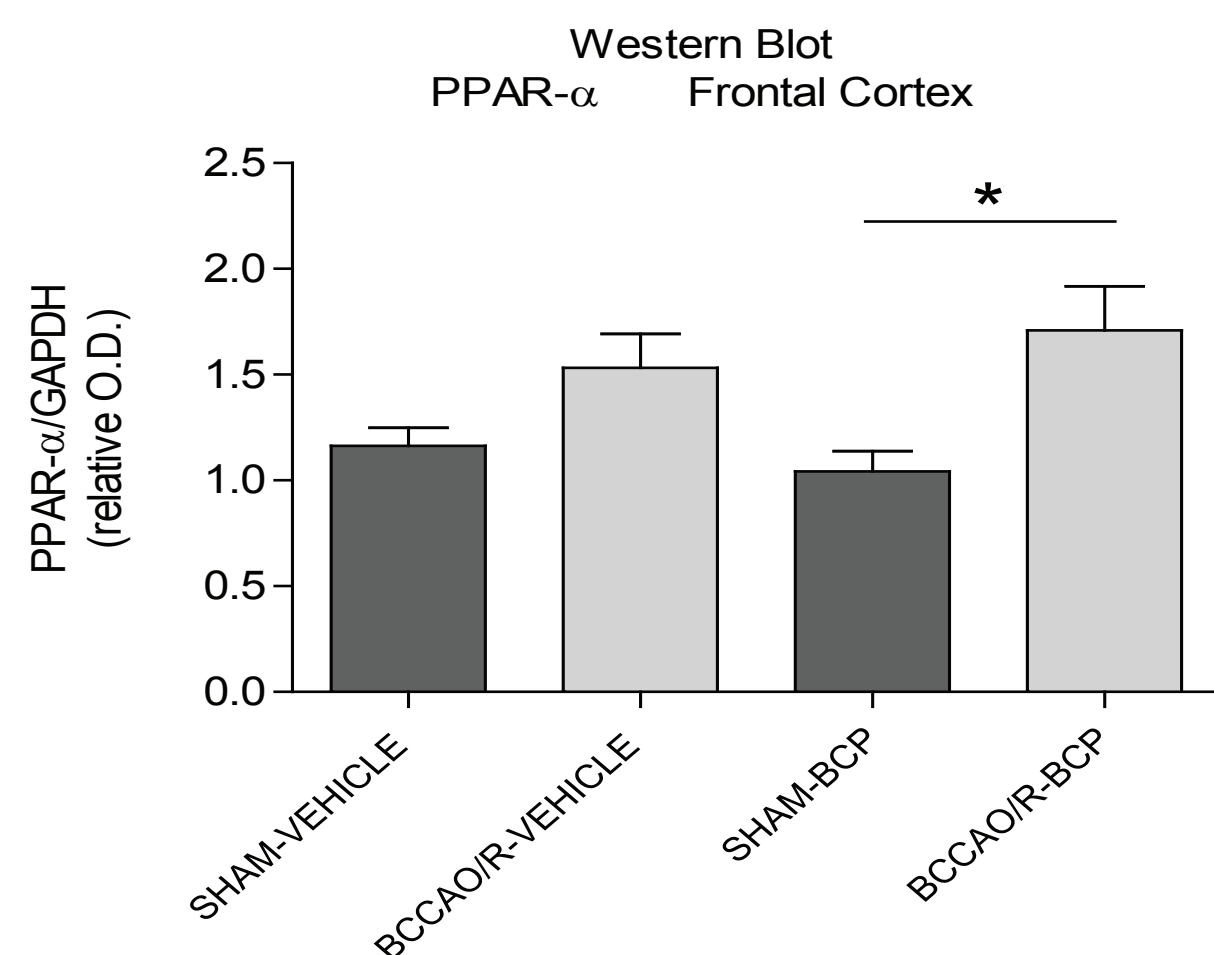
Corso di Laurea Chimica e Tecnologia Farmaceutiche



/ Adattamento del saggio RT-QuIC per la rilevazione di prioni nelle urine /

Figura: Amplificazione di prioni nelle urine di sospetti sCJD mediante saggio RT-QuIC.

Il controllo delle malattie neurodegenerative da prioni implica la capacità di rilevare i prioni stessi in campioni biologici periferici. Il saggio di amplificazione in vitro dei prioni, o RT-QuIC è un nuovo metodo, rapido e altamente sensibile, che consente di rilevare la presenza di femtogrammi di prioni in diversi tipi di campioni biologici (i.e. cervello, liquor, plasma, saliva) di diverse specie animali e/o umani. Il mio lavoro di tesi si è concentrato sull'adattamento del saggio RT-QuIC per la rilevazione di prioni nelle urine di pazienti sospetti di sCJD. I risultati preliminari mostrano che il saggio, associato alla precipitazione delle proteine con PTA, è in grado di rilevare i prioni sino alla diluizione di $\sim 10^{-7}$ e suggeriscono che la RT-QuIC possa essere applicata con successo anche alla rilevazione di prioni in campioni di urina.



/ Effetto neuroprotettivo del beta-cariofillene /

sulle alterazioni molecolari indotte da ipoperfusione-riperfusione nell'encefalo di ratto

L'occlusione bilaterale dell'arteria carotide comune seguita da riperfusione (BCCAO/R) è un modello sperimentale valido per simulare le fasi precoci del danno tissutale indotto dall'ipoperfusione/riperfusione nella corteccia cerebrale frontale. La ricerca svolta estende studi precedenti del gruppo di ricerca sull'effetto benefico dell'olio essenziale di *Pistacia lentiscus* L. introdotto con la dieta nel revertire e/o modulare le modifiche indotte dalla BCCAO/R sui livelli tissutali e plasmatici di acidi grassi polinsaturi (PUFA) e di endocannabinoidi (ECB) i quali si comportano come indicatori del danno cerebrale indotto dalla BCCAO/R. In particolare, con questo studio ho valutato, nella corteccia cerebrale di ratti Wistar, l'azione del beta-cariofillene (BCP), un fitocannabinoide alimentare già noto per le sua attività antiinfiammatoria in diversi sistemi sperimentali e uno dei componenti principali della miscela complessa di sostanze presenti nell'olio essenziale di *P. lentiscus* L., sul danno cerebrale indotto dalla BCCAO/R in omogenati di tessuto cerebrale, nel plasma e nel liquido cerebrospinale, mediante un approccio multidisciplinare. Le analisi in cromatografia liquida ad alta affinità (HPLC), western blot e zimografia su gel rivelano che il BCP contrasta gli effetti della BCCAO/R inducendo un aumento del livello plasmatico di acido arachidonico e un aumento della concentrazione di acido docosaesaenoico (DHA) e degli eicosanoidi oleoiletanolammide (OEA) e palmitoiletanolammide (PEA) nel tessuto cerebrale, accompagnati dall'induzione dell'espressione del recettore nucleare PPAR- (Fig. 1) e dei recettori CB1 (Fig. 2) e CB2 per gli ECB. La zimografia ha inoltre evidenziato una modulazione negativa del BCP sull'attività enzimatica della metalloproteasi della matrice di tipo 9 (MMP9). I risultati dimostrano l'efficacia della somministrazione di BCP con la dieta come molecola antiinfiammatoria in seguito a ipoperfusione/riperfusione e suggeriscono l'uso di tale molecola come possibile trattamento nutrizionale nella neuroprevenzione.