



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI BARI

PROGETTO DI RICERCA FINANZIABILE CON FONDI DI ATENEO

1.1. Area/Aree Scientifiche n.

0/5

Anno 2004

1.2. Titolo della Ricerca

NEUROTRASMISSIONE PERIFERICA E RESPONSIVITA' RECETTORIALE IN
CONDIZIONI FISIOPATOLOGICHE E DOPO TRATTAMENTO FARMACOLOGICO

1.3. Abstract della Ricerca

Italiano

Le nostre ricerche avranno lo scopo di caratterizzare la responsività recettoriale e il ruolo di mediatori endogeni quali ad esempio ossido nitrico, monossido di carbonio, le tachichinine, in preparati *in vitro*, in condizioni fisiopatologiche e dopo trattamento farmacologico.

Inglese (facoltativo)

Our studies will aim to characterise the receptorial responses and the role of endogenous mediators such as nitric oxide, carbon monoxide, tachykinins in *in vitro* preparations, in several pathophysiological conditions and after pharmacological treatment.

1.4. Responsabile Scientifico del Progetto di Ricerca

DE SALVIA
(cognome)

MARIA ANTONIETTA
(nome)

25/08/62
(data di nascita)

RC
(qualifica)

TP
(TP/TD)

BIO/14
(settore scientifico disciplinare)

05
(Area scientifica)

FARMACOLOGIA E FISOLOGIA UMANA
(Dipartimento)

11
(Mesi/uomo)

0805478425
(prefisso e telefono)

0805478449
(numero fax)

desalvia@farmacol.uniba.it
(indirizzo posta elettronica)

1.5. Componenti il Gruppo di Ricerca

(Solo professori ordinari, associati, incaricati, ricercatori e assistenti ordinari)

Cognome	Nome	Dipartimento	Qualifica	TD/ TP	Mesi/ Uomo	Area Scientifica
RENNA	GIUSEPPE	FARMACOLOGIA E FISIOLOGIA UMANA	PA	TP	11	05
SIRO-BRIGIANI	GIOVANNI	FARMACOLOGIA E FISIOLOGIA UMANA	PA	TP	11	05

1.6. Altri Partecipanti al Gruppo di Ricerca

Cognome	Nome	Dipartimento	Qualifica	Mesi/ Uomo
PIEPOLI	Anna Lodadea	Farmacologia e Fisiologia Umana	DR	11
DE SALVATORE	Giuseppe	Farmacologia e Fisiologia Umana	Specializz ando	11
PERSICHELLA	Michele	Farmacologia e Fisiologia Umana	PT	5
ZIGRINO	Dora	Farmacologia e Fisiologia Umana	PT	4
GALLO	Domenico	Farmacologia e Fisiologia Umana	PT	5

1.7. Settori scientifico-disciplinari interessati dalla Ricerca

B	I	O	14
---	---	---	----

--	--	--	--

--	--	--	--

1.8. Tipologia della Ricerca

Prosecuzione di Ricerca già approvata: ☒ SI ☐ NO

Nuovo Progetto di Ricerca ☐ SI ☒ NO

1.9. Costo del Progetto di Ricerca (in Euro)

Materiale inventariabile (voce A)	6000
Materiale di consumo (voce B)	15000
Risorse finanziarie già disponibili all'atto della domanda e utilizzabili a sostegno della Ricerca:	
Fondi di Ateneo ex 60% anno 2003	5000
COSTO TOTALE PROGETTO	26000
FINANZIAMENTO DI ATENEO RICHIESTO	21000

2.1. Base di partenza scientifica della Ricerca

- 1) I dati di letteratura indicano che un numero sempre crescente di ricerche è rivolto allo studio della malattia infiammatoria intestinale (IBD). L'IBD include due forme infiammatorie croniche intestinali: la colite ulcerative (UC) e la malattia di Crohn (CD). L'infiammazione intestinale negli animali o nell'uomo è associata ad una alterata motilità gastrointestinale osservabile sia a livello di contrattilità della muscolatura liscia che a livello di funzionalità dei nervi enterici (Welton M.L. *et al.*, *Am J Surg*, 174, 1997). Un crescente numero di evidenze suggerisce che l'IBD è il risultato di disfunzioni nell'immunoregolazione che si manifesta con una alterata produzione di citochine ed è associato ad alterazioni della trasmissione nitrgica
- 2) Il diabete mellito è una patologia cronica che può esitare in notevoli complicazioni tra cui alterazioni vascolari, neuropatie a carico del sistema nervoso autonomo, retinopatia e disfunzioni gastrointestinali (Foster in Harrison's principles of internal medicine, A.S. Fauci *et al.*, ed. McGraw-Hill, N.Y., 2060, 1998). Queste ultime si verificano in una percentuale del 75% dei pazienti e includono gastropatia diabetica, una sindrome caratterizzata da ritardato svuotamento gastrico causa di nausea, vomito, dolore addominale e precoce senso di sazietà.
- 3) Il prolungato allettamento o l'esposizione a condizioni di microgravità può causare diverse alterazioni delle funzioni neurovegetative. I primi studi realizzati sugli effetti del volo spaziale sugli astronauti si sono rivolti prevalentemente alla valutazione delle alterazioni a carico del distretto cardiovascolare ed hanno investigato i meccanismi alla base dell'ipotensione ortostatica, frequentemente evidenziata in astronauti al loro rientro sulla Terra. Pochi studi, invece, sono stati condotti a livello di altri distretti.
- 4) E' noto che la trasmissione neuromuscolare può essere influenzata da vari fattori. Nostre ricerche hanno evidenziato come gli antibiotici della classe degli aminoglicosidi riducono, con potenza diversa, la trasmissione neuromuscolare (Renna *et al.*, *Toxicology Lett.*, 9, 107-112, 1981; Renna *et al.*, *Arzneim. Forsch.*, 33, 1473-1474, 1982; Renna *et al.*, *Arzneim.Forsch.*, 34,

1540-1542, 1984; Renna et al., J. Pharm., Pharmacol., 36, 141, 1984; Renna et al., Pharmacol. Res. Commun. 18, 451-457, 1986). Diverse ricerche hanno dimostrato che la risposta neuromuscolare, per diversi farmaci, può essere influenzata dall'età (Gronert et al. Pediatr. Clin North Am 41,73-91,1994).Terapie croniche concomitanti possono essere anche le responsabili di risposte diverse a farmaci che interferiscono sulla trasmissione neuromuscolare (Loan et al., Br. J. Anaesth.78, 90-91, 1997).

2.2. Obiettivo della Ricerca

1) La somministrazione di indometacina nei roditori induce alterazioni a livello intestinale simili a quelle evidenziate nel CD. L'ileite indotta da indometacina può, quindi, essere considerata un valido modello per lo studio delle possibili alterazioni..... alla base della dismotilità che accompagna tale patologia. Il nostro studio, quindi, sarà rivolto alla valutazione degli effetti di un trattamento in vivo con indometacina. Saranno valutati a) le lesioni a livello dell'ileo intermedio, b) le modificazioni del trasporto ionico a livello della mucosa dell'ileo. Saranno, inoltre, valutate le alterazioni della risposta contrattile indotta elettricamente e indotta dall'acetilcolina e le modificazioni delle risposte inibitorie in condizioni NANC nonché la risposta riflessa contrattile indotte elettricamente.

2) L'alterazione del pathway nitrososintasi (ossido nitrico (NOS/NO) ha un ruolo fondamentale nelle alterazioni gastrointestinali riscontrate in diversi modelli sperimentali di diabete (genetico o indotto da tossine). Infatti lo svuotamento gastrico e il rilassamento non adrenergico non colinergico (NANC) a livello del piloro sono deficitari nei topi diabetici: tali alterazioni sono sovrapponibili alle modificazioni osservate nei topi in cui è stato soppresso il gene che codifica per la nNOS (knockout) (Watkins et al., J. Clin. Invest. 106: 373, 2000). E' stato dimostrato che il monossido di carbonio (CO), prodotto fisiologicamente dal catabolismo dell'eme insieme al Fe^{2+} ed alla bilirubina ad opera dell'emeoossigenasi (HO), è un neurotrasmettitore gassoso in grado di modulare diverse funzioni fisiologiche (Maines, 1997). In particolare, a livello gastrointestinale, è stato dimostrato che topi knockout per il gene che codifica per l'HO mostrano un ridotto rilassamento della muscolatura liscia intestinale e un ritardato transito intestinale suggerendo che il CO può essere prodotto endogenamente e agisce come neurotrasmettitore enterico (Zakhary et al., PNAS, 94: 14848, 1997). Poiché è stato recentemente dimostrato che l'NO e il CO sono cotrasmettitori a livello del sistema nervoso enterico, scopo del nostro studio sarà l'investigazione del coinvolgimento del sistema CO/HO e le sue relazioni con il sistema NO/NOS in un modello sperimentale di diabete quale quello indotto da streptozotocina. Inoltre, sarà valutato il contributo di altri neurotrasmettitori di tipo inibitorio, come l'ATP, alla risposta inibitoria indotta da stimolazione elettrica.

3) Scopo dello studio sarà la valutazione delle possibili alterazioni della responsività del sistema nervoso autonomo, nonché modificazioni della reattività recettoriale a mediatori contratturanti o di tipo inibitorio in un modello di microgravità simulata realizzato mantenendo, per un periodo di 14 giorni, ratti sospesi per la coda in modo da impedir loro l'appoggio delle zampe posteriori. Questo modello detto dell'"hindlimb unloading" è un modello accreditato per lo studio degli effetti della microgravità

4) Interferenze sulla trasmissione neuromuscolare possono portare a patologie o ad aggravare patologie già esistenti. Diversi farmaci possono interferire con la trasmissione neuromuscolare; tale azione che può essere un effetto collaterale, non è sempre conosciuta né si conoscono le interazioni con altre terapie o con altri fattori che possono influenzare la trasmissione neuromuscolare. Pertanto l'obiettivo della nostra ricerca è quello di indagare l'influenza di terapie croniche, dell'età, e di altri fattori sulla risposta neuromuscolare a farmaci.

2.3. Descrizione della Ricerca

1) Lo studio relativo alla motilità dell'ileo e del duodeno sarà effettuato su anelli di muscolatura circolare prelevati da ratti controlli e da ratti trattati con indometacina allo scopo di valutare la risposta contrattile all'acetilcolina e dopo stimolazione elettrica. Inoltre si analizzerà in condizioni NANC il diverso coinvolgimento del sistema nitrergico e purinergico nella risposta inibitoria indotta da stimolazione elettrica. Analizzeremo il grado di infiammazione indotto dal trattamento con indometacina mediante valutazioni istologiche. Saranno, inoltre, valutati i cambiamenti dei parametri elettrofisiologici relativi al trasporto ionico mucosale quali differenze di potenziale, corrente di corto circuito e conduttanza, nonché lo stress ossidativo

2) La caratterizzazione del pathway CO/HO a livello gastrointestinale e la sua interazione con il pathway NOS/NO sarà effettuata utilizzando segmenti di duodeno prelevati da ratti e/ o topi controllo o dopo trattamento con streptozotocina. In particolare, sarà valutato il coinvolgimento del pathway CO/HO e NO/NOS nella risposta inibitoria indotta da stimolo elettrico in presenza o in assenza di bloccanti selettivi della HO, dell'NO o di antagonisti dell'ATP.

3) Gli esperimenti saranno condotti su tre distretti periferici. Sarà valutata la responsività vascolare mediante lo studio della pressione di perfusione e della variazione della resistenza al variare del flusso nel letto mesenterico vascolare, che rappresenta un buon modello emodinamico di resistenza vascolare. Saranno, quindi, realizzati studi tensiometrici nel vas deferens, la cui contrazione, prevalentemente di tipo adrenergico, modula l'emissione dello sperma. Inoltre, poiché è stato evidenziato un coinvolgimento del distretto gastroenterico negli effetti della microgravità, saranno investigate, a livello di colon e duodeno, le eventuali alterazioni della motilità gastrointestinale.

4) Gli esperimenti saranno condotti sul preparato frenico-diaframma di ratto, prelevato da ratti controllo e da ratti pretrattati.

L'azione dei farmaci sarà valutata confrontando l'interferenza del farmaco sulle contrazione della muscolatura diaframmatica, evocata dalla stimolazione elettrica del nervo frenico, sui preparati provenienti da ratti controllo verso quelli provenienti da ratti trattati, o su preparati provenienti da ratti di diversa età.

2.4. Pubblicazioni scientifiche dei Componenti il Gruppo di Ricerca edite negli ultimi tre anni (sono escluse le pubblicazioni degli Altri Partecipanti alla ricerca)

1. Mitolo-Chieppa D, Mansi G, Nacci C, De Salvia MA, Montagnani M, Potenza MA, Rinaldi R, Lerro G, Siro-Brigiani G, Mitolo CI, Rinaldi M, Altomare DF, Memeo V.

Idiopathic chronic constipation: tachykinins as cotransmitters in colonic contraction.

Eur. J. Clin. Invest., 31, 349-355; 2001.

I.F. 2.19

2. Potenza MA, Botrugno OA, De Salvia MA, Lerro G, Nacci C, Andriantsitohaina R, Mitolo Chieppa D.

Involvement of cyclo-oxygenase products in the hyporeactivity to noradrenaline in perfused

mesenteric vascular bed from rats with portal hypertension.

Pharm. Res., 43, Suppl. A, 108, 2001.

I.F. 0.863

3. Macchiarulo C., Pieri R., Mitolo-Chieppa D., Pirrelli A.,

Antihypertensive effects of different calcium antagonists: evidence from Fourier analysis of 24-hour ambulatory blood pressure recordings"

Pharmacological Research 43, Suppl A: 160, 2001.

I.F. 0.863

3. De Salvia MA, Macchiarulo C, Lerro G, Vicenti P, Giampetruzzi F, Pieri R, Pirrelli A, Mitolo Chieppa D.

Pharmacotherapy of hypertension prescribing patterns in an antihypertensive center

Pharm. Res., 43, Suppl. A, 167, 2001.

I.F. 0.863

4. Tesse A, De Salvia MA, Potenza MA, Mitolo CI, Mitolo-Chieppa D.

Role of myogenic component in spontaneous colonic motility.

Dig. Liver Dis. 33(7), 617-8, 2001.

I.F. 0.696

5. Potenza MA, Botrugno OA, De Salvia MA, Lerro G, Nacci C, Marasciulo FL, Andriantsitohaina R, Mitolo-Chieppa D.

Endothelial COX-1 and -2 differentially affect reactivity of MVB in portal hypertensive rats.

Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 283: G587, 2002. .

I.F. 3.66

6. De Salvia M. A., Macchiarlo C., Lerro G., Pieri R., Renna G., Siro-Brigiani G., Natale L., Pirrelli A., Mitolo-Chieppa D.

Prescribing patterns for Angiotensin II-receptor blockers in an Italian Antihypertensive Division: A retrospective chart review.

Curr. Ther. Res. 63(12): 789-802, 2002.

I.F. 0.562

7. Mitolo-Chieppa D., Natale L., Marasciulo F. L., De Salvatore G., Mitolo C. I., Siro-Brigiani G., Renna G., De Salvia M. A..

Involvement of κ -opioid receptors in peripheral response to nerve stimulation in κ -opioid receptor knockout mice.

Auton. Autac. Pharm. 2002 Aug;22(4):233-9.

I.F. 0.631

8. De Salvatore G, De Salvia MA, Piepoli AL, Natale L, Porro C, Nacci C, Mitolo CI, Mitolo-Chieppa D.

Effects of in vivo treatment with interleukins 1 β and 6 on rat mesenteric vascular bed reactivity.

Auton Autacoid Pharmacol. 2003 Apr;23(2):125-31.

I.F. 0.631

9. Natale L, Piepoli AL, De Salvia MA, De Salvatore G, Mitolo CI, Marzullo A, Portincasa P, Moschetta A, Palasciano G, Mitolo-Chieppa D.

Interleukins 1 beta and 6 induce functional alteration of rat colonic motility: an in vitro study.

Eur J Clin Invest. 2003 Aug;33(8):704-12.

I.F. 2.19

Contributi scientifici a congressi:

Piepoli A.L., Natale L., De Salvia M.A., De Salvatore G., Mitolo C.I., Marzullo A., Portincasa p., Moschetta A., Palasciano G., Mitolo-Chieppa D., "Interleukin 1 beta and 6 induces functional alteration of rat colonic motility. An in vitro study". Atti del 31° Congresso Società Italiana di Farmacologia, Trieste, 26 – 29 giugno, 2003.

1 aprile 2004

DATA: _____

Firma del Responsabile Scientifico

Lucio Antonietto R. Selvie

Firme dei Componenti il Gruppo di Ricerca

Giuseppe Sinigaglia
Giuseppe Sinigaglia

(per la copia da depositare presso l'Ateneo e per l'assenso alla divulgazione via Internet delle informazioni riguardanti i programmi finanziati; legge 31.12.96 n.675 sulla "Tutela dei dati personali")

Firma Lucio Antonietto R. Selvie
(responsabile scientifico)

N.B. Poiché il responsabile scientifico di questa ricerca NON ha presentato domanda di finanziamento nel 2001, per cui viene richiesta il resoconto didattico e scientifico, non viene allegata alla presente nessun resoconto didattico e scientifico per l'anno 2001.

Lucio Antonietto R. Selvie