

Effetti del digiuno cellulare a breve termine sulla risposta alla chemioterapia convenzionale nei tumori umani: comprensione dei meccanismi molecolari e coinvolgimento dei microRNA.

INTRODUZIONE

La chemioterapia è la strategia terapeutica maggiormente adottata per il trattamento dei tumori. Essa, però, oltre a presentare un basso indice terapeutico, è potenzialmente in grado di causare effetti collaterali gravi.

Recenti studi (in vivo e in vitro) hanno dimostrato che il digiuno a breve termine (o *Short Term Starvation*) aumenta la selettività della chemioterapia nei confronti delle cellule tumorali e protegge le cellule sane dalla citotossicità dell'agente chemioterapico.

Un altro fattore, capace di regolare la “sensibilità/resistenza” alla chemioterapia, è rappresentato dai microRNA (miRNA), piccoli segmenti di RNA non codificante coinvolti nella regolazione dell'espressione genica.

OBIETTIVI

Uno degli obiettivi del progetto è quello di riproporre in vitro il digiuno cellulare a breve termine su varie linee cellulari di tumori umani (come MDA e CACO2) e di valutarne gli effetti sulla vitalità e sulla proliferazione cellulare in seguito al trattamento con diversi agenti chemioterapici.

Lo studio si propone inoltre di analizzare i profili di espressione dei miRNA, nelle suddette cellule, prima e dopo il trattamento, e di cercare, mediante approcci di tipo bioinformatico, i target dei miRNA deregolati per comprendere il ruolo che questi potrebbero avere negli effetti benefici del digiuno cellulare. Infine si cercherà di confermare in vivo, su modelli murini, il coinvolgimento dei miRNA.

METODI

Per valutare gli effetti del digiuno cellulare a breve termine si utilizzeranno saggi di angiogenesi e di proliferazione e vitalità cellulare. I profili di espressione genica e dei miRNA saranno determinati attraverso indagini di Real Time PCR mentre la ricerca dei loro *targets* vedrà coinvolti database online come miRanda e miRbase.

L'alterata espressione dei *targets* sarà valutata sia a livello proteico attraverso Western Blot ed ELISA, sia a livello dell'espressione genica, attraverso Real Time PCR.

Gli esperimenti in vivo verranno eseguiti xenotrapiantando le cellule tumorali trasfettate con pre-MiR o anti-MiR o non trasfettate, in modelli murini sottoposti a *Short Term Starvation*.