



PA2

EFFETTI INIBENTI DI HYDAMTIQ, UN INIBITORE DI PARP DI NUOVA SINTESI, SULLA CRESCITA DI LINEE CELLULARI TUMORALI UMANE CARATTERIZZATE DA DIFETTI NEI MECCANISMI DI RIPARAZIONE DEL DNA

Ida Landini¹, Stefania Nobili², Laura Lucarini³, Emanuela Masini³, Flavio Moroni³, Enrico Mini¹

¹ Sezione di Medicina Interna, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze, Firenze

² Sezione di Farmacologia Clinica e Oncologia, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze, Firenze

³ Sezione di Farmacologia e Tossicologia, Dipartimento di NEUROFARBA, Università degli Studi di Firenze, Firenze

Introduzione. Le poli(ADP-ribosio)polimerasi (PARP) sono fondamentali nella regolazione di processi cellulari compreso il riparo del danno al DNA. Gli inibitori di PARP (PARPi) sono attivi in cellule con alterazioni in geni coinvolti nei meccanismi di riparo del DNA (letalità sintetica); come agenti singoli sono attivi in tumori BRCA1/2 mutati, non in grado di riparare il danno al DNA, e in tumori del colon-retto (CRC) con instabilità microsatellitare (MSI). I PARPi possono inoltre potenziare l'attività di agenti citotossici che interferiscono con la sintesi e la funzione del DNA (ad es. 5-fluorouracile, 5FU).

Scopi. Valutare l'effetto di HYDAMTIQ (HY), un nuovo PARPi, su linee cellulari tumorali umane che differiscono per lo stato mutazionale di BRCA1/2, dei microsatelliti, l'espressione della chinasi mutata nell'ataxia telangiectasia (ATM).

Materiali e metodi. Linee cellulari: carcinoma (ca) del pancreas (CAPAN-1, BRCA2 mutata) e cloni da essa derivati (C2-6, C2-12, C2-14, BRCA2 wild-type); ca mammario (MCF-7, BRCA1/2 wild-type, wt) e CRC (HCT-116, BRCA2 mutata); CRC con MSI (HCT-8) o MSS (HT29), CRC con bassi (SW620) o alti (H630) livelli di espressione di ATM. La vitalità cellulare (72-240 h) è stata valutata con saggio SRB, l'espressione proteica di ATM in immunofluorescenza.

Risultati: HY è risultato più attivo nelle linee con BRCA2 mutato, rispetto a quelle wt. Gli effetti citotossici di HY sono risultati maggiori (dopo esposizione di 240 h) nella linea con MSI rispetto a quella con MSS. Inoltre HY ha mostrato attività citotossica maggiore nella linea cellulare con bassa espressione di ATM rispetto a quella con alta espressione. L'associazione di HY al 5FU è risultata sinergica nella linea cellulare SW620 e antagonista nella H630.

Conclusioni. Questi risultati confermano che HY inibisce la crescita di cellule tumorali umane con difetti dei sistemi di riparo del DNA ed ha attività sinergica con il 5FU. Tali dati forniscono esempi rilevanti di letalità sintetica e l'evidenza per un ulteriore sviluppo di nuovi PARPi.

Ricerca svolta con il contributo dell'Ente Cassa di Risparmio di Firenze.



PA3

TRASPORTO E TARGETING SELETTIVO DELLA DOXORUBICINA MEDIANTE NANOPARTICELLE DI IDROSSIAPATITE FUNZIONALIZZATE CON ANTICORPI

Francesca Oltolina¹, Luca Gregoletto¹, Jaime Gómez-Morales², José Manuel Delgado-López², Ilario Viano³, Maria Prat¹, Donato Colangelo³

¹ Istologia - Dipartimento Scienze della Salute - Università del Piemonte Orientale, Novara

² Laboratorio de Estudios Cristalográficos, Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra (IACT, CSIC-UGR), Armilla (Granada) - Spain

³ Farmacologia - Dipartimento di Scienze della Salute - Università del Piemonte Orientale, Novara

Introduzione. Le nanoparticelle (NPs) biomimetiche rappresentano ottime piattaforme multifunzionali per la diagnostica e per la terapia mirata contro i tumori. In particolare, i nanocristalli di idrossiapatite sono interessanti nanocarriers grazie alla loro semplice sintesi, basso costo di produzione, buona biocompatibilità, facile funzionalizzazione della superficie e solubilità relata al pH. In questo lavoro abbiamo valutato l'efficienza di NP di questo tipo per la veicolazione anticorpo-mediata di doxorubicina verso un target tumorale specifico.

Materiali e metodi. I nanocristalli di idrossiapatite sono stati preparati mediante decomplessamento termico di soluzioni metastabili di Ca/citrato/fosfato/carbonato e funzionalizzate mediante adsorbimento isoteramico con un anticorpo monoclonale (mAb) contro il marker tumorale c-Met e con la doxorubicina. Le NPs sono anche state funzionalizzate con la fluoresceina-5-isotiocianato (FITC) e con il mAb. Dopo la caratterizzazione chimico-fisica, l'immunocompetenza delle NPs è stata dimostrata con western blot, gli effetti sulla vitalità cellulare tramite MTT in cellule umane GTL-16 (Met⁺) e Huh-7 (Met⁺) e il "tracking" intracellulare delle NPs seguito in citofluorimetria e microscopia confocale.

Risultati. Le NPs funzionalizzate con il mAb legano in modo selettivo e vengono internalizzate solo da cellule esprimenti Met con una cinetica rapida. La funzionalizzazione con la doxorubicina permette una efficace veicolazione all'interno della cellula del farmaco, una sua rapida localizzazione a livello nucleare ed un rapido e selettivo effetto citotossico.

Discussione e conclusioni. Questo lavoro dimostra che queste NPs multifunzionali possono rappresentare utili strumenti per un drug delivery selettivo anche per futuri studi in vivo. Le differenti funzionalizzazioni che si possono ottenere suggeriscono interessanti prospettive per l'utilizzo delle nanoparticelle di idrossiapatite in teragnostica e in nanomedicina.