

Progetto di ricerca: Diagnosi precoce del Cancro al Colon Retto: asse interattivo “microbiota intestinale - acidi biliari - Notch signaling”

Studi epidemiologici hanno evidenziato un'elevata correlazione tra alterazioni nel contenuto fecale di acidi biliari secondari (desossicolico e litocolico), disbiosi e insorgenza del cancro al colon retto (CRC). Gli acidi biliari secondari si formano nel colon a partire dai primari, in seguito a deconiugazione seguita poi da 7α -deidrossilazione, reazioni catalizzate da specifici enzimi batterici presenti solo nel microbiota intestinale. Recenti studi hanno evidenziato che gli acidi biliari sono agonisti specifici di recettori espressi a livello intestinale ed epatico (TGR5 e FXR), quindi in grado di modulare vie di segnalazione come veri e propri ormoni, alcune delle quali coinvolte nello sviluppo del CRC (i.e. Wnt). Inoltre, è stato osservato che l'attivazione aberrante della via di segnalazione mediata dal recettore transmembrana Notch1 presente negli enterociti è coinvolta nelle fasi iniziali del CRC, ma non è noto il meccanismo d'induzione.

Il progetto dell'Assegno di Ricerca prevede di indagare il crosstalk tra gli acidi biliari e il “Notch signaling” su cellule umane di adenocarcinoma intestinale. In parallelo, si propone di determinare il contenuto degli acidi biliari (primari e secondari) e valutare l'attività degli enzimi batterici del microbiota intestinale coinvolti nella formazione degli acidi biliari secondari nelle feci di soggetti arruolati in uno studio clinico già in atto presso l'Ospedale Sant'Orsola Malpighi (soggetti con polipi iperplastici, adenomatosi di basso e alto grado e tumore conclamato) e, inoltre, valutare l'espressione dei recettori Notch e dei ligandi specifici in campioni biotici dei soggetti studiati. I biomarcatori identificati potranno essere implementati nella realizzazione di nuovi dispositivi per la diagnostica, da associare a quelli usati per la ricerca del sangue occulto fecale, per effettuare analisi rapide e sensibili e offrire un ulteriore efficace intervento per l'individuazione precoce di lesioni pre-tumorali o tumorali, con un impatto sicuramente favorevole sulla sopravvivenza dei soggetti sottoposti allo screening per il CRC.

Piano di attività

Il piano di attività prevede che il titolare dell'assegnato di ricerca si occupi di diverse fasi del progetto:

- i) Sviluppo di un metodo bioanalitico per valutare nelle feci l'attività di enzimi batterici della microflora intestinale (idrolasi degli acidi biliari e 7α -deidrossilasi), coinvolti nella formazione degli acidi biliari secondari.
- ii) Studio preclinico su cellule umane di adenocarcinoma del colon (Caco2 e HT29) per valutare il meccanismo d'azione degli acidi biliari nell'attivazione della segnalazione mediata da recettori Notch (attraverso Western Blot e Real Time PCR).
- iii) Studio clinico su soggetti con lesioni pre-cancerose (polipi iperplastici e adenomi di basso e alto grado) o cancerose nel colon retto. Nelle feci dei soggetti verrà valutato il contenuto degli acidi biliari nelle feci (attraverso HPLC-ESI MS/MS) e l'attività degli enzimi batterici della microflora intestinale coinvolti nella formazione degli acidi biliari secondari (attraverso il metodo bioanalitico messo a punto precedentemente) mentre nei campioni biotici l'espressione genica dei ligandi specifici dei recettori Notch (attraverso tecniche convenzionali di immunocistochimica e l'utilizzo di proteine ricombinanti bioluminescenti ottenute con tecniche di bioingegneria da colture di cellule d'insetto), al fine di sviluppare nuovi metodi diagnostici e terapeutici.