Progetto di ricerca **“Studio del profilo di genotossicità e dell’attività chemiopreventiva di nuovi derivati della curcumina”**

Tutor: Dott.ssa **Francesca Maffei**

**Introduzione**

Tra le malattie non trasmissibili, i tumori rappresentano la seconda causa di morte nel mondo e, sebbene negli ultimi anni siano stati compiuti considerevoli progressi in ambito di prevenzione e cura, una persona su sei è destinata a non sopravvivere in seguito ad una diagnosi di tumore (WHOa). Nonostante gli ingenti sforzi compiuti nella ricerca di terapie efficaci, la chemioterapia antitumorale rimane fortemente limitata dal basso indice terapeutico della maggior parte dei farmaci antitumorali e dall’insorgenza di chemioresistenza (Arcangeli, 2012). Di conseguenza, gli sforzi per migliorare la terapia antineoplastica si sono concentrati sullo sviluppo di strategie innovative capaci di superare la resistenza tumorale, nonché minimizzare gli effetti tossici sulle cellule normali.

La carcinogenesi è un processo multifattoriale e multifasico che prevede la trasformazione di cellule normali in cellule tumorali attraverso tre fasi consequenziali: iniziazione, promozione e progressione (Block, 2015). L'iniziazione è la prima e irreversibile fase in cui eventi genetici o epigenetici influenzano il genoma cellulare, producendo il potenziale per lo sviluppo del tumore. Le mutazioni coinvolgono uno o più geni che controllano i principali percorsi cellulari regolatori. Queste alterazioni possono insorgere spontaneamente o possono essere indotte dall'esposizione a un agente cancerogeno. La cellula iniziata può rimanere silente finché segnali chimici o altri eventi non promuovano la sua espansione clonale durante la fase di promozione. La promozione è la seconda fase della carcinogenesi, è un processo reversibile che non coinvolge la struttura del genoma, ma piuttosto la sua espressione. L'ultima fase della carcinogenesi è la progressione, in cui le cellule sviluppano il fenotipo maligno. Le cellule acquisiscono caratteristiche aggressive, come la capacità di invadere i tessuti locali, metastatizzare e promuovere l'angiogenesi. La dimensione del tumore aumenta e le cellule possono accumulare ulteriori mutazioni che portano a una popolazione cellulare eterogenea (Block, 2015).

Ogni singola fase del processo cancerogenetico rappresenta un possibile bersaglio di intervento e l'identificazione e la caratterizzazione di agenti in grado di invertire, ritardare o inibire il processo cancerogeno ha lo stesso valore terapeutico di un farmaco in grado di eliminare tumori conclamati. Infatti, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha indicato la prevenzione del cancro della mammella come un approccio terapeutico fattuale (WHOb).

I prodotti di origine naturale sono in grado di intervenire sia nelle prime fasi della carcinogenesi agendo come agenti chemiopreventivi, sia nelle fasi più tardive agendo da agenti chemioterapici. Ad esempio, la curcumina, un polifenolo contenuto nel rizoma della *Curcuma longa* L., è uno dei prodotti naturali più studiati, grazie alla sua efficacia sia per la prevenzione che per il trattamento di un ampio numero di patologie croniche e multifattoriali, imputabile alla sua attività antiossidante e antinfiammatoria associata a un buon profilo di sicurezza. Il particolare profilo pleiotropico, principalmente dovuto alla concomitante modulazione di diversi bersagli biologici strutturalmente non correlati, risulta particolarmente adatto per contrastare patologie complesse, come il cancro (Noorafshan 2013). In particolare, si ritiene che il sistema carbonilico α, β-insaturo della curcumina, interagendo con i residui di cisteina delle proteine, sia coinvolto nella bioattività di questa molecola (Pisano 2010; Young-I 2018). In tale contesto, questo composto naturale, considerato come struttura *lead*, è stato ampiamente utilizzato nella chimica farmaceutica per la sintesi di nuove molecole bioattive, in grado di inibire efficacemente un singolo bersaglio molecolare o modulare concertatamente diverse risposte cellulari.

**Obiettivi e Metodi**

 L’obiettivo del progetto è valutare il potenziale chemiopreventivo e delineare il profilo tossicologico *in vitro* di alcuni derivati sintetici della curcumina sintetizzati *ad hoc* per migliorare l’interazione tra il sistema carbonilico α, β-insaturo e i residui cisteinici delle proteine bersaglio. Lo studio verrà realizzato su una linea cellulare leucemica (CEM) e inizierà analizzando il potenziale citotossico di sei diversi derivati della curcumina. Il composto più promettente in termini di IC50 (concentrazione che inibisce del 50% la vitalità cellulare) sarà poi selezionato per le successive fasi dello studio. Sarà studiato il meccanismo d’azione a livello cellulare e molecolare. In particolare, si indagherà quale tipo di morte cellulare il derivato promuova, programmata (apoptosi) o non programmata (necrosi); l’effetto sulla progressione del ciclo cellulare e sui livelli delle proteine coinvolte nella regolazione dell'apoptosi e/o del ciclo cellulare.

La seconda parte del progetto sarà dedicata alla valutazione del profilo tossicologico del derivato in termini di genotossicità ed eventualmente mutagenicità. Nel caso in cui i risultati mostrino assenza di danno al DNA, il potenziale chemiopreventivo del composto sarà indagato analizzandone il potenziale genoprotettivo contro diversi mutageni noti di riferimento.

Tutte le analisi saranno condotte per via citofluorimetrica utilizzando specifici reagenti. I composti in studio verranno testati a diversi livelli di concentrazione e la loro attività sarà comparata a quella di composti antitumorali standard, utilizzati come controlli positivi.

**Risultati attesi**

 Si prevede, dopo una prima fase di attività, di presentare i risultati ottenuti mediante comunicazioni a congressi e pubblicazioni su riviste specializzate.

**Piano di Attività**

 Formazione di un ricercatore in grado di operare nel campo della ricerca farmaco-tossicologica applicata allo sviluppo di nuove strategie farmacologiche in ambito oncologico, di utilizzare metodologie e strumentazioni avanzate, di saper affrontare le problematiche connesse alle varie fasi del progetto di ricerca tramite la messa a punto di metodiche idonee alla loro risoluzione.

Acquisizione da parte del beneficiario dell’assegno di competenze e tecnologie applicabili alla ricerca farmaco-tossicologica pre-clinica.

Acquisizione di metodiche citofluorimetriche innovative per valutare gli effetti cellulari e molecolari dei composti in studio.

Il ricercatore, acquisite le informazioni farmaco-tossicologiche dei composti in studio, sarà in grado di avanzare ipotesi sul loro potenziale sviluppo in ambito oncologico.

**Bibliografia**

Arcangeli (2012). Med Chem 19:683

Block (2015). Seminar Cancer Biol 35:S276

Noorafshan (2013). Curr Pharm Des 19(11):2032

Pisano (2010). Mol Cancer. 9:137.

Whoa: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>

Whob: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/254500/1/9789241511940-eng.pdf>

Young-I (2018). Sci Rep. 8(1):6409