

Meeting

IBIM-CNR STEBICEF-UNIPA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PALERMO



LIBRO degli ABSTRACT

BIO
TECNOLOGIE
RICERCA DI BASE
INTERDISCIPLINARE
TRASLAZIONALE
IN AMBITO BIOMEDICO



ELGA

eppendorf



PALERMO 27-28 GIUGNO 2013

Area della Ricerca di Palermo Via Ugo La Malfa 153

formazione e maturazione dell'autofagosoma, ha dimostrato che il WIN è in grado di incrementare i livelli di LC-3, e in particolare quelli della forma matura LC-3II.

I livelli incrementati di LC3-II possono essere associati tanto a un aumento della sintesi degli autofagosomi, che a un ridotto turnover della proteina dovuto ad un blocco dell'autofagia. Per meglio interpretare l'andamento del flusso autofagico, abbiamo analizzato i livelli di LC3-II nel tempo in presenza di WIN e di inibitori di proteasi lisosomiali. LC3-II continua ad incrementare fino a 72 ore senza mai decrementare, indicando un possibile blocco del flusso autofagico a livello della formazione degli autofagolisosomi e impedendone, di fatto, il completamento. Tale evento innescherebbe, quindi, l'attivazione del percorso apoptotico caspasi-dipendente. Questa ipotesi sembra trovare conferma nell'impiego della 3-metiladenina, un inibitore della fase precoce dell'autofagia, che incrementa gli effetti citotossici del WIN.

Effetto citotossico di un nuovo inibitore delle deacetilasi istoniche, JAHA, su cellule di tumore mammario umano triplo negativo.

M. Librizzi¹, A. Longo¹, R. Chiarelli¹, J. Amin², J. Spencer³, E. Tobiasch⁴, C. Luparello¹.

1. Dipartimento STEBICEF, Università di Palermo, 2. School of Science at Medway, University of Greenwich (UK), 3. Department of Chemistry, University of Sussex (UK), 4. Department of Natural Sciences, University of Applied Science, Bonn-Rhein-Sieg (D).

E' noto come gli inibitori delle deacetilasi istoniche (HDACi) rivestano un ruolo sempre più centrale come agenti antitumorali efficaci nel trattamento di numerosi tumori. Tra gli HDACi di nuova sintesi, JAHA (Jay Amin hydroxamic acid) è un analogo organometallico del SAHA (suberoylanilide hydroxamic acid) [1] contenente un gruppo ferrocene. Nel presente studio è stato valutato l'effetto di JAHA sulla linea cellulare MDA-MB231 da tumore mammario triplo negativo. In un primo set di esperimenti, è stato valutato l'effetto dose/tempo dipendente del trattamento con JAHA sulla vitalità e proliferazione delle cellule MDA-MB231 mediante saggio MTT. I dati ottenuti mostrano che dopo 72 h di esposizione JAHA esercita un'azione citotossica sulle cellule MDA-MB231 con un valore di IC₅₀ pari a 8,45 µM. Pertanto, si è proceduto alla valutazione citofluorimetrica di diversi parametri di danno/morte cellulare quali: la potenziale esternalizzazione della fosfatidilserina, l'accumulo di *Acidic Vesicular Organelles* (AVO) come marcatori autofagici, l'analisi del ciclo cellulare, e infine l'incremento di specie reattive dell'ossigeno (ROS) in tali condizioni di trattamento con JAHA. Inoltre, analisi di Western blot sono state eseguite per esaminare l'espressione di proteine associate all'autofagia [2]. I risultati hanno dimostrato che il trattamento con JAHA induce una morte cellulare di tipo non apoptotico, e un'alterazione della proliferazione cellulare, caratterizzata da un accumulo di cellule nelle fasi G₁ e subG₀ del ciclo cellulare. I risultati più interessanti sul meccanismo d'azione di JAHA riguardano la sua capacità di indurre una precoce produzione di ROS seguita da una dissipazione del potenziale di membrane mitocondriale e dall'inibizione del processo autofagico; tali risultati sono stati confermati dalla reversione dell'effetto citotossico ottenuto dal co-trattamento con un anti-ossidante (butilidrossitoluene) e con uno stimolatore dell'autofagia (rapamicina). Uno "scratch assay" è stato inoltre eseguito per misurare la migrazione delle cellule trattate per 24 h con JAHA 8,45 µM rispetto al controllo. Indicazioni preliminari suggeriscono che JAHA non ha alcun effetto sul comportamento motile delle cellule tumorali MDA-MB231. Alla luce di tali risultati, JAHA appare essere un promettente potenziale agente chemioterapico per il trattamento del cancro al seno triplo-negativo. Lavoro finanziato da fondi ex60% (Uni. Palermo), Vigoni 2011 a C.L., e FHprofUnt, FKZ:03FH012PB2, FH-Extra, FKZ:z1112fh012, PPP Vigoni, FKZ:54669218, BMBF-AIF, FH3, FKZ:1720X06 ad E.T.

Bibliografia: [1] Spencer J. et al. *Synthesis and biological evaluation of JAHAs: ferrocene-based class I histone deacetylase inhibitors*. ACS Med Chem Lett 2011; 2: 358-62; [2] Librizzi M. et al. *Cytotoxic effects of Jay Amin hydroxamic acid (JAHA), a ferrocene-based class I histone deacetylase inhibitor, on triple-negative MDA-MB231 breast cancer cells*. Chem. Res. Toxicol. 2012; 25: 2608-2616.

MBP-1 reprime l'espressione di N-MYC e svolge il ruolo di oncosoppressore in cellule di Neuroblastoma umano LAN5.

V. Lo Iacono¹, A. Giallongo², S. Feo^{1,2}.

1. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF), Università di Palermo, Viale delle Scienze, Ed. 16, Palermo 190128, Italy. 2. Istituto Di Biomedicina e Immunologia Molecolare, CNR, Via Ugo La Malfa 153, Palermo, I-90146, Palermo, Italy. valentina.loiacono@uniap.it

Il Neuroblastoma, derivato da cellule neurali simpatiche primitive, è il tumore solido extracranico più comune dell'infanzia. L'amplificazione del gene N-MYC insieme a delezioni nel cromosoma 1p36, sono i marcatori molecolari più frequenti nel Neuroblastoma e sono associati a cattiva prognosi. MBP-1, prodotto alternativo della traduzione dell'mRNA del gene ENO1, è un repressore trascrizionale e agisce direttamente sul promotore dei geni c-MYC, ERBB2 e COX2 [1-3]. In cellule di Neuroblastoma è stato osservato che l'espressione ectopica di ENO1/MBP-1 causa induzione di apoptosi e morte cellulare [4]. Sebbene esistano similarità di struttura e funzionali tra i geni N-MYC e c-MYC non è noto se MBP-1 sia in grado di reprimere la trascrizione anche del gene N-MYC. Per investigare questa possibilità, una serie di plasmidi reporter (luciferasi), contenenti varie porzioni del promotore di N-MYC, è stata usata in esperimenti di trasfezione in cellule di Neuroblastoma con N-MYC amplificato (LAN-5) insieme a un vettore di