

Aspetti tecnici e traslazionali delle analisi di miRNA negli studi di tossicologia regolatori

M. Giachelia, V. di Biase, V. Spedaletti

Laboratorio Genechron - Ylichron srl - C.R. ENEA Casaccia, S. Maria di Galeria (Roma), Italy

Nell'ambito della tossicologia traslazionale, nuovi biomarcatori in grado di predire precocemente eventuali modificazioni fisiopatologiche di specifici organi bersaglio risultano oggi indispensabili per il rapido trasferimento di un farmaco dall'animale all'uomo.

Sulla base delle nuove conoscenze nell'ambito biologia moderna, la ricerca ha iniziato recentemente a focalizzare la sua attenzione su biomarcatori genetici ed epigenetici in grado di determinare il modo in cui una sostanza chimica altera la funzione dei geni all'interno di una cellula, la risposta biologica che ne consegue e le reazioni che essa provoca sul tessuto o sul relativo organo. Grazie alla loro elevata specificità, i microRNA (miRNA) rappresentano in tal senso i migliori candidati come biomarcatori epigenetici di tossicità.

I miRNA sono brevi segmenti di RNA (19-24 nucleotidi) non codificanti, in grado di regolare RNA messaggeri e proteine. La ricerca effettuata su diverse patologie come quelle neuromuscolari, cardiovascolari e oncologiche ha dimostrato che i miRNA svolgono un ruolo nella patogenesi di numerose malattie e che possono essere utilizzati sia come biomarcatori sia come agenti terapeutici. Sempre più dati, inoltre, indicano che la loro espressione può essere influenzata da diversi agenti tossici o come conseguenza di alterazioni a carico di specifici organi e tessuti, suggerendo un ruolo importante dei miRNA anche nell'ambito tossicologico. La loro elevata stabilità sia nei tessuti che nei fluidi biologici infine, li rende estremamente promettenti come biomarcatori facilmente analizzabili sia in modelli animali che sull'uomo. Numerosi dati di letteratura e applicazioni pre-cliniche hanno dimostrato come diversi miRNA siano validi biomarcatori di cardio-, nefro- ed epato-tossicità, tanto da essere inseriti all'interno di trial clinici.

Le tecnologie più utilizzate per l'analisi dei miRNA sono attualmente microarray, Next Generation Sequencing (NGS) e RT-PCR quantitativa (qPCR). Allo stato attuale, tuttavia, la qPCR è considerata il metodo migliore per la quantificazione dei miRNA per rapidità, riproducibilità e costi.

Come società impegnata nello sviluppo e nel trasferimento tecnologico di nuove metodologie, Ylichron ha messo a punto e validato in GLP un saggio di qPCR volto alla quantificazione di 3 miRNA muscolo-specifici (miR-1, miR-133 e miR-206) in siero umano. La metodica è stata utilizzata all'interno di un trial clinico per monitorare la risposta dei pazienti ad un farmaco e può essere facilmente applicata al monitoraggio del danno muscolare anche nell'ambito della cardio-tossicità. Saranno descritte le principali caratteristiche del metodo validato da Ylichron, le sue possibili applicazioni nella tossicologia traslazionale e l'impatto che simili biomarcatori potranno avere sulle future evoluzioni della tossicologia.