

L'INIBIZIONE CON MORINA DELLA TIROSINA FOSFATASI A BASSO PESO MOLECOLARE (LOW MOLECULAR WEIGHT PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE (LMW-PTP)) DIMINUISCE LA RESISTENZA ALL'APOPTOSI DURANTE LA CANCEROGENESI DEL COLON: STUDI IN VITRO E IN VIVO, IN UN MODELLO GENETICO DI CANCEROGENESI INTESTINALE

Caderni G.¹, Paoli P.², Lori G.², Femia A.P.¹, Pranzini E.², Tortora K.¹, Romagnoli A.¹, Raugei G.².

¹ *Dipartimento NEUROFARBA, Sezione di Farmacologia e Tossicologia, Università di Firenze*

² *Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche "Mario Serio", Università di Firenze*

Il cancro del colon-retto (CRC), si sviluppa con un processo multifasico, le cui tappe sono caratterizzate dall'acquisizione di alterazioni genetiche/epigenetiche che possono portare all'attivazione/over-espressione di proteine con attività oncogenica. Tra queste, la tirosina fosfatasi a basso peso molecolare (low molecular weight protein tyrosine phosphatase (LMW-PTP)), è stata recentemente implicata nello sviluppo di vari tumori tra cui il CRC. Infatti, aumentati livelli di espressione sono stati trovati nel CRC e in altre forme di tumori (1). *In vitro*, LMW-PTP interagisce con proteine coinvolte nella cancerogenesi del colon come la β -catenina e il PDGFR. Recentemente, studi su cellule tumorali, hanno suggerito che la LMW-PTP sia implicata nel controllo dell'apoptosi, nella motilità cellulare e nella resistenza alla chemioterapia (2). Le mutazioni del gene *Apc*, sono considerate eventi precoci nello sviluppo del CRC. Infatti, mutazioni germinali in *Apc*, (come nella poliposi adenomatosa familiare (FAP)), predispongono la mucosa intestinale allo sviluppo di centinaia di polipi adenomatosi che progrediscono a cancri se non vengono rimossi. Mutazioni in *Apc* sono anche molto frequenti nei CRC sporadici. Il ratto Pirc (F344/NTac^{-Apc am1137}), mutato in *Apc*, sviluppa spontaneamente tumori nel colon con un processo multifasico simile alla patologia umana (3). La mucosa apparentemente normale (NM) di questi ratti è resistente all'azione citotossica di cancerogeni come la 1,2-dimethylhydrazina (DMH), indicando come la resistenza all'apoptosi non sia solo una caratteristica delle cellule cancerose ma sia anche presente nelle fasi molto precoci della cancerogenesi colica, quale può essere considerata la NM di questo ratto. Data la possibile associazione tra LMW-PTP e resistenza alla chemioterapia, e il fatto che il ruolo della LMW-PTP nella cancerogenesi *in vivo* non è ben chiaro, abbiamo studiato LMW-PTP nel ratto Pirc, geneticamente suscettibile al CRC e resistente all'apoptosi. Abbiamo osservato che la mucosa normale del Pirc, mostra una fortissima over-espressione della LMW-PTP rispetto al ratto wt (circa 60 volte più alta). I livelli di espressione aumentano ulteriormente quando si considerano i tumori del colon. Per capire se e come la LMW-PTP influenzi la resistenza all'apoptosi abbiamo studiato linee cellulari di CRC (HT29, HCT-116 e Caco2), osservando che le cellule resistenti al 5-Fluorouracile (5-FU) over-esprimono LMW-PTP rispetto alla controparte sensibile. Quando le cellule resistenti venivano trattate con il flavonoide Morina, si osservava una veloce down-regolazione della LMW-PTP, dipendente dalla dose. Il trattamento combinato con 5-FU e Morina diminuiva significativamente la vitalità cellulare, aumentava la risposta apoptotica e diminuiva la capacità di formare colonie nelle linee resistenti. L'effetto della Morina è stato quindi verificato *in vivo* nei ratti Pirc, dove abbiamo osservato che il trattamento con Morina (50 mg/kg) per una settimana, down-regolava la LMW-PTP e ristabiliva la risposta apoptotica al 5-FU che in questi ratti, così come osservato con la DMH, era difettosa. In fine, somministrando cronicamente Morina per 6 settimane abbiamo osservato una riduzione significativa della cancerogenesi colica, con una down-regolazione della LMW-PTP e un aumento dell'apoptosi nei tumori degli animali trattati con Morina. In conclusione questi risultati documentano il coinvolgimento della LMW-PTP nello sviluppo del CRC *in vitro* e *in vivo*. Il

trattamento con Morina può essere ipotizzato come strategia per aumentare la sensibilità ai chemioterapici e per prevenire la cancerogenesi del CRC.

1: Raugei et al., *Cell Mol Life Sci*; 2002; 59:941-9. **2:** Hoekstra et al., *Oncotarget*; 2015; 6:8300-12.

3: Femia et al., *Int J Cancer*; 2015; 136:488-95.