

Titolo Progetto: Efficacia dell'inibitore Vemurafenib nel trattamento anaplastico della tiroide: valutazione in vivo in modelli di topo atimico

Soggetto proponente: DI CAIRANO GIOVANNI

Descrizione Progetto: Obiettivi / Finalità

Effettuare esperimenti in vivo in topi atimici NU/NU per verificare l'efficacia del trattamento con Vemurafenib nel trattamento del cancro anaplastico della tiroide. Il trattamento verrà somministrato da solo ed in combinazione con TRAIL intraperitoneo dopo inoculo sotto cute di cellule tumorali HTH7

Indicazione del Responsabile Progetto

DI CAIRANO GIOVANNI

Il Responsabile del Progetto (programma o fase di esso) garantisce il rispetto delle modalità di espletamento della collaborazione oggetto del contratto stesso, al solo fine di valutare la rispondenza del risultato con quanto richiesto e la sua funzionalità rispetto agli obiettivi prefissati.

Eventuale descrizione COMPLESSIVA Progetto Obiettivo / Finalità

Il progetto dal titolo "Efficacia dell'inibitore Vemurafenib nel trattamento anaplastico della tiroide: valutazione in vivo in modelli di topo atimico", per cui è richiesto il conferimento di un incarico di lavoro autonomo di natura occasionale, rientra in un progetto più ampio dal titolo "Ruolo combinato degli inibitori tirosin chinasi e di TRAIL nel trattamento sperimentale del cancro anaplastico della tiroide" e ne rappresenta la parte conclusiva. Premessa: Il cancro anaplastico della tiroide (ATC) è raro ma rappresenta il più aggressivo dei tumori maligni tiroidei ed ha una prognosi altamente infausta. L'ATC è refrattario al trattamento convenzionale, come la terapia con iodio radioattivo, e non presenta una buona risposta alla chemioterapia o radioterapia. I significativi progressi nell'identificazione di alterazioni genetiche/epigenetiche nelle cellule tumorali ti-roidee hanno dato l'opportunità di sviluppare nuovi farmaci diretti verso bersagli specifici (ad esempio gli inibitori della chinasi come Sorafenib o Imatinib) ed i risultati di vari studi di fase II sono molto promettenti. Nessuno dei pazienti trattati, tuttavia, ha presentato una risposta completa, e solo una minoranza di loro ha avuto una risposta parziale accompagnata da significativa tossicità. TRAIL è un membro della famiglia del TNF e può indurre apoptosi in vari tipi di cellule tumorali con scarso o nessun effetto sulle cellule normali. A causa di questa selettività, TRAIL rappresenta un agente promettente per la terapia antitumorale. Risultati preliminari ottenuti nel nostro laboratorio: Nel nostro laboratorio abbiamo selezionato 4 linee cellulari derivate da ATC (C643, CAL62, HTH7 e 8505c) che presentano mutazioni a carico del gene RAS e BRAF con conseguente iperattivazione delle vie di segnale delle MAP chinasi (MAPK) e di PI3K/Akt. Abbiamo testato queste linee cellulari per la suscettibilità all'apoptosi indotta da TRAIL, misurando l'attivazione della caspasi-3. Le cellule C643, CAL62 e

HTH7 sono risultate sensibili mentre le cellule 8505C fortemente resistenti anche alla massima dose impiegata di TRAIL (100 ng/ml). Al fine di aumentare la sensibilità di queste linee cellulari all'apoptosi indotta da TRAIL, abbiamo associato al trattamento con TRAIL un inibitore delle Tirosin chinasi con effetto in particolare sulla via di BRAF: Vemurafenib. Nei nostri esperimenti, vemurafenib si è dimostrato efficace nell'aumentare in maniera significativa l'apoptosi indotta da TRAIL sia nelle cellule resistenti che in quelle sensibili. Infine, abbiamo osservato che TRAIL è in grado di rallentare la crescita tumorale in un modello murino di xenotrapianto di ATC quando viene impiegata una linea cellulare sensibile (ad es. HTh7) mentre non modifica l'andamento del tumore se viene utilizzata la linea cellulare resistente (8505C) confermando i risultati preliminari in vitro. Rimane da testare, come parte conclusiva del progetto, l'effetto di Vemurafenib in vivo da solo ed in combinazione con TRAIL.

Dovranno essere indicate le fasi/sottofasi e i tempi di realizzazione del progetto (arco di tempo complessivo). Si richiede di prevedere i tempi di realizzazione anche per le fasi del progetto che si estendono oltre l'anno, anche se in modo meno puntuale.

Nell'ultima colonna devono essere indicati i risultati che si intende raggiungere per ciascuna fase. Il numero delle fasi deve essere proporzionato alla durata del contratto di collaborazione.

	Descrizione fasi e sottofasi Progetto	Tempi di realizzazione (n. giorni)	Obiettivi delle singole fasi
1	Fase Unica: Animali (topi nudi (NUD/NUD) verranno inoculati con cellule tumorali HTH7. La crescita del tumore sarà valutata e misurata mediante calibro. I topi nudi saranno suddivisi in gruppi da 7 animali secondo lo schema riportato: 1. Gruppo I: inoculo sottocute di 100 µl di fisiologica contenente 6x10 ⁶ cellule di carcinoma anaplastico tiroideo umano hth7, trattati intraperitoneo con fisiologica. 2. Gruppo II: inoculo sottocute di 100 µl di fisiologica contenente 6x10 ⁶ cellule di carcinoma anaplastico tiroideo umano hth7, trattati con TRAIL (50 µg/dose intraperitoneo). 3. Gruppo III: inoculo sottocute di 100 µl di fisiologica contenente 6x10 ⁶ cellule di carcinoma anaplastico tiroideo umano hth7, trattati intraperitoneo con vemurafenib (30 mg/Kg). 4. Gruppo IV: inoculo sottocute di 100 µl di fisiologica contenente 6x10 ⁶ cellule di carcinoma anaplastico tiroideo umano hth7, trattati intraperitoneo con TRAIL (50 µg/dose) in combinazione con vemurafenib (30 mg/Kg). Quantificazione massa tumorale e sacrificio degli animali: Ogni due giorni sarà valutata la dimensione dei tumori mediante l'utilizzo di un calibro (tecnica che permette la valutazione direttamente nei locali dello stabulario senza allontanamento dell'animale), con misurazioni	20	Verificare l'efficacia di Vemurafenib da solo ed in combinazione con TRAIL nel trattamento del cancro anaplastico della tiroide

dei diametri perpendicolari della massa tumorale. Ai fini del contenimento i topi si appoggiano su di una superficie ruvida, e presa una plica di cute subito dietro le orecchie, all'altezza della nuca, tra l'indice e il pollice di una mano, con l'altra mano si prende la base della coda. Il topo viene trattenuto in questa posizione, mentre un secondo operatore procede alla misurazione del tumore. Il volume del tumore sarà valutato usando la formula $V = \frac{A \times B^2}{2}$ (A= diametro assiale, B= diametro rotazionale). Qualora il diametro raggiunga un massimo di 1,5 cm o in presenza di ulcerazioni, gli animali verranno sottoposti ad eutanasia.		
---	--	--

Durata Progetto [giorni]: 20

Il Proponente

Il Responsabile Progetto
per accettazione della responsabilità
