

Regolazione dell'ecdisteroidogenesi e dello sviluppo in *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) da parte del target della Rapamicina TOR

C. Scieuzo¹, M. Nardiello¹, R. Salvia¹, S. Laurino¹, G. Grossi¹, M. Petrone¹, A. Scala¹, M. Pezzi⁴, S. B. Vinson², H. Vogel³, F. Villani⁵, S. A. Bufo¹, P. Falabella¹

¹Università degli Studi della Basilicata - Dipartimento di Scienze; ²Texas A&M University - Department of Entomology; ³Host Plant Adaptation, Max Planck Institute for Chemical Ecology - Department of Entomology; ⁴Università degli Studi di Ferrara - Dipartimento di Scienze della vita e biotecnologie; ⁵TAB consulting Srl

Negli insetti lo sviluppo post embrionale è finemente regolato dal sistema neuroendocrino che prevede, in seguito a stimoli fisiologici, il rilascio, da parte del cervello, dell'ormone protoracicotropico (PTTH). Questo neuropeptide, stimolando le ghiandole protoraciche (PG), induce la sintesi di ecdisone. L'ecdisone, convertito a livello dell'emolinfa e del fat body nella sua forma attiva, il 20-OH-ecdisone, innesca una serie di cambiamenti che, in ultima istanza, conducono alla muta. Studi recenti hanno dimostrato che il pathway di segnalazione cellulare PI3K/Akt e, in maniera specifica, TOR (target of Rapamycin) è coinvolto nel processo di ecdisteroidogenesi in numerosi Ordini di insetti, compresi i Lepidotteri. TOR è una serin-treonin chinasi altamente conservata tra organismi filogeneticamente lontani coinvolta in numerosi processi cellulari di tipo anabolico, nel ciclo cellulare, nella migrazione cellulare e in alcuni aspetti relativi al sistema immunitario. La sua attività è regolata da numerosi stimoli, sia intra- che extra-cellulari, come ad esempio fattori di crescita, nutrienti e aminoacidi, dal livello energetico cellulare e da condizioni di stress a cui la cellula è sottoposta. Un suo malfunzionamento è stato osservato in alterazioni fisiopatologiche, quali disordini neuronali, diabete, ischemia e cancro. Il coinvolgimento di TOR nel processo di sintesi dell'ecdisone in *Heliothis virescens*, è stato analizzato mediante due differenti approcci. *In vitro*, in seguito a incubazione delle PG con PTTH e/o Rapamicina (inibitore di TOR), è stato valutato il titolo di ecdisone e il livello di fosforilazione dei due target di TOR, le proteine S6K e 4E-BP, attraverso un saggio immunoenzimatico (EIA) e immunochimico (western blot) rispettivamente. Il secondo approccio, *in vivo*, ha previsto la somministrazione, in diversi stadi larvali di *Heliothis virescens*, della Rapamicina dissolta nella dieta a differenti concentrazioni. E' emerso che il PTTH incrementa il livello di ecdisone prodotto e la fosforilazione dei due target di TOR, mentre la Rapamicina inibisce in maniera significativa tali processi. Ciò dimostra un diretto coinvolgimento del pathway di TOR nel processo di ecdisteroidogenesi. Inoltre, la somministrazione di Rapamicina per via orale ha evidenziato un rallentamento nella crescita e nell'inizio del processo di muta, con un notevole incremento nel tasso di mortalità. La via di segnalazione di TOR risulta essere pertanto coinvolta nella produzione di ecdisone in *H. virescens*, giocando altresì un ruolo fondamentale a livello sistemico.