

Titolo: Analisi del profilo metabolico e molecolare nella chemioresistenza del tumore ovarico.

Tutor: Prof.ssa Anna Maria Porcelli - Fabit

Stato dell'arte

Il carcinoma ovarico (OC) è il tumore ginecologico a più alto tasso di mortalità poiché non presenta sintomi e la sua diagnosi in circa l'80% dei casi è fatta quando la malattia è già in stadio avanzato. Nonostante l'approccio clinico standard di citoriduzione chirurgica seguita dalla chemioterapia combinata con composti del platino e taxano, circa l'80% dei pazienti sviluppa delle recidive con una sopravvivenza relativa a 5 anni solo del 20-30%. Vi è quindi una necessità cogente di comprendere i meccanismi biochimici e molecolari che regolano la chemioresistenza di questa patologia oncologica.

E'ormai ampiamente riportato che la riprogrammazione del metabolismo è un hallmark del cancro e che i mitocondri contribuiscono attivamente sia nella produzione di energia che nella biosintesi di macromolecole necessarie per la proliferazione e sopravvivenza delle cellule neoplastiche (1). Infatti, studi di biochimica e bioenergetica hanno chiaramente dimostrato che esistono sottogruppi tumorali con preferenza per la glicolisi o per il metabolismo ossidativo o per l'ossidazione degli acidi grassi (2). Queste osservazioni suggeriscono che l'analisi del profilo metabolico di un determinato tumore potrebbe permettere di identificare biomarcatori utili per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. Nel contesto del OC, il nostro gruppo ha precedentemente dimostrato che l'alterazione del metabolismo ossidativo rallenta la proliferazione delle cellule tumorali ovariche conferendo resistenza ai chemioterapici (3-4). Partendo da questa osservazione, lo scopo principale del progetto MoNARCHY (AIRC-IG24494) è quello di definire il profilo metabolico e molecolare del carcinoma ovarico nelle varie fasi della sua storia naturale e valutare se e come questo profilo è correlato con la chemioresistenza e quindi con l'insorgenza delle recidive.

Obiettivi del progetto di ricerca

Lo scopo di questo progetto di ricerca è di quello di definire il profilo metabolico e molecolare del carcinoma ovarico durante la sua naturale evoluzione. Questo permetterà di identificare nuovi biomarcatori e di correlarli con la resistenza alla chemioterapia.

Modalità di realizzazione

Il nostro gruppo di ricerca in collaborazione il Prof. G. Gasparre (U.O. Genetica Medica, DIMEC) e l'Unità di Ginecologia Oncologica (UOG-Dr.ssa AM. Perrone e Prof. P. De Iaco presso l'Unità di S. Orsola-Malpighi) da alcuni anni ha avviato lo studio MIPEO che prevede l'arruolamento di pazienti con OC e raccolta di campioni bioptici ai diversi stadi della malattia. Questo ci ha permesso di generare una biobanca che ad oggi è composta da circa 350 pazienti unmatched (220 campioni pre-chemio e 130 campioni post-chemio derivati da pazienti diversi) di cui 30 matched (tessuto pre- e post-chemio derivato dallo stesso paziente). Essendo UOG centro di riferimento per OC della Regione Emilia Romagna nel periodo 2021-2024 prevediamo di arruolare altri 480 pazienti unmatched di cui almeno 60 matched. Seguendo il protocollo MiPEO, verranno prelevati campioni chirurgici da pazienti con OC in diversi stadi: (i) al momento del debulking chirurgico, (ii) prima della chemioterapia neoadiuvante (laparoscopia diagnostica neoadiuvante), (iii) al momento del debulking chirurgico dopo chemioterapia neoadiuvante (intervento chirurgico di debulking ad

intervalli) e (iv) al momento della recidiva (recidiva diagnostica laparoscopica o chirurgia secondaria/terziaria).

Per ogni paziente, si utilizzerà il seguente protocollo: i) da ogni campione chirurgico di tumore primario e/o metastasi (carcinosi peritoneale) solide verrà dapprima prelevato il materiale necessario per la diagnosi e la stadiazione della malattia da parte dell'anatomopatologo. Il materiale restante di ogni campione verrà in parte crioconservato in azoto liquido per la successiva estrazione di proteine ed acidi nucleici per analisi molecolari e in parte utilizzato come materiale *ex vivo* per analizzare *in situ* i livelli di metaboliti; ii) da ogni ascite si otterrà mediante centrifugazione un pellet cellulare; tale pellet verrà risospeso in terreno di crescita per cellule ed una parte verrà crioconservato in azoto liquido e una parte mantenuta in coltura per i successivi studi biochimici e molecolari.

Piano formativo

Nell'ambito del progetto di ricerca, il piano di formazione prevede che il titolare dell'assegno di ricerca: 1) estenda la sua conoscenza delle tecniche molecolari e delle metodiche di biochimica e biologia cellulare; 2) acquisisca le competenze per la raccolta e gestione di campioni biotici interfacciandosi direttamente con UOG e in stretta collaborazione con gli altri componenti del team coinvolti nel progetto MoNARCHY; 3) acquisisca le competenze per l'analisi del metabolismo cellulare quale glicolisi, fosforilazione ossidativa e beta-ossidazione lipidica; 4) acquisisca le competenze per l'analisi molecolare di possibili regolatori responsabili del riprogramma metabolico; 5) accresca ulteriormente le sue competenze tecniche e scientifiche in un ambito multidisciplinare.

Specificamente il piano di formazione prevede che il candidato acquisisca esperienze riguardanti

1. L'applicazione di un protocollo per la manipolazione dei campioni biotici (solidi ed asciti)
Le competenze tecniche sono disponibili nel laboratorio del Tutor e del Prof. G. Gasparre (U.O. Genetica Medica, DIMEC)
2. L'utilizzo di protocolli per il mantenimento di colture cellulari 2D e 3D ottenute dagli asciti.
Le competenze tecniche sono disponibili nel laboratorio del Tutor
3. L'applicazione di metodiche biochimiche come sintesi di ATP, dosaggi spettrofotometrici per la determinazione dell'attività dei complessi respiratori, western blotting, determinazione di OCR e ECAR tramite SeaHorse. Le competenze tecniche sono disponibili nel laboratorio del Tutor
4. L'applicazione di protocolli di immunoistochimica per la valutazione di marcatori della glicolisi e del metabolismo ossidativo (GLUT1, MCT4, ATP5A e COI) e suoi regolatori (PGC1a e HIF1a). Le competenze tecniche sono disponibili presso il CRBA
5. L'applicazione di un protocollo per la determinazione dei livelli di metaboliti (quali lattato e glucosio) in campioni di OC *ex vivo*. Tale protocollo utilizza dei micro-biosensori enzimatici in microscopia ad elettroscansione. Le competenze tecniche sono disponibili nel laboratorio della Prof.ssa S. Rapino (Chimica-Ciamician)

La formazione dell'assegnista prevede anche la gestione di collaborazioni con gruppi di ricerca dell'ateneo quali U.O. Genetica Medica (Prof. G. Gasparre, DIMEC), il laboratorio della Prof.ssa S.

Rapino (Chimica-Ciamician) e i colleghi della UOG e CRBA. È prevista inoltre la partecipazione ai seminari del laboratorio e dipartimentali, congressi e workshop utili per lo svolgimento della ricerca.

Gruppo di Ricerca del Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FABIT)

Dr.ssa Anna Maria Porcelli (Professoressa ordinaria, Tutor della borsa di studio)

Dr.ssa Anna Ghelli (Professoressa associata)

Dr.ssa Luisa Iommarini (Professoressa associata)

Dr.ssa Manuela Sollazzo (Assegnista di Ricerca)

Dr.ssa Gaia Tioli (Assegnista di Ricerca)

Dr. Stefano Miglietta (Assegnista di Ricerca)

Sara Milioni (Dottoranda)

Luigi D'Angelo (Dottorando)

Iacopo Gherardi (Dottorando)

Relazione con progetti di ricerca finanziati nel laboratorio

MOnARCHY - Dissecting the Metabolic signature of high-grade serous OvARian cancer: a challenge to overcome CHemotherapY (AIRC IG-24494); PI: Prof. ssa Anna Maria Porcelli

Bibliografia

- [1] Hanahan D and Weinberg RA Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell 144, 2011
- [2] Gentric G, et al. PML-Regulated Mitochondrial Metabolism Enhances Chemosensitivity in Human Ovarian Cancers. Cell Metab. 2019; 29:156-173.e10
- [3] Girolimetti G, et al. Platinum-induced mitochondrial DNA mutations confer lower sensitivity to paclitaxel by impairing tubulin cytoskeletal organization. Hum Mol Genet.2017;26:2961–74
- [4] Perrone AM, et al. Potential Prognostic Role of 18 F-FDG PET/CT in Invasive Epithelial Ovarian Cancer Relapse. A Preliminary Study. Cancers.2019;11:713