

## **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 avviene quando la malattia è già in stadio avanzato. Nonostante l'approccio clinico standard di citoreduzione 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 la necessità di comprendere i meccanismi biochimici e molecolari che regolano la chemioresistenza di questa patologia oncologica.

È ormai ampiamente riportato come la riprogrammazione del metabolismo sia un tratto distintivo del cancro e che i mitocondri contribuiscano 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 sola glicolisi o per un metabolismo ossidativo del piruvato o 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 dell'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 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 A.M. Perrone e Prof. P. De Iaco, Policlinico Sant'Orsola-Malpighi) da alcuni anni ha avviato lo studio MIPEO che prevede l'arruolamento di pazienti con OC e raccolta di campioni biotipici ai diversi stadi della malattia. Inoltre, nel nostro laboratorio sono disponibili numerose linee cellulari di carcinoma ovarico. I campioni biotipici verranno utilizzati per estrarre proteine, acidi nucleici e metaboliti per studi biochimici e molecolari. Inoltre, verrà utilizzato un pannello di linee cellulari ovariche per definire il profilo bioenergetico prima e dopo l'acquisizione della resistenza al cisplatino. Inoltre, verranno definiti i determinati molecolari del profilo metabolico e in particolare si analizzerà il ruolo del fattore HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  e PGC-1 $\alpha$ , regolatori essenziali del metabolismo glicolitico ed ossidativo.

### **Piano formativo**

Nell'ambito del progetto di ricerca, il piano di formazione prevede che il titolare della borsa di studio: 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 da liquido ascitico. 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 immunostochimica per la valutazione di marcatori della glicolisi e del metabolismo ossidativo (GLUT1, MCT4, ATP5A e COI) e suoi regolatori (PGC1a e HIF1a/2a). 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 del titolare della borsa di studio 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 (Dip. 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 (Ricercatrice a tempo determinato tipo A)

Dr.ssa Gaia Tioli (Assegnista di Ricerca)

Sara Milioni (Dottoranda)

Luigi D'Angelo (Dottorando)

Iacopo Gherardi (Dottorando)

Pasqualina Tessitore (Assegnista)

### **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