



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Modulo richiesta borsa

TUTOR	Prof.ssa Francesca Fornari
--------------	-----------------------------------

TITOLO DEL PROGETTO	
Studio del ruolo della riprogrammazione metabolica nella resistenza al lenvatinib in modelli preclinici di HCC	
DESCRIZIONE DEL PROGETTO	
Stato dell'Arte e Razionale L'epatocarcinoma (HCC) rappresenta il principale tumore primario del fegato e la terza causa di mortalità per tumore nel mondo. L'HCC insorge nell'80% dei casi su fegato cirrotico ed i principali fattori di rischio sono le infezioni causate dai virus dell'epatite B e C (HBV e HCV), l'abuso di alcool e la steatosi epatica associata sindrome metabolica (MAFLD). A causa della diffusione sempre maggiore dell'obesità a livello globale, la MAFLD rappresenta il fattore eziologico in più rapida crescita nei paesi industrializzati. L'elevata mortalità di questo tumore è associata a diagnosi spesso tardiva, recidiva epatica nel 70% dei casi sottoposti a chirurgia e insorgenza precoce di farmaco-resistenza. Il tipo di opzione terapeutica per pazienti con HCC dipende dallo stadio in cui viene diagnosticato il tumore. In caso di diagnosi precoce, le opzioni terapeutiche comprendono resezione chirurgica, trapianto di fegato e ablazione percutanea. In caso di diagnosi ad uno stadio intermedio, la terapia di elezione per l'HCC è rappresentata dalla chemioembolizzazione transarteriosa. In caso di diagnosi tardiva, i trattamenti di prima linea sono l'immunoterapia e i farmaci a bersaglio molecolare sorafenib e lenvatinib. Negli ultimi dieci anni, la comunità scientifica ha assistito ad una vera e propria rivoluzione nell'ambito del trattamento di pazienti con HCC in stadio avanzato. In particolare, l'avvento dell'immunoterapia ha rappresentato una svolta nella gestione di questi pazienti, portando ad una risposta terapeutica prolungata nel tempo in un maggior numero di casi. I pazienti non elegibili al trattamento con gli inibitori dei checkpoint immunitari sono attualmente sottoposti al trattamento con i farmaci a bersaglio molecolare sorafenib e lenvatinib. Quest'ultimo si è dimostrato più efficace del sorafenib nella pratica clinica e sarà oggetto di questo progetto dove verranno caratterizzati i meccanismi metabolici coinvolti nella farmaco-resistenza al fine di proporre innovative strategie terapeutiche basate su inibitori del metabolismo cellulare. La riprogrammazione metabolica delle cellule tumorali è generalmente caratterizzata da un aumento della glicolisi aerobica (effetto Warburg), e spesso rappresenta un meccanismo chiave nella resistenza ai trattamenti antitumorali, favorendo la sopravvivenza cellulare e l'adattamento a condizioni di stress terapeutico. La caratterizzazione dei meccanismi molecolari sottostanti il fenomeno di farmaco-resistenza è di fondamentale importanza per lo sviluppo di nuovi bersagli terapeutici per potenziare l'efficacia di farmaci a bersaglio molecolare per il trattamento dell'HCC. L'interesse verso il targeting del metabolismo tumorale è ulteriormente supportato dall'avvio di numerosi trial clinici volti a valutare l'efficacia di inibitori metabolici in diverse neoplasie solide ed ematologiche, evidenziandone il potenziale traslazionale. I modelli <i>in vitro</i> rappresentati da linee cellulari di HCC hanno come limitazione l'assenza di eterogeneità tumorale e la crescita in 2D che non tiene conto dell'architettura della massa tumorale	



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

e del suo rapporto con il microambiente tumorale. In questo contesto, l'utilizzo di linee cellulari primarie derivate da paziente e cresciute in strutture tridimensionali come sferoidi e 'organoid-like structures' in matrigel consente di valutare sia differenti mutazioni driver presenti in pazienti con HCC che strutture cellulari complesse rappresentative della crescita *in vivo*.

Obiettivi

Questo studio si pone l'obiettivo di identificare e caratterizzare i meccanismi molecolari e biochimici alla base della riprogrammazione metabolica di modelli preclinici di HCC sottoposti a trattamento con lenvatinib. Nello specifico verranno utilizzate cloni cellulari resistenti al lenvatinib sottoposti a trattamento farmacologico o in seguito a washout, linee cellulari di HCC trattate con lenvatinib e linee primarie di HCC cresciute in modelli 3D. Verrà valutato il ruolo della plasticità metabolica nel fenomeno di farmaco-resistenza e verranno testati inibitori metabolici in combinazione con lenvatinib.

Risultati attesi

Questo progetto di ricerca consentirà di testare innovative strategie terapeutiche combinate basate sull'inibizione di specifici geni o pathway metabolici in associazione con lenvatinib, al fine di potenziare l'efficacia delle molecole esistenti per il trattamento di pazienti con HCC in stadio avanzato. Consentirà inoltre di identificare i meccanismi molecolari coinvolti nella riprogrammazione metabolica di cellule resistenti al lenvatinib, e di valutare la loro implicazione in importanti processi cellulari come l'invasione, la risposta all'ipossia e la resistenza allo stress ossidativo. L'utilizzo di modelli 3D derivati da pazienti potenzierà la traslabilità dei risultati che verranno validati anche su tessuti di pazienti con HCC e su coorti online come il TCGA dataset.

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DEL BORSISTA

L'assegnatario/a di borsa di studio valuterà attraverso saggi biochimici specifici il metabolismo di cloni cellulari resistenti al lenvatinib che verranno cresciuti sia in presenza che in assenza del farmaco al fine di valutare l'effetto della pressione farmacologica nella riprogrammazione metabolica. Al contrario, tramite una fase di washout verrà valutato se i medesimi cloni cellulari resistenti al lenvatinib modificano il proprio fenotipo cellulare e metabolico in assenza di farmaco, al fine di mimare la ripresa della malattia e l'insorgenza di recidiva tumorale. In collaborazione con il gruppo del Prof. Bergamini (Fabit), verrà valutato l'accumulo di glicogeno, di colesterolo e dei lipidi intracellulari, il consumo di ossigeno e la crescita in terreni selettivi. Il borsista eseguirà inoltre saggi per la valutazione della risposta allo stress ossidativo come saggio dei ROS (H₂O₂) e del glutatione. Inoltre, verrà valutata tramite analisi di Real Time PCR e di Western Blot l'espressione di geni legati alla risposta allo stress ossidativo, alla biogenesi mitocondriale, alla via glicolitica, alla sintesi di lipidi e beta-ossidazione.

Per quanto concerne l'effetto di inibitori metabolici specifici nella risposta al lenvatinib, il borsista valuterà la proliferazione cellulare tramite imaging in tempo reale con l'utilizzo dello strumento Incucyte e valuterà variazioni del metabolismo (consumo di ossigeno e acidificazione del mezzo di coltura) tramite lo strumento Seahorse. I dati ottenuti in vitro verranno validati su tessuti provenienti da modelli animali e da pazienti con HCC.

Le attività verranno svolte presso il centro di ricerca universitario CRBA (<https://centri.unibo.it/crba/en>) che rappresenta un ambiente multidisciplinare e con tecnologie



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

all'avanguardia particolarmente adatto per la formazione di giovani ricercatori. Il borsista sarà costantemente supervisionato/a dal tutor e dai dottorandi e borsisti del gruppo di ricerca.