**Progetto per borsa di ricerca**

**Titolo: Analisi omiche nell'adenocarcinoma dell'esofago**

**Introduzione**

L'adenocarcinoma dell’esofago (EAC) è una neoplasia grave con un basso tasso di sopravvivenza e un'incidenza crescente nei Paesi occidentali (Dubecz et al, 2012). Le cause della sua elevata letalità possono essere attribuite a screening e programmi di diagnosi precoce inadeguati, nonché alla relativa inefficienza dei trattamenti. Infatti, la maggior parte dei pazienti viene diagnosticata in uno stadio avanzato e il tasso di sopravvivenza complessivo a 5 anni è del 10-15%. Alterazioni nell'espressione dei microRNA (miRNA) sono state segnalate in diversi tumori. Abbiamo valutato l'espressione di 754 miRNA *oncology-related* nell'EAC e valutato le loro correlazioni con i parametri clinici. miR-221 e 483-3p erano costantemente sovraregolati nei casi EAC rispetto ai controlli (test di Wilcoxon: miR-221 P <0,0001; miR-483-3p P <0,0001). L'analisi Kaplan-Meier ha mostrato una sopravvivenza correlata al cancro peggiore nei pazienti che esprimevano livelli elevati di miR-221 o miR-483-3p in tutti gli EAC (log-rank P = 0,0025 e P = 0,0235, rispettivamente). Inoltre, un risultato significativamente peggiore è stato associato alla sovraespressione combinata di miR-221 e miR-483-3p (log-rank P=0,0410). Per identificare i geni bersaglio influenzati dalla sovraespressione di miRNA, abbiamo trasfettato il corrispondente RNA *mimic* (miRVANA) per miR-221 o miR-483-3p in una linea cellulare di adenocarcinoma esofageo (OE19) ed eseguito l'analisi RNA-seq. Nelle cellule che sovraesprimono miRNA, abbiamo scoperto una disregolazione convergente di geni legati all'apoptosi, alla sintesi di ATP, all'angiogenesi e alla progressione del cancro, incluso un lungo RNA non codificante associato all'oncogenesi, cioè *MALAT1* (Bozzarelli et al, 2024).

**Scopo della ricerca e attività formative**

Il/La borsista svolgerà una caratterizzazione genomica e funzionale delle alterazioni molecolari e biochimiche presenti in tre linee cellulari di adenocarcinoma dell’esofago, OE19, OE33, FLO-1, già disponibili nel laboratorio della Tutor, prof. Elena Bonora, per identificare le vie metaboliche alterate, in particolare in relazione all’espressione di microRNA con un ruolo nell’oncogenesi e precedentemente caratterizzati nell’EAC e il long non-coding RNA *MALAT1*, la cui espressione è disregolata in diverse malattie metaboliche e in diversi tumori. Le applicazioni che il/la borsista sarà chiamato a svolgere includeranno: caratterizzazione della funzionalità mitocondriale (crescita cellulare, sintesi di ATP, attività complessi mitocondriali per la fosforlazione ossidativa OXPHOS, produzione di specie reattive dell’ossigeno, struttura del network mitocondriale), analisi mutazionale delle linee indicate, analisi del trascrittoma e metaboloma delle tre linee. I dati ottenuti dalle analisi sulle linee cellulari e i possibili target individuati saranno studiati anche su una collezione di tessuti di carcinoma dell’esofago già precedentemente caratterizzati a livello molecolare (Orsini et al, 2023). Questi studi potranno identificare nuovi target molecolari e quindi fornire le basi per lo sviluppo di possibili nuovi trattamenti terapeutici per questo tipo di tumore aggressivo e con alta mortalità.

I metodi di analisi includeranno: analisi con IncuCyte, con Seahorse per OXPHOS, immunofluorescenza e immunoistochimica, western blot, sequenziamento dell’RNA tramite NGS.

**Referenze**

Dubecz et al., “Temporal trends in long-term survival and cure rates in esophageal cancer: a SEER database analysis.” J Thorac Oncol. 2012. 7;443–447.

Bozzarelli et al., “miRNA-221 and miRNA-483-3p Dysregulation in Esophageal Adenocarcinoma.” Cancers. 2024. 16:591.

Orsini et al., “Correlations between Molecular Alterations, Histopathological Characteristics, and Poor Prognosis in Esophageal Adenocarcinoma.” Cancers. 2023. 15:1408.