



Brescia, 01/07/2022

Alla Cortese Attenzione

ASSOCIAZIONE DEDICATO A TE

Via A. Manzoni 7, 25040 Monticelli Brusati (BS)

Cari *Amici e Sostenitori*, il biennio 2020-2022 è stato, per le ragioni che tutti conosciamo, difficile e complicato. Tra le molte attività penalizzate dall'emergenza sanitaria vi è stata anche la ricerca scientifica, soprattutto per lo sforzo imponente resosi necessario per incentivare la ricerca sul COVID-19 che ha veicolato su tale settore ingenti finanziamenti ed energie, penalizzando altri settori, in particolare quello oncologico.

Come molti di voi ricorderanno, la vostra associazione ha finanziato un progetto per la realizzazione di un laboratorio dedicato alle analisi molecolari dei tumori cerebrali. Durante il 2020 il laboratorio è stato ultimato.

Tutto questo grazie anche al vostro generoso contributo!

In questi due anni la nostra attività di ricerca, malgrado le difficoltà, è continuata ottenendo risultati importanti, alcuni dei quali pubblicati su riviste scientifiche internazionali e di cui è stata data rilevanza anche sui profili social e web dell'associazione. Altri risultati sono oggetto di un lavoro scientifico che stiamo finalizzando e che, speriamo, verrà pubblicato nei prossimi mesi.

Vi ringraziamo per il vostro supporto e *rinnoviamo il nostro impegno a continuare con rinnovato entusiasmo la ricerca sui tumori cerebrali*, sia in età pediatrica che adulta. Riteniamo utile ed importante la nostra ricerca, centrata sullo studio dei meccanismi responsabili dell'insorgenza dei tumori cerebrali, soprattutto per le sue possibili implicazioni cliniche in quanto grazie alla individuazione e caratterizzazione di specifiche alterazioni molecolari si otterranno informazioni indispensabile per lo sviluppo di future nuove terapie.

E' nostra intenzione *dare continuità al lavoro svolto sino ad ora*. Pertanto, inoltriamo alla vostra Associazione la richiesta di finanziare la nostra ricerca che prevede innanzitutto l'erogazione di una borsa di studio unitamente ad un contributo aggiuntivo per poter affrontare alcuni dei costi del progetto. Resto a disposizione per qualsiasi chiarimento o per un eventuale incontro per condividere con voi le nostre progettualità con l'augurio che possiate rinnovare il vostro contributo a sostegno della nostra attività scientifica.

Invio in allegato una breve descrizione della linea di ricerca che intendiamo perseguire nel biennio 2022-2023.

Cordiali saluti

prof. Pietro Luigi Poliani



Titolo del Progetto Scientifico:

“Analisi genetiche e molecolari avanzate per lo studio dell’eterogeneità tumorale e resistenza alla terapia nei tumori cerebrali”

Responsabile scientifico:

Prof. Pietro Luigi Poliani, Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Sezione di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Brescia

Collaboratori:

Dr.ssa Francesca Pagani, post-doctoral fellow
Dr.ssa Magdalena Gryzik, Post-doctoral fellow
Dr.ssa Manuela Cominelli, biologa
Dr.ssa Elena Somenza, dottoranda

Introduzione

Oggi la ricerca medica rappresenta una parte integrante delle attività di diagnosi e cura svolte in centri universitari e/o in istituti di ricerca. Le conoscenze di base sul comportamento biologico di molte neoplasie, in particolare quelle del sistema nervoso centrale, sono limitate e questo non aiuta ad acquisire conoscenze utili allo sviluppo di nuove terapie. Per poter svolgere approfonditi studi sulla natura di questi tumori è necessario raccogliere e analizzare i tessuti biologici provenienti da biopsie eseguite sui pazienti. Oltre allo studio istopatologico, molecolare ed immunofenotipico dal prelievo del tessuto tumorale si possono generare, grazie a procedure di disaggregazione e semina in ambiente strettamente controllato e sterile, sistemi cellulari che possono crescere e propagarsi *in vitro* per un tempo indefinito. Dal tumore è anche possibile isolare una popolazione particolare di cellule, le cosiddette “*cellule staminali tumorali*”, che sono la causa della crescita del tumore stesso. Esse sono resistenti ai comuni farmaci anti-tumorali perché sviluppano resistenza alla terapia ed è pertanto indispensabile individuare i processi biologici che regolano la loro sopravvivenza e propagazione in modo da poter sviluppare nuove terapie mirate. Questi studi forniranno ai ricercatori l’opportunità di comprendere meglio la patogenesi dei tumori e la loro biologia cellulare per poter individuare nuovi possibili biomarcatori prognostici e/o predittivi di risposta alla terapia.

I gliomi sono tra i più frequenti ed aggressivi tumori del Sistema Nervoso Centrale e comprendono diverse varianti morfologiche che riflettono la loro intrinseca eterogeneità. Stiamo studiando un tipo di glioma che colpisce in particolare giovani adulti, il Glioblastoma con Componente Primitiva Neuronale. Si tratta di una variante che anche se rara vale la pena di essere indagata perché rappresenta un modello ideale per la comprensione del comportamento dei gliomi in generale. La diagnosi di questi tumori è stata per molto tempo sottostimata, anche per la mancanza di criteri chiari per la loro identificazione. Ad oggi sono stati pubblicati nella letteratura scientifica pochi studi clinici sulla loro caratterizzazione biologica e genetica. I pochi dati disponibili, suggeriscono che le terapie convenzionali non siano efficaci su questo tipo di tumori, presumibilmente a causa della notevole diversità biologica dei tessuti di origine gliale e neuronale che li compongono. I dati prodotti nel nostro laboratorio indicano che la presenza di componenti immature di natura diversa sono connesse alla presenza di diverse componenti staminali prone a differenziare in popolazioni cellulari eterogenee in seguito alla loro peculiare instabilità genetica. Per queste ragioni è



importante e necessario uno studio approfondito di tali neoplasie che aiuti a comprendere i meccanismi biologici che sono alla base del loro sviluppo ed in generale dello sviluppo dei gliomi. Queste conoscenze permetteranno di individuare potenziali "target" farmacologici per lo sviluppo di terapie più mirate ed efficaci per i gliomi.

Scopo del progetto

Il nostro gruppo di ricerca si occupa da molto tempo dello studio dei tumori cerebrali, come evidenziato dalle numerose pubblicazioni presenti nella letteratura scientifica. Il principale scopo della nostra attività di ricerca è quello di studiare l'eterogeneità fenotipica e molecolare presente nei gliomi di alto grado. Riteniamo, infatti, che la biologia dei Glioblastomi con Componente Primitiva Neuronale, il modello a nostra disposizione, possa aiutare ad individuare i meccanismi biologici e cellulari alla base della divergente differenziazione delle distinte componenti presenti contemporaneamente in questi tumori. L'individuazione di tali meccanismi potrà essere utile non solo per comprenderne l'oncogenesi (ovvero come insorgono e si sviluppano i gliomi), ma anche per individuare possibili nuovi target terapeutici.

Risultati preliminari

Le nostre analisi hanno confermato il fenotipo divergente di questi tumori, con la componente gliale positiva per i marcatori associati gliali (GFAP, YAP1, CD44, Vimentin, EGFR) e la componente primitiva neuronale positiva per i marcatori neuronali/embrionali, quali Sinaptofisina e NeuN. Ambedue le componenti mostrano positività per marcatori staminali precoci, quali SOX1 e SOX2, e per marcatori associati alla neurogenesi, quali DCX e β III Tubulina. Notevole l'identificazione di un nuovo marcatore (realizzata nel nostro laboratorio) espresso selettivamente dalla componente primitiva neuronale, EBF3, un fattore di trascrizione solitamente inattivato nei gliomi, ma espresso ad alti livelli nel medulloblastoma, un tumore cerebrale embrionale maligno in cui la prolungata espressione di EBF3 correla con un fenotipo immaturo. Il ruolo funzionale di questo fattore di trascrizione è stato indagato nel nostro laboratorio. Il vostro contributo ci ha permesso di avviare analisi molecolari approfondite quali la *Next Generation Sequencing*. I dati in nostro possesso indicano che il tratto peculiare di questi tumori è costituito dalla presenza di mutazioni a carico del gene *RB1*. Mutazioni del gene *RB1* sono frequentemente associate allo sviluppo di *tumori cerebrali in età pediatrica*. Resta da chiarire come mutazioni di *RB1* e regolazione dell'espressione di EBF3 possano interagire tra loro concorrendo allo sviluppo del tumore. EBF3 rappresenta un importante regolatore del fenotipo neuronale e riveste un ruolo fondamentale nello sviluppo di questi tumori bifasici. Per validare la nostra ipotesi, abbiamo quindi creato un modello *knock-out in vitro* utilizzando la moderna tecnica di modificazione del genoma CRISPR/Cas9. Queste cellule saranno fondamentali per lo studio funzionale delle alterazioni molecolari responsabili dello sviluppo di questi tumori e della loro resistenza alle attuali terapie.