



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze Biologiche

Vescicole extracellulari e resistenza ai farmaci anti-cancro

Extracellular vesicles and anti-cancer drug resistance

Tesi di Laurea di
Laura Pichi

Docente referente
Chiar.mo Prof.
Maria Grazia Ortore

Sessione straordinaria maggio 2021
A.A 2019/2020



Contents lists available at ScienceDirect

BBA - Reviews on Cancer

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bbacan



Review

Extracellular vesicles and anti-cancer drug resistance

Niamh Mc Namee, Lorraine O'Driscoll*

School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Trinity Biomedical Sciences Institute, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland



- Sempre più in aumento il numero di decessi per cancro causato da un fallimento delle terapie antitumorali.
 - Un importante contributo è dato dalla chemioresistenza che può essere determinata da diversi fattori.
 - In questo articolo emerge una correlazione tra vescicole extracellulari e chemioresistenza.
 - Le cellule chemioresistenti sviluppano meccanismi per inibire l'apoptosi e promuovere la proliferazione.
- Possibile ruolo delle EV nella modulazione della chemioresistenza
- Possibile ruolo delle EV nella trasmissione della chemioresistenza alle cellule chemiosensibili.

Che cosa sono le vescicole extracellulari?

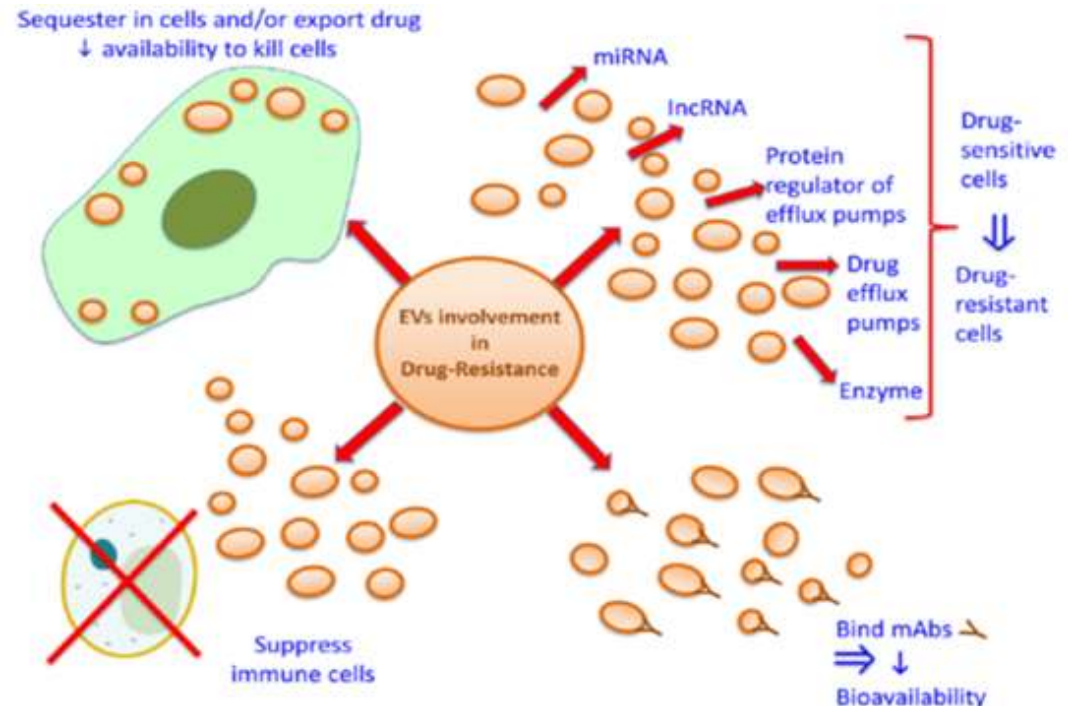
- Sono piccole particelle racchiuse in un doppio strato lipidico
- Sono formate da mix di acidi nucleici, proteine e lipidi
- Vengono secrete da tutti i tipi di cellule e sono presenti nei fluidi biologici
- Variano in base alle dimensioni:
 - **Esosomi** : 30 nm – 120 nm
 - **Microvescicole** : 120nm-1000nm

Le EV vengono endocitate dalla cellula tumorale attraverso 2 vie principali di Pinocitosi

- A) Endocitosi clatrina dipendente (CDE)
- B) Endocitosi clatrina indipendente (CIE)

Che funzioni hanno le EV?

- Coinvolte nella comunicazione cellula-cellula
- Vettori di somministrazione dei farmaci
- Chemioresistenza



Tumore alla mammella

I. Caso studio: linea cellulare MCF-7 e la sua variante MCF-7/RM resistente al Mitoxantrone

- La variante MCF-7/R presenta delle EV contenenti la proteina transporter **ABCG2** → sequestra il Mitoxantrone e promuove la resistenza al cancro al seno
- La resistenza viene inibita tramite l'utilizzo dell'inibitore **ABCG2/BCRP ko1 143**

II. Caso studio: a trasmettere la resistenza ai farmaci sono i long non-coding RNAs (lncRNA)

→ hanno un ruolo nella regolazione genica → se deregolato → provoca effetti avversi

➤ Linea cellulare MCF-7 e la variante LCC2, resistente al TAMOXIFENE

- LCC2 è associata all'aumento di lncRNA1 (= UCA1 nella vescica)
- Se vengono incubate le cellule LCC2 + EV con le cellule MCF-7
 - Le cellule MCF-7 presentano una maggior quantità di UCA1
 - Si ha una maggior vitalità delle cellule MCF-7 dopo il trattamento con Tamoxifene
 - La resistenza è data da una ridotta espressione della Caspasi 3 e inibizione dell'apoptosi
- Se avviene una riduzione di UCA1 nelle cellule LCC2
 - Le EV di UCA1 hanno un effetto minore sulla sopravvivenza di MCF-7 quando sono esposte al Tamoxifene

III. Caso studio: Linea cellulare MCF-7 e le sue varianti MCF-7/Adr e MCF-7/Doc resistenti alla ADRIAMINICINA e DOCETAXAL

- Le due varianti trasferiscono la resistenza alla linea cellulare MCF-7 la quale era precedentemente sensibile ai farmaci
 - A. Se le cellule MCF-7 vengono incubate con EV di MCF-7/Doc → dopo un'esposizione al DOCETAXAL si ha una diminuzione dell'apoptosi.
 - si è trovato successivamente a livello di MCF-7 un aumento dei livelli di **miR-100**, **miR-222**, **miR-30** e **miR-17** → indica un probabile coinvolgimento dei miRNA nella resistenza ai farmaci trasmessa da EV
 - B. Nelle MCF-7/Adr e EV si è trovato livelli maggiori di **mRNA GSTP1** rispetto alle cellule MCF-7 e le loro EV
- Il **GSTP1** che detossifica i farmaci antitumorali combinandoli con il **glutathione**, viene trasferito in modalità dose-dipendente dalle EV di cellule resistenti alle MCF-7, con conseguente resistenza all'Adriamicina → diminuzione dell'apoptosi

➤ Analizzando i campioni dei pazienti:

- Nei pazienti che non rispondono alla chemioterapia a base di Antracicline/Taxani (n= 14) si è riscontrato una maggior quantità di EV che trasportano mRNA GSTP1 a livello del siero
- Nei pazienti che rispondono alla terapia (n=16) non è stato riscontrato questo aumento

Tumore alla prostata

Nei tumori alla prostata, i primi studi svolti sulla chemioresistenza causata da EV, sono stati incentrati sul

DOCETAXAL

I. Caso studio: si analizzano le linee cellulari **22Rv1** e **Du145** e le loro rispettive varianti **22Rv1RD** e **DU145RD** resistenti al Docetaxal

- Le cellule resistenti rilasciano EV che trasportano **P-gp** (glicoproteina / proteina di resistenza multifarmaco) → possono essere in parte responsabili alla resistenza

➤ Considerando i campioni clinici:

- Le EV prelevate dal siero di pazienti con cancro alla prostata hanno aumentato, rispetto ai pazienti sani, la proliferazione e la capacità invasiva delle cellule **DU145** e **22Rv1**
- Le EV isolate da pazienti malati che non rispondono al trattamento (2 su 8) con **Docetaxel** → hanno la funzione di proteggere le cellule **22Rv1** e **Du145** dalla chemioterapia
- Le EV degli altri 6 pazienti → sembrano potenziare gli effetti chemioterapici

I **miRNA** → probabile coinvolgimento nella resistenza al DOCETAXAL

- **miR-34a** nel cancro alla prostata, regola **BCL-2** → un bersaglio del docetaxal → può regolare la risposta al farmaco

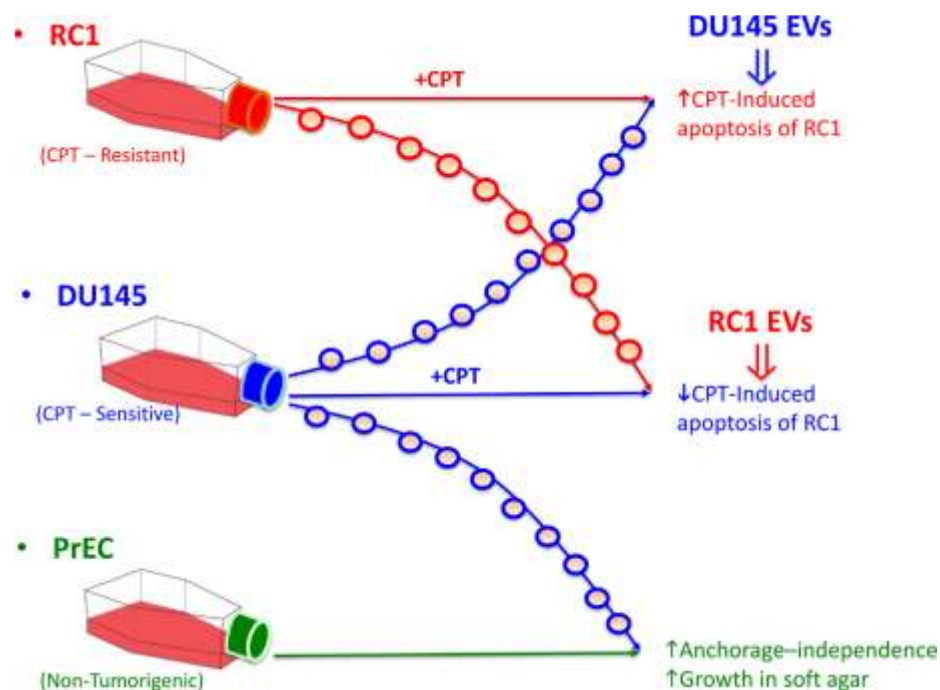
II. Caso studio: si è analizzato

- linea cellulare **DU145**
- la sua variante **RC1** → resistente alla **CAMPTOTECINA (CPT)**
- Cellule epiteliali della prostata → **PrEC** immortalizzate non tumorigeniche

- **DU145** co-coltivato con **RC1-EV** → non vanno incontro ad apoptosi in risposta a CPT
- **RC1** co-coltura con **DU145-EV** → viene sensibilizzata a CPT → si ha un aumento di apoptosi
- **PrEC** co-coltura con **DU145-EV** → ha indotto l'indipendenza dall'ancoraggio e la capacità di formare colonie in soft agar

Considerando le EV di 2 pazienti con il cancro alla prostata di stadio avanzato:

- le **EV** inducono una crescita significativa di PrEC sul soft agar
- la co-coltura di **PrEC-EV** impedisce la formazione di colonie di **DU145** sul soft agar



Tumore ai polmoni

I. Caso studio: linea cellulare **PC9** del carcinoma cellulare non a piccole cellule (**NSCLC**) e la sua variante **PC9R** resistente al **GEFITINIB**

- Le EV di PCR9R stimolano → proliferazione, invasione e farmacoresistenza all'apoptosi nelle cellule PC9
- Nelle EV sono stati ritrovate proteine chiave della **via AKT/TOR**
- Trattare le cellule PC9R con **BEZ235** a duplice inibitore di AKT e mTOR → dimostra il ruolo di EV nella resistenza al farmaco

II. Caso studio: le cellule A549 NSCLC rilascia una maggior quantità di EV se trattata con il **CIS-PLATINO**

- Coltura cellule madri A549 con EV rilasciate in risposta al trattamento → induce resistenza al cisplatino
- **A549/DDP** → una variante resistente al cisplatino → dimostra che le EV causano una diminuzione dell'apoptosi = chemioresistenza.

Ulteriori studi

Le EV secrete da un tipo di cellule cancerogene resistenti ai farmaci possono conferire chemioresistenze in tumori differenti:

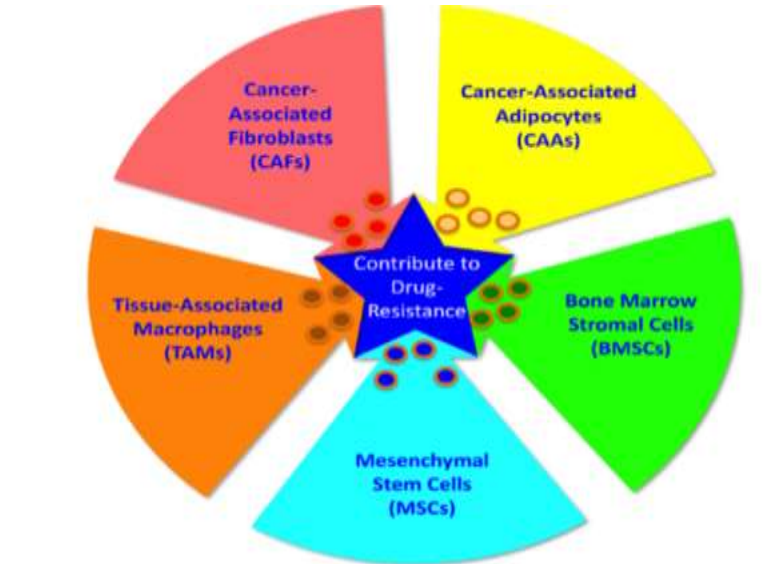
- ESEMPIO: le EV delle cellule epatiche resistenti al cisplatino (**HepG2**) sono state assorbite dalle cellule ovariche (**HeLa**) = diminuzione di sensibilità al cisplatino

Le linee cellulari vengono trattate con inibitori di EV con lo scopo di:

- Confermare che le EV contribuiscono alla chemioresistenza
- Verificare se una eventuale inibizione dell'EV è una possibile strategia da integrare al trattamento con farmaci chemioterapici

Utilizzo di EV come potenziale veicolo per il rilascio dei farmaci

Conclusioni



N. M. Namee, L. O' Driscoll / BBA – Reviews on Cancer 1870 (2018)

Negli ultimi anni sono sempre in aumento gli studi che riguardano le Vescicole extracellulari e il loro ruolo biologico.

Nonostante le informazioni tratte da questi studi, si è ancora lontani per poter comprendere l'importanza delle vescicole extracellulari in quanto non si hanno ancora conoscenze approfondite per quanto riguarda le tecniche di purificazione delle EV, sul loro funzionamento e sui meccanismi di comunicazione tra cellule e vescicole extracellulari.

Malgrado ciò, le EV incominciano a ricevere sempre più attenzioni per quanto riguarda gli studi sulla resistenza ai farmaci anticancro ma allo stesso tempo anche come vettori di farmaci antitumorali.

Pertanto, ulteriori studi potranno portare obiettivi e strategie importanti per le terapie contro il cancro.