



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE  
**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea in Scienze Biologiche**

**IL PIRFENIDONE CONTRASTA LA FORMAZIONE DI METASTASI DEL CANCRO AL SENO TRIPLO NEGATIVO  
ATTRAVERSO L'INIBIZIONE DELLA VIA TGF-beta/SMAD**

**PIRFENIDONE SUPPRESSED TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER METASTASIS BY INHIBITING THE ACTIVITY  
OF THE PATHWAY TGF-beta/SMAD**

Tesi di Laurea di :

Benedetta Nardi

Docente Referente

Chiar.ma Prof.

Francesca Maradonna

**Anno Accademico 2022/2023**

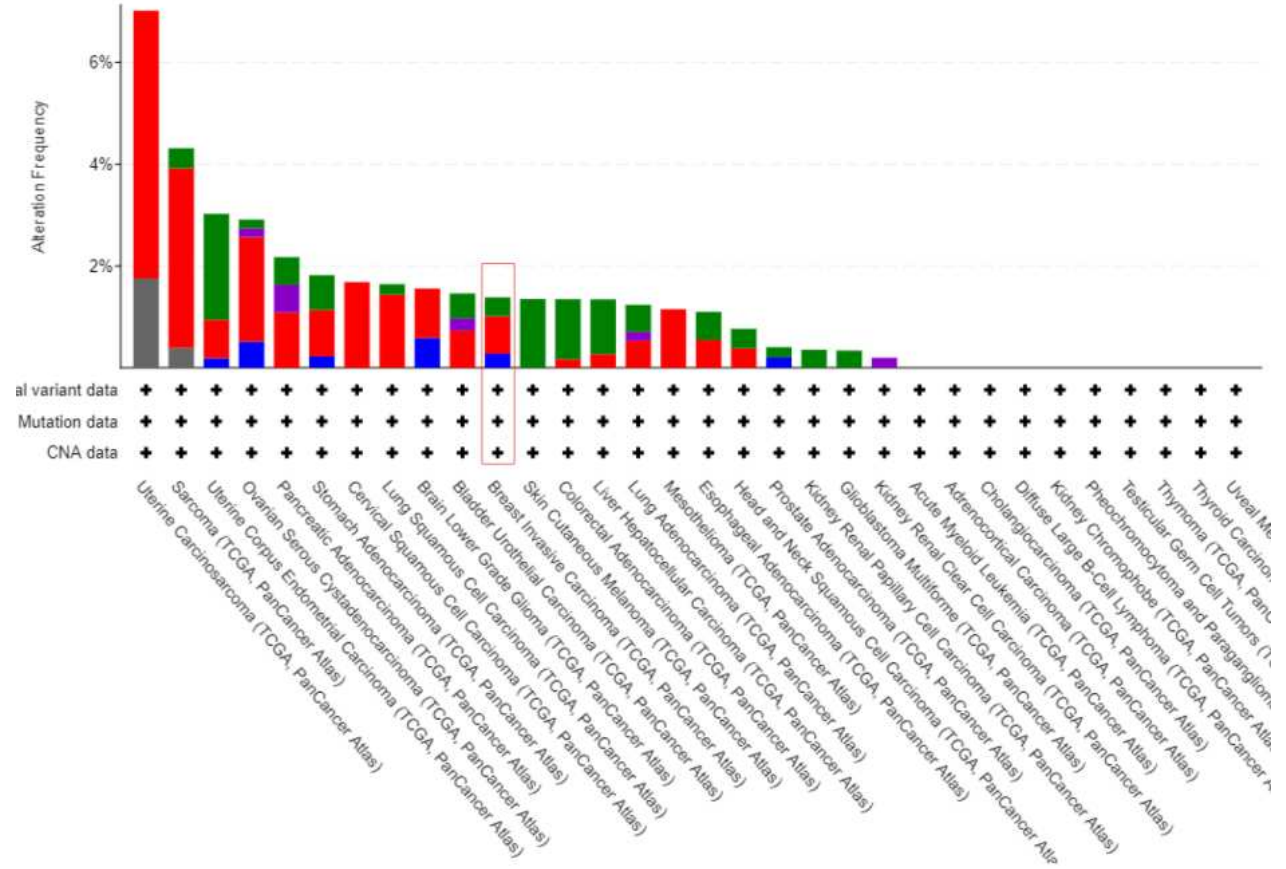
# INTRODUZIONE

- Il cancro al seno triplo negativo (TNBC) comporta un alto rischio di metastasi precoci
  - La disposizione organizzata delle fibre di collagene è associata alla progressione del tumore al seno
  - il cancro al seno è caratterizzato da un irrigidimento della matrice extracellulare (ECM) a causa dell'eccessiva deposizione e reticolazione del collagene
- 



# SCOPO

Studiare l'efficacia e la sicurezza della somministrazione del Pirfenidone combinato con nab-PTX nel trattamento del cancro al seno triplo negativo (TNBC) e la loro capacità di interagire con la via TGFbeta-SMAD.



# MATERIALI E METODI

*studio in vitro*

## MATERIALI

- Cellule MDA-MB-231 pretrattate con TGF-beta (5 ng/ml per 24h) seguito da Pirfenidone (4mM per 24h)

## METODI

### ➤ **VITALITA' CELLULARE**

- determinata utilizzando il cell counting kit 8 (CCK)
- Saggio clonogenico

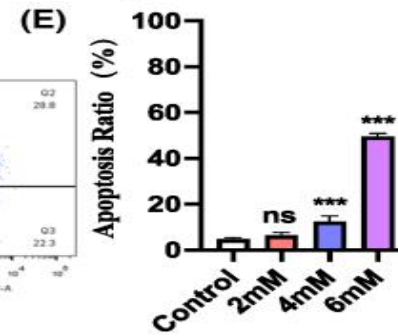
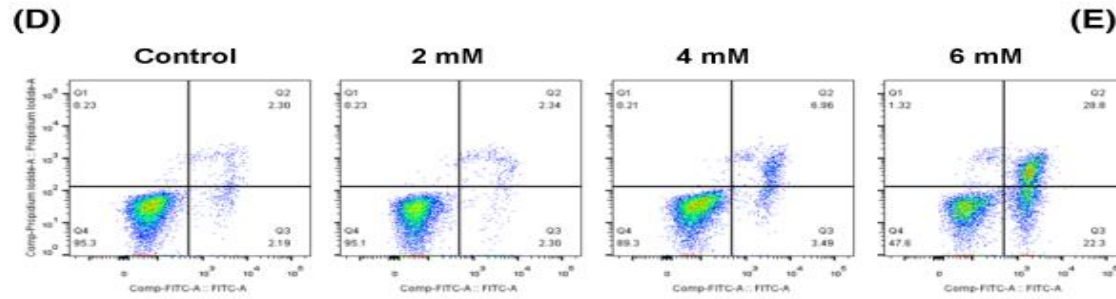
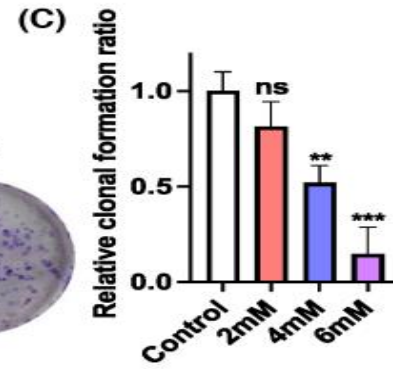
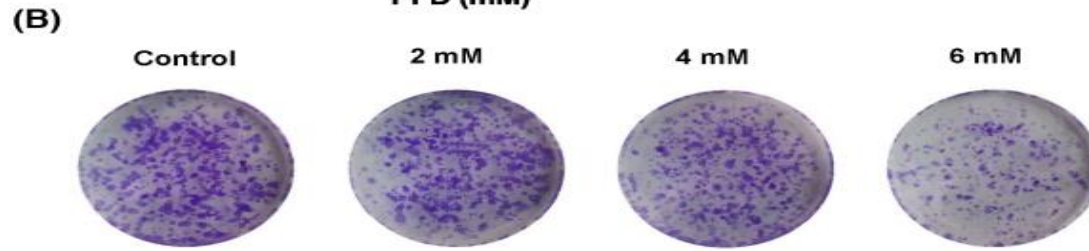
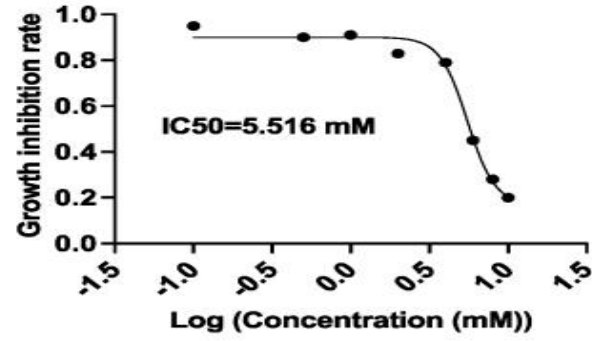
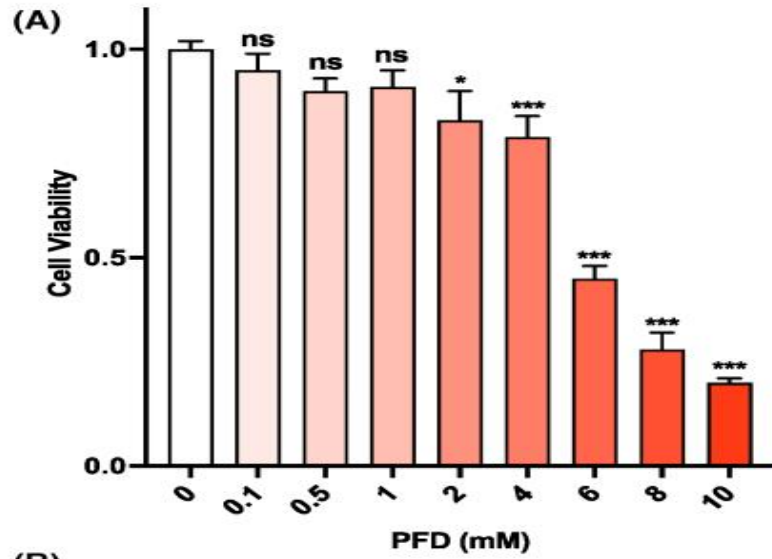
### ➤ **APOPTOSI**

- Citometria a flusso utilizzando il kit di doppia colorazione FITC-ANNEXIN V/PI

### ➤ **WESTERN BLOT**

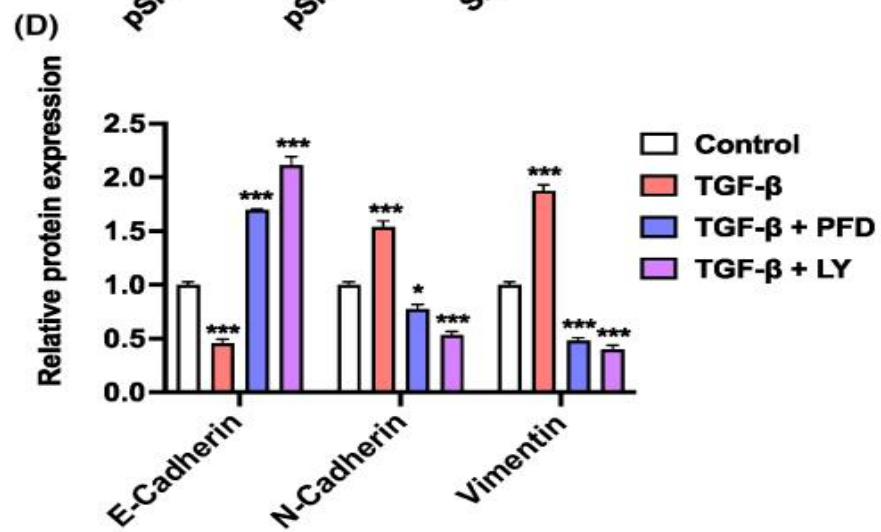
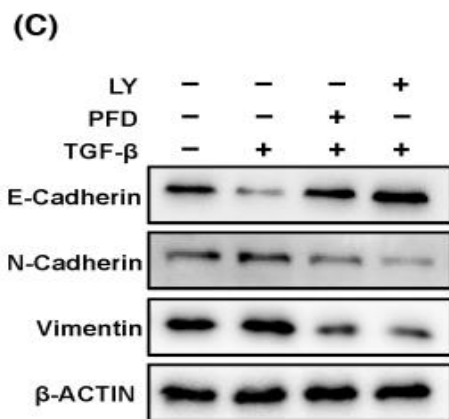
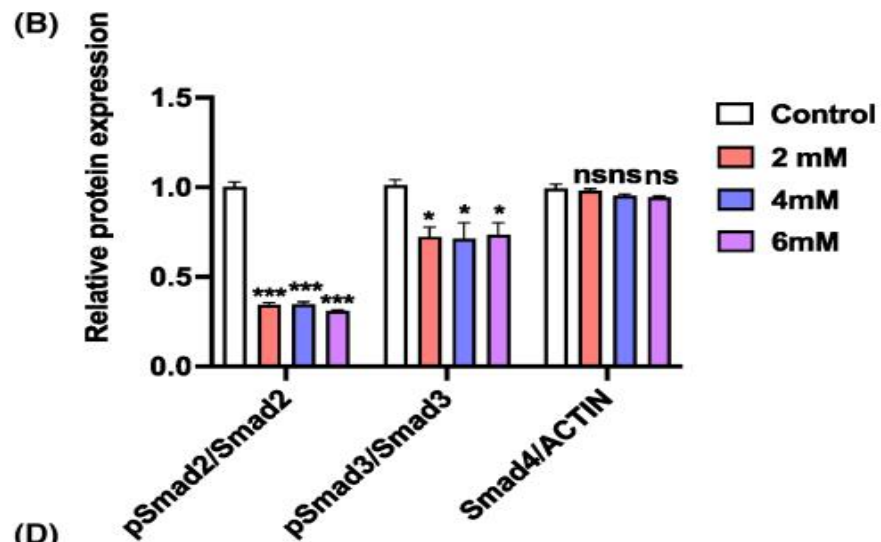
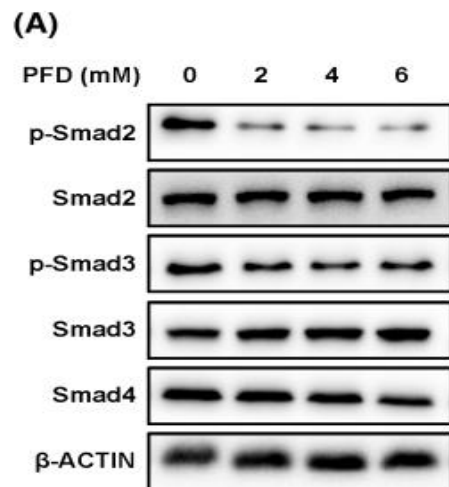
---

# RISULTATI



## WESTERN BLOT

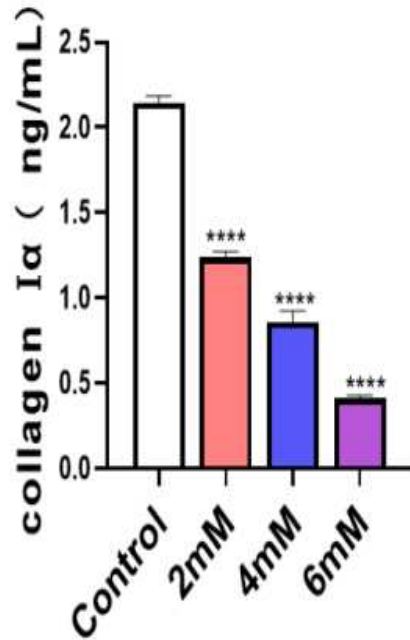
Effetti della PFD sull'attivazione della via di segnalazione Smad e geni marcatori mesenchimali



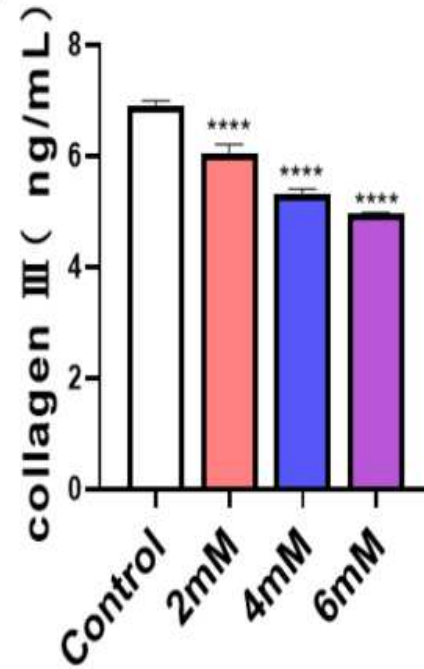
# METODO ELISA

- Concentrazione di collagene I $\alpha$ , collagene III e TGF-beta

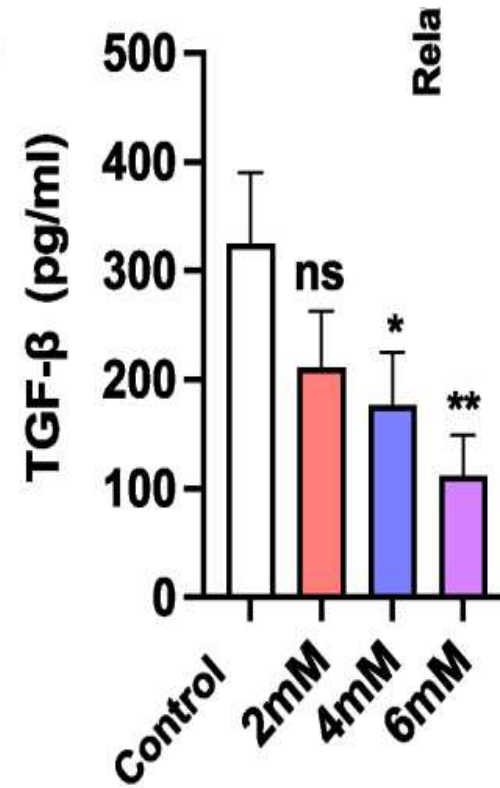
(G)



(H)



(I)



# MATERIALI E METODI

*studio in vivo*

## Modello murino di tumore xenotrapiantato

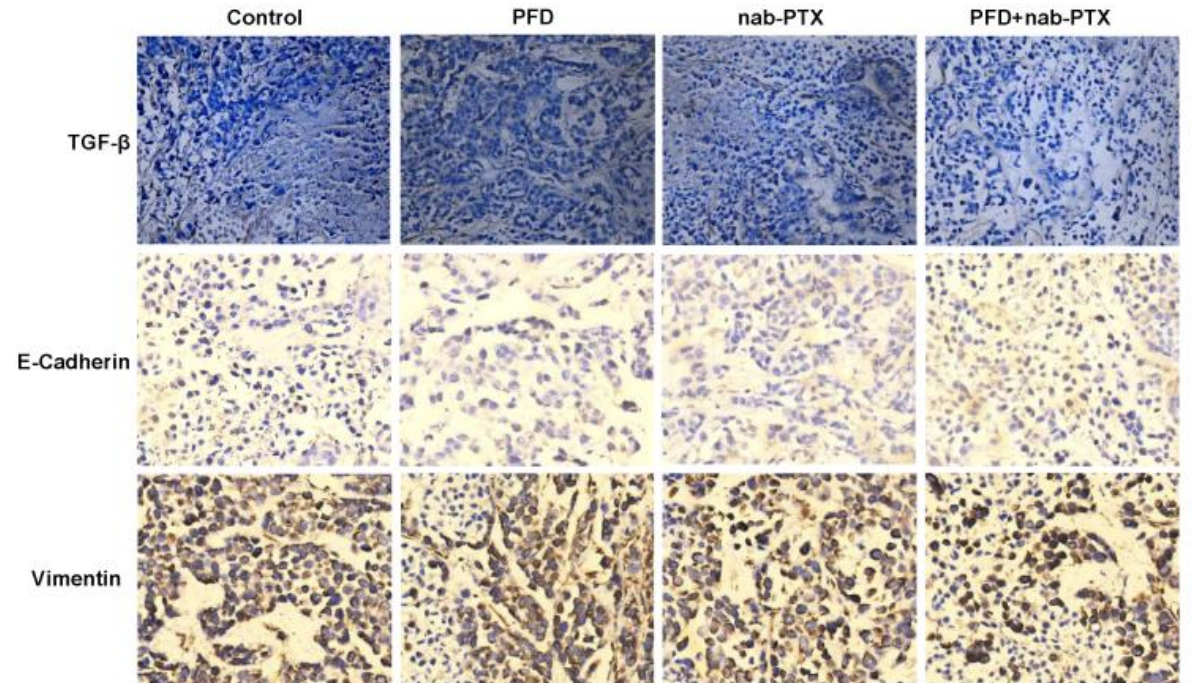
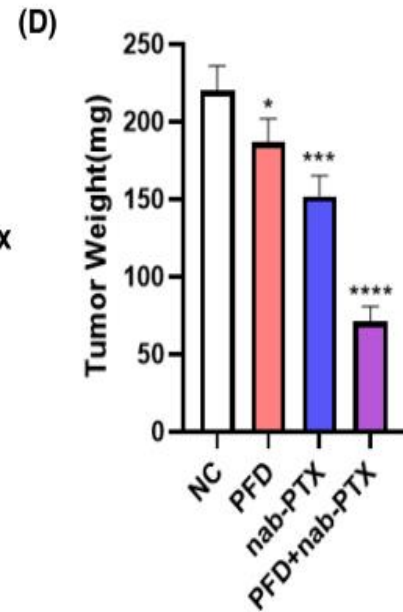
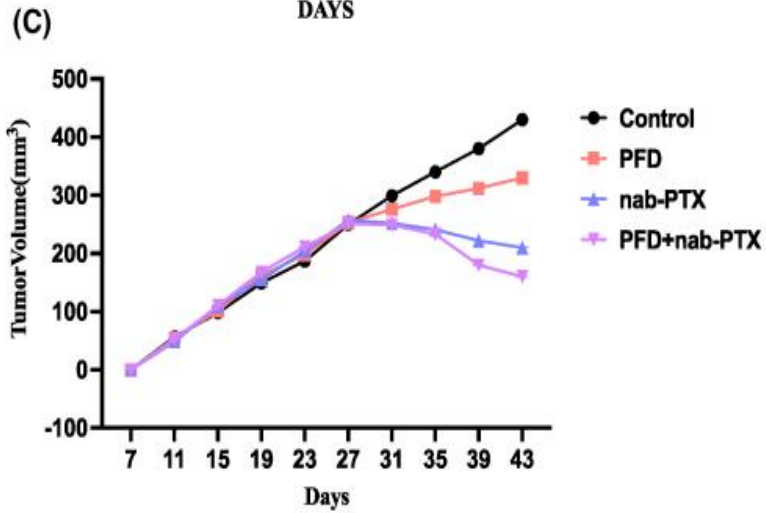
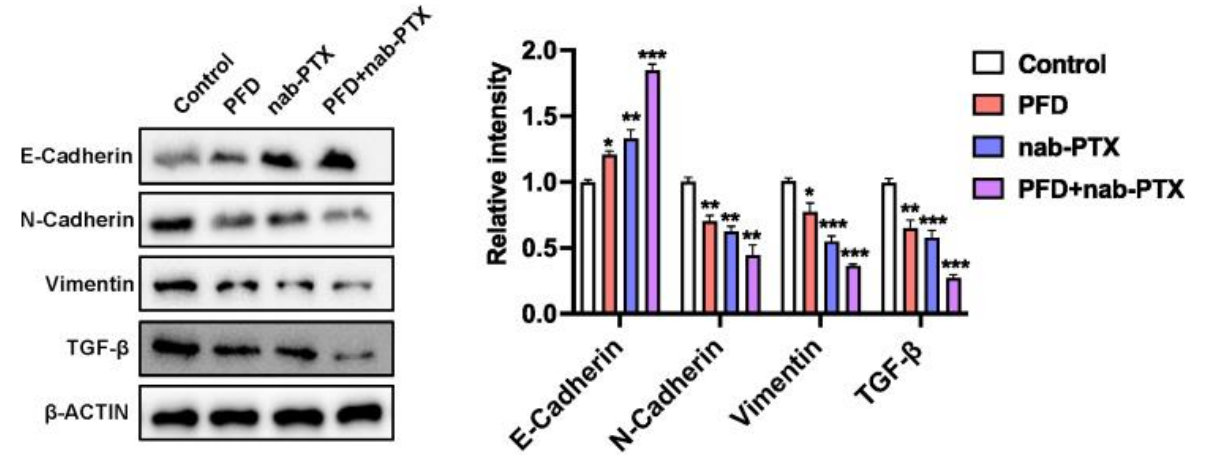
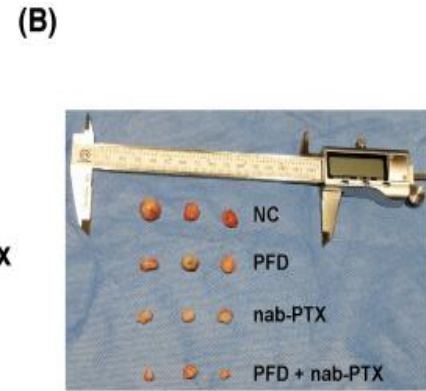
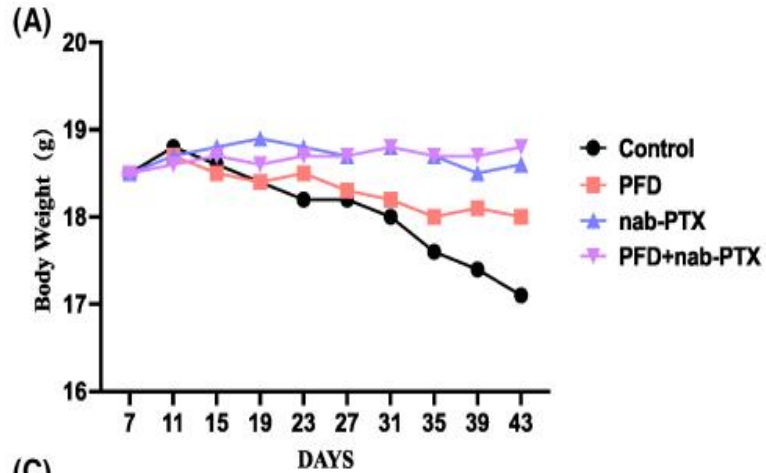
Topi divisi in tre gruppi e sottoposti a iniezioni subascellari

- Controllo: cellule MDA-MB-231
  - PFD: 200 mg/kg
  - Nab-PTX: 10 mg/kg
  - PFD+Nab-PTX: 200 mg/kg PFD+ 10 mg/kg Nab-PTX
- 

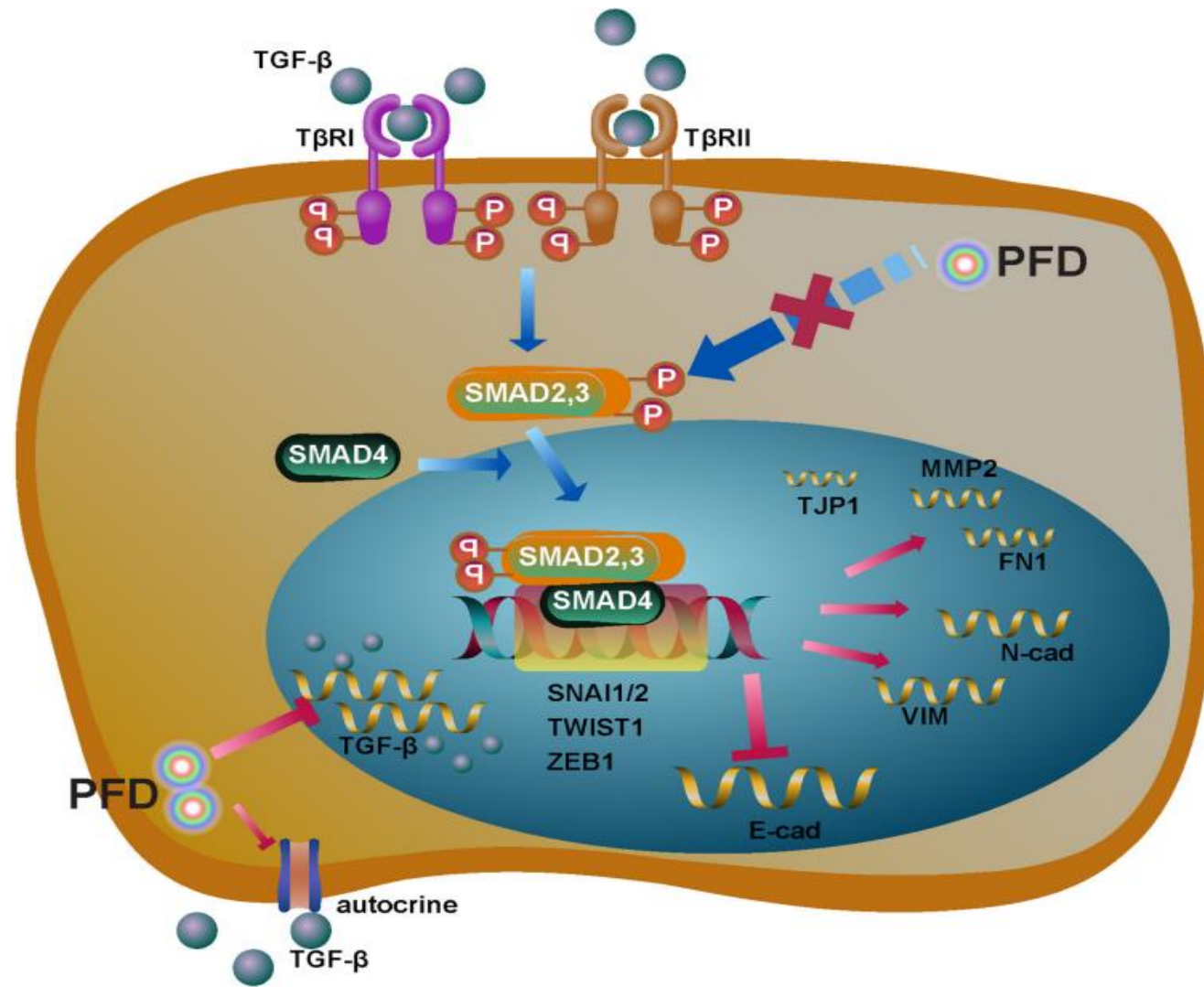




# RISULTATO PFD IN VIVO



# CONCLUSIONI



- Tra le pazienti affette da cancro al seno, le metastasi sono la principale causa di morte. Nonostante decenni di sforzi, sono stati fatti pochi progressi per migliorare il trattamento delle metastasi del cancro al seno, in particolare il carcinoma mammario triplo negativo (TNBC). La matrice extracellulare svolge un ruolo importante nella crescita e nella metastasi del tumore, causandone la deposizione, il rimodellamento e la segnalazione. Come sappiamo, il processo di fibrosi provoca il deposito di quantità eccessive di matrice extracellulare all'interno delle cellule. Sarà quindi interessante studiare se l'uso di farmaci antifibrotici in combinazione con farmaci chemioterapici convenzionali possa produrre effetti antitumorali sinergici. In questo studio, abbiamo valutato l'efficacia del pirfenidone (PFD), un farmaco approvato dalla FDA per il trattamento della fibrosi polmonare idiopatica, sulle cellule TNBC e i suoi effetti antitumorali nel modello tumorale xenotrapianto. La PFD ha inibito in modo dose-dipendente la proliferazione, la migrazione e l'invasione delle cellule del cancro al seno, mentre ha promosso la loro apoptosi in vitro. La PFD ha anche soppresso l'attivazione indotta da TGF- $\beta$  della via di segnalazione Smad e il livello di espressione dei fattori di trascrizione che inducono EMT (ad es. SNAI2, TWIST1, ZEB1) e dei geni mesenchimali come VIMENTINA e N-Caderina. Al contrario, il livello di espressione del gene marcatore epiteliale E-caderina è stato sovraregolato in presenza di PFD. In vivo, il PFD da solo ha esercitato un effetto antitumorale più lieve ma significativo rispetto al farmaco chemioterapico paclitaxel legato all'albumina legato alle nanoparticelle (nab-PTX) nel modello murino di xenotrapianto di cancro al seno. È interessante notare che il PFD ha potenziato sinergicamente l'effetto antitumorale del nab-PTX. Inoltre, i nostri dati suggeriscono che la PFD ha soppresso le metastasi del cancro al seno inibendo l'attività della via TGF $\beta$ /SMAD
- 

