



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

DOTTORATO DI RICERCA IN MEDICINA SPERIMENTALE

PRESENTAZIONE DEI CANDIDATI ALL'ESAME FINALE XXVII CICLO

Dott.ssa Monica Binaschi

La Dott.ssa Monica Binaschi, durante il corso di Dottorato in Medicina Sperimentale, ha svolto la sua attività di ricerca presso i laboratori del Dipartimento di Medicina Molecolare, Sapienza Università di Roma, sotto la direzione del Prof. Guido Antonelli.

Nel corso del Dottorato la Dott.ssa Binaschi si è occupata di studiare gli effetti di una nuova classe di inibitori degli enzimi istone-deacetilasi nel trattamento di tumori solidi e nei principali tumori ematologici.

Le istone-deacetilasi (HDACs) sono una famiglia di idrolasi Zn-dipendenti che mediano il rimodellamento della cromatina e inducono l'espressione genica rimuovendo i gruppi acetile dalle lisine degli istoni e altre proteine. Gli enzimi HDACs sono diventati bersagli importanti per il trattamento di varie malattie, tra cui anche il cancro. Attualmente ci sono molti inibitori di HDACs in sperimentazione clinica e tre, Zolinza (vorinostat), Istodax (romidepsina) e Beleodaq (belinostat) sono stati approvati da FDA per il linfoma cutaneo a cellule T e periferico.

Sebbene gli inibitori abbiano molte potenzialità, fino ad ora non hanno mostrato una grande efficacia nei tumori solidi e nei principali tumori ematologici. E' importante quindi identificare, durante lo sviluppo preclinico e clinico di un possibile farmaco, un marcatore biologico e/o una popolazione di pazienti che risponda alla terapia.

E' stato effettuato uno screening per identificare una nuova classe di inibitori HDAC con proprietà farmacocinetiche e farmacodinamiche migliori delle molecole attualmente in studio o in uso. Sono state sintetizzate e valutate 1300 nuove molecole attraverso uno screening primario che ha saggiato l'inibizione dell'attività catalitica delle HDAC nell'estratto nucleare di cellule HeLa. Le molecole selezionate sono state quindi ulteriormente saggiate in uno screening secondario che ha valutato una possibile attività antiproliferativa in varie linee cellulari, tra cui la linea di tumore del colon HCT116. Le molecole che mostravano un'attività sub-micromolare sono state poi valutate in tumori umani xeno-trapiantati. Sono state così identificate 16 molecole che davano un'inibizione della crescita tumorale maggiore del vorinostat, impiegato come standard di riferimento. Al fine di dimostrare la selettività di azione verso le cellule tumorali, gli inibitori HDAC selezionati sono stati valutati per la loro capacità antiproliferativa anche su cellule normali.

L'insieme di tutti questi risultati ha individuato diversi composti, tra cui il MEN16934, che è stato selezionato come candidato per gli studi farmacologici successivi. La molecola MEN16934, è stata caratterizzata per la sua capacità di inibire le isoforme ricombinanti di HDACs, per la sua azione citotossica e la sua attività antitumorale, dimostrando un'attività promettente in vari modelli pre-clinici.

Studi su tre linee cellulari di tumore del colon (HCT116), di tumore della mammella triplo negativo (MDA-MB231) e di tumore della mammella ER+ (MCF-7) hanno mostrato, a concentrazioni equitossiche, una modulazione dell'espressione di geni coinvolti nell'apoptosi nelle linee di mammella, ma non in quella di colon. Tale modulazione correlava con l'acetilazione dell'istone H4, ma non con l'effetto citotossico, mostrando una dipendenza quindi dal contesto cellulare. Poiché è chiaro che sia nei tumori solidi che nelle leucemie esiste una eterogeneità fenotipica e funzionale all'interno dello stesso tumore, e che il tumore subisce un'evoluzione conseguente sia a modificazioni genetiche che a modificazioni epigenetiche in seguito alla pressione selettiva delle terapie, è necessario utilizzare combinazioni di farmaci che razionalmente possano migliorare la cura di tumori con alto "medical need". Sono stati quindi studiati in particolare due istotipi tumorali: il tumore della mammella triplo-negativo, che cioè non esprime ER, PR ed Her2/neu, e pertanto non è suscettibile di terapie a bersaglio molecolare, e il tumore dell'ovaio. I tumori con fenotipi cellulari simili a queste due linee non beneficiano di una terapia di mantenimento che possa migliorare il periodo libero da malattia e quindi la sopravvivenza successivamente a chirurgia e chemioterapia. Per quanto riguarda l'istotipo mammella triplo-negativo è stato valutato in vitro se il MEN16934 poteva indurre l'espressione del recettore per gli estrogeni rendendo quindi le cellule suscettibili al trattamento farmacologico del tamoxifene: ed è stato dimostrato che l'induzione del recettore correlava con l'attività citotossica del Tamoxifen. Per studiare invece l'efficacia del MEN16934 nella terapia di mantenimento del tumore dell'ovaio, è stato messo a punto un modello di tumore dell'ovaio, OVCAR3/X, tumorigenico in vivo, che dal punto di vista dell'espressione di vari geni (come ad es. IL8, IGF1 e CD44), è simile all'espressione di tumori ovarici da pazienti. OVCAR3/X, inoltre, coltivato in condizioni selettive, è in grado formare rapidamente sfere. E' noto da lavori precedenti che cellule tumorali "drug-tolerant" esprimono IGFR-1 e sono ipersensibili agli inibitori delle HDAC. Dato che sia il modello OVCAR3/X che tumori ovarici da pazienti mostravano un'induzione di IGF1, indicando una via metabolicamente attiva, si è voluto studiare l'effetto di MEN16934 in un tumore da paziente xeno trapiantato. I dati ottenuti indicano che la somministrazione di MEN16934 successiva al trattamento con il platino potrebbe eliminare la malattia minima residua rendendo la combinazione Platino/MEN16934 interessante per lo sviluppo clinico.

PUBBLICAZIONI 2011-2014

Rossi C, Porcelloni M, D'Andrea P, Fincham CI, Ettore A, Mauro S, Squarcia A, Bigioni M, Parlani M, Nardelli F, **Binaschi M**, Maggi CA, Fattori D. Alkyl piperidine and piperazine hydroxamic acids as HDAC inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011 Apr 15;21(8):2305-8.

Rossi C, Fincham CI, D'Andrea P, Porcelloni M, Ettore A, Mauro S, Bigioni M, **Binaschi M**, Maggi CA, Nardelli F, Parlani M, Fattori D. 4-N-Hydroxy-4-[1-(sulfonyl)piperidin-4-yl]-butyramides as HDAC inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011 Nov 15;21(22):6767-9.

Bellarosa D, Bressan A, Bigioni M, Parlani M, Maggi CA, **Binaschi M**. SAHA/Vorinostat induces the expression of the CD137 receptor/ligand system and enhances apoptosis mediated by soluble CD137 receptor in a human breast cancer cell line. *Int J Oncol*. 2012 Jul 13.

Bigioni M, Ettore A, Felicetti P, Mauro S, Rossi C, Maggi CA, Marastoni E, **Binaschi M**, Parlani M, Fattori D. Set-up of a new series of HDAC inhibitors: the 5,11-dihydrodibenzo[b,e]azepin-6-ones as privileged structures. *Bioorg Med Chem Lett*. 2012 Sep 1;22(17):5360-2.

Bressan A, Bozzo F, Maggi CA, **Binaschi M**. OC125, M11 and OV197 epitopes are not uniformly distributed in the tandem-repeat region of CA125 and require the entire SEA domain. *Dis Markers*. 2013;34(4):257-67.

Marastoni E, Bartoli S, Berettoni M, Cipollone A, Ettore A, Fincham CI, Mauro S, Paris M, Porcelloni M, Bigioni M, **Binaschi M**, Nardelli F, Parlani M, Maggi CA, Fattori D. Benzofused hydroxamic acids: useful fragments for the preparation of histone deacetylase inhibitors. Part 1: hit identification. *Bioorg Med Chem Lett*. 2013 Jul 15;23(14):4091-5.

Colangelo T, Fucci A, Votino C, Sabatino L, Pancione M, Laudanna C, **Binaschi M**, Bigioni M, Maggi CA, Parente D, Forte N, Colantuoni V. MicroRNA-130b Promotes Tumor Development and Is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Cancer. *Neoplasia*. 2013 Sep;15(9):1086-99.

Il Collegio dei Docenti giudica l'attività scientifico-formativa della Dott.ssa **Monica Binaschi** in modo positivo, in base alla frequenza e all'attività di ricerca complessivamente svolta. Esprime parere favorevole alla presentazione di una tesi di Dottorato dal titolo:

INIBITORI DELL'ISTONE DEACETILASI: DALL'EPIGENETICA ALL'INDICAZIONE TERAPEUTICA

Il Segretario

Prof.ssa Patrizia Mancini

Il Coordinatore

Prof.ssa Maria Rosaria Torrisi