

Come può essere esplorata l'eterogeneità spaziale?

Francesca Chemi, PhD
Human Technopole
Sottoriva Lab, Milan



Convegno Regionale SIES
Delegazione Emilia Romagna

Biopsia liquida:

**CHE TRAFFICO
IN PERIFERIA!**

Bologna

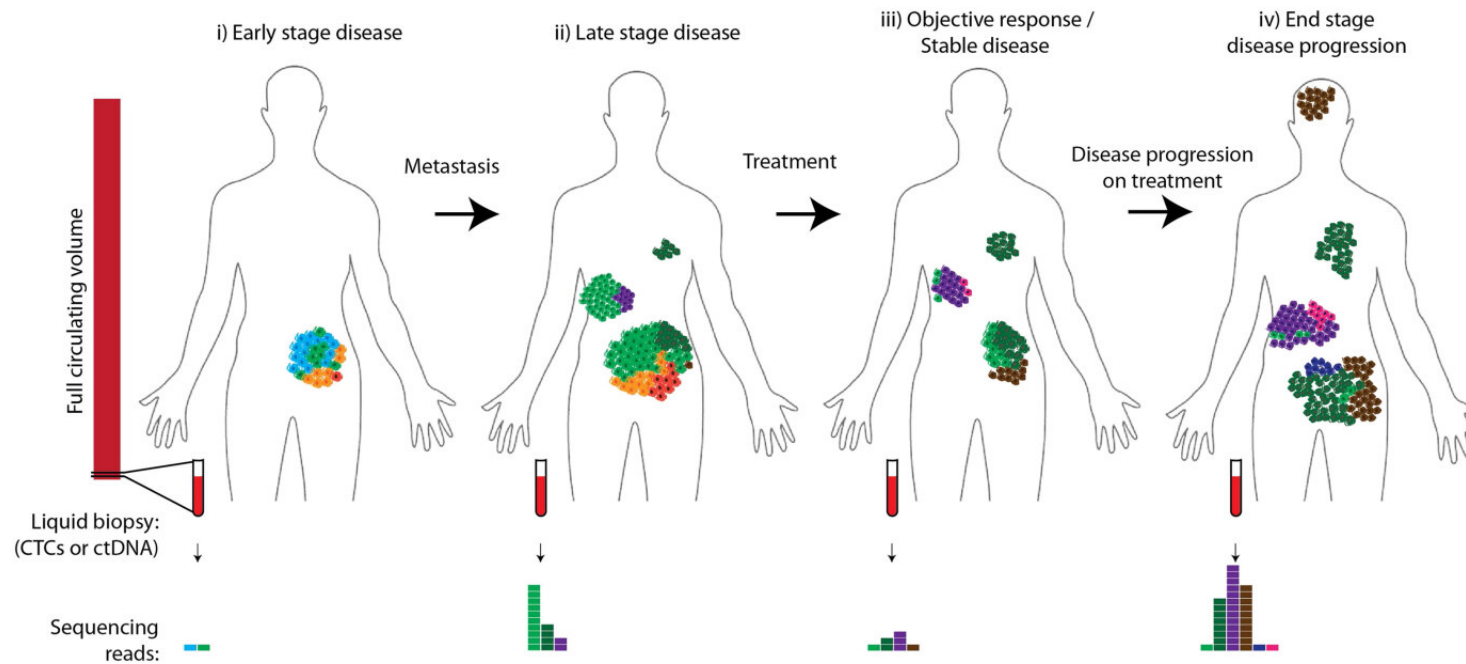
28 Febbraio – 1 Marzo 2025

Aula 1 – Complesso UniOne, Università di Bologna



L'eterogeneità spaziale nei tumori

- L'eterogeneità spaziale descrive la **variabilità genetica, epigenetica e fenotipica** tra diverse regioni dello stesso tumore.
- L'eterogeneità spaziale è **un fattore chiave di resistenza ai trattamenti** e di progressione tumorale.
- Le biopsie liquide permettono di **studiare in modo non invasivo** questa eterogeneità, catturando l'evoluzione del tumore nel tempo.



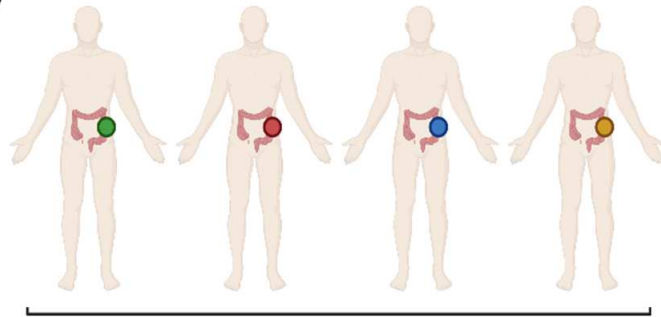
Burrell et al., *Molecular Oncology*, 2014



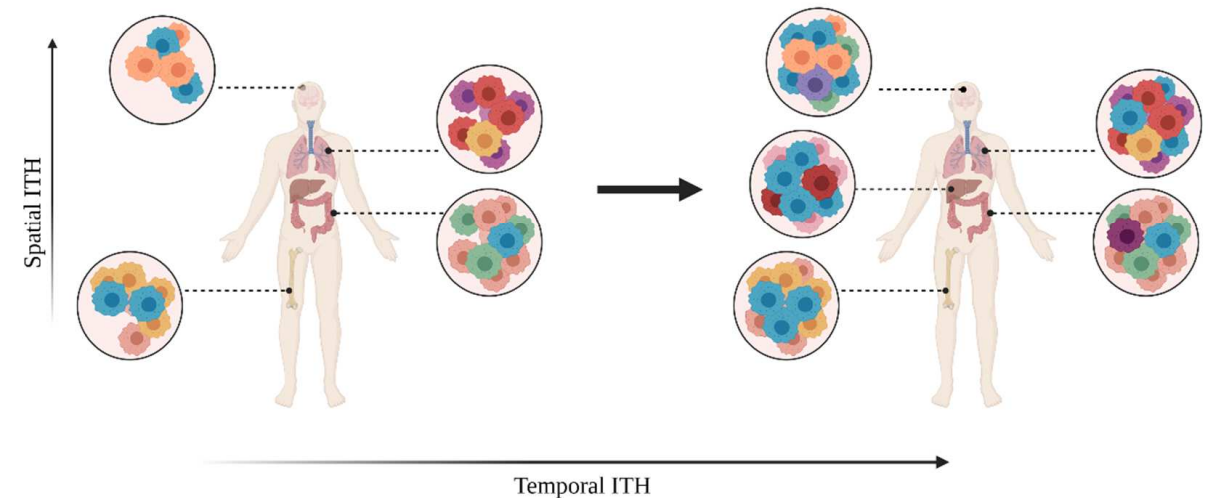
L'eterogeneità spaziale nei tumori

- Differenze **genetiche** tra regioni dello stesso tumore: alcune regioni possono contenere sottopopolazioni cellulari con mutazioni uniche che potrebbero influenzare la progressione della malattia e la risposta alle terapie
- Eterogeneità **intra-tumorale** vs. **inter-tumorale**
- L'eterogeneità tumorale può favorire la selezione di **cloni resistenti** alla terapia
- Comprendere queste dinamiche è cruciale per **personalizzare** le strategie terapeutiche.

A. Inter-tumour heterogeneity



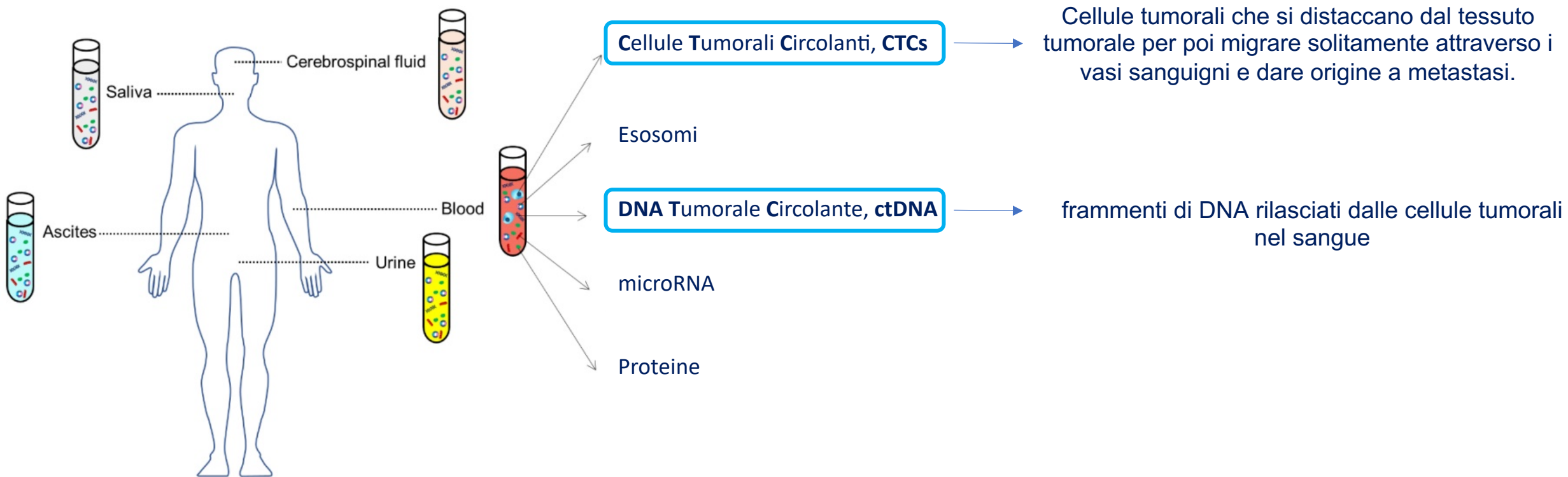
B. Intra-tumour heterogeneity (ITH)



Gilson et al., *Cancers*, 2022



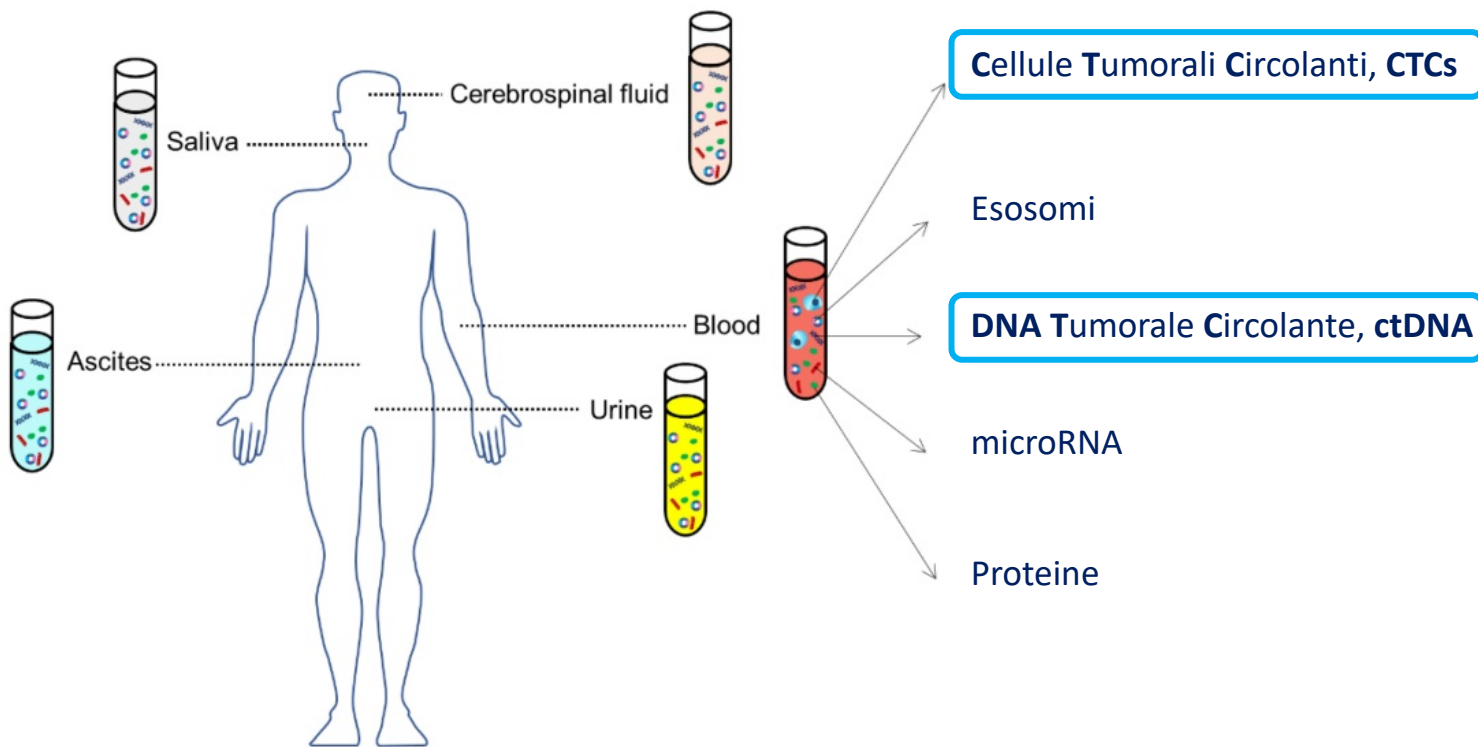
La biopsia liquida come strumento di analisi



Zhang Y et al., *Theranostics*. 2019



La biopsia liquida come strumento di analisi



Zhang Y et al., *Theranostics*. 2019

Vantaggi:

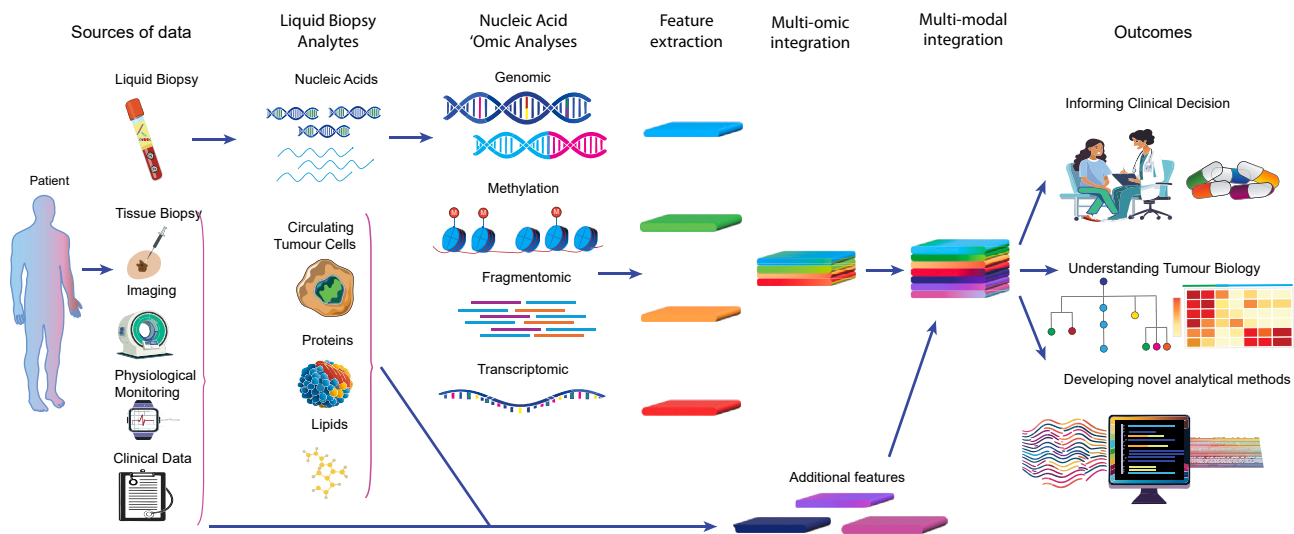
1. non invasiva
2. rappresentativa dell'intero tumore
3. monitoraggio dinamico

Limiti:

1. sensibilità
2. contaminazione da DNA proveniente da cellule normali



Tecnologie per analizzare l'eterogeneità tumorale con la biopsia liquida

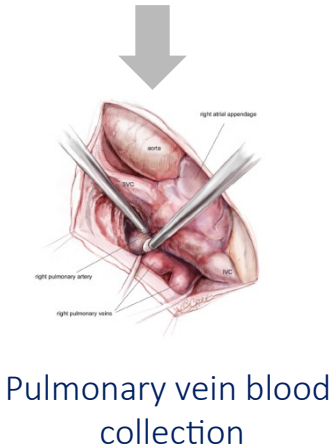
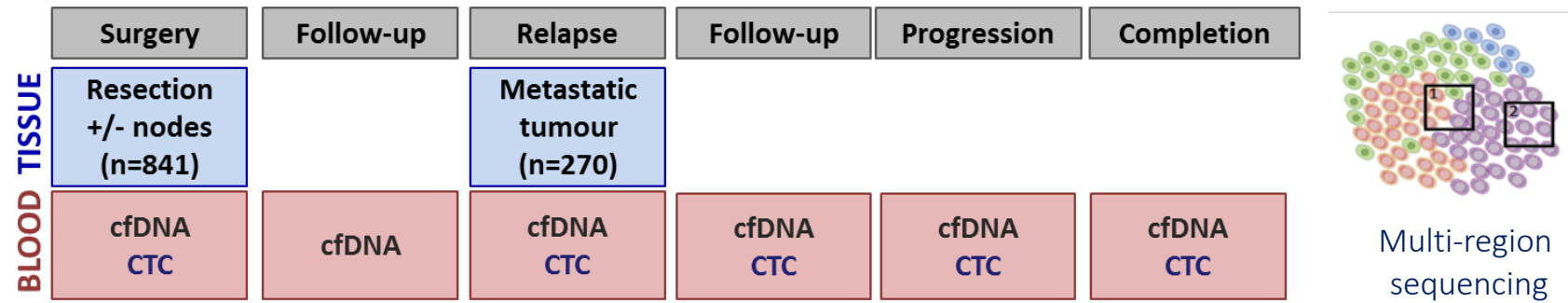


Tivey et al., *Cell Reports Medicine* 2024

- **Sequenziamento di nuova generazione (NGS):** mutazioni clonali e subclonali
- **Single-cell analysis:** CTCs a livello di singola cellula
- **Metilazione del ctDNA:** utile per distinguere diversi tipi di tumore e monitorare la risposta ai trattamenti.
- **Tecniche di multi-omica:** L'integrazione di dati genomici e epigenomici



Identificazioni delle CTCs “letali” nei pazienti con carcinoma polmonare



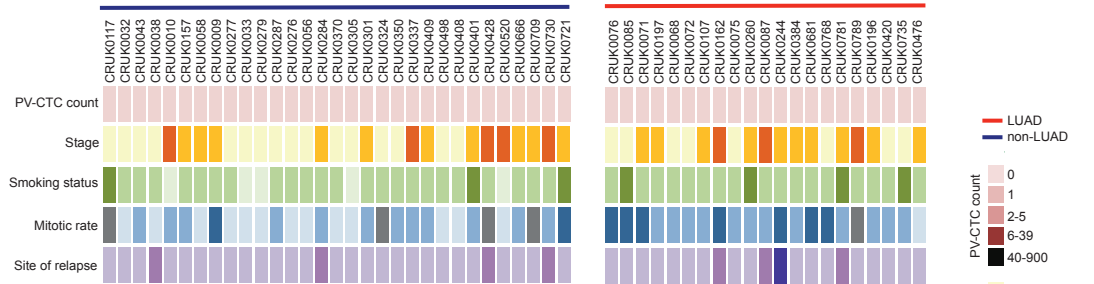
TRACKing lung Cancer Evolution through therapy (Rx) (TRACERx)

Analisi di diversi campioni tumorali sequenziali per stabilire il ruolo della eterogeneità tumorale nei pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC).

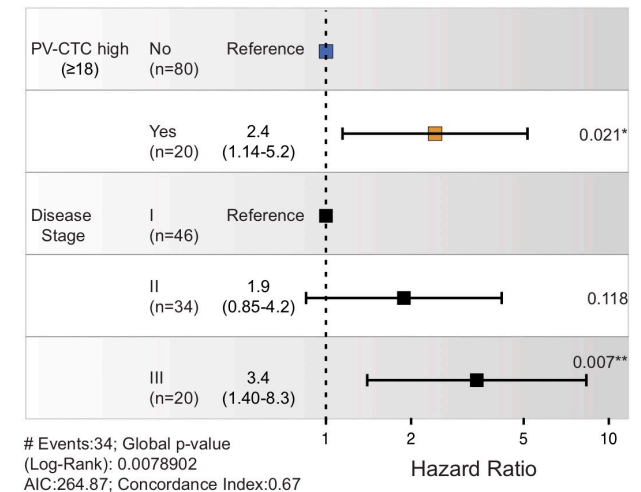
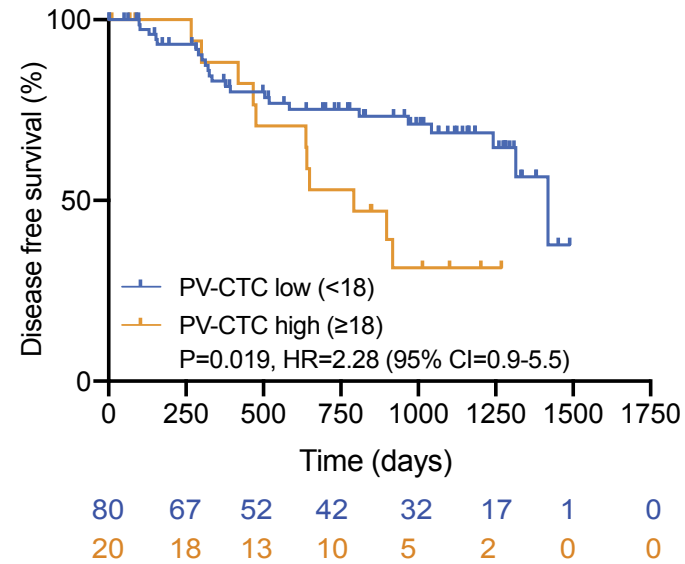
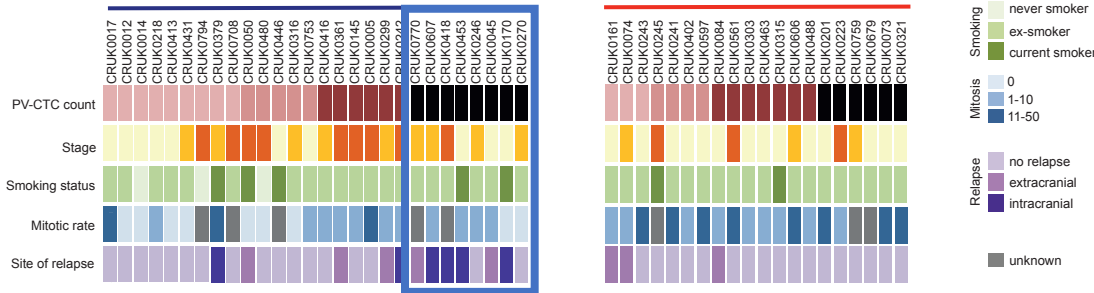


Le PV-CTCs sono associate a recidiva

PV-CTCs not detected (n=52)



PV-CTCs detected (n=48)

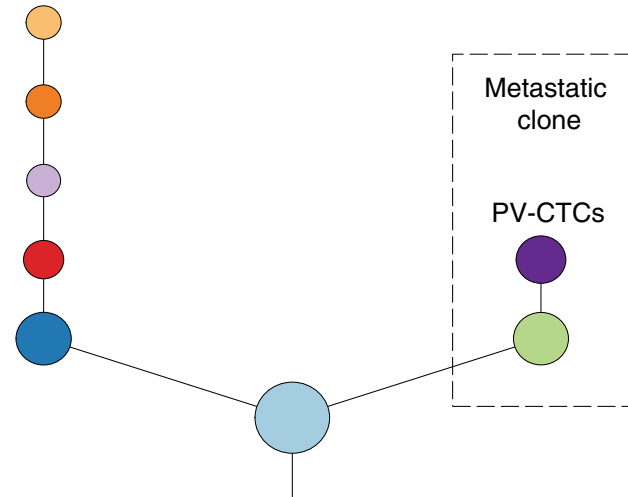
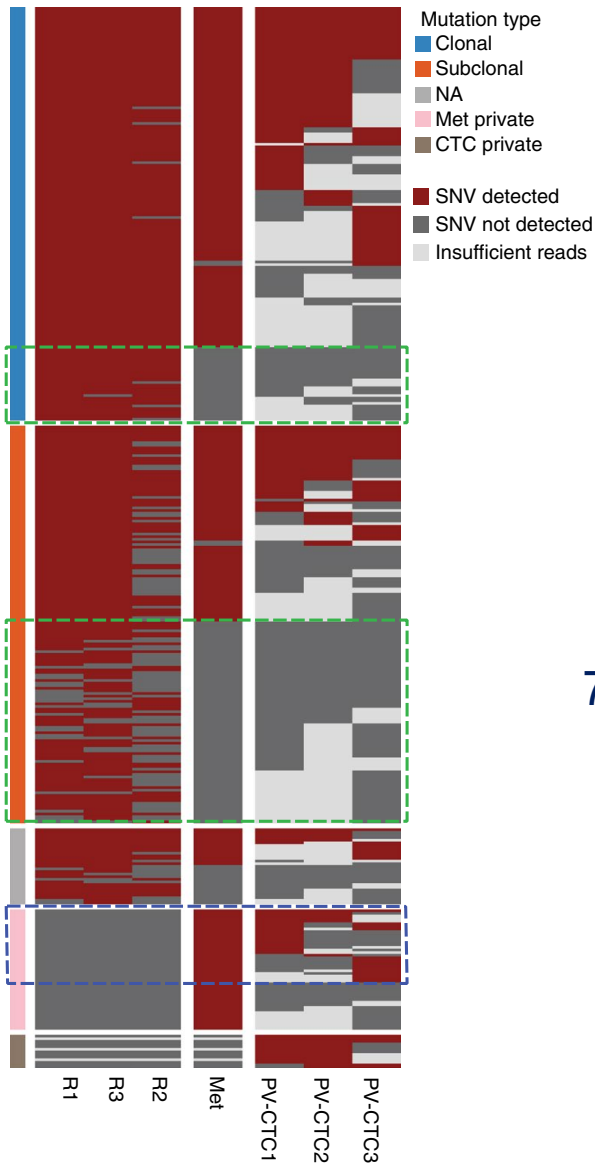


- PV-CTCs rilevate nel 50% dei casi analizzati.
- Osservata una associazione tra alti livelli di PV-CTCs e incidenza di metastasi cerebrali.
- Pazienti stratificati secondo un criterio (18 PV-CTCs) ottimizzato in precedenza.
- PV-CTCs come fattore prognostico indipendente di recidiva tumorale.

Chemi et al., *Nature Medicine*, 2019



Profilo genetico delle PV-CTCs



79% delle mutazioni presenti nelle PV-CTCs sono anche rilevate nel tumore primario

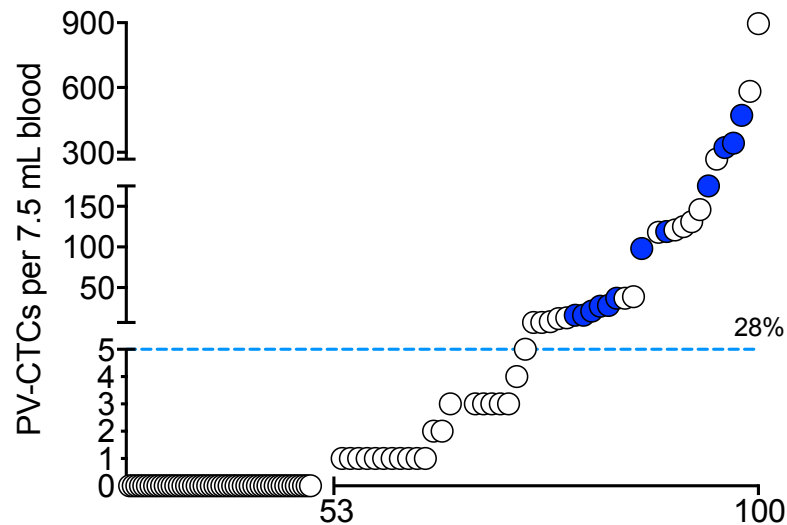
91% delle mutazioni presenti nelle PV-CTCs sono anche rilevate nella metastasi che si è originata 10 mesi dopo

Chemi et al., *Nature Medicine*, 2019



Limitazioni nell'impiego delle CTCs per lo studio dell'eterogeneità spaziale

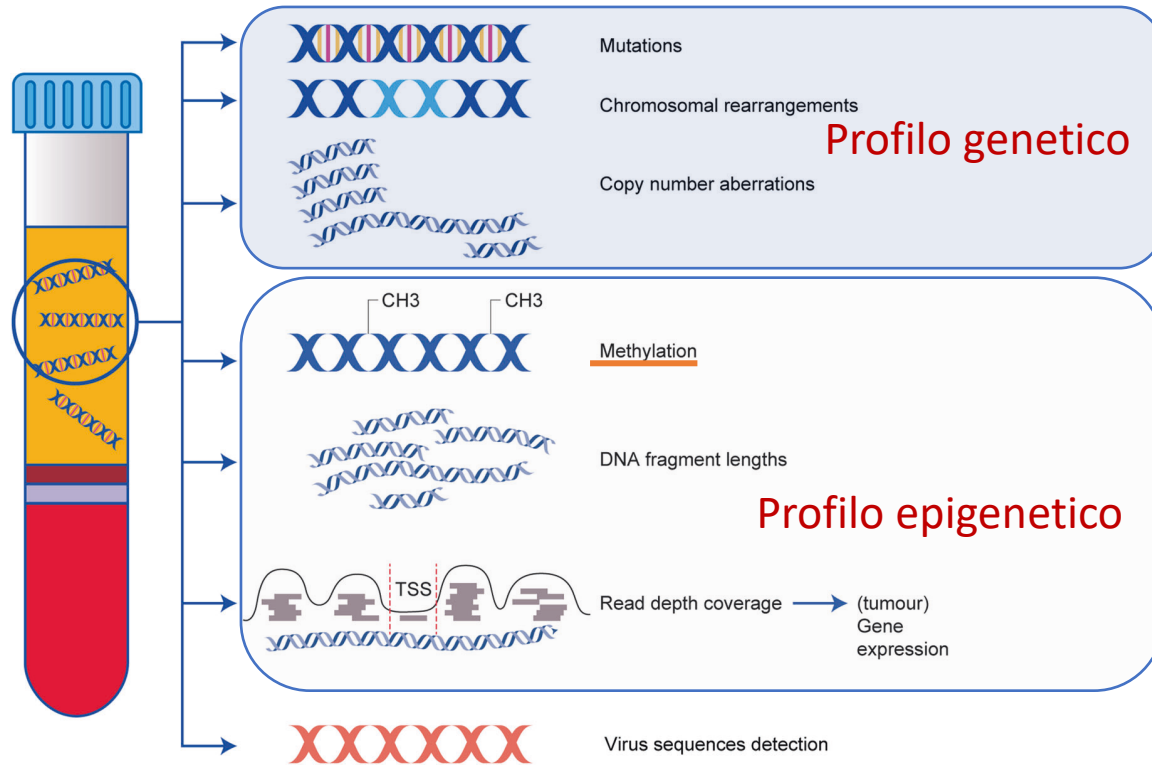
- La loro presenza è **rara**, anche nei pazienti affetti da tumori metastatici.
- L'identificazione e l'isolamento delle CTCs richiede generalmente **metodiche complesse e costose**.
- Difficoltà intrinseche nell'analisi a singola cellula.
- **Assenza di marcatori universali** capaci di identificare e catturare tutte le popolazioni di CTCs.



- Solo il **28%** di pazienti presentava almeno 5 PV-CTCs.
- 220 PV-CTCs isolate, solo il **47%** sequenziato con successo.



L'utilizzo del ctDNA per lo studio dell'eterogeneità spaziale



Keller L et al., **BJC** 2021

- Il DNA tumorale circolante è rappresentativo dell'intera malattia tumorale.
- l'impiego del DNA tumorale circolante, per la caratterizzazione molecolare di alcuni tipi di tumore, è entrato nella pratica clinica.
- Il DNA tumorale circolante viene ritrovato in circolo insieme al DNA proveniente dalla morte di cellule periferiche del sangue.

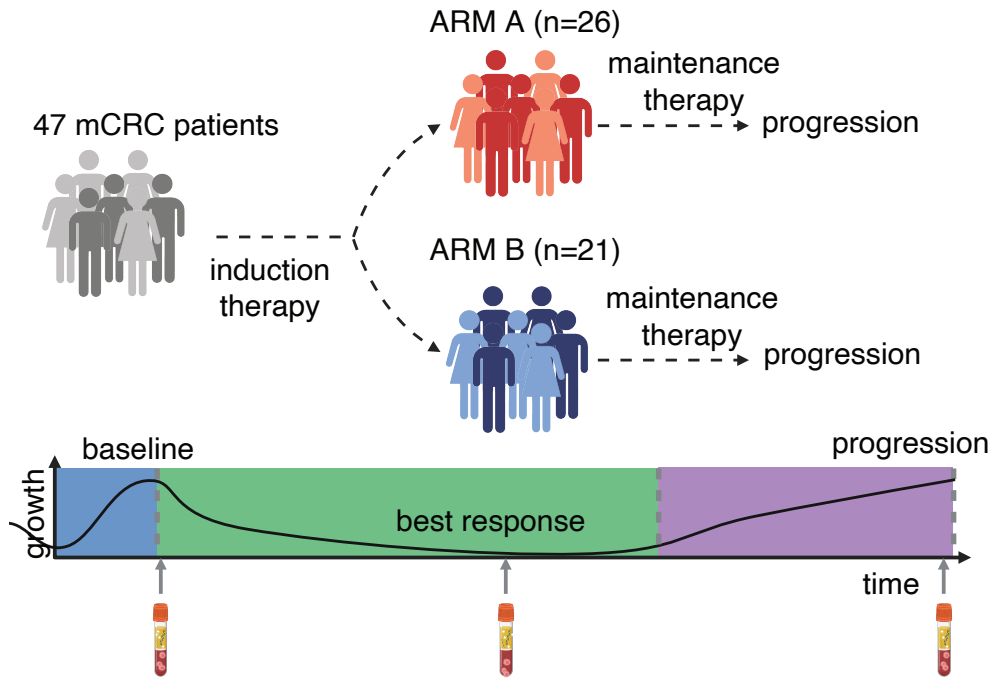
Le informazioni molecolari che si possono ottenere dall'analisi del ctDNA:

1. *Aberrazioni genomiche*
2. *Alterazioni della metilazione del DNA*
3. *Informazioni sull'accessibilità della cromatina*



L'utilizzo del ctDNA per lo studio dell'eterogeneità spaziale

VALENTINO ctDNA study



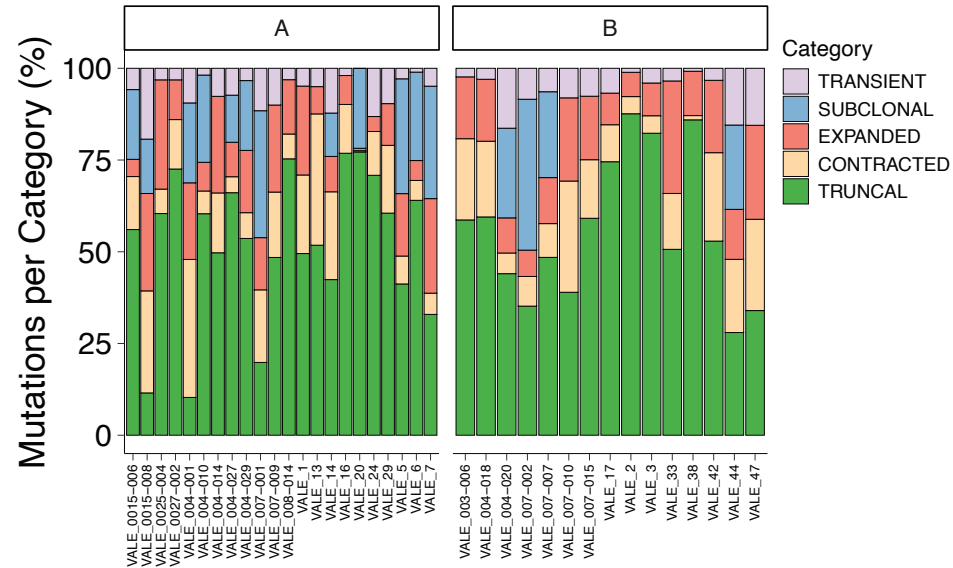
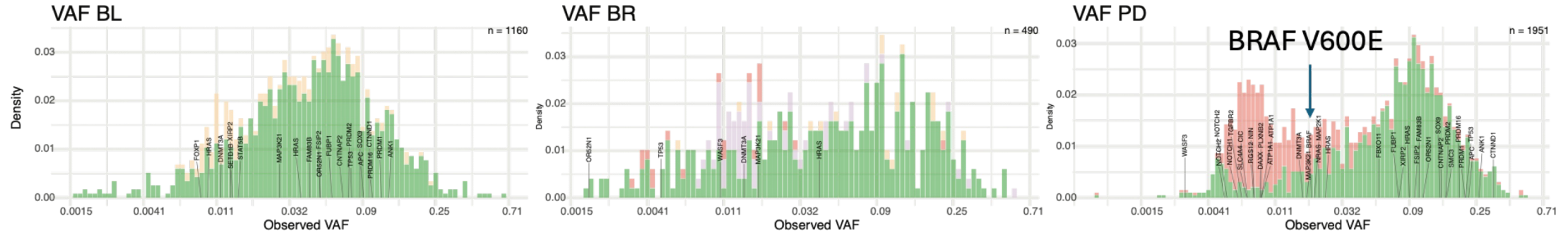
- Pazienti con tumore metastatico al colon-retto trattati con terapia combinata (anti-EGFR e chemioterapia)
- Abbiamo analizzato 141 campioni longitudinali di ctDNA
- Analisi di mutazioni somatiche attraverso il sequenziamento degli esomi
- Sviluppo di metodi computazionali per ricostruire le sottopopolazioni tumorali
- Analisi dei fattori di trascrizione che potrebbero essere associati a resistenza alla terapia



Analisi sul ctDNA consente di individuare cloni associati a resistenza

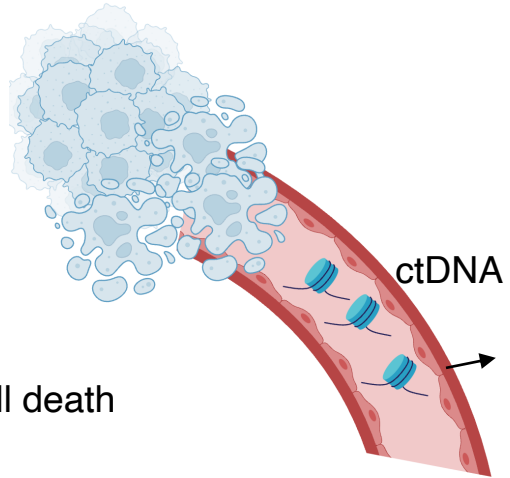
VALE_0025-004

Ploidy fit: 2

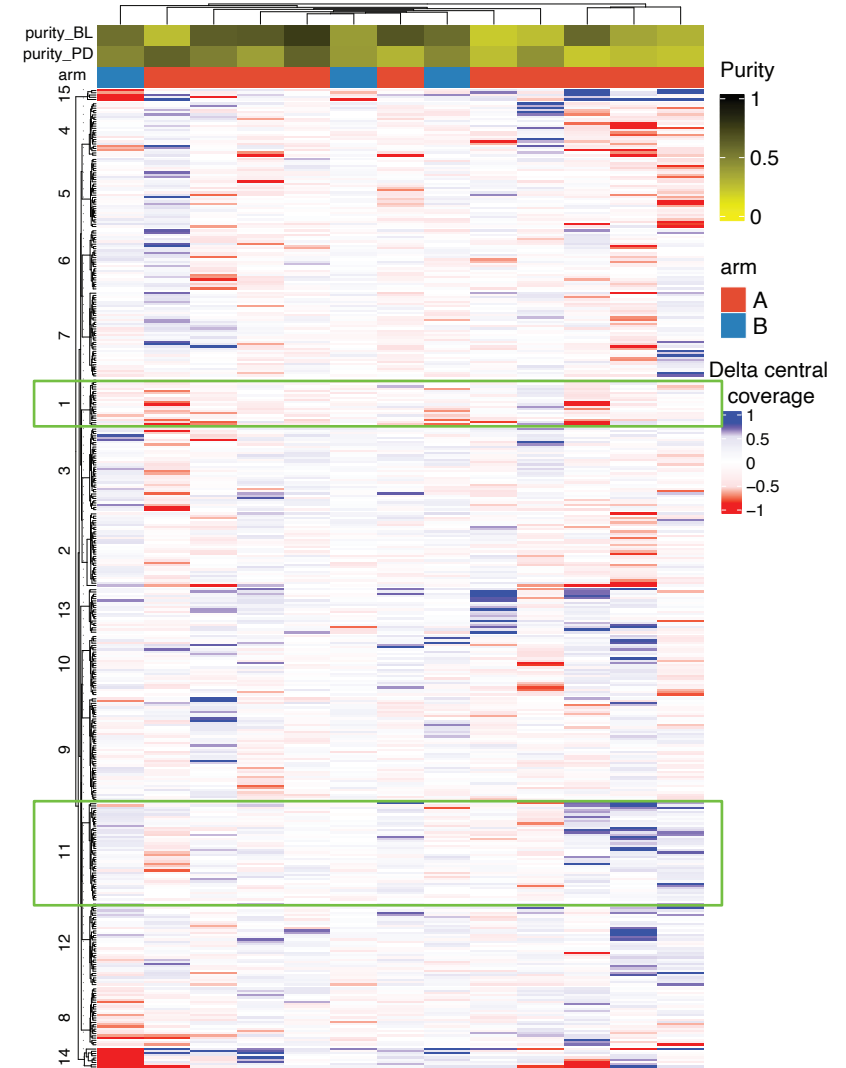
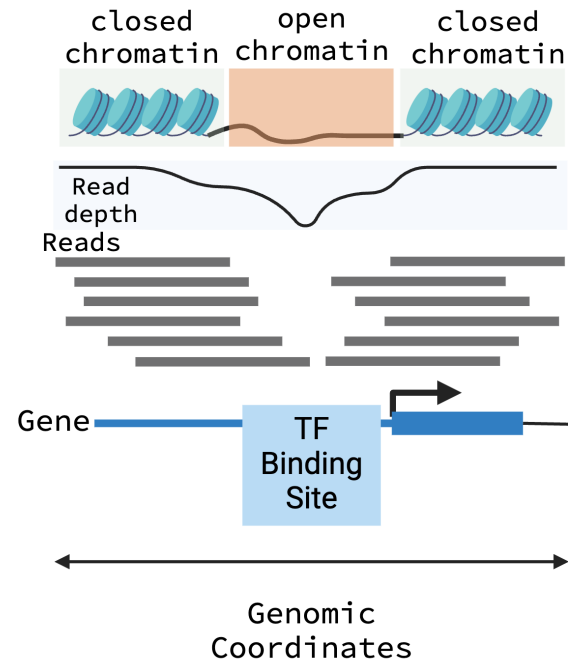


Analisi dei siti di legame dei fattori di trascrizione

Tumour



ctDNA



Conclusioni e prospettive future

- Le biopsie liquide offrono un approccio **innovativo** e **non invasivo** per studiare l'eterogeneità spaziale dei tumori.
- Sviluppo di metodi più avanzati per migliorare la **sensibilità** e **specificità**.
- Integrazione di **multi-omica** (genomica, epigenomica, trascrittomica, proteomica) per comprendere meglio l'eterogeneità tumorale .
- L'utilizzo dell'**intelligenza artificiale** per prevedere l'impatto dell'eterogeneità sull'evoluzione tumorale e sulla progressione della malattia con dati longitudinali.



Ringraziamenti

Computational Biology Centre

Andrea Sottoriva

Madeleine Dale
Davide Rambaldi
Chela James
Luca Azzolin
Sabrina D'Agosto
Antonello Ferrazzano
Francesco Rusconi
All lab members

National Facility of Genomics

Clelia Peano
Nicolò Alfano
Fabio Simeoni

Istituto Nazionale dei Tumori

Filippo Pientrantonio

Federica Morano
Michele Prisciandaro
Alessandra Raimondi
Elisa Sottotetti
Antonia Martinetti
Federica Palermo
Paolo Manca

National Biomarker Centre

Caroline Dive Dominic Rothwell

Nucleic Acid Biomarker team

Alexandra Clipson
Alicia Conway
Daniel White
Sumitra Mohan
Victoria Foy
Sophie Richardson
Nigel Smith
All NAB members

