



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

Scuola di Scienze  
Matematiche, Fisiche e Naturali

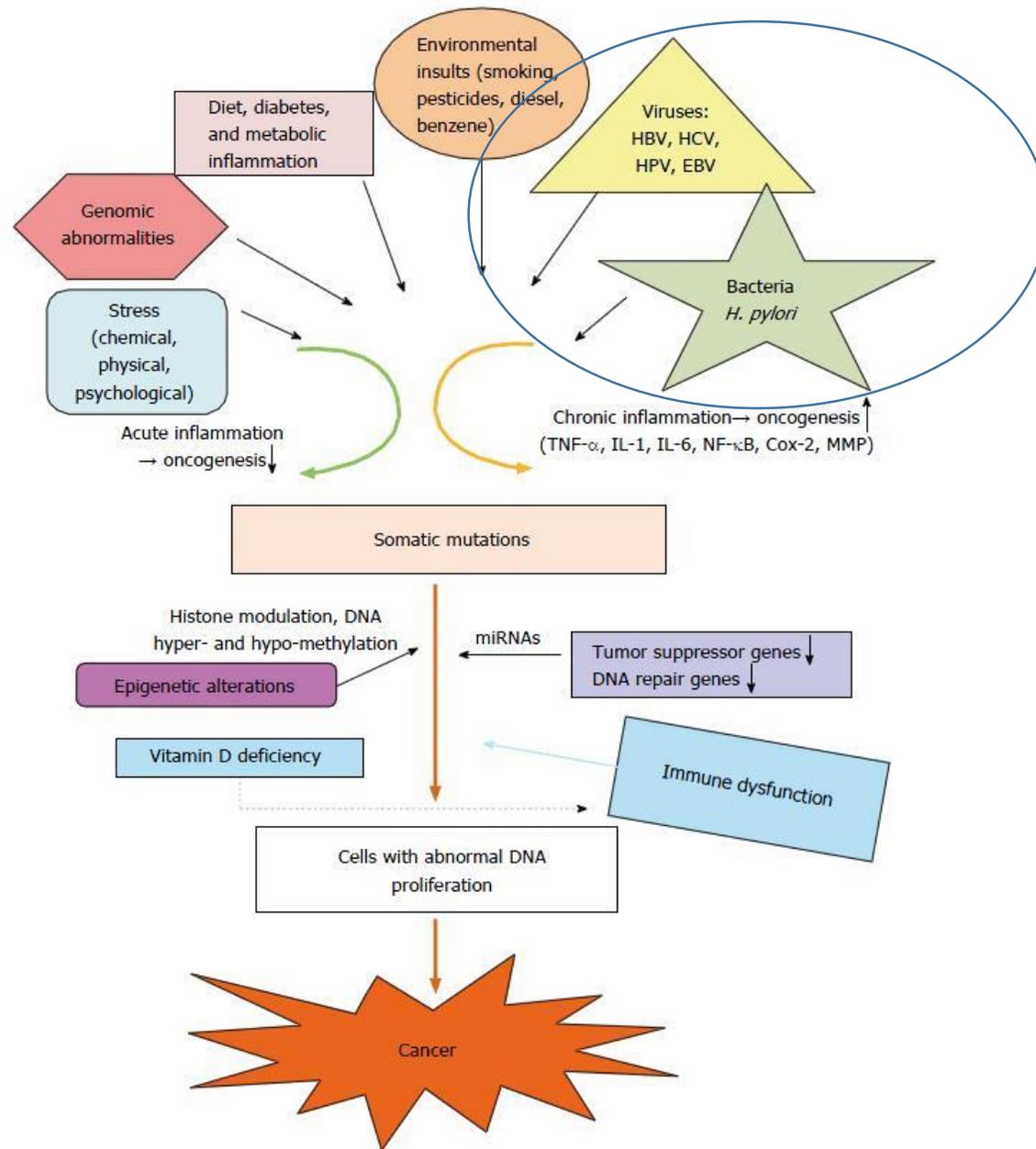
corso di laurea magistrale  
**Biologia**



**LAUREA MAGISTRALE BIOLOGIA MOLECOLARE E APPLICATA- Curriculum Biosanitario e della Nutrizione**

# Corso di ONCOLOGIA

04 novembre 2019



# CANCEROGENESI VIRALE

Il genoma virale, completo o parziale può persistere nella cellula in forma episomica oppure essere integrato nel DNA cellulare.

Un numero limitato di geni virali è costitutivamente espresso dalla cellula.

## Interazione virus-cellula

### Immortalizzazione

Crescita continua in coltura  
Alterazioni fenotipiche simili alle cellule trasformate  
Non provocano tumori se iniettate in topi nudi

### Trasformazione

# Virus → Neoplasie

Papilloma virus

Tumori della cervice uterina

Virus Epstein-Barr

Carcinoma naso-faringeo

Linfoma di Burkitt

Virus epatite B e C

Carcinoma epatico

HHV8

Sarcoma di Kaposi

HTLV I

Leucemie

Sospetta eziologia virale → 15-20% tumori umani

# VIRUS A DNA

Papova virus: alcuni tumori solidi, papillomi e carcinomi

Hepednavirus: carcinoma epatocellulare

Adenovirus: vari tumori solidi

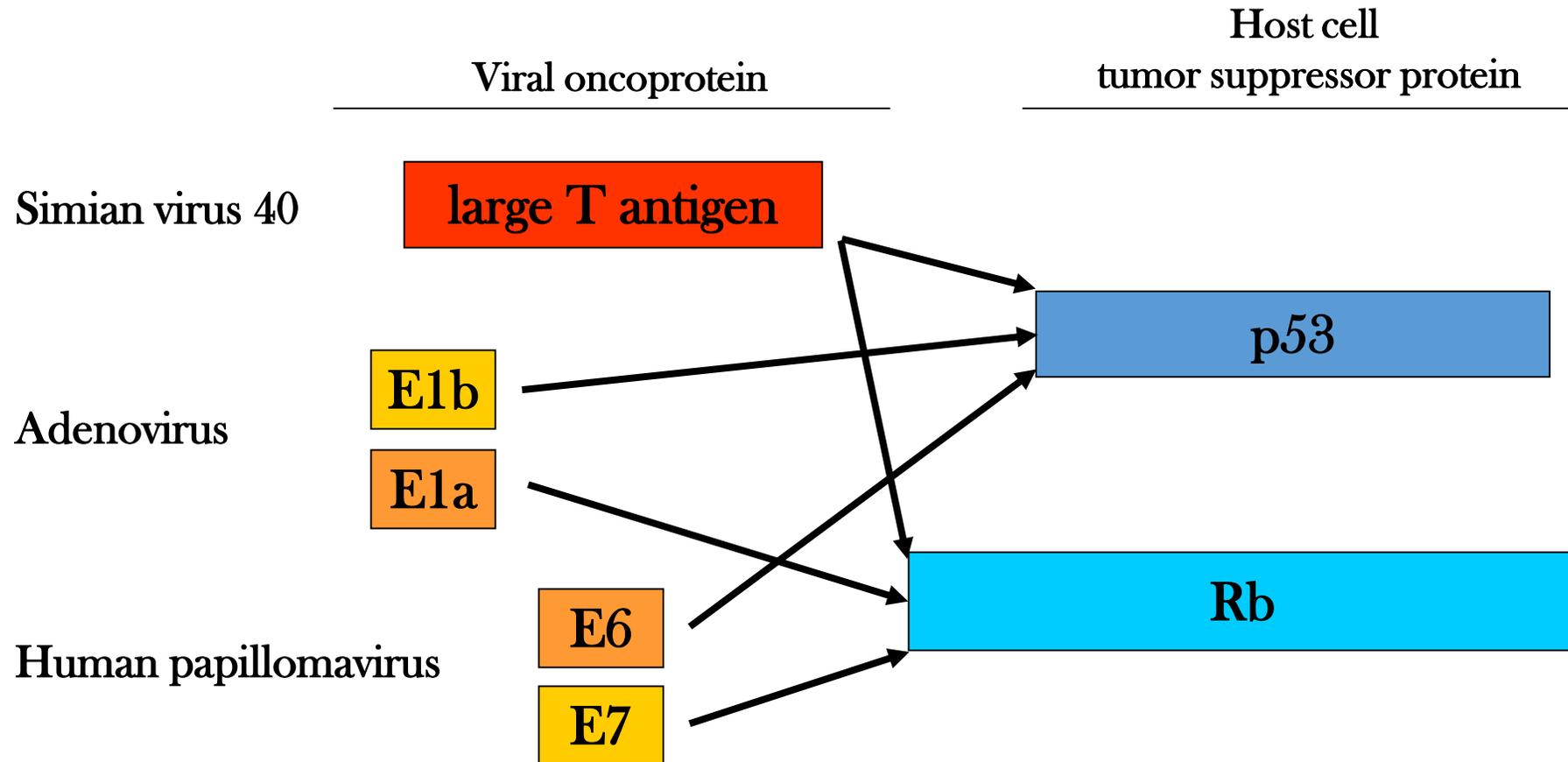
Herpesvirus: linfomi, sarcomi e carcinomi

Poxvirus: fibromi

Attivazione di un proto-oncogene

Inibizione di un anti-oncogene

# I virus a DNA hanno come bersaglio proteine che controllano il ciclo cellulare



# PAPOVA VIRUS-Polyoma e SV-40

**Polyoma virus:** è solo un virus animale, ed induce tumori nei topi

Ag T grande, medio e piccolo.

Ag T medio si associa alla membrana cellulare, si complessa con c-src e ne attiva l'attività tirosin-chinasica.

**SV-40:** è uno dei pochi virus capace di trasformare le cellule umane in coltura.

Non è stato associato a nessun tumore umano, sebbene molte persone siano state infettate dal virus che contaminava i primi lotti di vaccino antipolio.

Sequenze virali presenti in t cerebrali e mesotelioma: significato ignoto.

Ag T grande di SV40 lega p53 e Rb.

# PAPOVA VIRUS- HPV

Il **papilloma virus (HPV)** è un virus di tipo I (a DNA), privo di capside e con genoma dsDNA circolare.

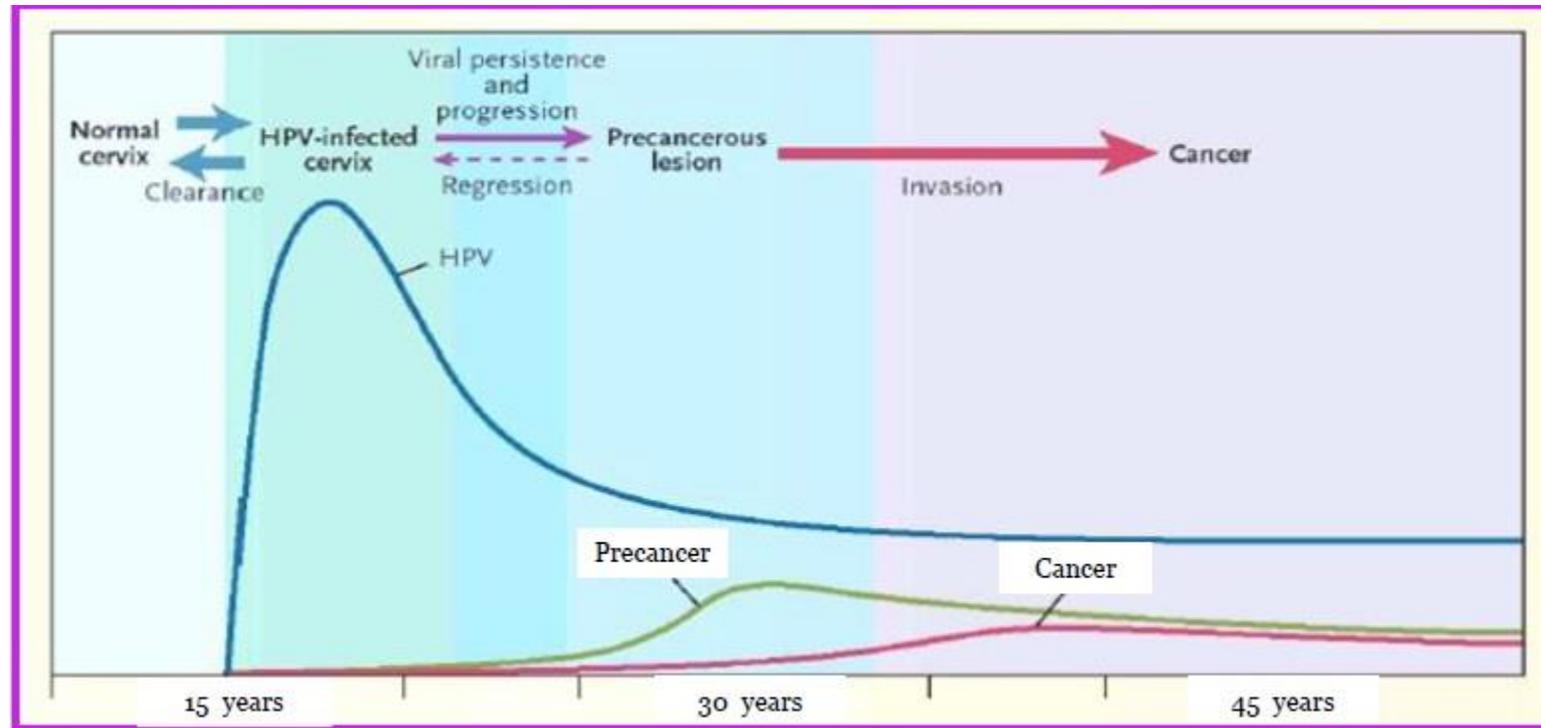
Tumori benigni che possono progredire verso la malignità.

Nell'uomo il papilloma virus induce lesioni benigne dell'epitelio squamoso: verruche cutanee, papillomi laringei e condilomi acuminati della vulva e cervice uterina, del pene e della regione perianale.

Occasionalmente i papillomi laringei ed i condilomi acuminati vanno incontro a trasformazione maligna in carcinoma a cellule squamose.

- Circa 30 tipi infettano primariamente l'epitelio squamoso del basso tratto genitale, dando origine a: condilomi acuminati o verruche “a cavolfiore”, e “condilomi piani” (malattia subclinica).
- Gli HPV tipo 6, 11, 42, 43, o 44 di norma si presentano come condilomi acuminati, ma possono anche presentarsi come lesioni piane che possono o no essere visibili a occhio nudo: sono i tipi “a basso rischio”.
- I tipi 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, e 56 sono considerati “ad alto rischio” essendo stati riscontrati nei carcinomi della cervice e altre.

# Screening HPV



# Screening HPV

**SCREENING IS AN IMPORTANT PART OF PREVENTION**

Today, there are two main screening tests for cervical cancer.

## PAP



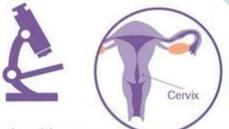
Used for nearly 80 years to look for **abnormal changes in cells**.

## HPV TEST



Uses **modern technology** to detect DNA of high-risk HPV to identify a woman's risk for pre-cancer or cancer.

The tests can be performed together or one after the other, depending on age and medical guidelines.



Your healthcare professional collects cells from your cervix and sends the sample to a laboratory, which looks for **abnormal cells under a microscope**.



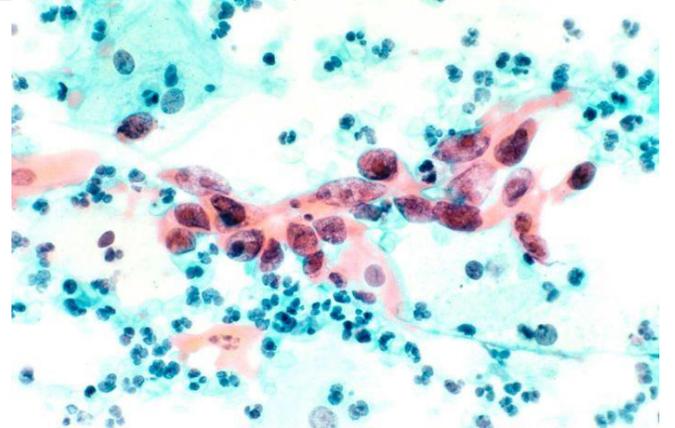
A sample is taken from the cervix the same way as a Pap test. Then, a **highly accurate laboratory instrument tests for the DNA** of high-risk HPV.



The Pap test **does not detect the presence of HPV** and is subject to human error.

Looking for high-risk HPV **can determine your risk of cervical cancer**.

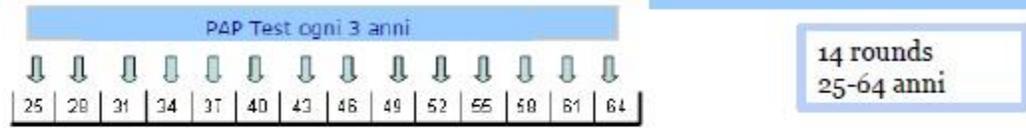
HPV Test	PAP Test
L'HPV Test è più sensibile della citologia e permette di rilevare la presenza di alterazioni displastiche di alto grado prima che diventino invasive	Il PAP Test cioè la citologia è più specifica nell'individuazione delle lesioni cervicali
<b>Test più sensibile</b> perché ha meno falsi negativi	<b>Test più specifico</b> perché ha meno falsi positivi



# Screening HPV

Regione Toscana, donne di 25-64 anni

Fino al 2012 Programma di screening: 25-64 anni Pap-Test ogni 3 anni

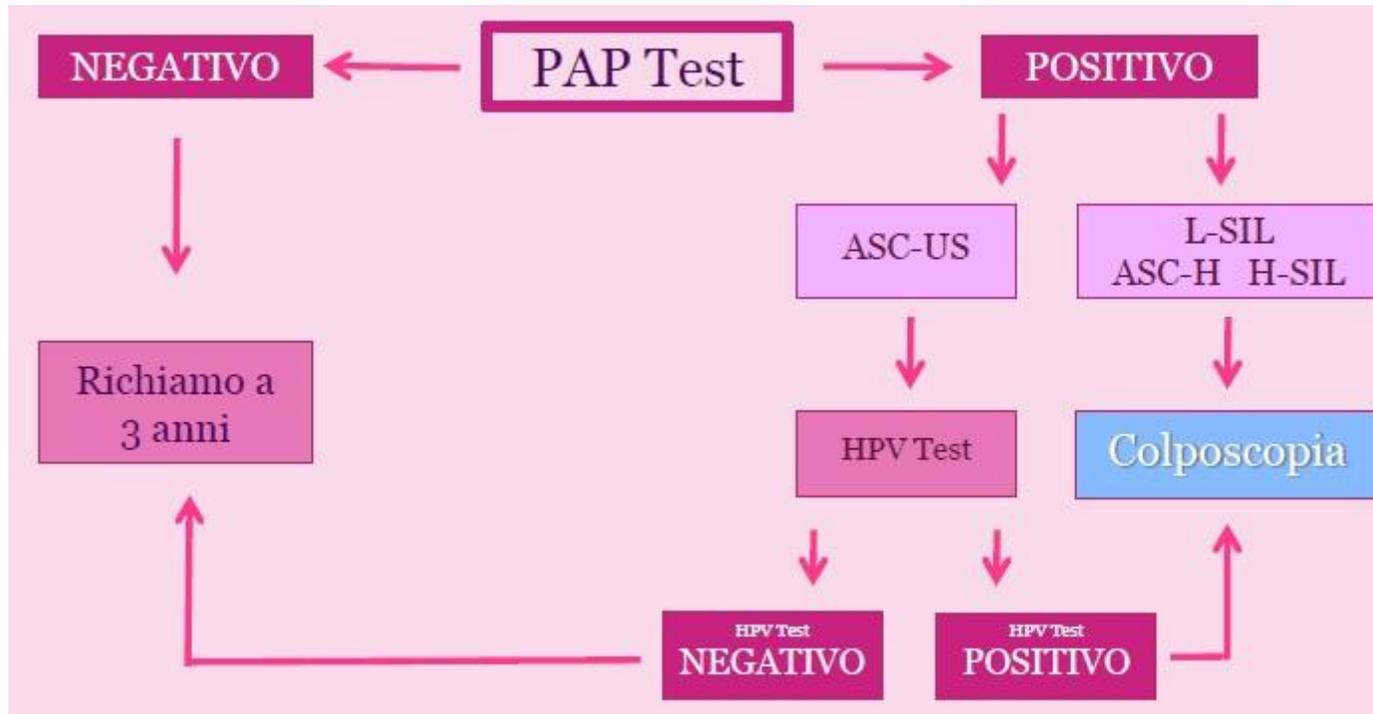


**Nuovo protocollo** : 25-33y Pap Test ogni 3 anni  
34-64 y HPV screening ogni 5 anni



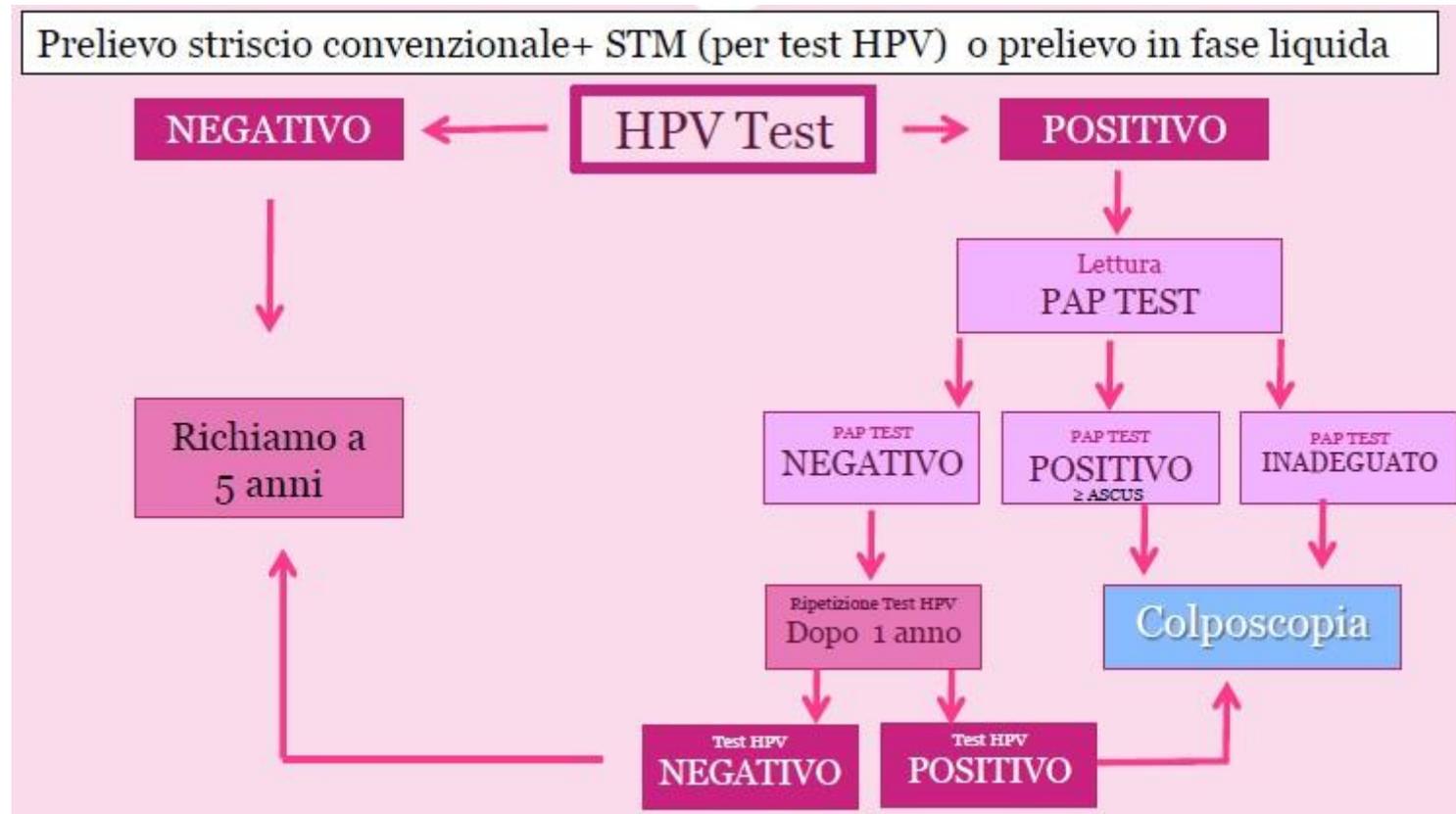
# Screening HPV

Regione Toscana, donne di 25-33 anni

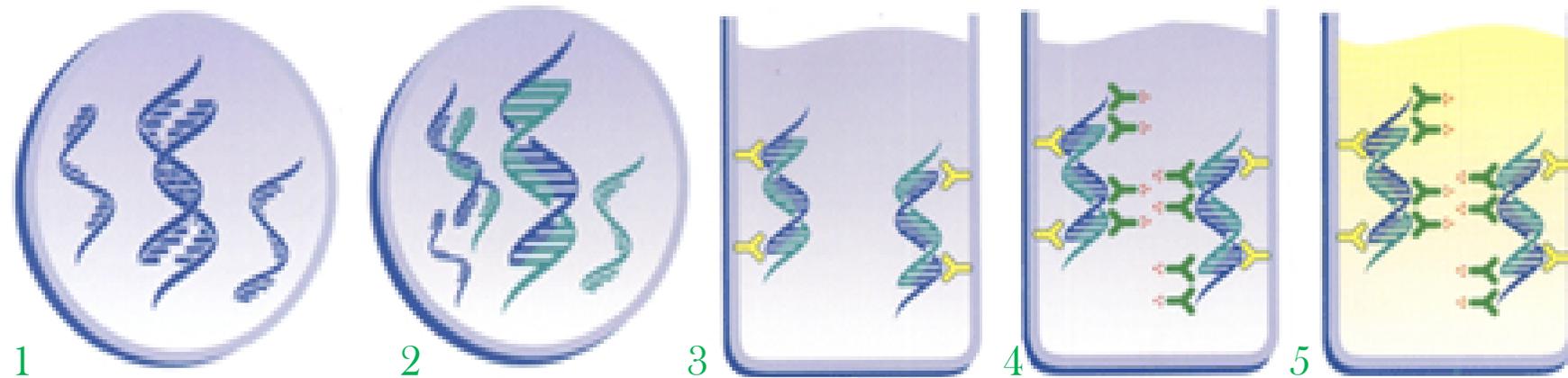


# Screening HPV

Regione Toscana, donne di 34-64 anni



# Test HPV-DNA: Hybrid capture II



1. Rilascio e denaturazione degli acidi nucleici
2. Ibridazione sonda a RNA con DNA bersaglio
3. Cattura degli ibridi RNA-DNA in fase solida
4. Reazione ibridi catturati con anticorpi coniugati
5. Rilevazione segnale chemiluminescente amplificato

Basso Rischio	6, 11, 41, 42, 43, 44
Rischio Intermedio	31, 33, 35, 39, 51, 52
Alto Rischio	16, 18, 45, 46

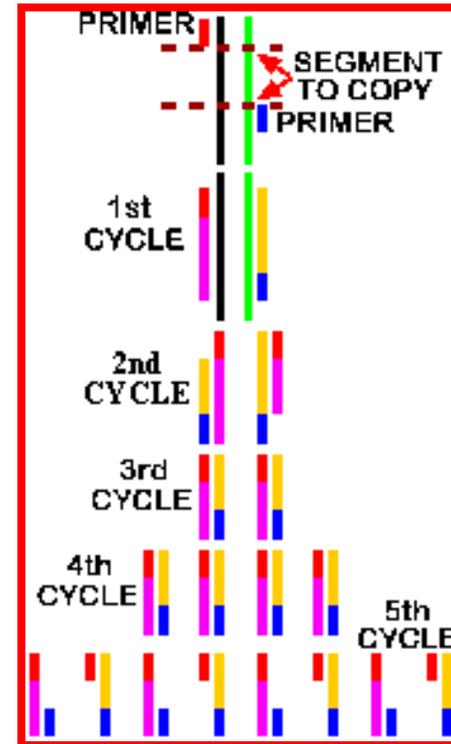
# Test HPV-DNA: PCR

- Maggiore costo
- Maggiore sensibilità
- Tipizzazione dei diversi HPV

DNA + BUFFER +  
PRIMERS + dNTP +  
DNA POLIMERASI

## TERMOCICLIZZATORE

- 1 DENATURAZIONE
- 2 ANNEALING
- 3 POLIMERIZZAZIONE



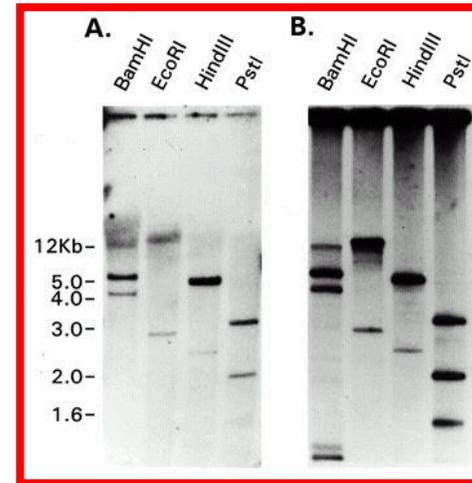
## ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO

**2 VOLTE:**

- Presenza **DI HPV DNA**
- **Basso rischio o Alto rischio?**

# INDICI DI RISCHIO PER CANCRO

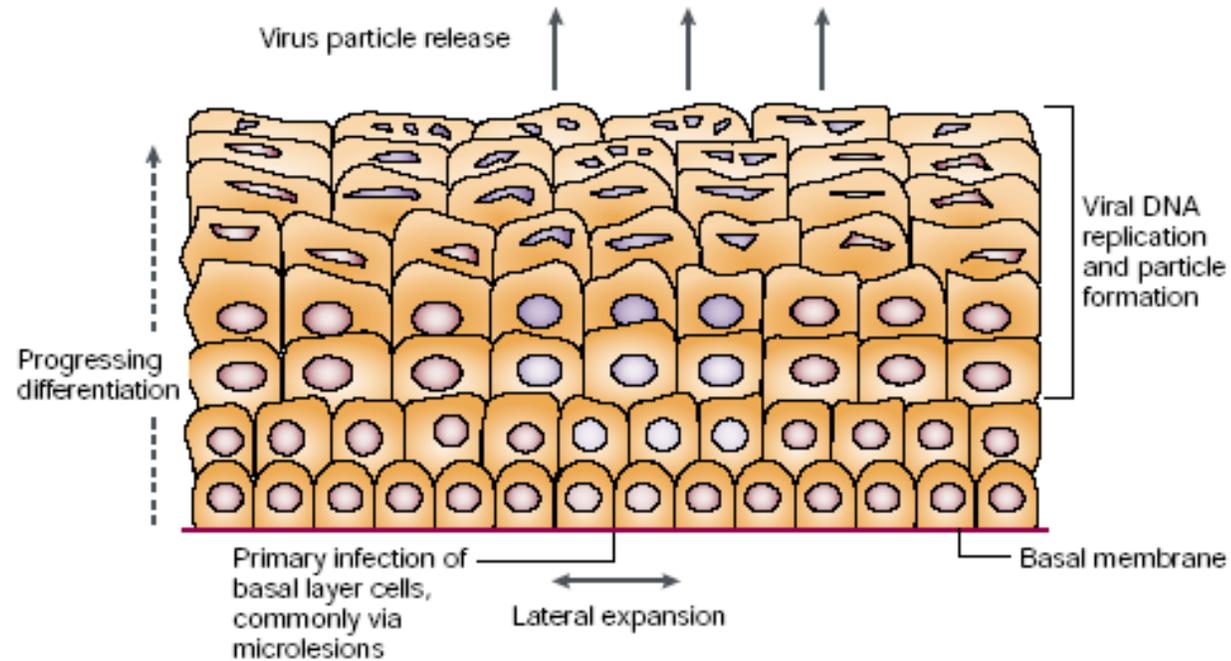
- genotipo virale HR



- quantità DNA infettante

Southern blotting  
E6-E7 nel DNA cellulare  
○  
Amplificazione m-RNA

- stato fisico del virus (episomale-integrato)



L'infezione avviene nello strato basale, a livello di microlesioni degli epitelii o della mucosa.

Le cellule infettate si dividono, alcune migrano nello strato di cellule soprabasale differenziate e il genoma virale viene attivato.

Il DNA virale viene replicato.

Le particelle virali sono rilasciate in superficie e possono infettare altre cellule.

Il meccanismo con cui **HPV 16** produce la trasformazione neoplastica si basa sull'interazione tra proteine virali e prodotti dei geni soppressori tumorali.

Il virus produce due proteine chiamate **E6 ed E7** che sono direttamente coinvolte nella genesi tumorale. E6 interagisce con la proteina p53 e la indirizza verso una rapida degradazione; E7 interferisce nel complesso che si forma tra prodotto del gene del retinoblastoma ed i fattori di trascrizione cellulare (E2F)

# HEPEDNA VIRUS

- Danni acuti e cronici alla cellula epatica
- Induzione processo flogistico nel fegato
- Il rischio di cancro aumenta di 200 volte in soggetti che hanno contratto l'infezione
- DNA integrato nel genoma, livelli di HSbAg rilevabili nel siero
- Il genoma del virus è stato riscontrato nei tumori epatici ma anche in pazienti cirrotici
- Il virus non provoca trasformazione delle cellule in coltura

# HERPES VIRUS

## HERPES VIRUS UMANI:

HSV1 (labialis)

HSV2 (genitalis)

CMV (citomegalovirus)

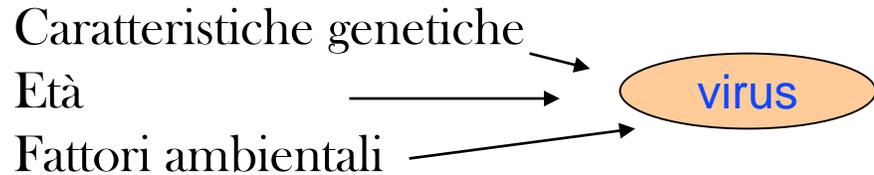
VZV (varicella-herpes Zoster): non è stato in alcun modo associato al cancro

**EBV** (Epstein Barr): primo virus associato a una neoplasia umana (linfoma endemico nell'Africa, il linfoma di Burkitt) e carcinoma nasofaringeo

HHV6 e 7 infettano linfociti T (Human Herpes virus 6)

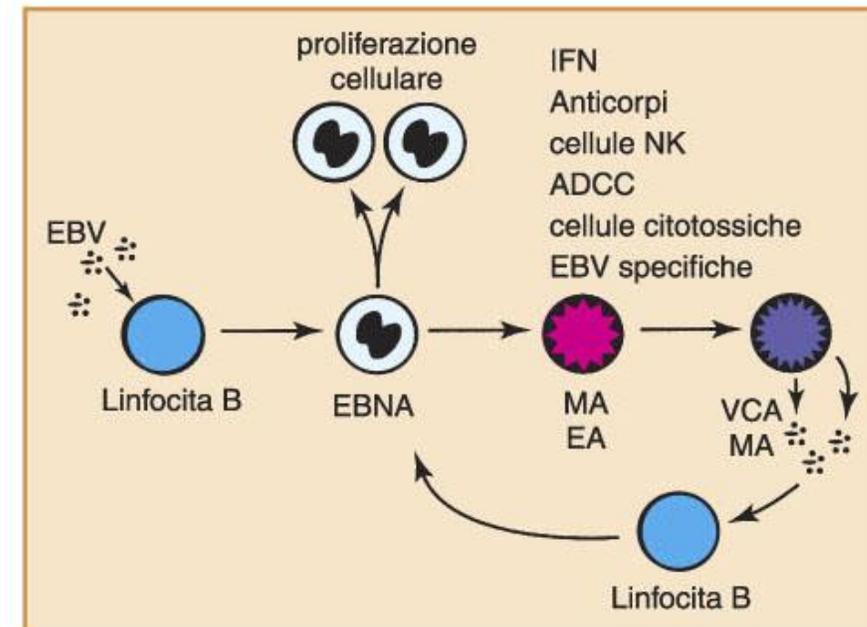
HHV8: sarcoma di Kaposi

# HERPES VIRUS- EBV



Infezione primaria attraverso scambi di saliva nell'orofaringe  
Replicazione virale nelle cellule dell'epitelio pluristratificato  
Infezione secondaria dei Linfociti B  
Persistenza nei Linfociti B

Infezione nella prima infanzia: cavo oro-faringeo  
Ospite nei Linfociti B  
Modificazioni ambientali possono riattivarlo  
Infezione nell'adolescenza: mononucleosi infettiva  
Il virus viene rilasciato nella saliva e nel sangue  
Linfoma di Burkitt  
Carcinoma rino-faringeo  
Trasformazione Linfociti B in coltura



# Linfoma di Burkitt

Africa tropicale

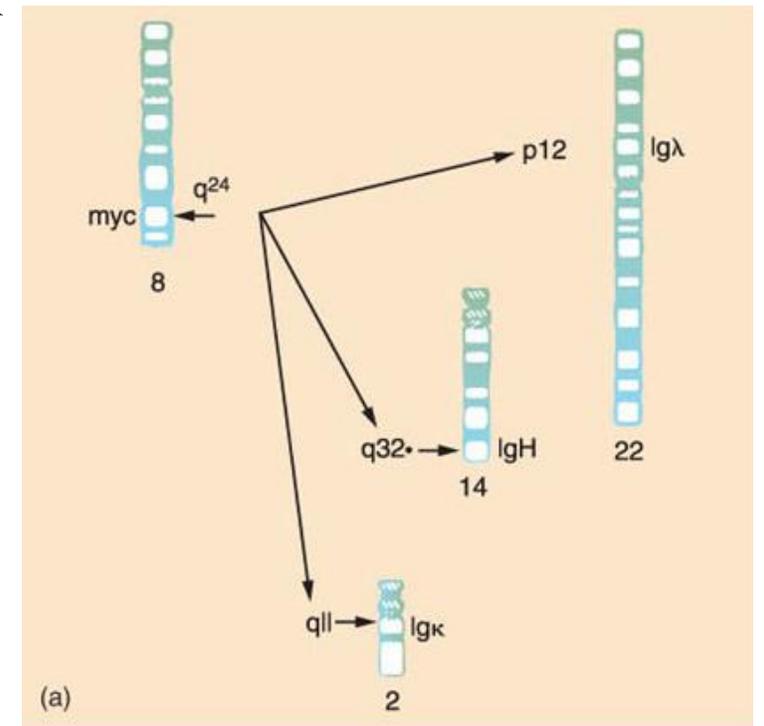
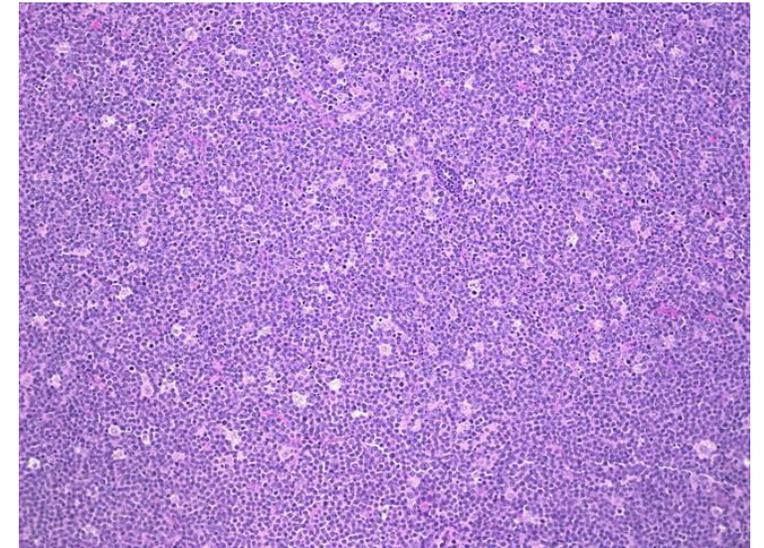
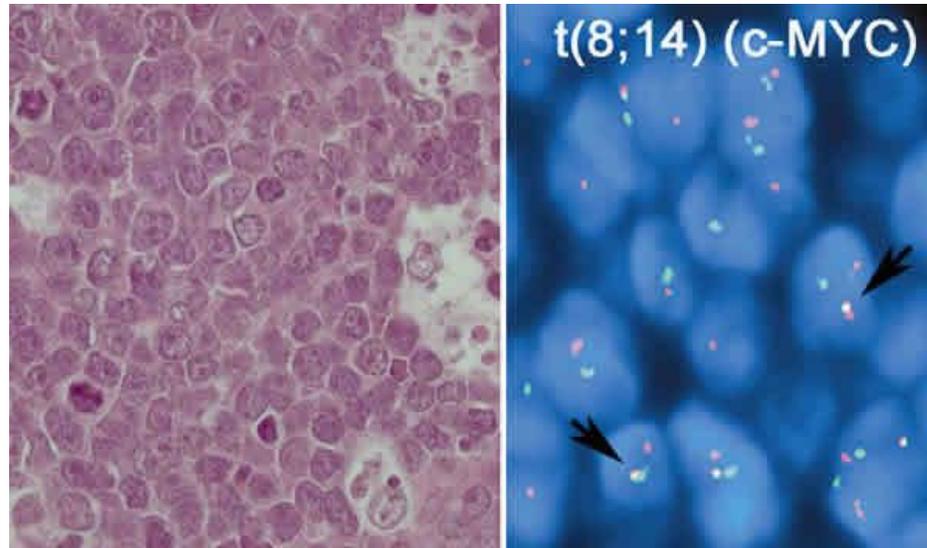
Colpisce i bambini

Linfoma scarsamente differenziato (linfociti B)

DNA virale è stato rilevato in più del 90% dei casi

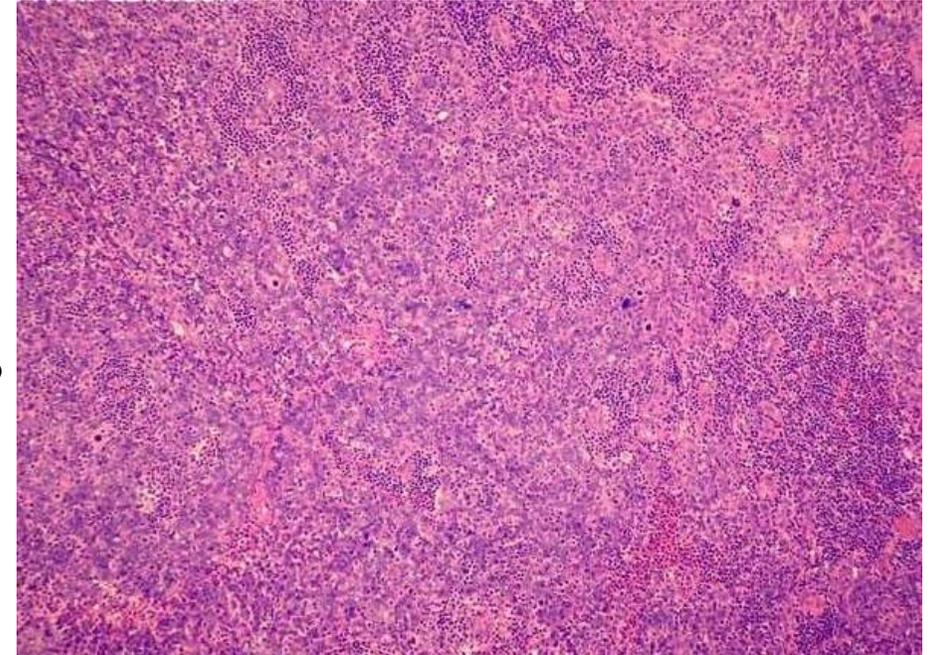
Caratteristica anomalia cromosomica:

traslocazione dell'oncogene c-Myc dal cromosoma 8 ad uno dei cromosomi coinvolti nella sintesi delle catene delle immunoglobuline (14, 2 o 22)



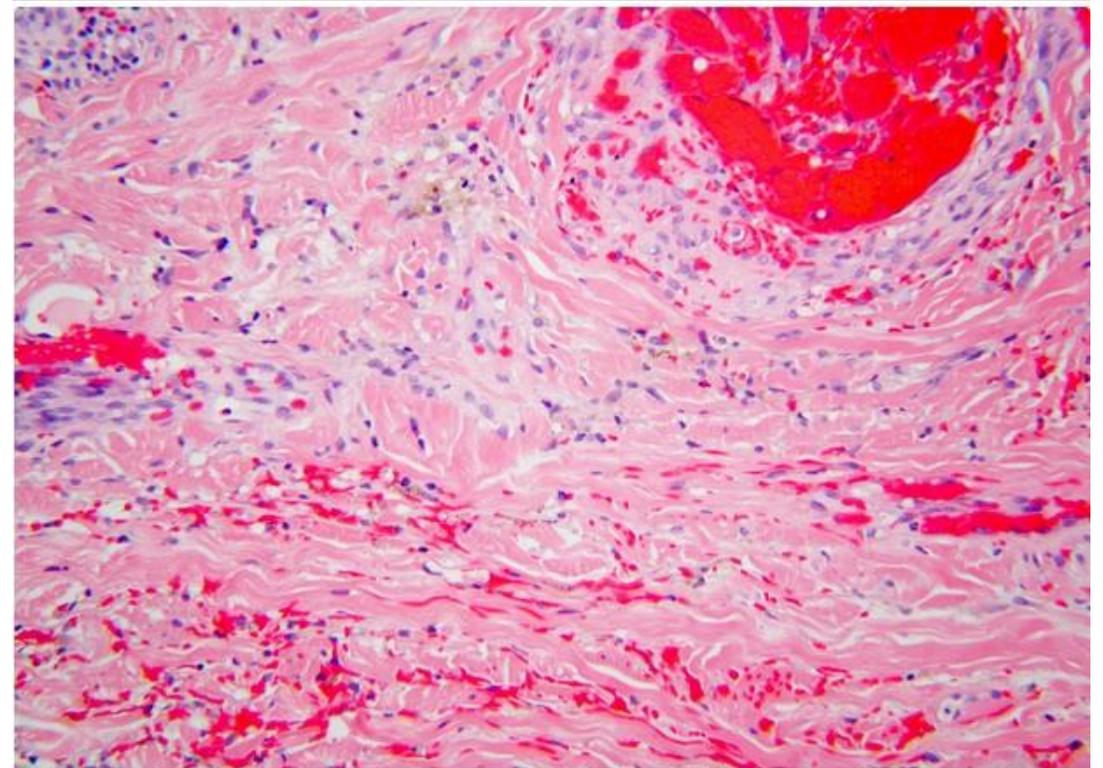
# Carcinoma Rino-faringeo

- Asia sud-orientale (soprattutto nella Cina sud-orientale)
- Il virus è stato identificato nelle cellule del carcinoma rino-faringeo praticamente tutti i pazienti
- Specifici geni virali espressi in queste cellule
- Il virus è stato però anche identificato in soggetti sani
- Fattori ambientali che contribuiscono all'eziopatogenesi:  
consumo di pesce essiccato (nitrosamine)  
terapia con Euphorbiacee (esteri del forbolo)



# Sarcoma di Kaposi

- Il DNA di **HHV-8** è presente in tutti i casi di sarcoma di Kaposi
- Possiede numerosi geni omologhi a geni cellulari che controllano processi quali: apoptosi, risposta immune e ciclo cellulare
- Utilizza proteine che gli permettono di eludere la risposta immune (vIRF) e inibire l'apoptosi (vFLIP e vBcl-2)
- Possibile trasmissione orizzontale e verticale (saliva)



Shave of skin from the foot of an elderly patient showing extravasated red blood cells, hemosiderin deposition (upper middle) and the beginning of a spindle cell component (far left in middle and in top right)

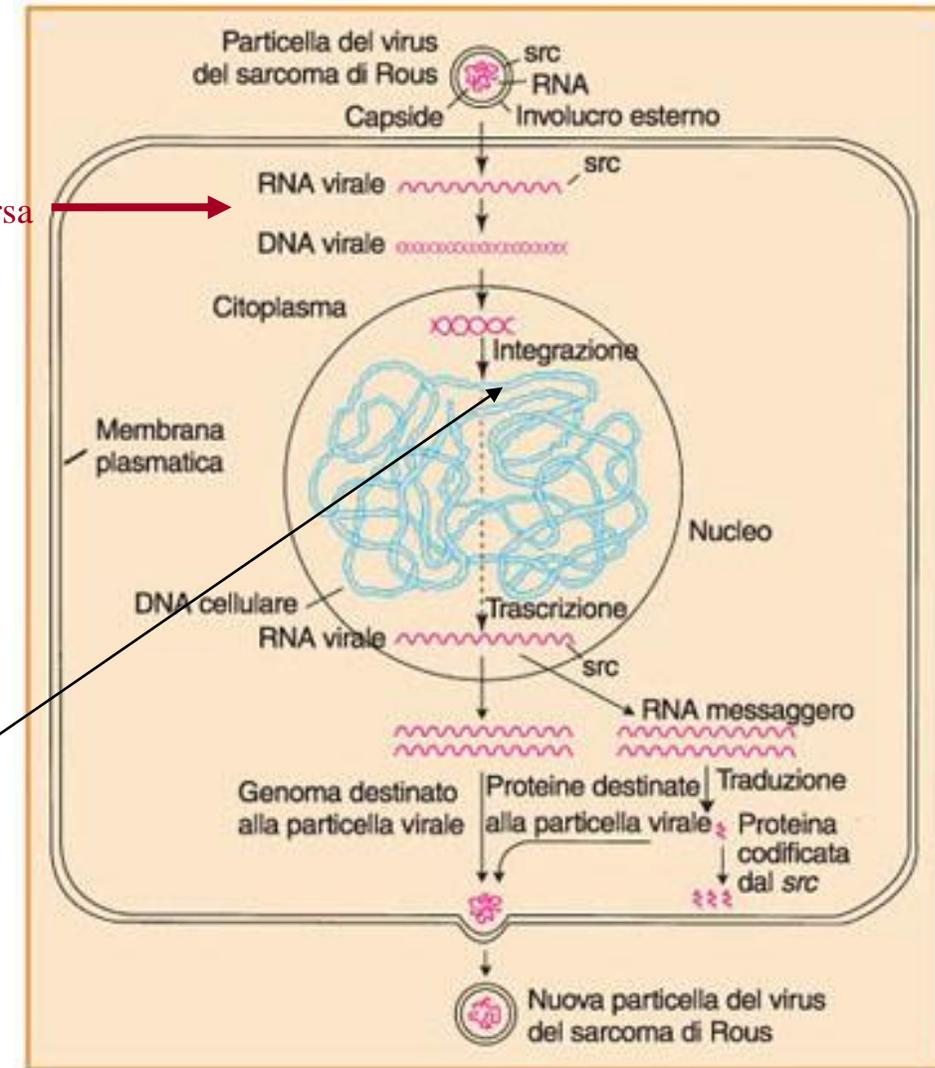
# VIRUS A RNA (retrovirus)

- Doppia copia di un filamento di RNA (a singola catena) che durante la replicazione virale viene trascritto dalla trascrittasi inversa e si integra nel genoma: provirus
- I geni virali rimangono integrati per sempre nel DNA cellulare
- I geni virali si duplicano con il DNA cellulare e non portano a morte la cellula
- Rilasciano il virus per gemmazione.

# VIRUS A RNA

Inducono tumori nei loro ospiti naturali  
Possono sia replicarsi che trasformare  
cellule omologhe

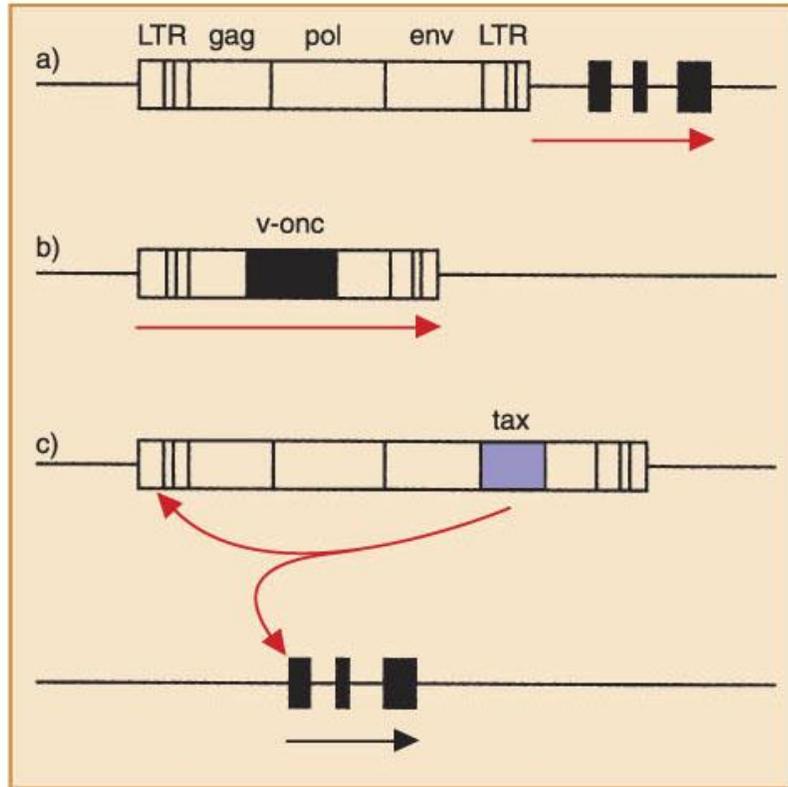
Trascrittasi inversa



Integrazione di alcuni  
geni virali nella cellula  
ospite

Attivazione di alcuni geni  
della cellula ospite

# VIRUS A RNA



Il provirus viene incorporato in prossimit  di un c-onc  
Il gene cellulare viene regolato dalle LTR virali

Retrovirus cis-attivante  
Periodo di latenza medio

I geni virali v-onc vengono incorporati nel genoma cellulare

Retrovirus acuti

Transattivazione

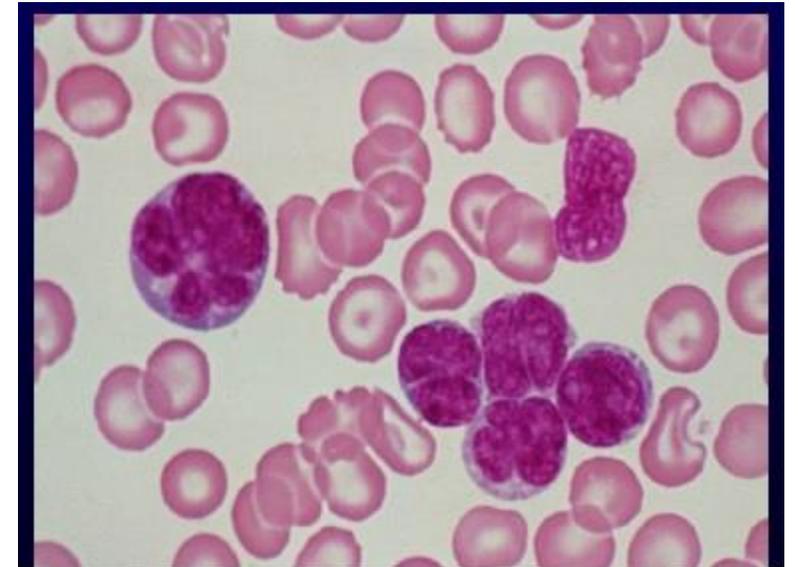
Retrovirus trans-attivante  
Periodo di latenza lungo

## RNA Tumor Viruses

Retrovirus	Associated Tumors
Rous sarcoma virus	Sarcoma (chickens)
Human T-cell leukemia virus (HTLV-1)	Adult T-cell leukemia/lymphoma (man)
Human immunodeficiency virus (HIV-1)	Kaposi's sarcoma (man)

# RETROVIRUS-HTLV I e II

- HTLV I e II inducono la trasformazione di linfociti T in coltura anche non stimolati con IL-2
- E' probabile che il meccanismo di induzione della neoplasia coinvolga l'espressione dell'IL-2 e dei suoi recettori
- Nell'HTLV-1 il gene *tax* stimola il promoter di IL-2 e del suo recettore mentre il gene *rex* stabilizza l'mRNA del recettore dell'IL-2
- HTLV I (più raramente HTLV II) è associato a una leucemia/linfoma aggressivo, endemico nel sud del Giappone e in parte dei Caraibi



# CANCEROGENESI ORMONALE

1713 Ramazzini riscontrò alta incidenza di tumori mammari tra le suore a Padova

1842 Rigoni-Stern trovò che le suore avevano un rischio 3 volte maggiore di sviluppare tumore al seno rispetto alle altre donne

1889 Schinzinger stabilì che la malattia procedeva più lentamente in donne in post-menopausa

1896 Beatson riportò su Lancet la regressione di tumori mammari in stadio avanzato dopo castrazione chirurgica.

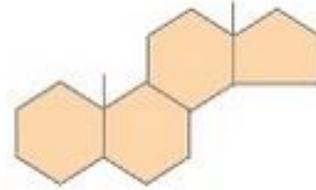
## Evidenze

- studi epidemiologici: ↑ tempo di esposizione ad **E** ↑ tumori mammella ed endometrio
- esperimenti in vitro: **E**-dipendenza della crescita cellulare

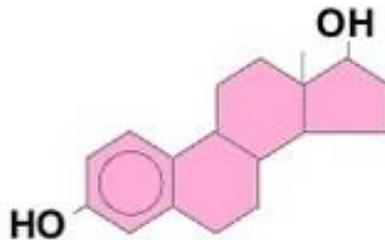
## Ormoni che contribuiscono allo sviluppo di tumori endocrino-dipendenti.

- Cancro della mammella
  - estrogeni ↑
  - progestinici ↑
- Cancro dell'endometrio
  - estrogeni ↑
  - progestinici ↓
- Cancro della prostata
  - androgeni ↑
  - estrogeni ↑

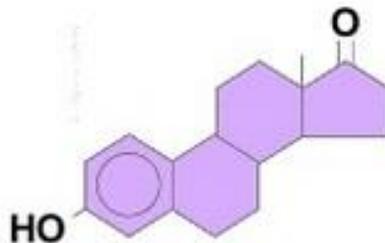
# What Are Estrogens?



**Steroid ring system**



**Estradiol**



**Estrone**

# Funzione degli estrogeni

Mantenimento e Proliferaazione  
dell'epitelio mammario, endometriale, prostatico.



I recettori per gli estrogeni sono ubiquitari  
Virtualmente presenti  
in tutti i tessuti e cellule

# Estrogeni: Proliferazione o antiproliferazione?

*Dipende da:*

- Ligando
- Isoforme recettoriali alfa e beta
- Cellula o tessuto bersaglio
- Complesso di trascrizione genica
- Cofattori e segnali costimolatori o antagonisti
- Disponibilità dei geni da attivare

# Gli ormoni come agenti promoventi o iniziati

Gli ormoni possono, stimolando la crescita cellulare, funzionare da co-cancerogeni o promoventi

Stimolando le mitosi, gli ormoni aumentano il rischio di indurre mutazioni semplicemente aumentando l'indice mitotico.

Le mutazioni in condizioni normali sono corrette da specifici meccanismi di riparazione del DNA.

Il processo di riparazione richiede tempo, e se l'indice mitotico è aumentato si possono stabilire mutazioni che si trasmettono alle cellule figlie.

Gli ormoni si comportano quindi come co-cancerogeni o promoventi nel caso di cellule già mutate o come iniziati nel caso di cellule non mutate.

## Ormoni ed insorgenza di tumori benigni

L'iperstimolazione ormonale o la perdita dell'inibizione dell'incremento ormonale possono indurre l'insorgenza di tumori benigni dell'ipofisi (adenomi ipofisari)

Adenomi iperfunzionanti della tiroide si possono sviluppare in seguito a mutazioni che interessano il gene codificante il recettore per il TSH

# Ormoni steroidei ed insorgenza di carcinomi

È ben noto il ruolo svolto dagli ormoni steroidei sessuali e l'insorgenza del carcinoma mammario e del carcinoma prostatico.

La differente incidenza del carcinoma prostatico in rapporto alla razza è correlata ai livelli di testosterone

L'entità dell'accrescimento dei carcinomi mammari è influenzata dai livelli di estrogeni e dalla presenza di recettori per gli estrogeni nelle cellule carcinomatose

È stata riscontrata l'insorgenza di carcinomi vaginali in giovane età in ragazze nate da madri che hanno assunto alte dosi di estrogeni durante la gravidanza

Il trattamento con estrogeni di topoline femmina nel periodo perinatale induce l'insorgenza di adenocarcinomi uterini.

- ♦ Estrogens as initiators

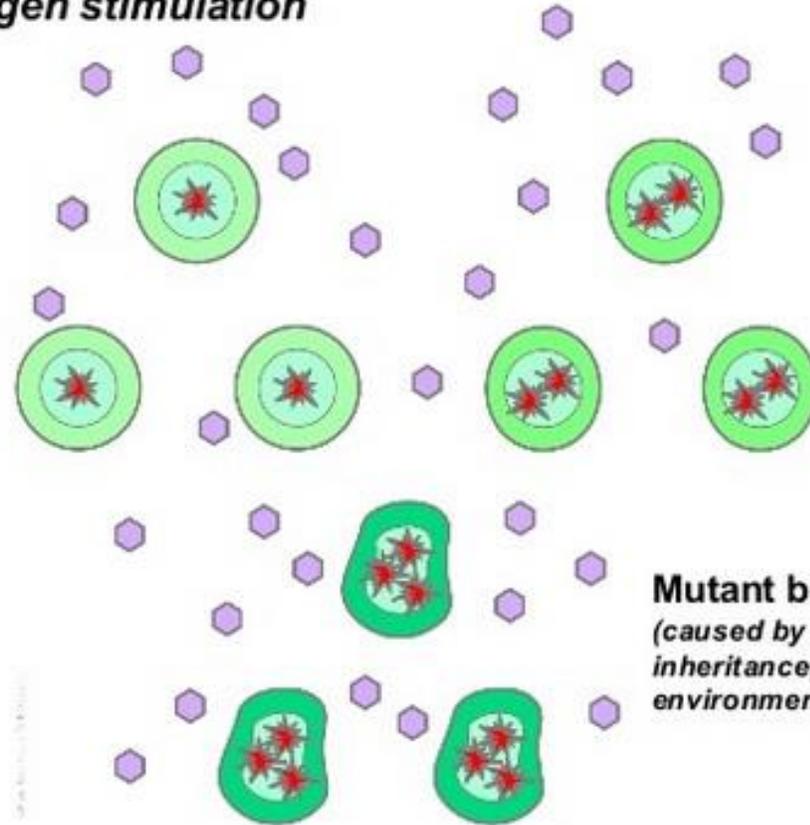
Sex steroid metabolites can induce DNA adducts.

- ♦ Estrogens as promoters

Anything that enhances proliferation enhances tumorigenesis.

# Estrogen-Induced Proliferation of Existing Mutant Cells

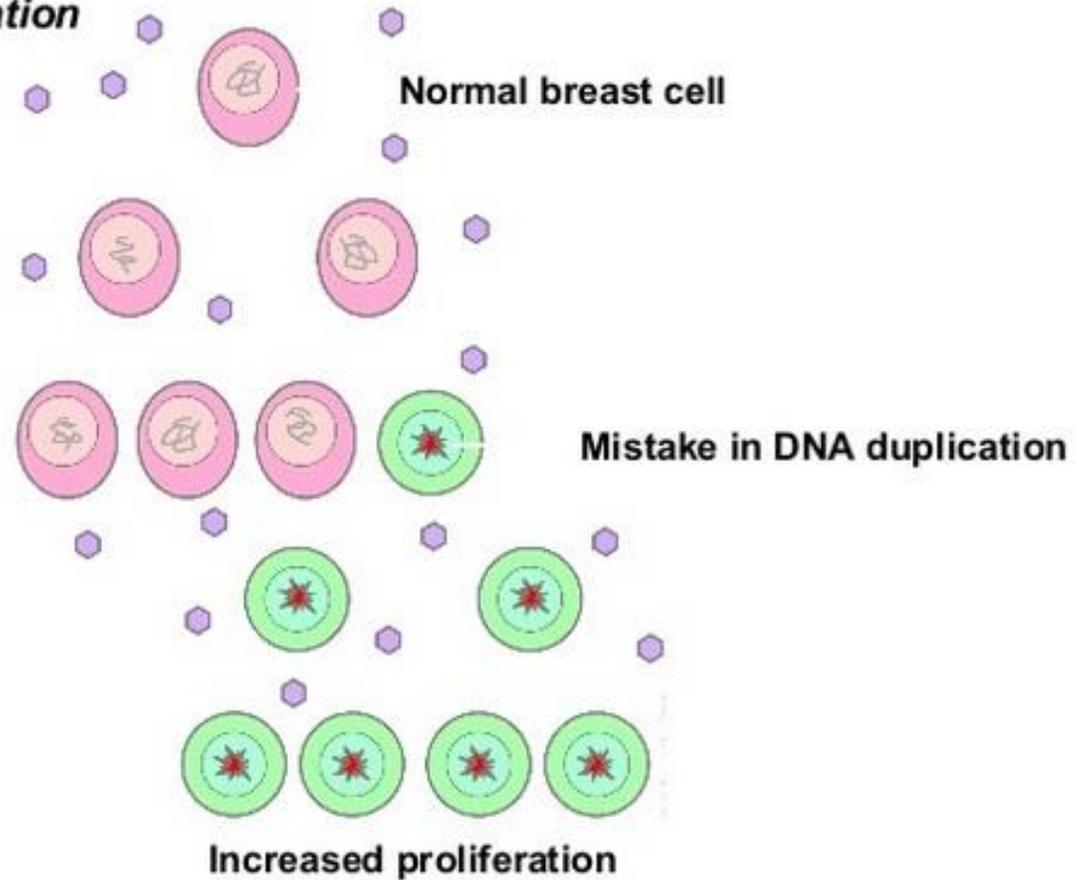
*Estrogen stimulation*



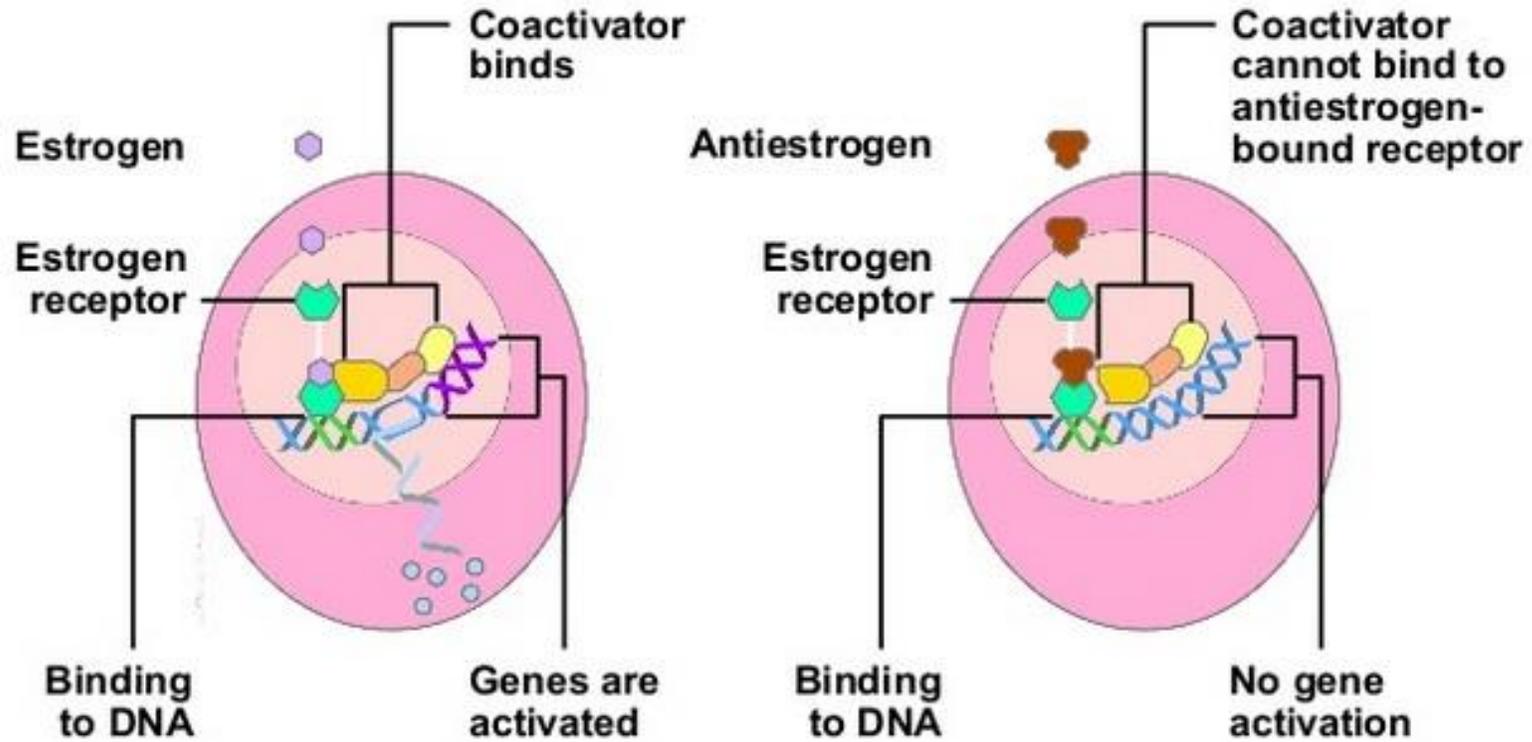
**Mutant breast cells**  
*(caused by error,  
inheritance, and/or  
environmental factors)*

# Estrogen-Induced Proliferation and Spontaneous New Mutations

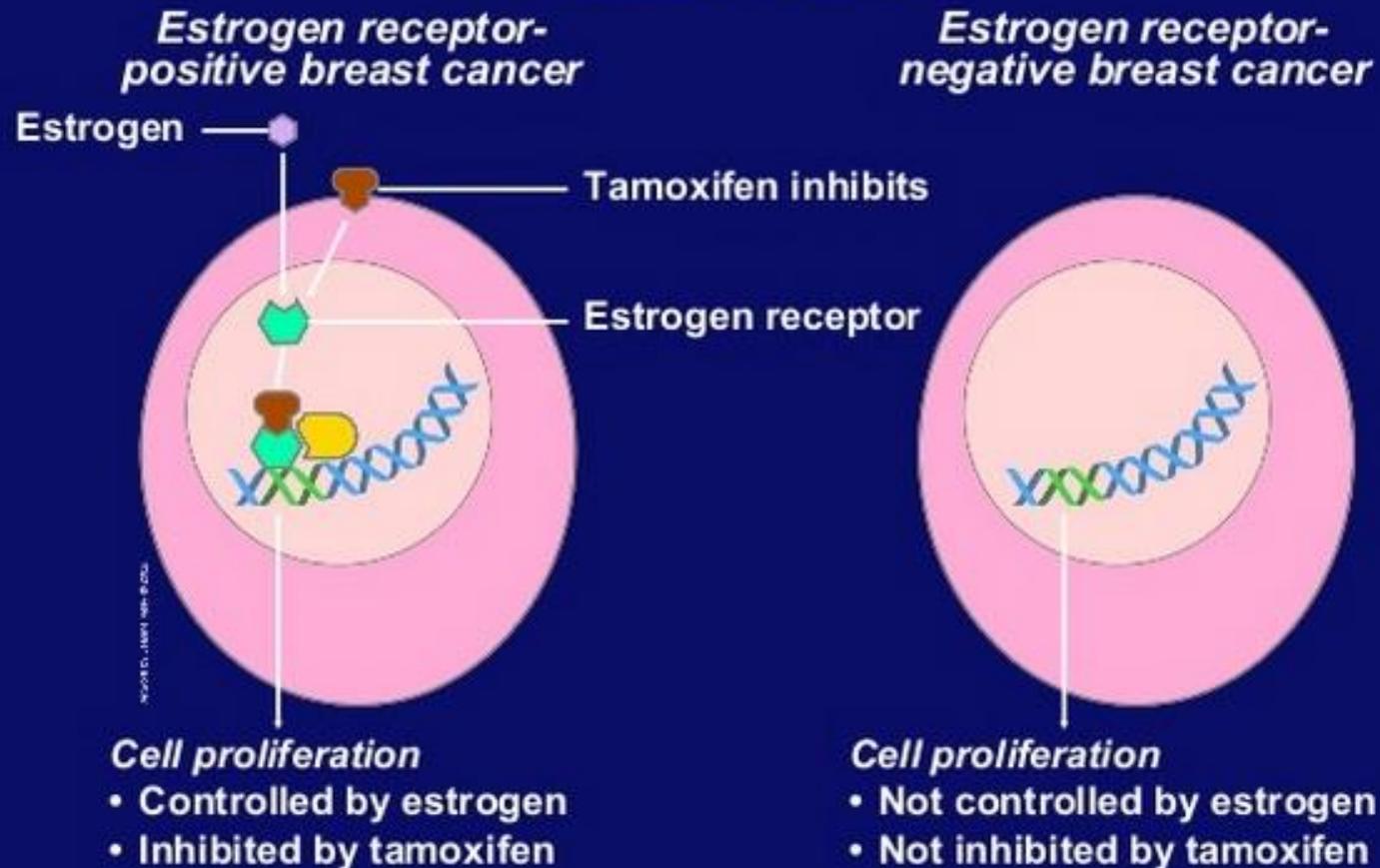
*Estrogen stimulation*

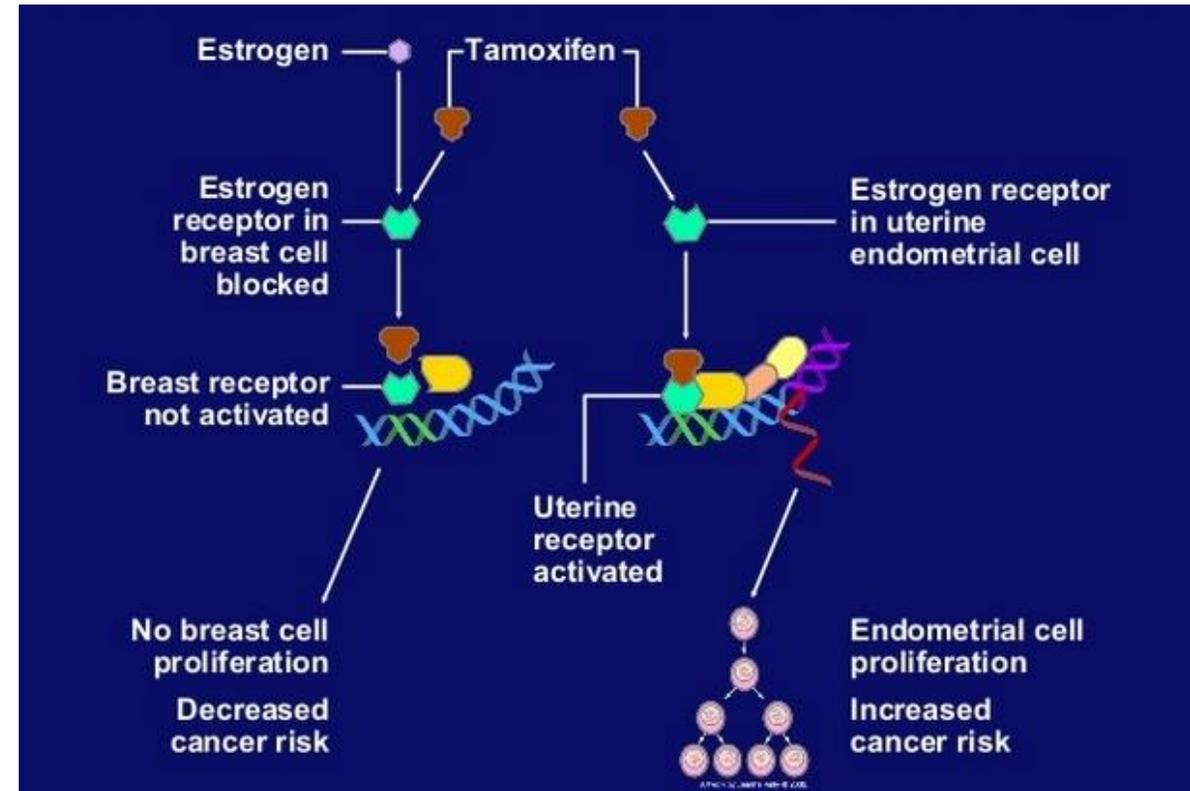
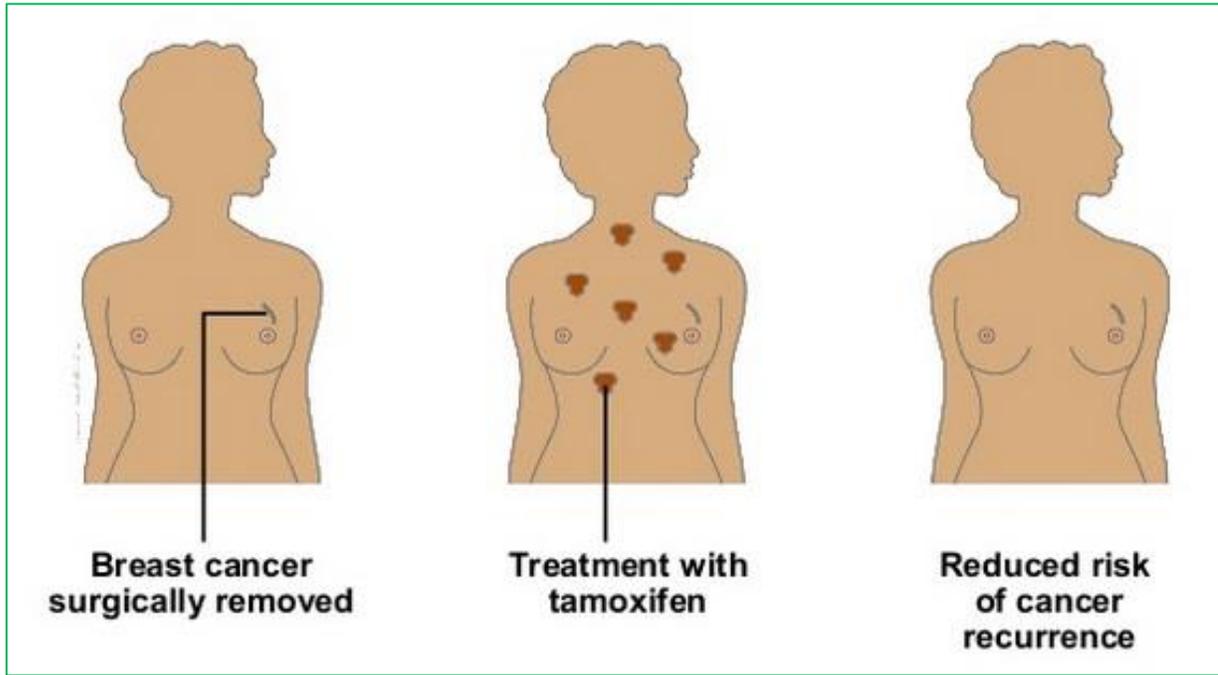


# Antiestrogens



# Estrogen Receptor-Negative Breast Cancer





## MECCANISMI MOLECOLARI DI RESISTENZA ALLA TERAPIA ORMONALE IN TUMORI ER-POSITIVI

- 1) Mutazioni a carico di ER 
  - ↑ sensibilità al ligando
  - ↑ reclutamento di co-attivatori
- 2) Modificazioni post-traduzionali di ER e/o Aumentata attività di GF 
  - attivazione ligando-indipendente
- 3) ↑ espressione di co-attivatori o downregulation di co-repressori
- 4) Attivazione di vie di trasduzione di segnali che dipendono da effetti non-genomici di ER

# Ormoni peptidici ed insorgenza di carcinomi

Aumento dell'incidenza di carcinomi ovarici in donne trattate con gonadotropine per indurre l'ovulazione al fine della fecondazione in vitro.

La gastrina è capace di stimolare la crescita di cellule gastriche appartenenti al sistema simil-enterocromaffine (ECL).

L'iper-gastrinemia può indurre l'insorgenza di carcinoidi gastrici  
L'ipergastrinemia sia sperimentalmente indotta con inibitori delle pompe protoniche, o con inibitori dei recettori per l'istamina che associata a gastrite atrofica induce inizialmente iperplasia delle cellule del sistema simil-enterocromaffine e successivamente l'insorgenza di un carcinoma gastrico.