



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

Corso di ONCOLOGIA

11 novembre 2019

Il cancro è una malattia genetica → mutazioni somatiche di geni che controllano la proliferazione cellulare possono trasformare una cellula normale in una cellula tumorale

Agenti chimici Agenti fisici Agenti biologici



PROTONCOGENI

(Gene normale)

**altamente conservati nelle varie specie nel
corso dell'evoluzione**

i loro prodotti svolgono funzioni essenziali



ONCOGENI

geni capaci di indurre lo sviluppo di un tumore

**producono proteine abnormi nella struttura e
nella funzione**

Oncogene

Qualsiasi gene che in seguito ad una «gain of function»
contribuisce alla cancerogenesi

Dominanti

PROTO-ONCOGENI

Classe eterogenea di geni che codificano per segnali STIMOLATORI del ciclo cellulare, comprendono:

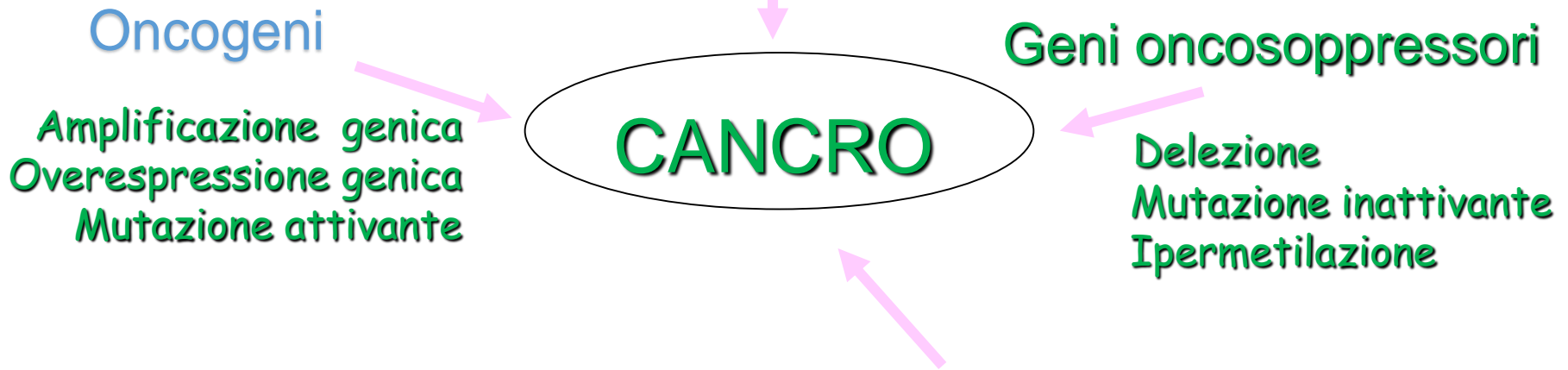
- 1. Fattori di crescita cellulare**
- 2. Recettori di membrana per fattori di crescita**
- 3. Proteine coinvolte nella trasduzione del segnale**
- 4. Fattori di trascrizione in grado di legarsi al DNA**
- 5. Cicline, chinasi ciclino-dipendenti e loro inibitori e attivatori (= regolatori del ciclo cellulare)**

Gene Oncosoppressore

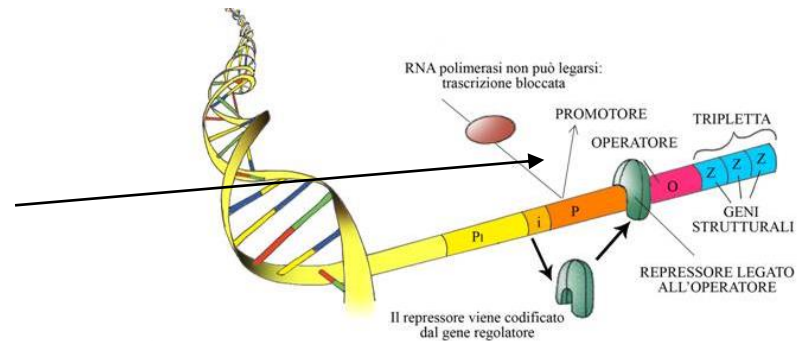
Qualunque gene che
con la perdita di funzione
contribuisce alla cancerogenesi

Recessivi

Meccanismi di riparazione del DNA



Alterazioni epigenetiche
Ipermetilazione dei promotori

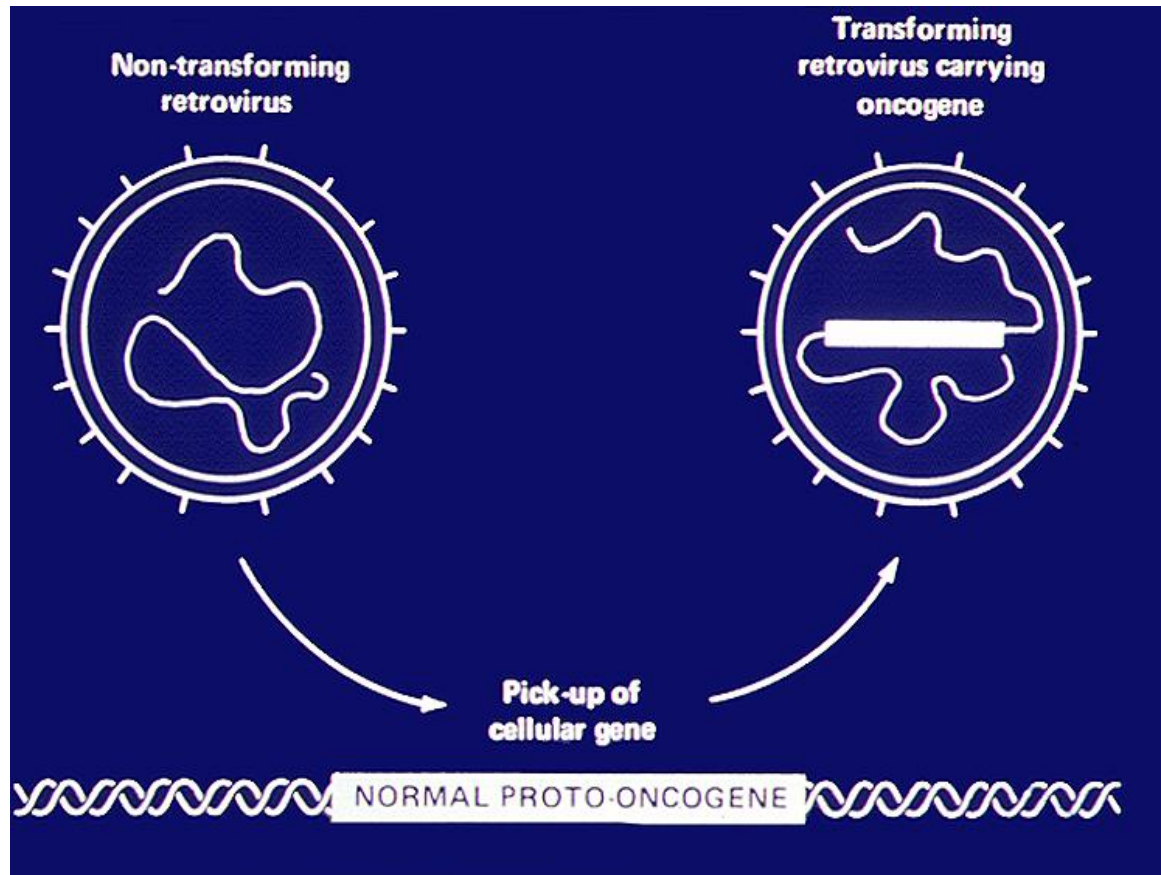


Alterata struttura
Alterata regolazione

Proto-oncogeni → Oncogeni

Primo oncogene identificato (1911, P Rous): v-src (retrovirus del sarcoma di Rous) in estratti di tumori di pollo in grado di indurre la formazione di altri tumori se iniettati in altri polli.

Tutte le cellule normali contengono un omologo dei v-onc: protooncogeni, c-onc.

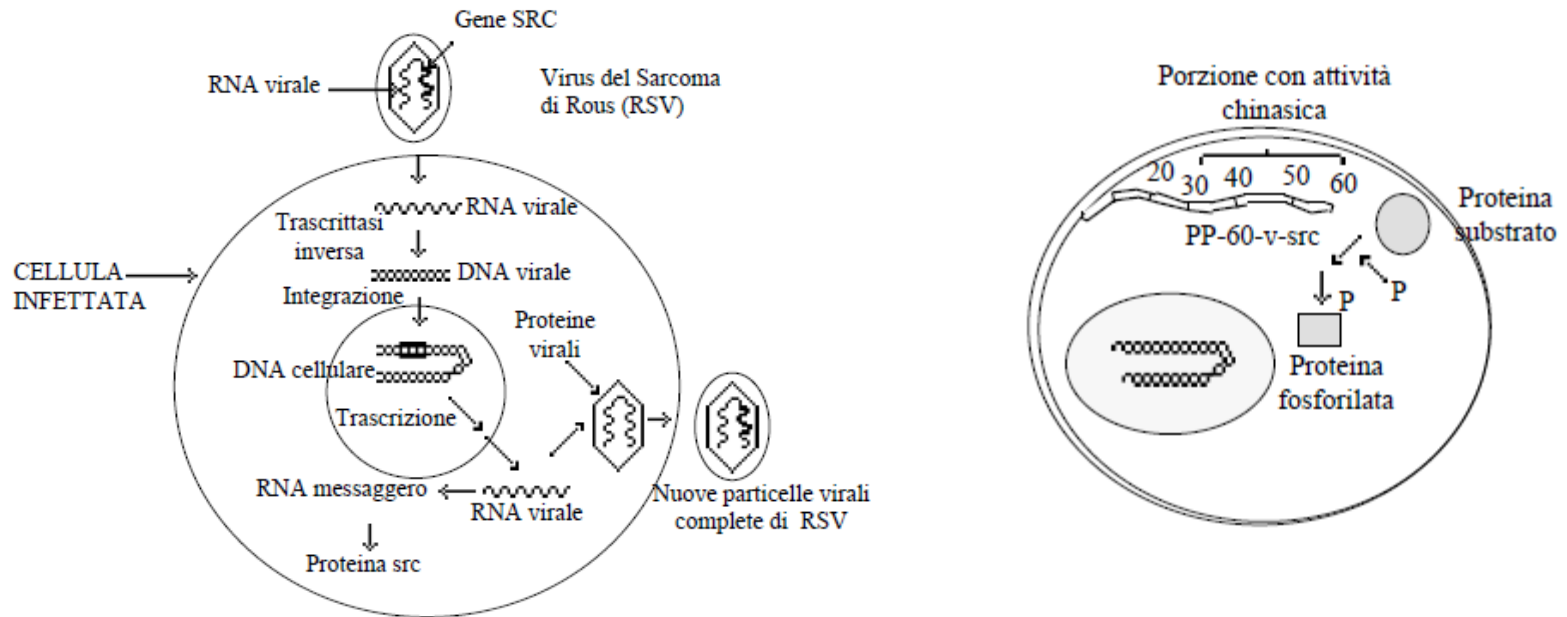


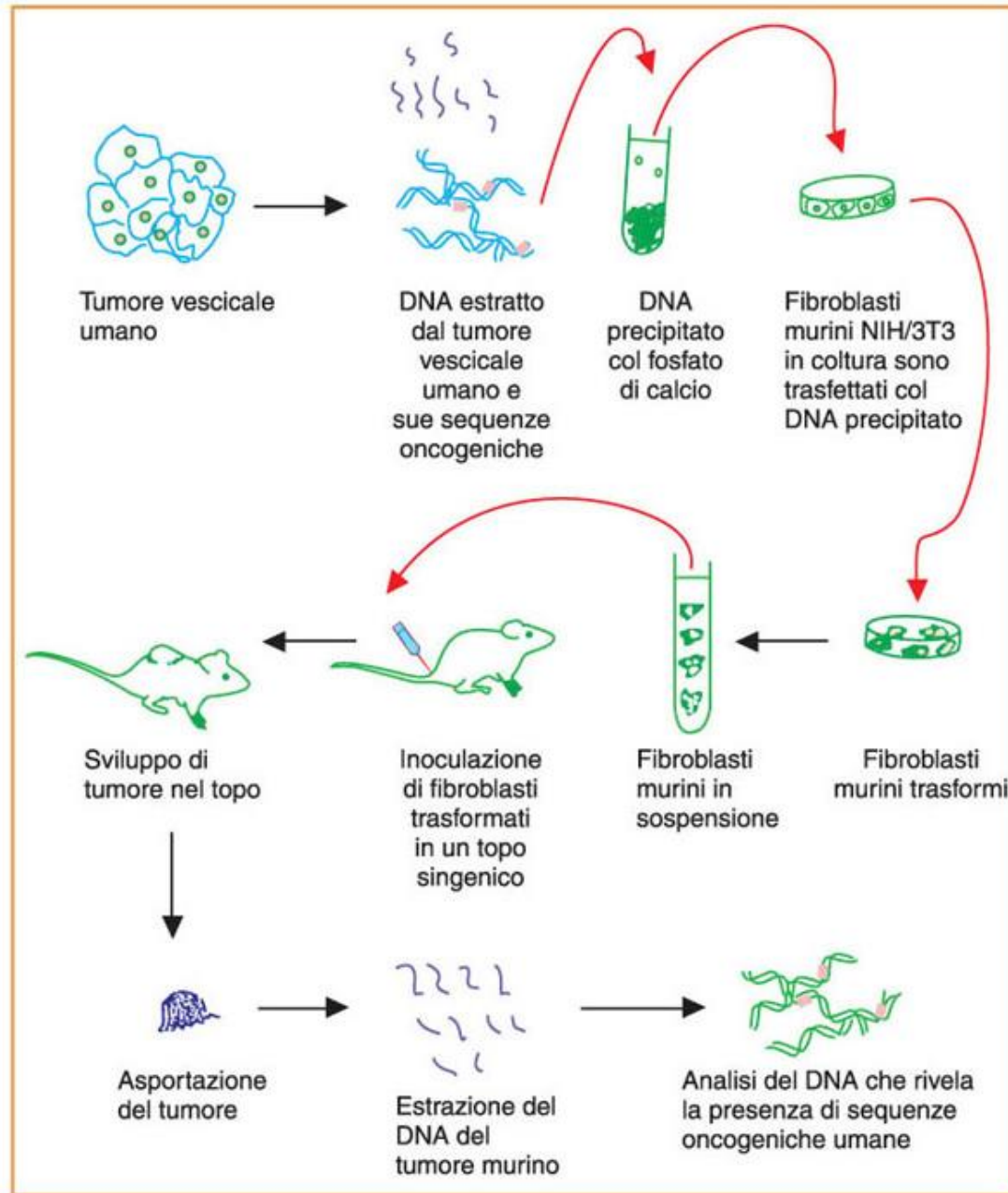
Durante l'evoluzione alcuni retrovirus privi di v-onc hanno acquisito tali geni dalle loro cellule ospiti per ricombinazione genica durante la replicazione virale

Gli stessi retrovirus possono poi reintrodurli nelle cellule ospiti infettate v-onc

src

L'oncogene src codifica per una protein-chinasi di 60000 kDa: attacco di ioni fosfato su treonina e serina alla tirosina





Attivazione degli oncogeni

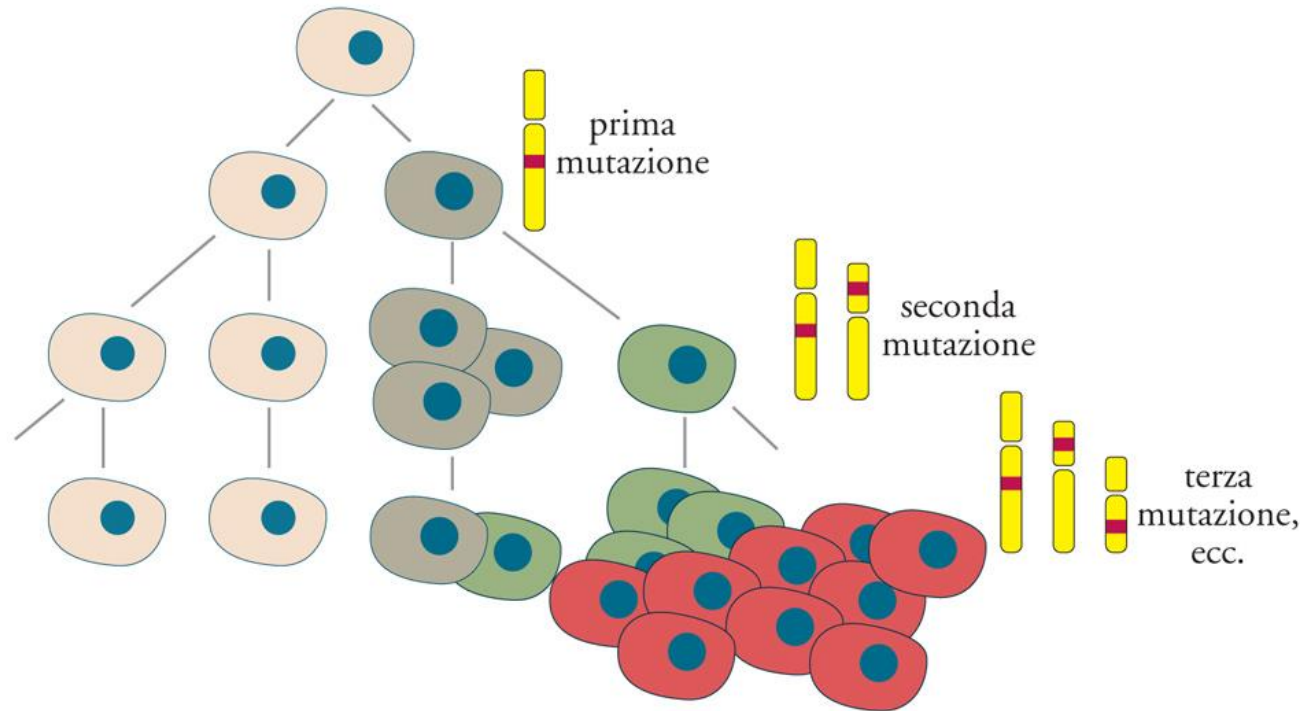
Mutazione

Amplificazione genica

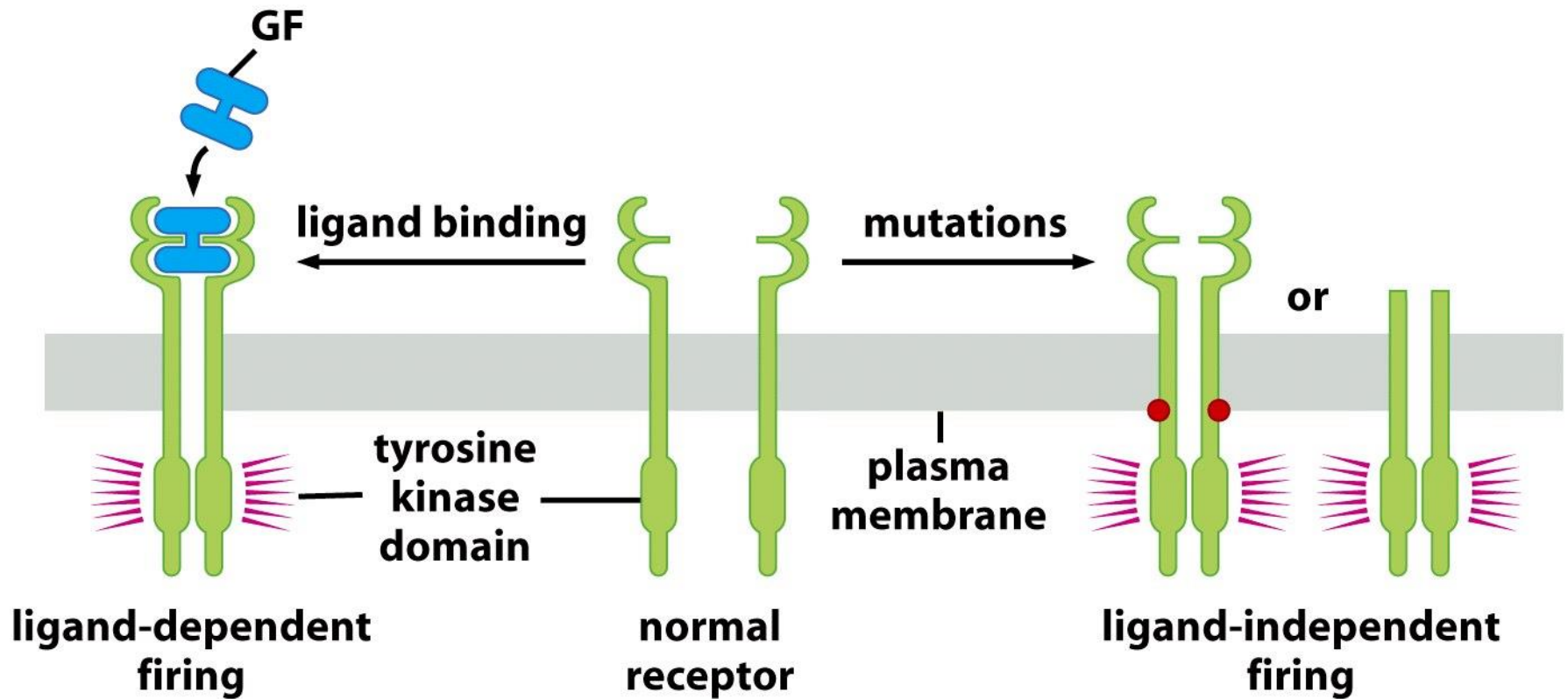
Traslocazione cromosomica

Infezione virale

mutazione



Mutazioni che trasformano un proto-oncogene in oncogene: mutazioni puntiformi in sequenze codificanti



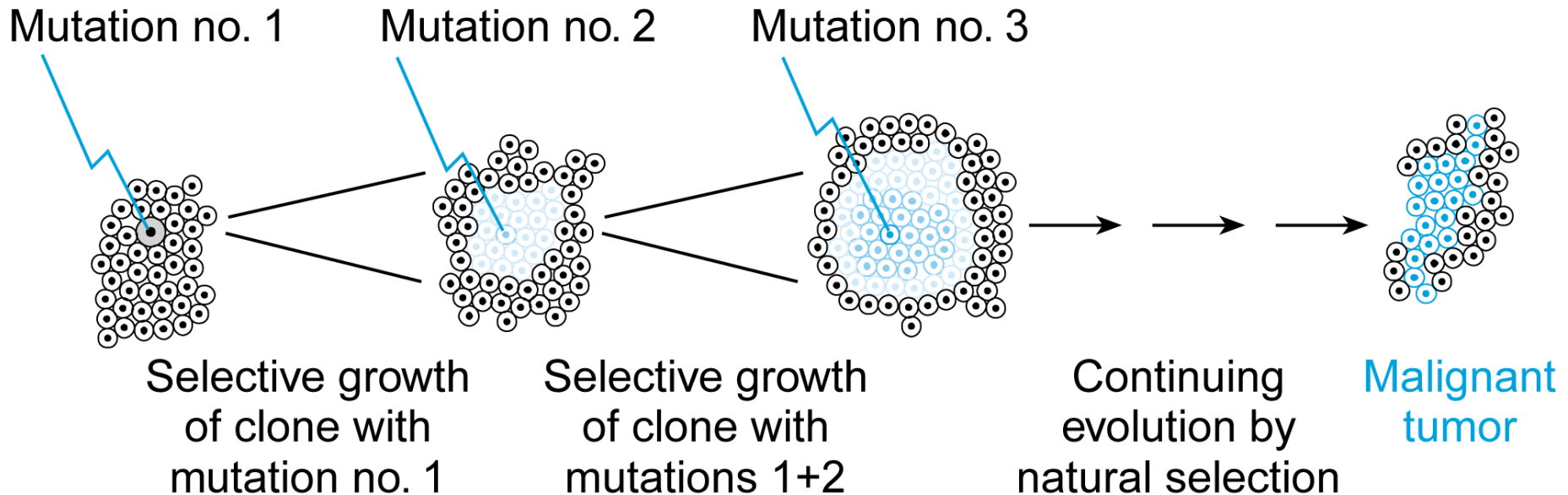
una sola MUTAZIONE non può convertire una cellula somatica normale in una cellula maligna

Nella maggior parte dei casi sono necessarie 6-7
MUTAZIONI INDIPENDENTI

La probabilità teorica che ciò si verifichi è quindi estremamente bassa: 10^{13} numero di cellule; 10^{-5} - 10^{-6} tasso di mutazione per gene per cellula



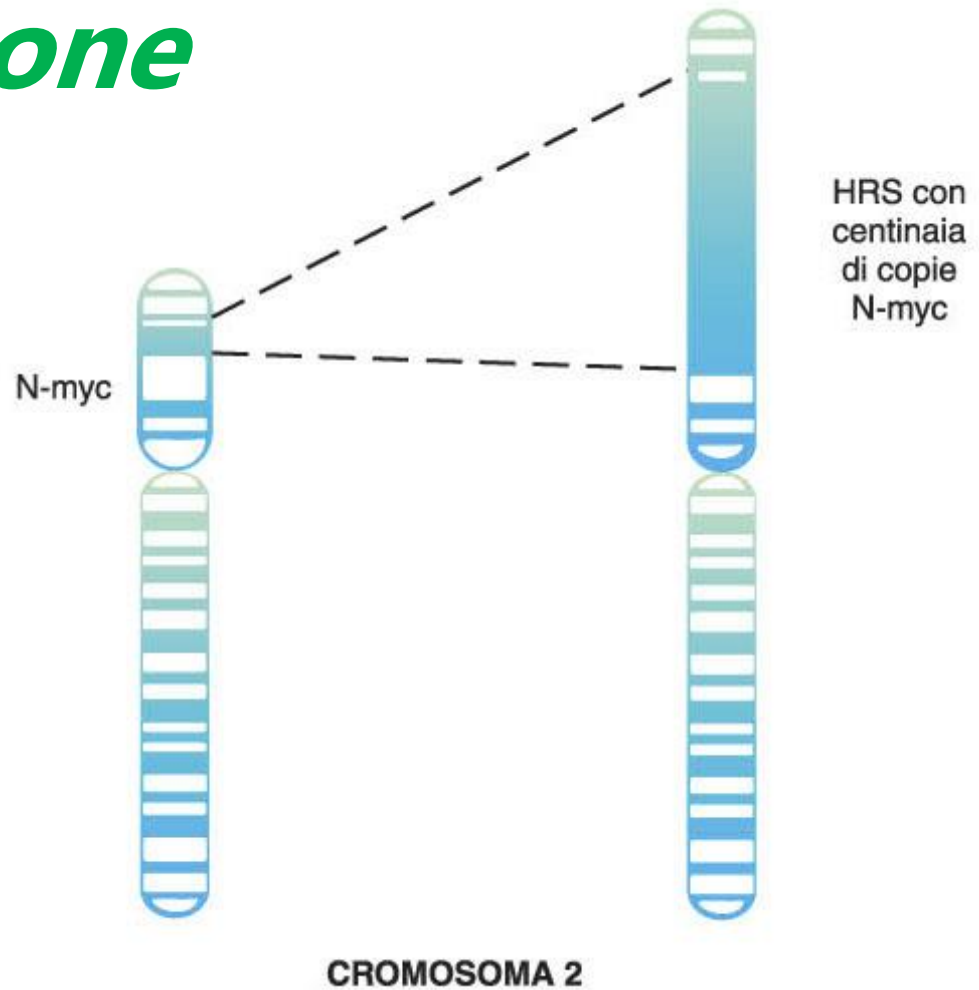
Alcune mutazioni aumentano la proliferazione cellulare e forniscono in tal modo un vantaggio selettivo alla cellula in cui si è verificata → nasce una popolazione di cellule tutte portatrici della prima mutazione





Alcune mutazioni interessano geni coinvolti nel mantenimento della stabilità dell'intero genoma, sia a livello di DNA che di cromosomi. In tal modo, aumenta il tasso di mutazione complessivo (quindi anche quello dei geni più direttamente responsabili del fenotipo tumorale)

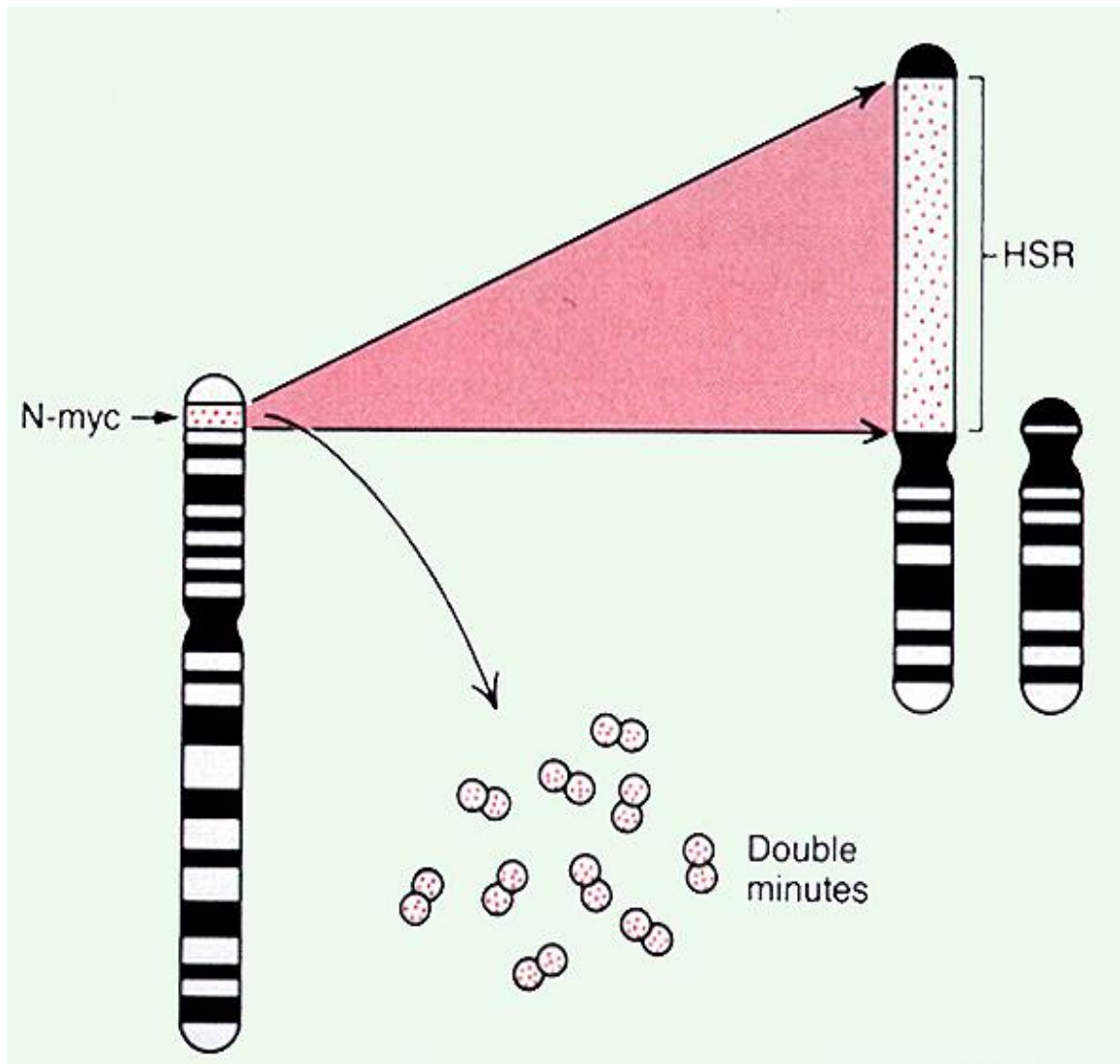
amplificazione



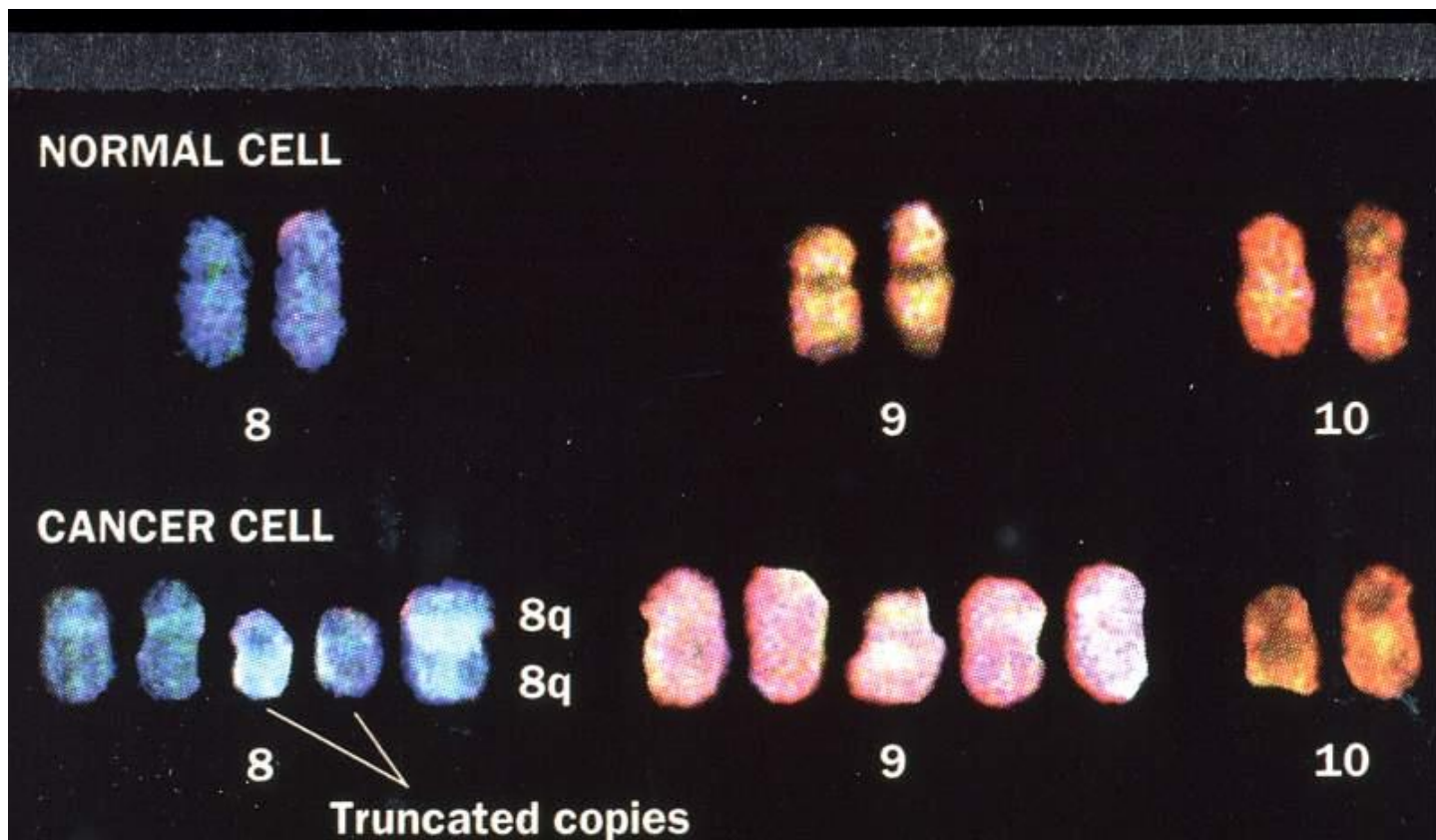
C-myc → microcitoma

N-myc → neuroblastoma

amplificazione

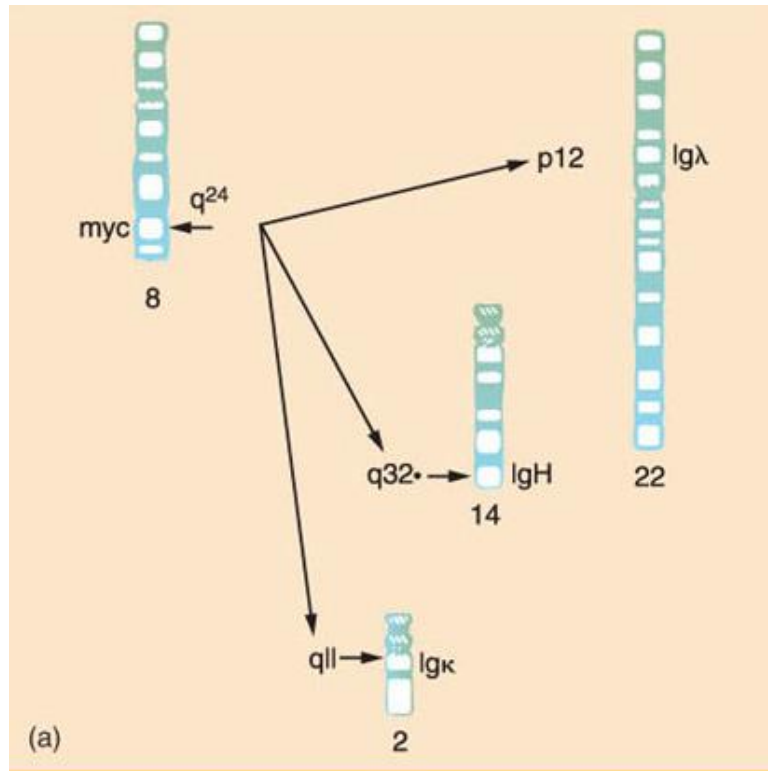


amplificazione



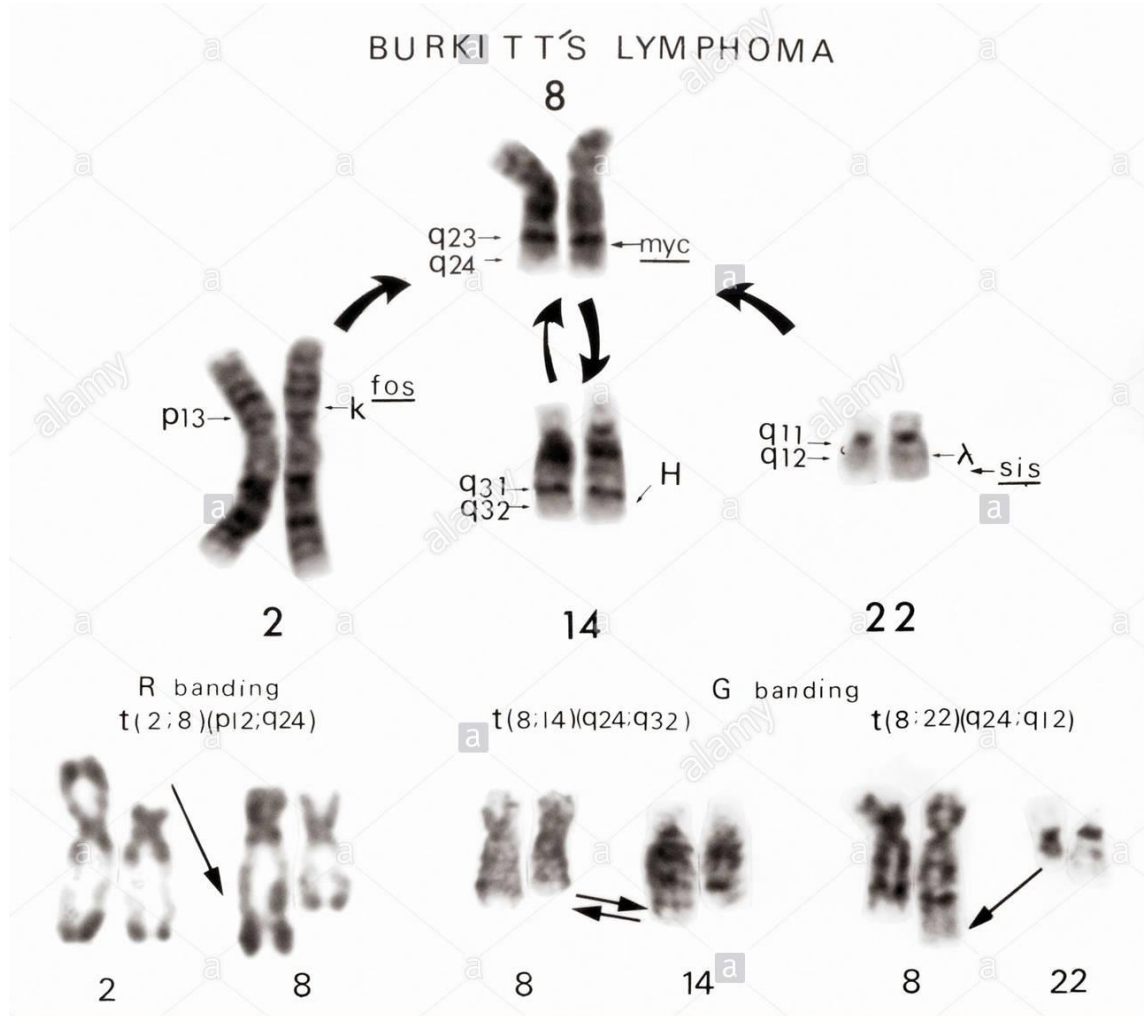
traslocazione

Traslocazione c-myc Controllo ciclo cellulare alterato



Linfoma di Burkitt
traslocazione di c-myc
-t (8;14) (90% dei casi)
-t (8;2)
-t (8;22)

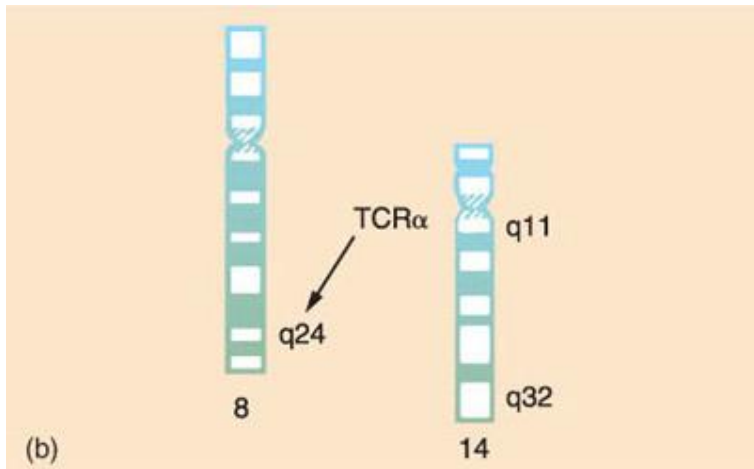
traslocazione



alamy stock photo

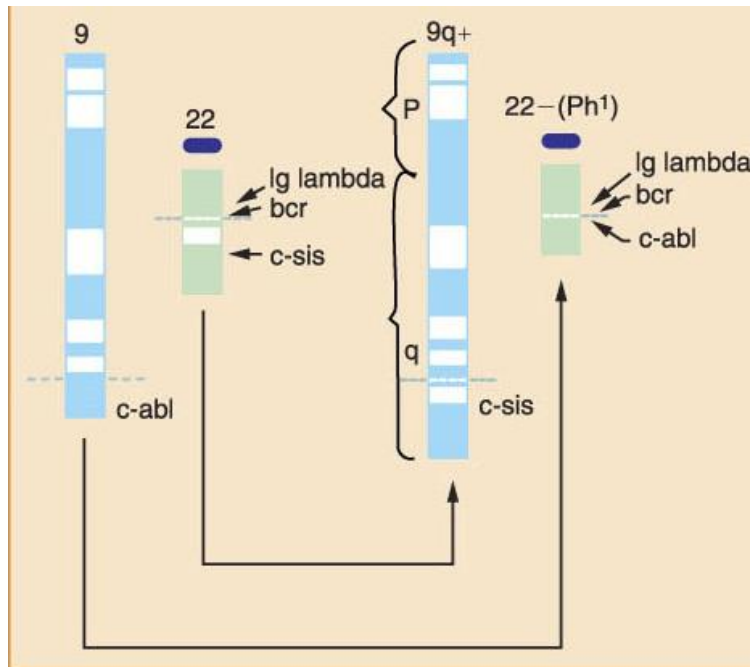
D0P23C
www.alamy.com

traslocazione



Leucemia linfoide acuta a cellule T
Traslocazione (8;14) della catena α
del TCR in contatto con c-myc

traslocazione

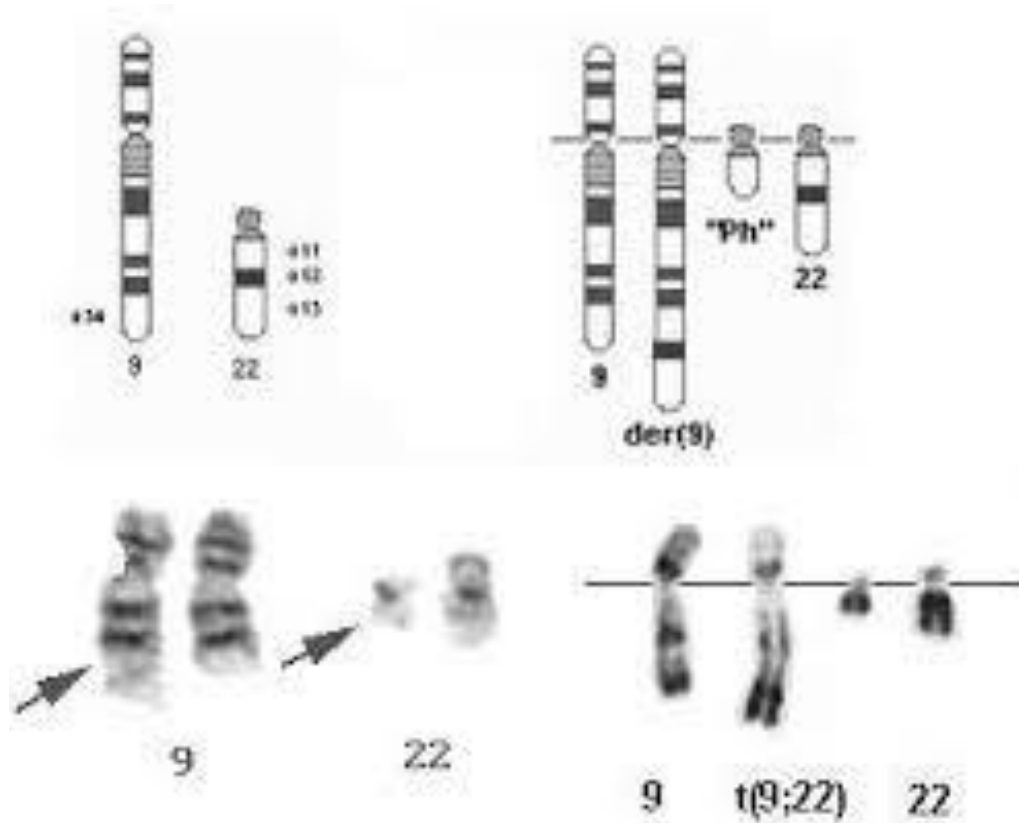


Leucemia mieloide cronica t(9;22)
(q34, q11)

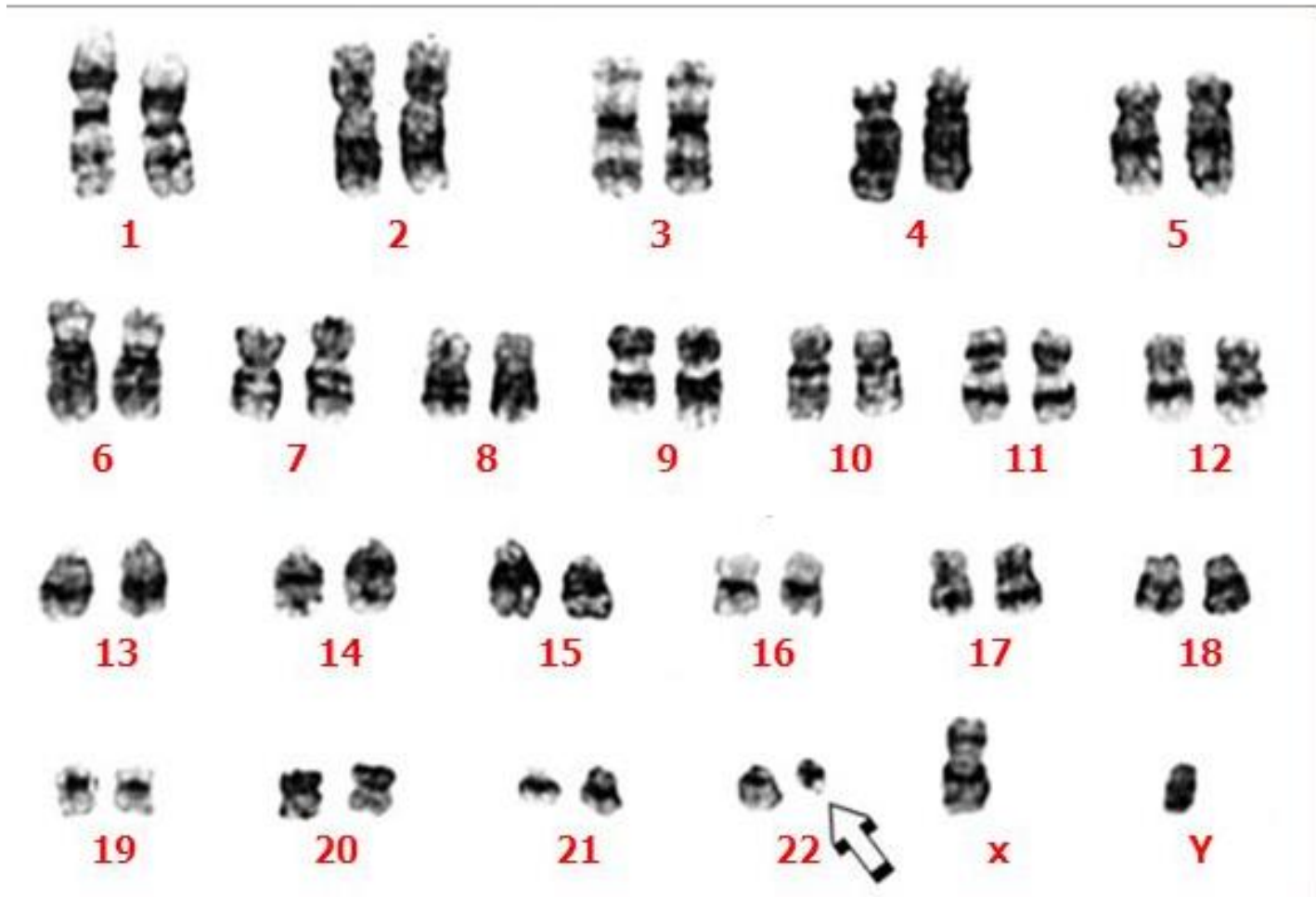
Il protooncogene abl viene
traslocato e fuso in un sito bcr
(*Breakpoint Cluster Region*)

Il prodotto bcr/abl è una proteina
p210 con una potente attività
tirosin-chinasica

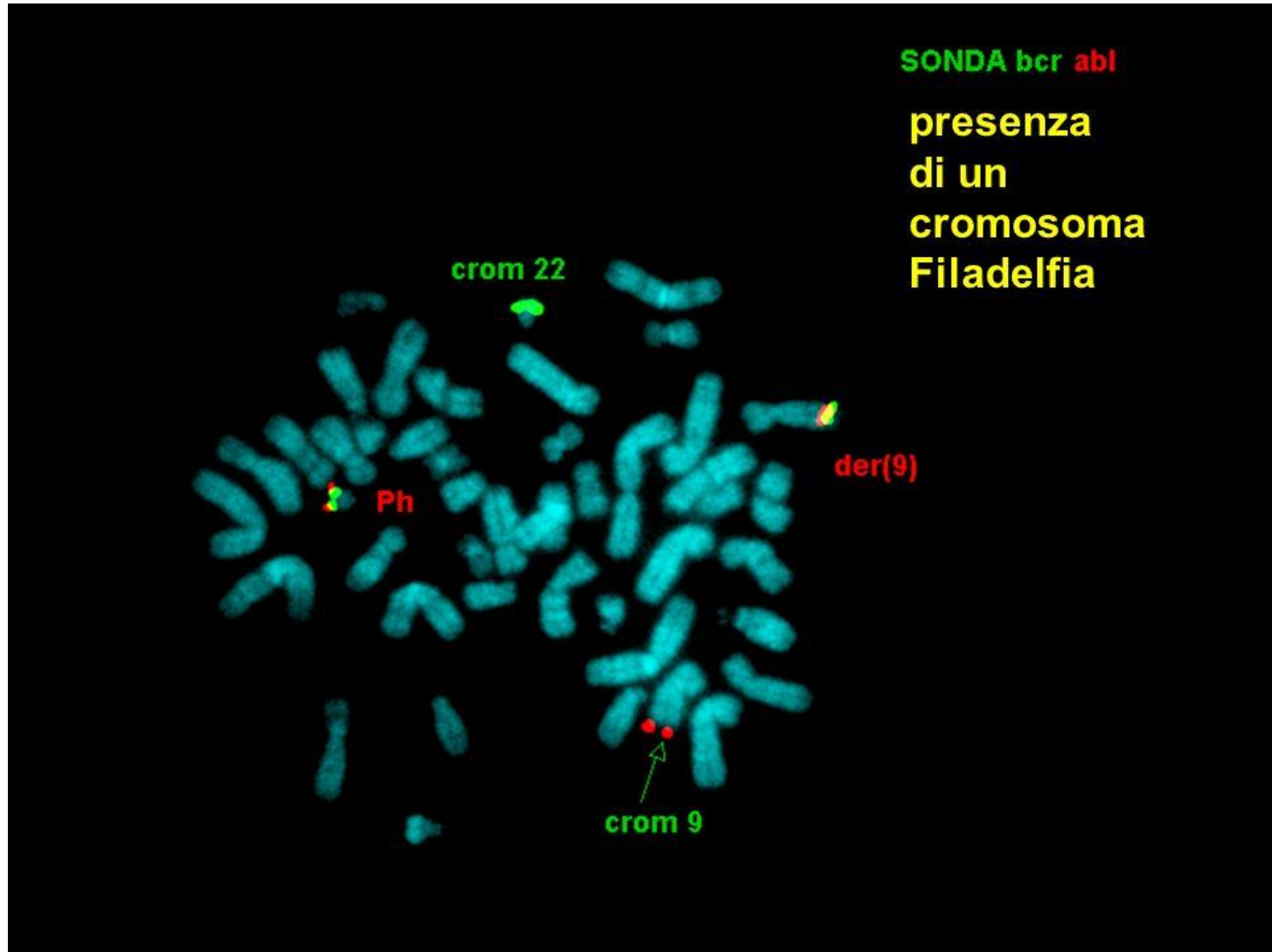
traslocazione



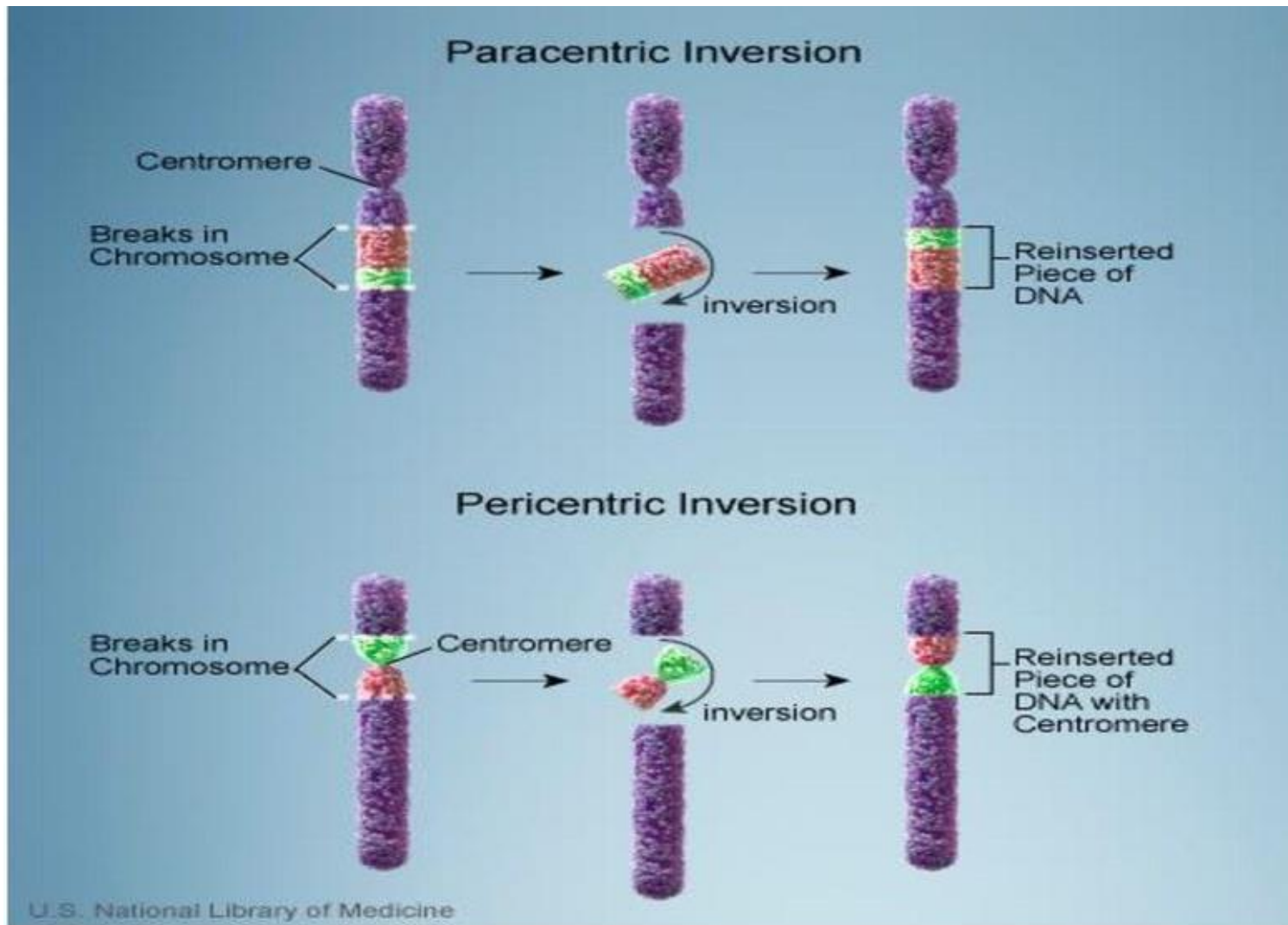
traslocazione



traslocazione

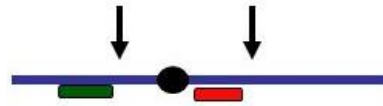
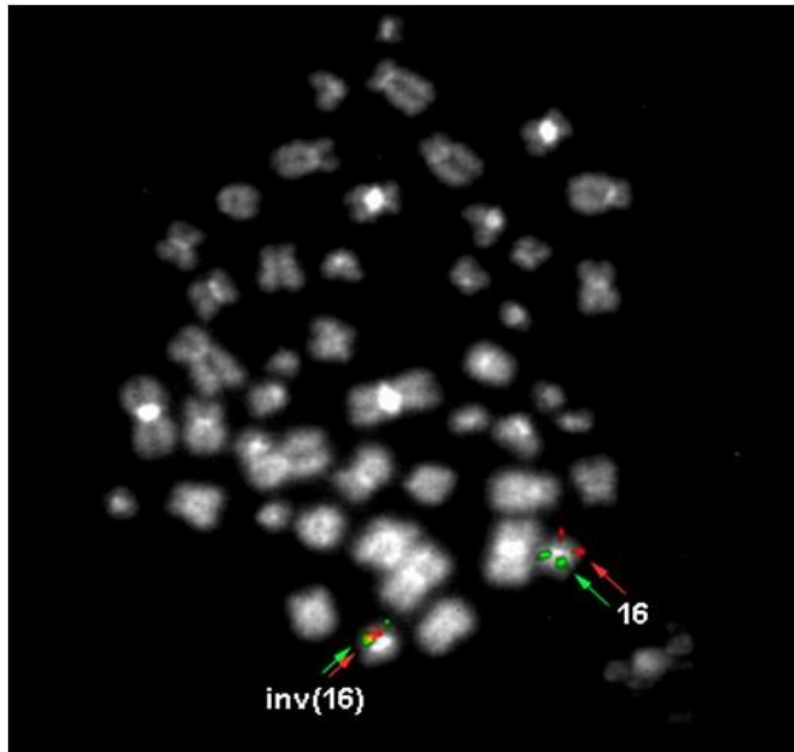


inversione



inversione

INVERSIONE inv(16)(p13;q22) (CBFB-MYH11)



Leucemia mielomonocitica acuta,
inv 16 (p16,q22)

Leucemia mieloide acuta

Inv 3 (q21,q26)

Linfomi a cell T

Inv 14 (q11,q32)

Infezione virale

- ✦ Un retrovirus può convertire un proto-oncogene a un oncogene alterando le sequenze geniche
La proteina codificata avrà un'attività abnorme
- ✦ Un proto-oncogene può diventare oncogene quando è spostato sotto il controllo di promoter o enhancer del genoma virale

**Eventi epigenetici:
Sono ereditati dalle cellule figlie
ma non sono dovuti ad alterazione dell'informazione genetica**

Attività telomerasica

Siti fragili
Instabilità cromosomica
di alcune regioni ricche di *CGG* o *CCG*

Metilazione

Classi di oncogeni raggruppati in funzione dei prodotti codificati

Fattori di crescita

Recettori per fattori di crescita

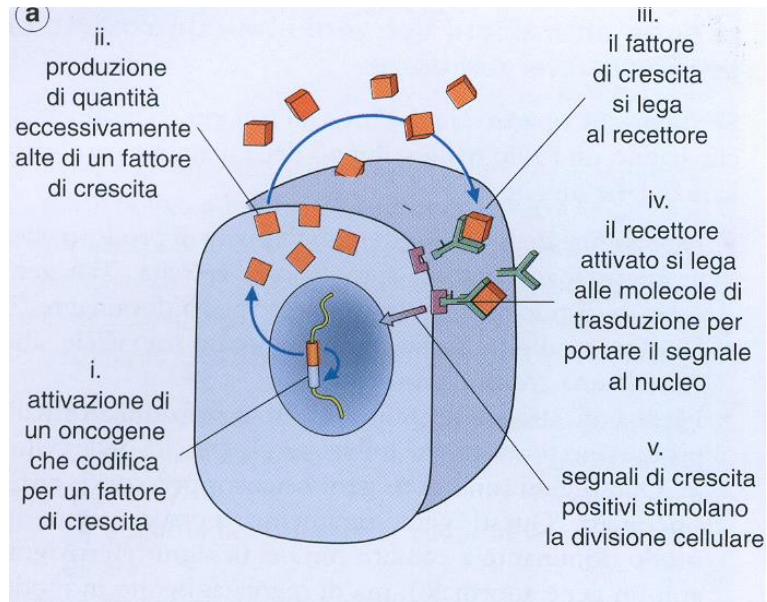
Fattori di trascrizione

Fattori di trasduzione

Regolatori dell'apoptosi

Oncogene	Funzione del prodotto	Patologia
abl	Tirosin chinasi	Leucemia mieloide cronica
akt-2	Serin/treonin chinasi	Carcinoma ovarico
alk	Tirosin chinasi	Linfoma
aml1	Fattore trascrizionale	Leucemia mieloide acuta
bcl-2, 3, 6	Inibitori dell'apoptosi	Linfoma e leucemia a cellule B
bcr/abl	Proteina di fusione	Leucemia mieloide cronica ed acuta
c-myc	Proliferazione cellulare e sintesi del DNA	Leucemie, carcinoma mammario, dello stomaco, del polmone, del colon
egfr	Tirosin chinasi	Carcinoma a cellule squamose
erbB-2/neu	Tirosin chinasi	Carcinoma mammario, ovarico e delle ghiandole salivari
ets-1	Fattore trascrizionale	Linfoma
ews/fli-1	Proteina di fusione	Sarcoma di Ewing
fos	Fattore trascrizionale	Osteosarcoma
HMGA1/HMGA2	Fattori cromatinici	Adenomi ipofisari
int-2	Recettore di fattori di crescita	Carcinoma mammario e a cellule squamose
Jun	Fattore trascrizionale	Sarcoma
Kit	Recettore di fattori di crescita	Sarcoma
mdm-2	Inibitore di p53	Sarcoma
MLH1	Riparo del DNA	Carcinoma del colon
PML/RAR	Proteina di fusione	Leucemia acuta promielocitica
PMS1, 2	Riparo del DNA	Carcinoma del colon
raf	Serina/treonina chinasi	Melanomi
H-ras	Trasduzione del segnale	Carcinoma della vescica
K-ras	Trasduzione del segnale	Carcinoma ovarico, polmonare e tiroideo
N-ras	Trasduzione del segnale	Carcinoma mammario
ret	Tirosino chinasi	Carcinoma tiroideo, neoplasie endocrine multiple
sis	Fattore di crescita	Glioma, fibrosarcoma
Src	Tirosino chinasi	Sarcoma

Oncogeni che codificano per fattori di crescita



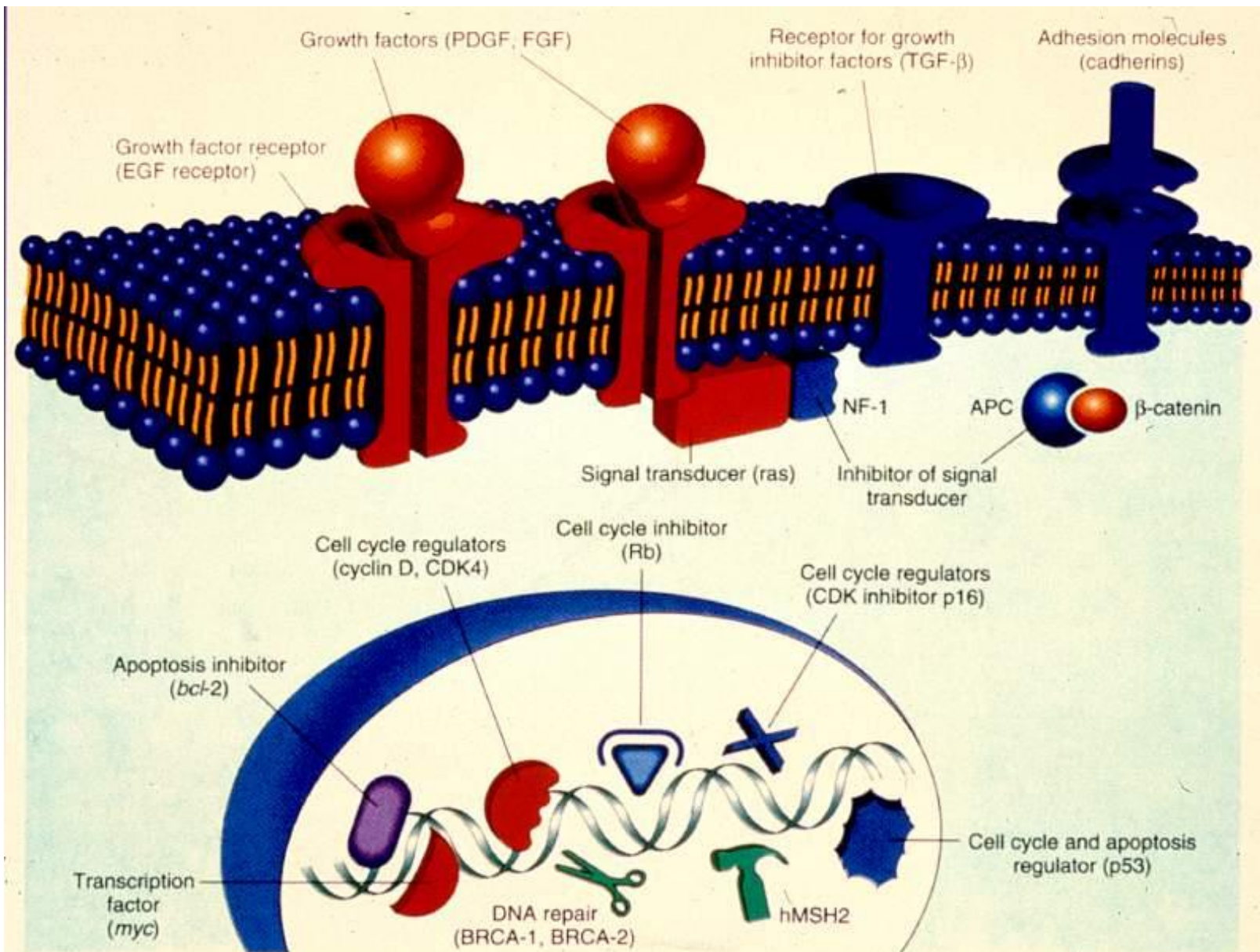
Es: p28 sis omologo PDGF

Cellule (coinvolte nella riparazione dei tessuti: fibroblasti, endotelio, e muscolari lisce)

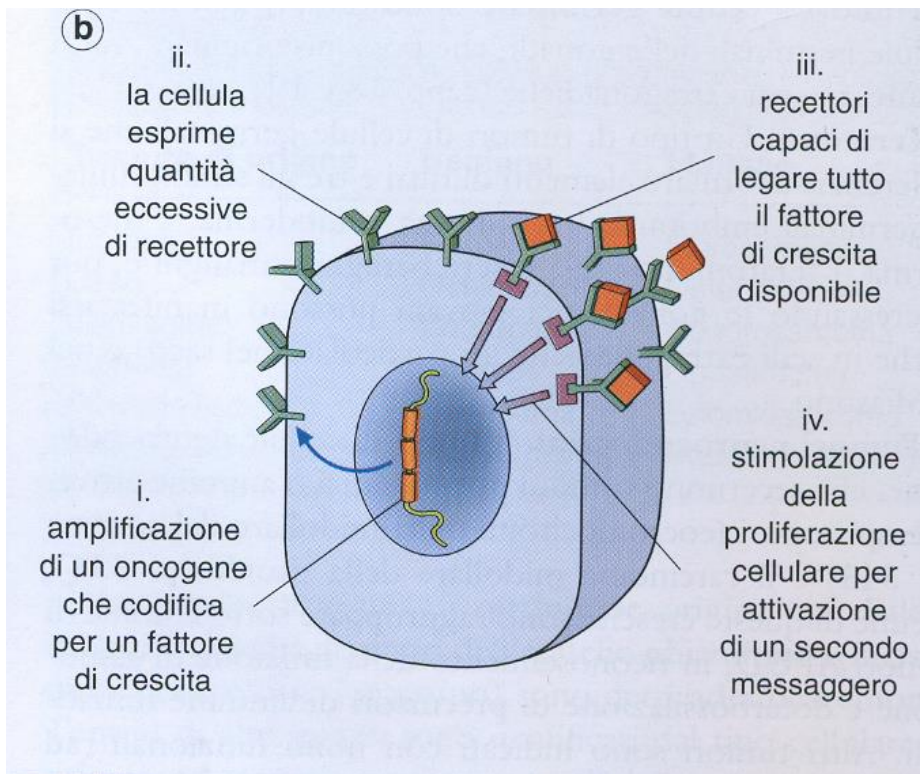
con recettori per il PDGF continuamente stimolate
Glioblastomi producono PDGF e rec PDGF

Sarcoma: Scimmia, gatto

Spesso altri oncogeni inducono iperespressione (ras) di GF e recettori per GF



Alterata espressione del recettore per un fattore di crescita

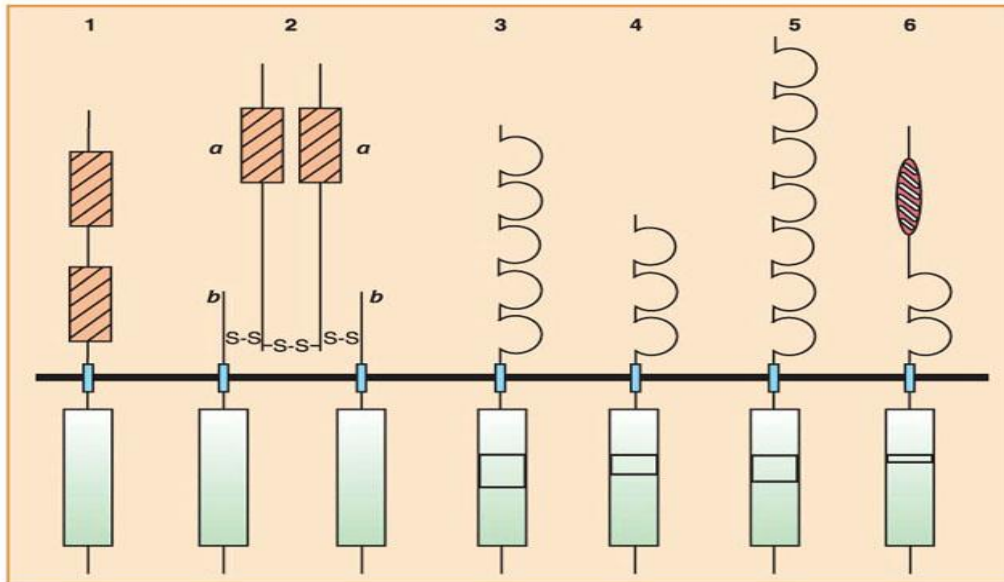


Le cellule mostrano un elevato n° di recettori per amplificazione oppure possono mostrare recettori strutturalmente e funzionalmente aberranti



GUADAGNO DI FUNZIONE

Recettori Tirosinchinasi: poco espressi nelle cellule normali



■ **Figura 22.11 - Disegno schematico illustrante la struttura di alcuni recettori tirosinchinasi umani.** 1) EGF-R (recettore per l'Epidermal Growth Factor); 2) Ins-R (recettore per l'insulina); 3) PDGF-R (recettore per il *Platelet Derived Growth Factor*); 4) FGF-R (recettore per il *Fibroblast Growth Factor*); 5) VEGF-R (recettore per il *Vascular Endothelial Growth Factor*); 6) NGF-R (recettore per il *Nerve Growth Factor*).

Nella regione extracellulare in alto:

I rettangoli barrati in 1 e 2 indicano regioni ricche in cisteina.

Le strutture ondulate in 3, 4 e 5 indicano domini simili a quelli delle immunoglobuline.

La struttura ovoidale in 6 indica un motivo ricco in leucina. I piccoli rettangoli azzurri indicano la regione transmembranacea.

AEV erb-b recettore troncato dell'EGF

AEV erb-a recettore per l'ormone tiroideo

Sarcoma felino v-fms forma del rec di MCSF

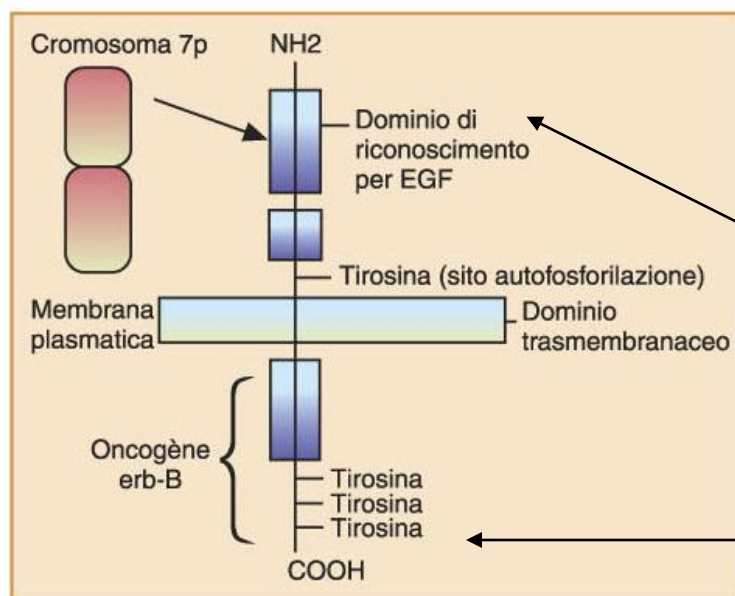
Sarcoma felino v-kit forme attiva del rec per Stem Cell Factor

ERB B1, gene normale del EGFR è iperespresso:

80% del ca squamocellulare del polmone, 50% glioblastomi, 80-100% t. testa-collo

ERB B2, HER-2/NEU è amplificato:

25% ca mammella e ovaio, polmone, stomaco e ghiandole salivari



Monoclonali che contrastano l'attività di EGFR

CETUXIMAB

**ERLOTINIB
GEFINITIB**

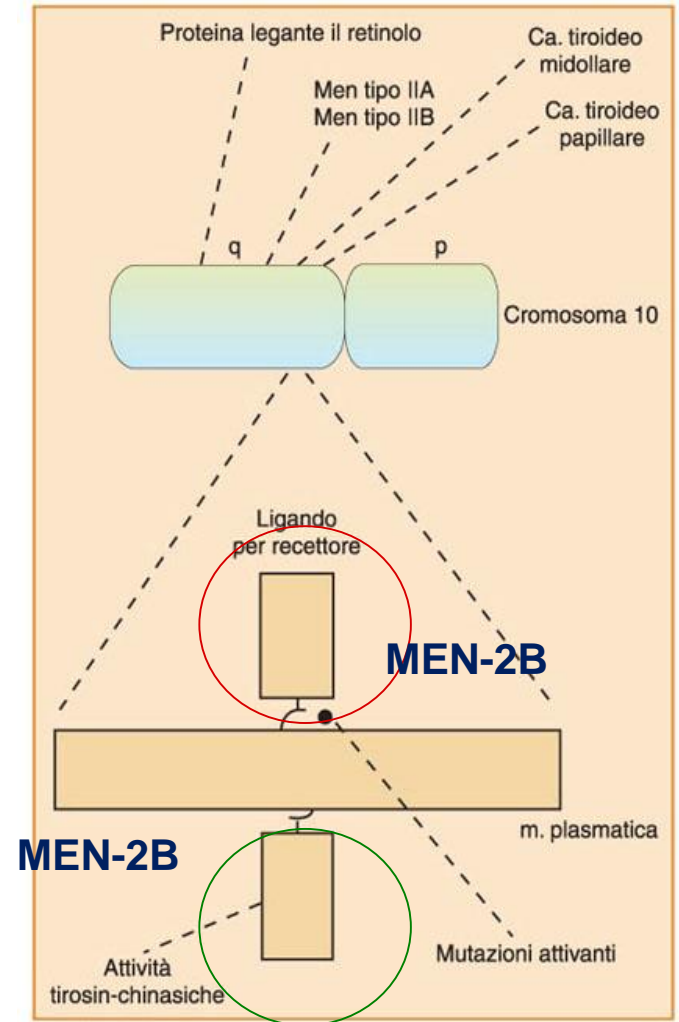
■ **Figura 24.14 - Struttura del recettore per l'EGF il cui gene è mappato nel braccio corto del cromosoma 7 e del prodotto dell'oncogene *v-erb B* che è una forma troncata di questo recettore, costituita soltanto dalla sua porzione intracitoplasmatica costitutivamente attivata.**

RET è normalmente espresso nelle c neuroendocrine e interagisce con il fattore neurotrofico derivato dalle c gliale promuovendo la sopravvivenza cellulare durante lo sviluppo neuronale

RET è normalmente espresso in cellule neuroendocrine:
 CelluleC parafolicolari della tiroide
 Cellule della Midollare del Surrene
 Cellule parafolicolari

Mutazione del recettore ret trasmessa per via germinale
 Carattere autosomico dominante
 Neoplasie del sistema endocrino

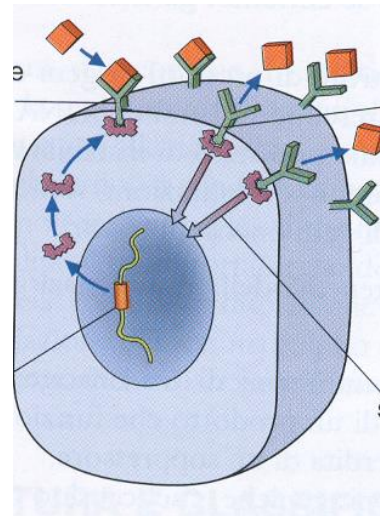
MEN-2A: ca midollare della tiroide, surrene e paratiroidi
 MEN-2B: ca tiroide e surrene



■ Figura 22.15 - Disegno schematico dell'oncogene *ret* e del recettore da esso codificato con indicazione delle mutazioni responsabili della comparsa di alcune sindromi.

Proteina di trasduzione

1. Interazione ligando-recettore
2. Riorganizzazione del recettore e autofosforilazione delle strutture intracitoplasmatiche
3. Interazione con proteine citoplasmatiche
4. Messaggio nel nucleo



Oncogeni codificano:

Proteine leganti la guanosina trifosfato

e

Protein chinasi di tipo non recettoriale

ras

RAS

Le proteine ras sono un componente essenziale nei meccanismi di segnale tra i recettori per i fattori di crescita e i loro effettori.

I geni della famiglia ras codificano per proteine ad alta omologia

Le proteine di ras sono delle proteine G, piccole GTPasi

Controllano meccanismi molecolari molto complessi

Mutazioni di ras sono state evidenziate in numerosi tipi di tumore

ras

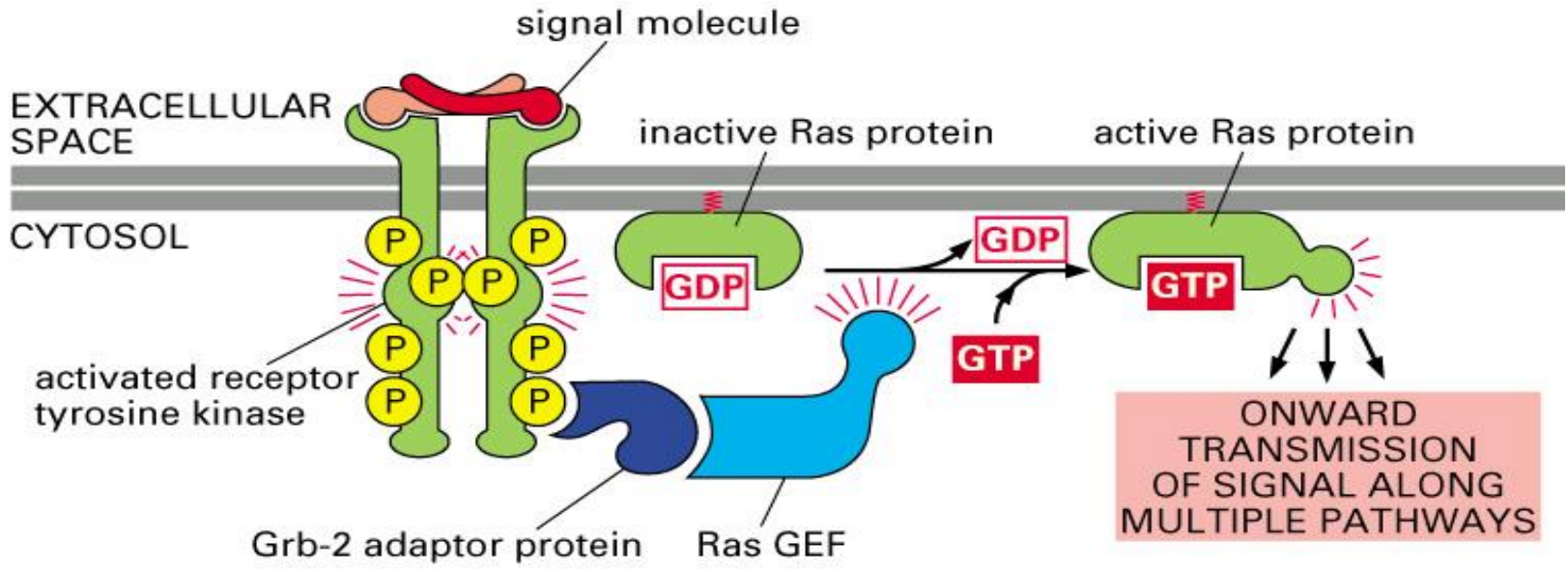
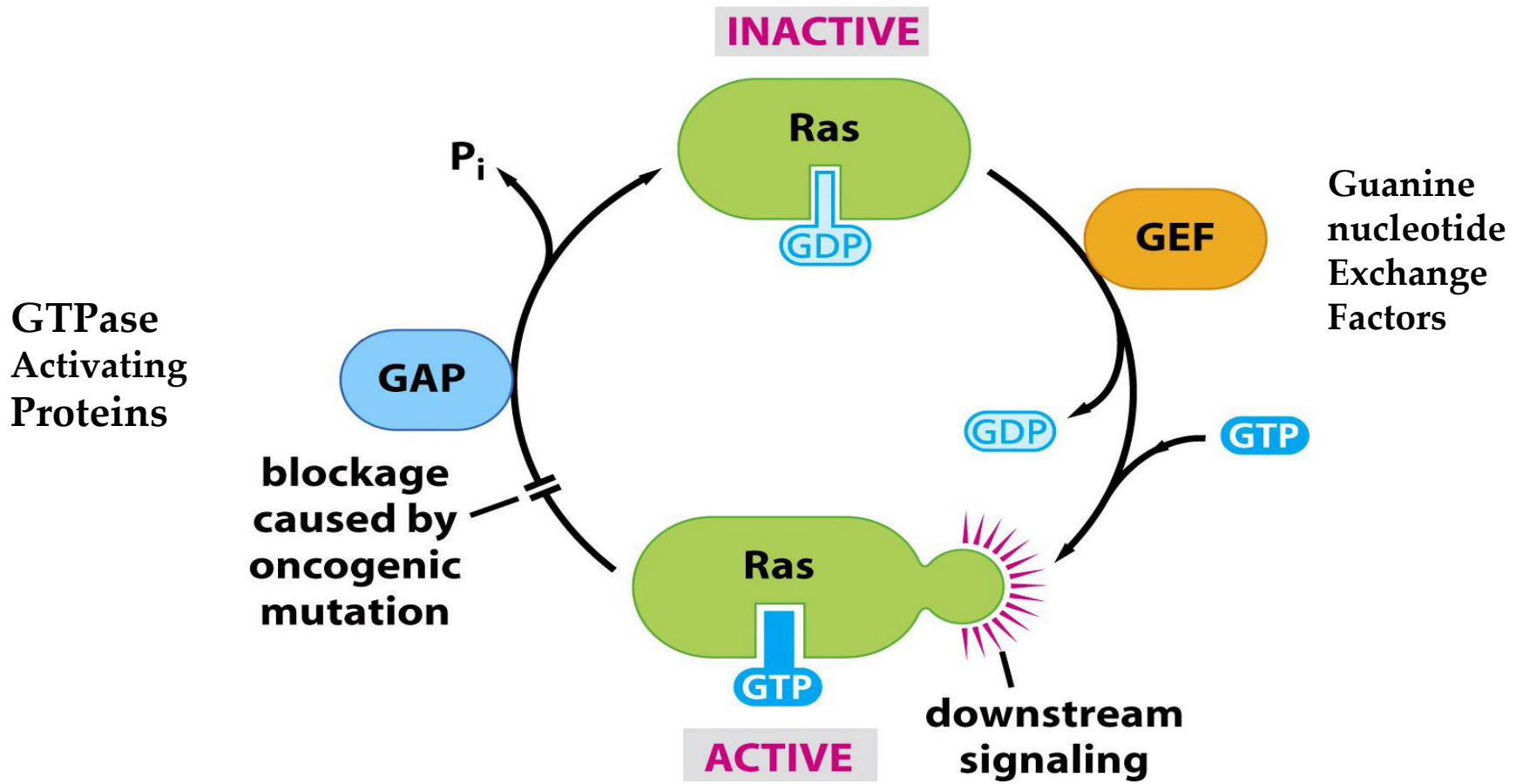


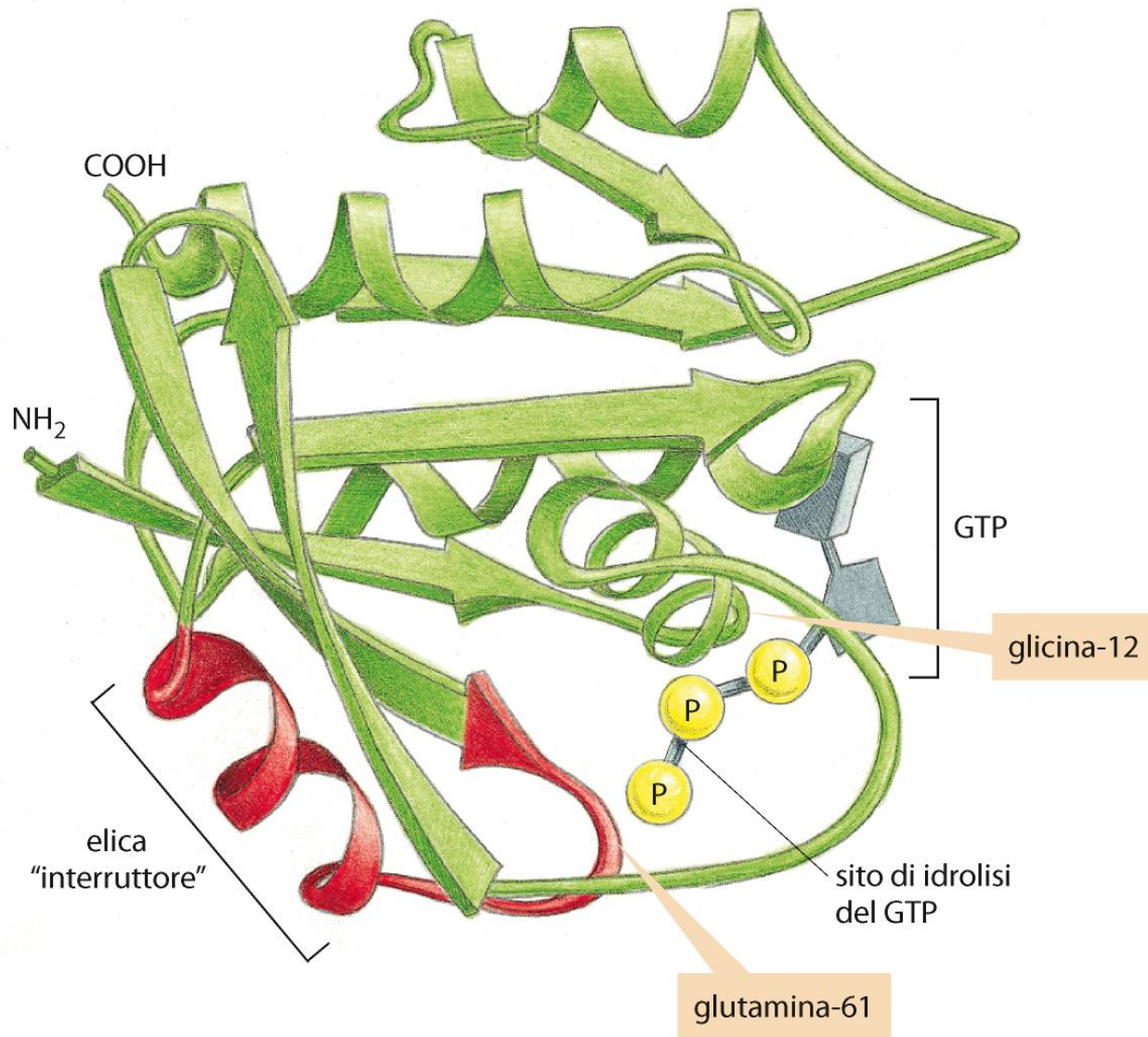
Figure 15–55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

ras



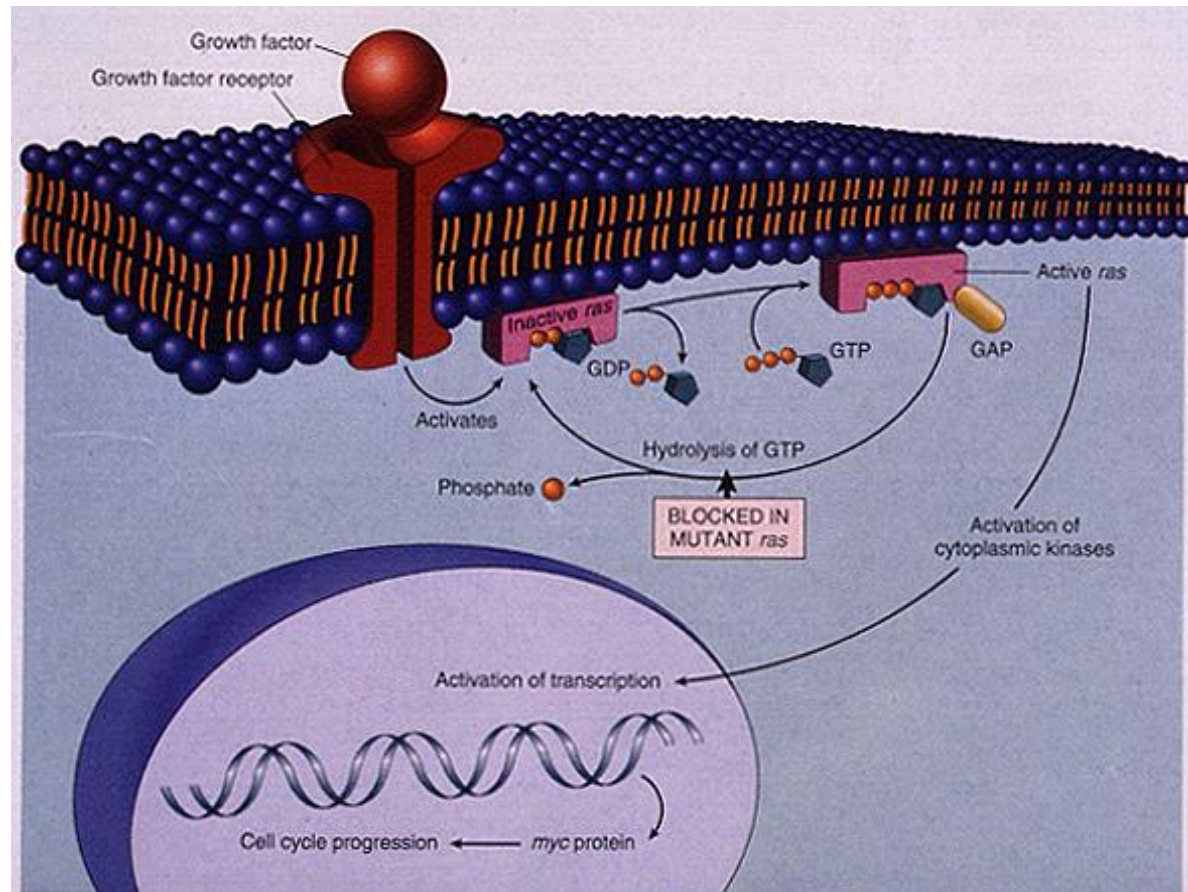
Modificata da *The Biology of Cancer*, Garland Science, 2006

ras



Gli aa. delle
proteine RAS
più
frequentemente
mutati nei
tumori si
trovano nel sito
di legame per il
GTP/GDP

ras



Mutazioni puntiformi dei geni della famiglia RAS sono l'anomalia singola più comune di oncogeni trasmesse come caratteri autosomici dominanti nei tumori umani (15-20%)

ras

Ras- mutato

legano GTP più a lungo

diversa attività GTPasica

Mutazioni ras ubiquitarie nei tumori solidi, linfoidi e mieloidi

K-ras: sarcoma murino indotto dal virus di Kirsten

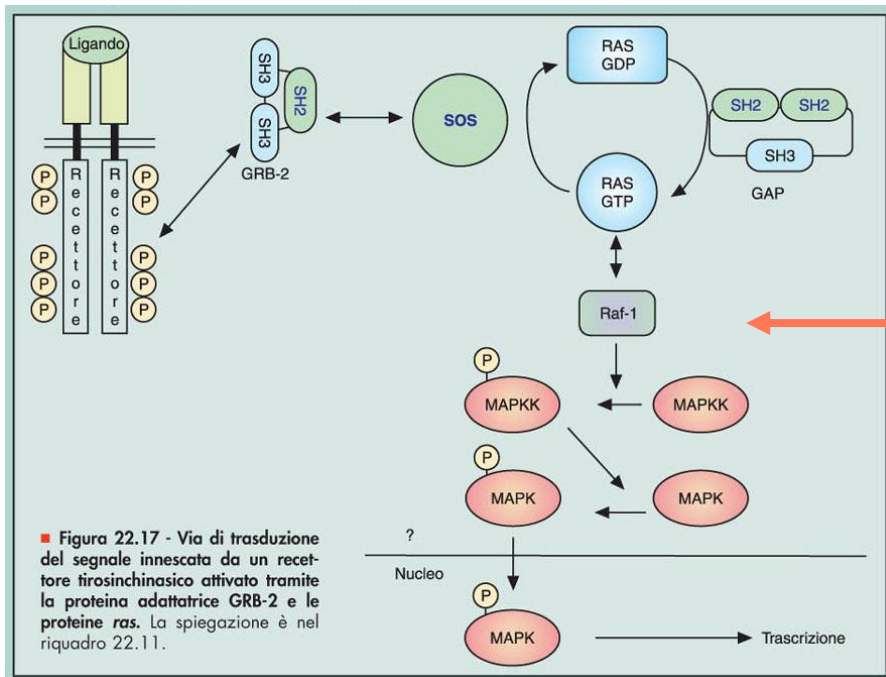
H-ras: sarcoma murino indotto dal virus di Harvey

N-ras: neuroblastomi e carcinomi presenti anche nell'uomo

Riduzione dell'attività GTPasica

Le mutazioni di ras si manifestano

Facilitazione del distacco di GDP



Alcuni tumori hanno mutazioni in proteine presenti sulla via di ras

Le proteine di ras fungono da mediatori tra i recettori per i GF e gli effettori mitogenici coinvolti a valle nella proliferazione e nel differenziamento cellulare

ras

Nell'uomo sono stati isolati tre geni altamente omologhi .

Hras, **Kras** e **Nras**

che codificano per tre proteine di PM21kDa

Le tre isoforme correlano in modo diverso con le varie neoplasie e con la prognosi

Alcune mutazioni di queste isoforme ricorrono più frequentemente nei diversi tumori

Table 1 | Frequency of RAS mutations in human cancer

Tissue	HRAS*	KRAS*	NRAS*	Incidence rate [‡]	Mortality rate [‡]
Endocrine	3% (535)	0% (670)	5% (570)	0.7	0.3
Biliary tract	0% (153)	31% (1,679)	1% (287)	NA [§]	NA
Bone	2% (199)	1% (252)	0% (207)	0.9	0.4
Breast	1% (716)	4% (782)	2% (504)	12.4	2.4
Central nervous system	0% (964)	1% (1,054)	1% (1,017)	6.5	4.3
Cervix	9% (264)	7% (637)	2% (132)	8.1	2.4
Endometrium	1% (291)	14% (2,251)	0% (314)	23.9	4.1
Eye	0% (33)	4% (90)	1% (106)	0.8	0.1
Haematopoietic and lymphoid tissue	0% (3,076)	5% (5,978)	10% (8,753)	35.2	14.5
Kidney	0% (273)	1% (704)	0% (435)	14.6	4.1
Large intestine	0% (617)	33% (34,013)	2% (1,570)	47.2	17.6
Liver	0% (270)	5% (461)	3% (310)	7.3	5.2
Lung	0% (2,091)	17% (16,346)	1% (3,081)	62	52.5
Oesophagus	1% (161)	4% (375)	0% (161)	4.5	4.4
Ovary	0% (152)	14% (3,181)	5% (191)	12.8	8.6
Pancreas	0% (278)	57% (5,329)	2% (305)	12	10.7
Pleura	0% (19)	0% (45)	0% (30)	NA	NA
Prostate	6% (558)	8% (1,184)	2% (588)	156	24.7
Salivary gland	15% (161)	3% (170)	0% (45)	NA	NA
Skin	6% (2,100)	3% (1,462)	18% (4,956)	22.7	3.5
Small intestine	0% (5)	20% (316)	0% (5)	2	0.4
Stomach	4% (384)	6% (2,793)	2% (215)	7.7	3.8
Testis	4% (130)	4% (432)	3% (283)	5.5	0.2
Thymus	2% (46)	2% (186)	0% (46)	NA	NA
Thyroid	3% (4,137)	2% (5,166)	8% (4,662)	11	0.5
Upper aerodigestive tract	9% (1,083)	3% (1,582)	3% (836)	14	3.7
Urinary tract	11% (1,765)	5% (1,099)	2% (873)	21.1	4.3

NA, not available. *Data from the COSMIC database (see Further information). Numbers in parentheses indicate total unique samples sequenced. †Data from the US National Cancer Institute SEER Cancer Statistics Review (see Further information). Rates are shown as per 100,000 people per year. ‡Tumour subtype for which data are unavailable in the SEER database.

Proteinchinasi citoplasmatiche

**L'attività tirosin-chinasica nelle cellule normali è scarsa
L'aumento di fosfotirosina è un marker di malignità**

Substrati di proteine con attività
tirosichinasica possono essere:

Enzimi

Proteine di trasporto

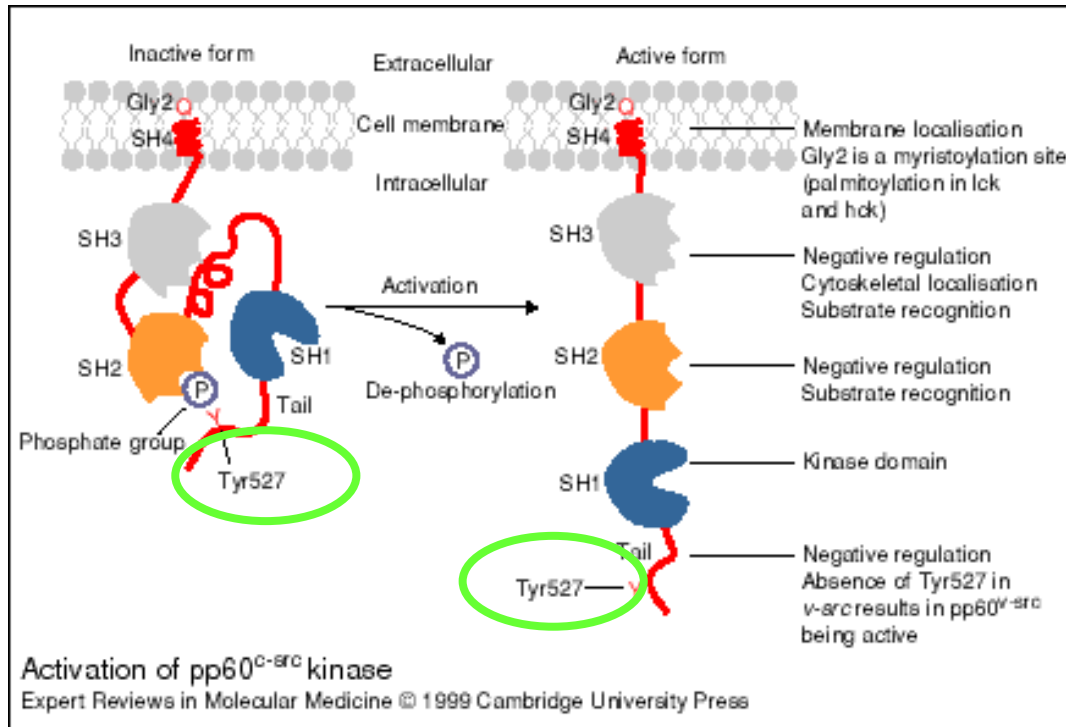
Proteine del citoscheletro

Proteine di adesione

Fattori di trascrizione

Pp60del virus sarcoma di Rous

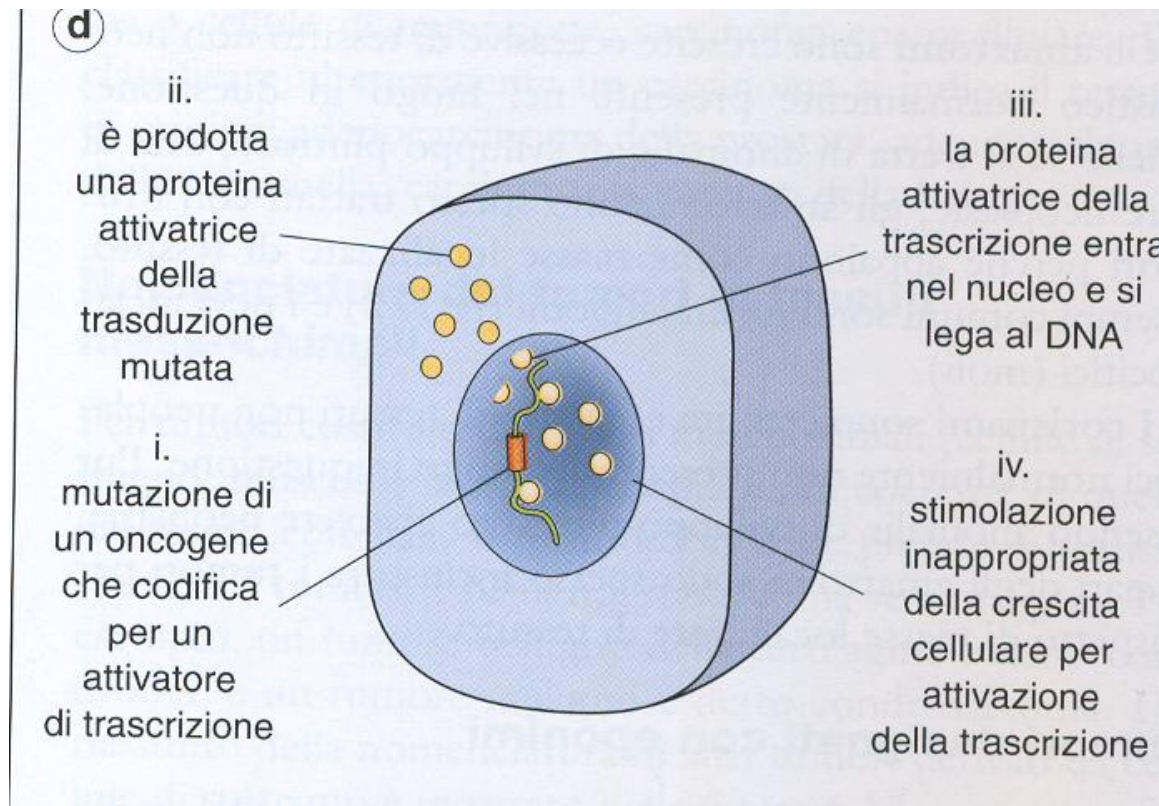
Sito di regolazione



Delezione Tyr527
Riarrangiamento e attivazione dell'attività chinastica

Fattori di trascrizione

Fattori che controllano direttamente la regolazione di geni, legando specifiche sequenze di DNA



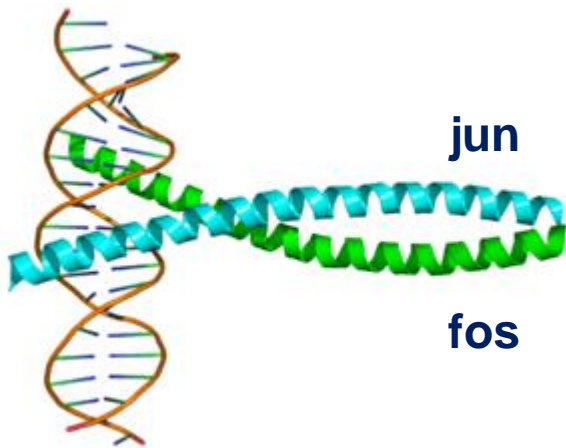
Activator Protein 1 (AP-1)

È un fattore di trascrizione costituito da fos e jun

Regolato da una serie di fattori:

citochine. fattori di crescita, stress, infezioni batteriche e virali

Controlla numerose funzioni cellulari: proliferazione, differenziazione e apoptosi



Traslocazioni cromosomiche attivano fattori di trascrizione

**MYC è espresso in tutte le cellule eucariote,
viene attivato quando le cellule quiescenti ricevono un segnale di divisione**

Attività modulate da MYC:

Acetilazione degli istoni, riduzione adesione cellulare, aumento motilità cellulare,
aumento telomerasi, aumento sintesi proteica

Apoptosi

c-myc appartiene ad una famiglia di geni:

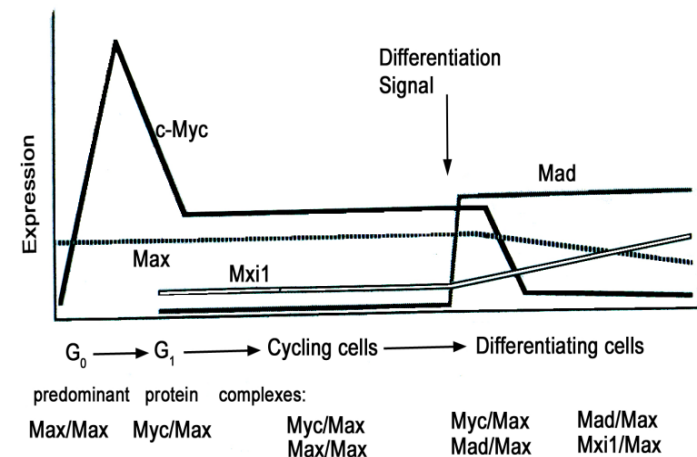
N-myc (neuroblastoma) e L-myc (microcitoma)

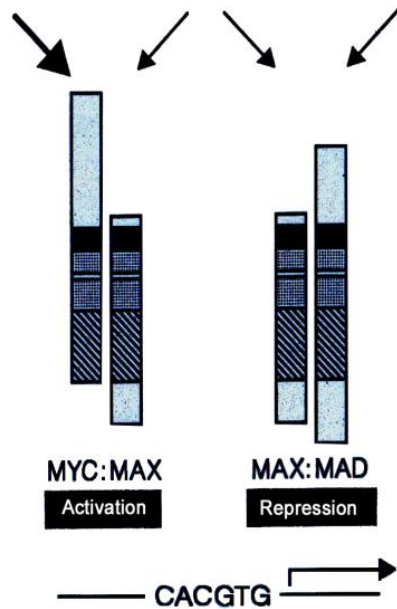
Come fattore di trascrizione funziona da repressore e in alcuni casi da attivatore

Splicing alternativo: c-Myc1 e c-Myc2

c-Myc2 Progressione del ciclo cellulare

c-Myc1 Morte per apoptosi, quando attivato
senza segnali di sopravvivenza





Myc-Max attivatori della trascrizione genica

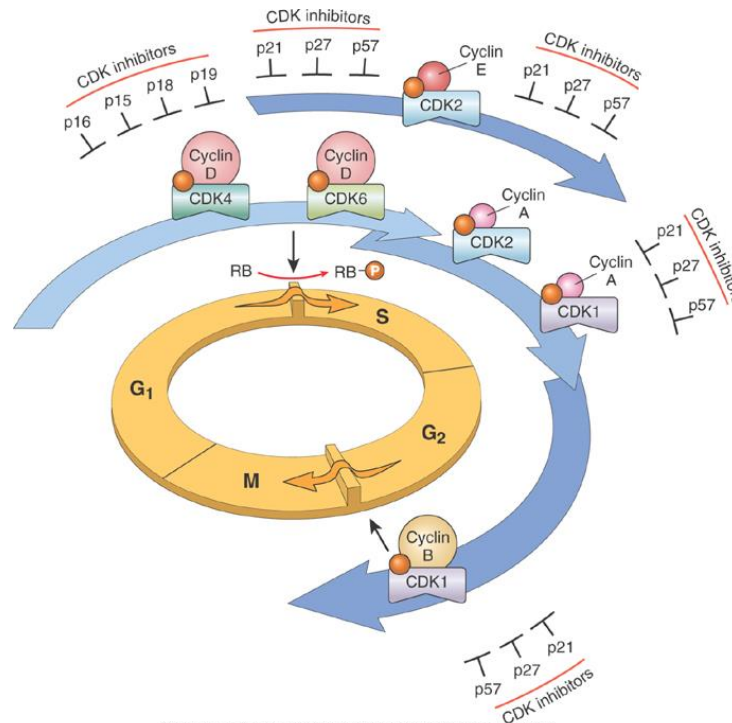
Max-Max inibitori

**Myc risulta iperespresso in numerose neoplasie maligne:
Leucemie, ca del colon, ovaio e polmone, ecc**

Cicline e chinasi ciclino-dipendenti

CDK

fosforilano proteine che guidano il cicli cell



CDK I

Kumar et al: Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, 8th Edition.
Copyright © 2009 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

CDK I sono spesso mutate o inibite in neoplasie umane:
Ca pancreas, glioblastomi, esofago, leucemie, polmone, vescica

Sovrapproduzione di un fattore che previene l'apoptosi

