



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

# Corso di ONCOLOGIA

29 novembre 2019

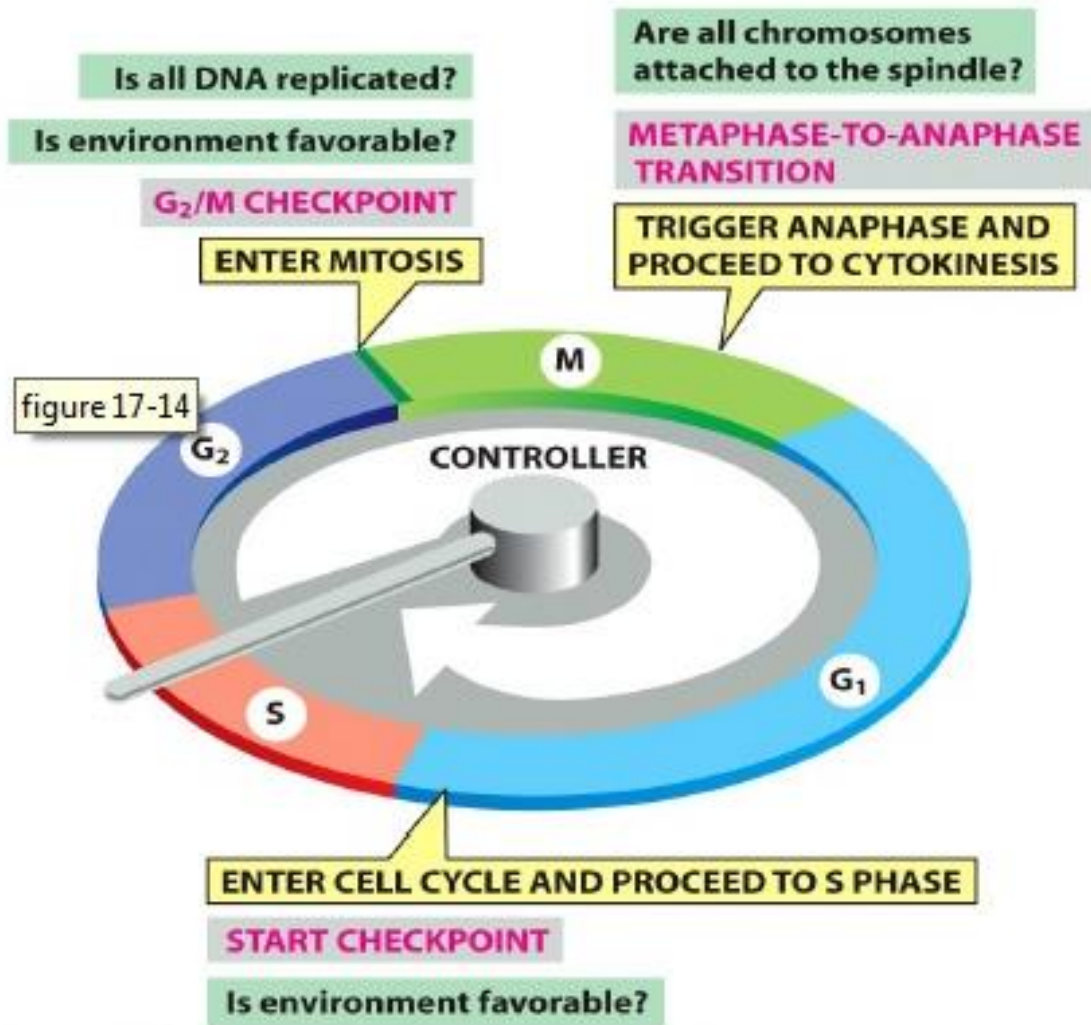


Figure 17-14 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

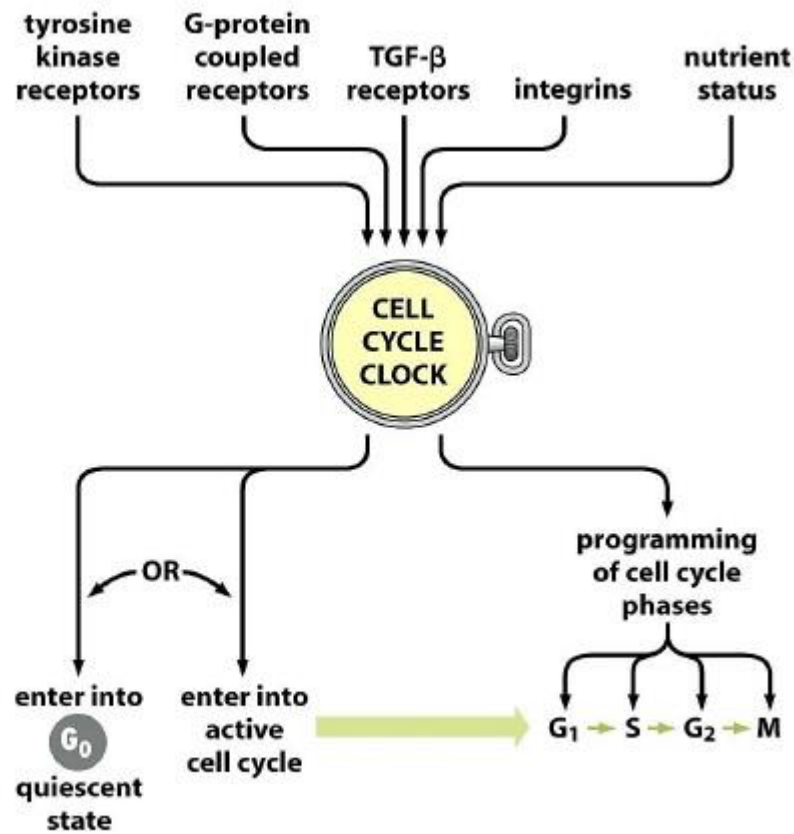


Figure 8.1 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

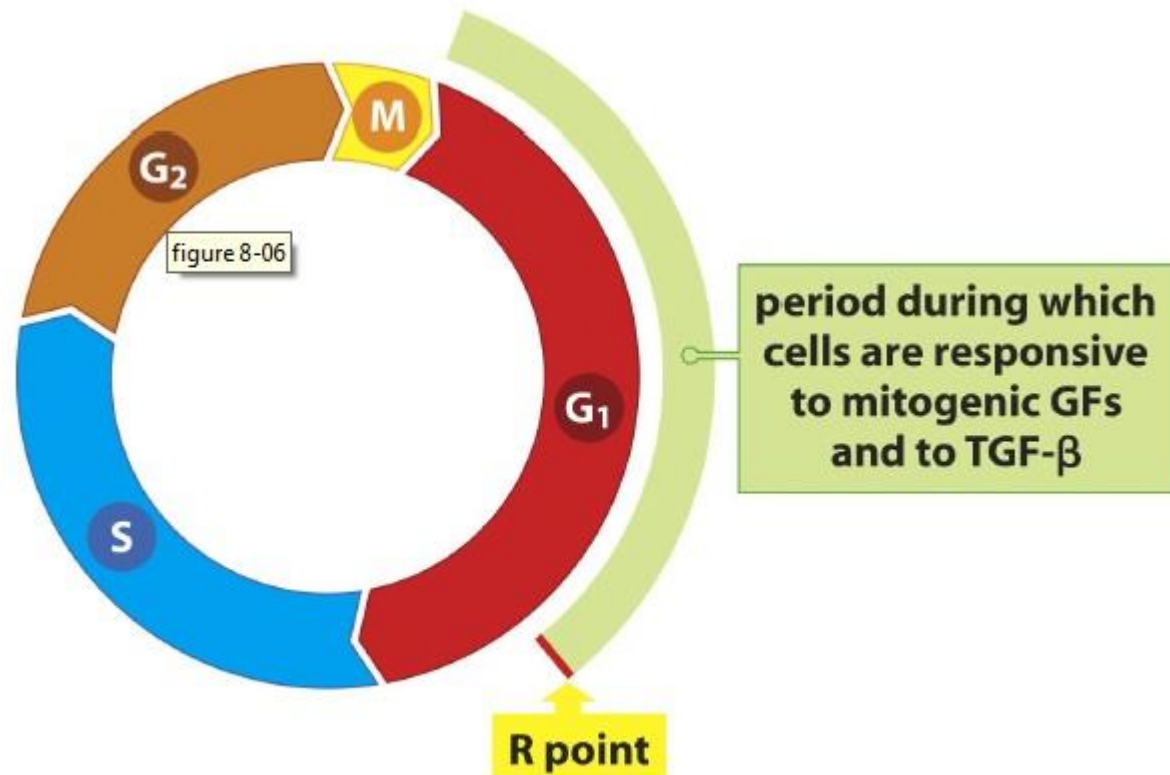
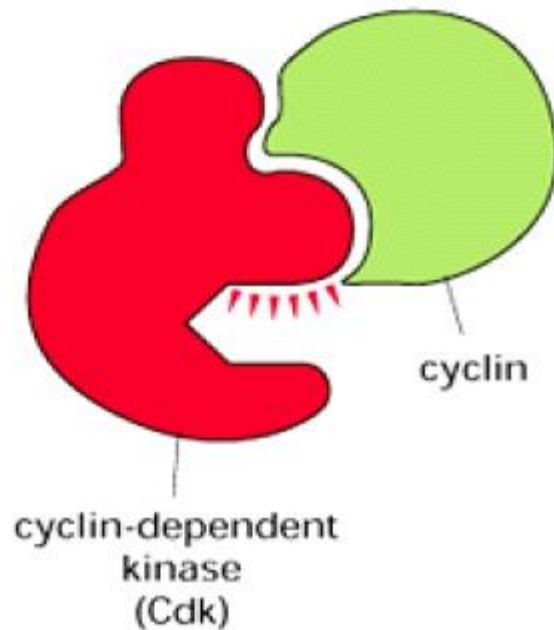
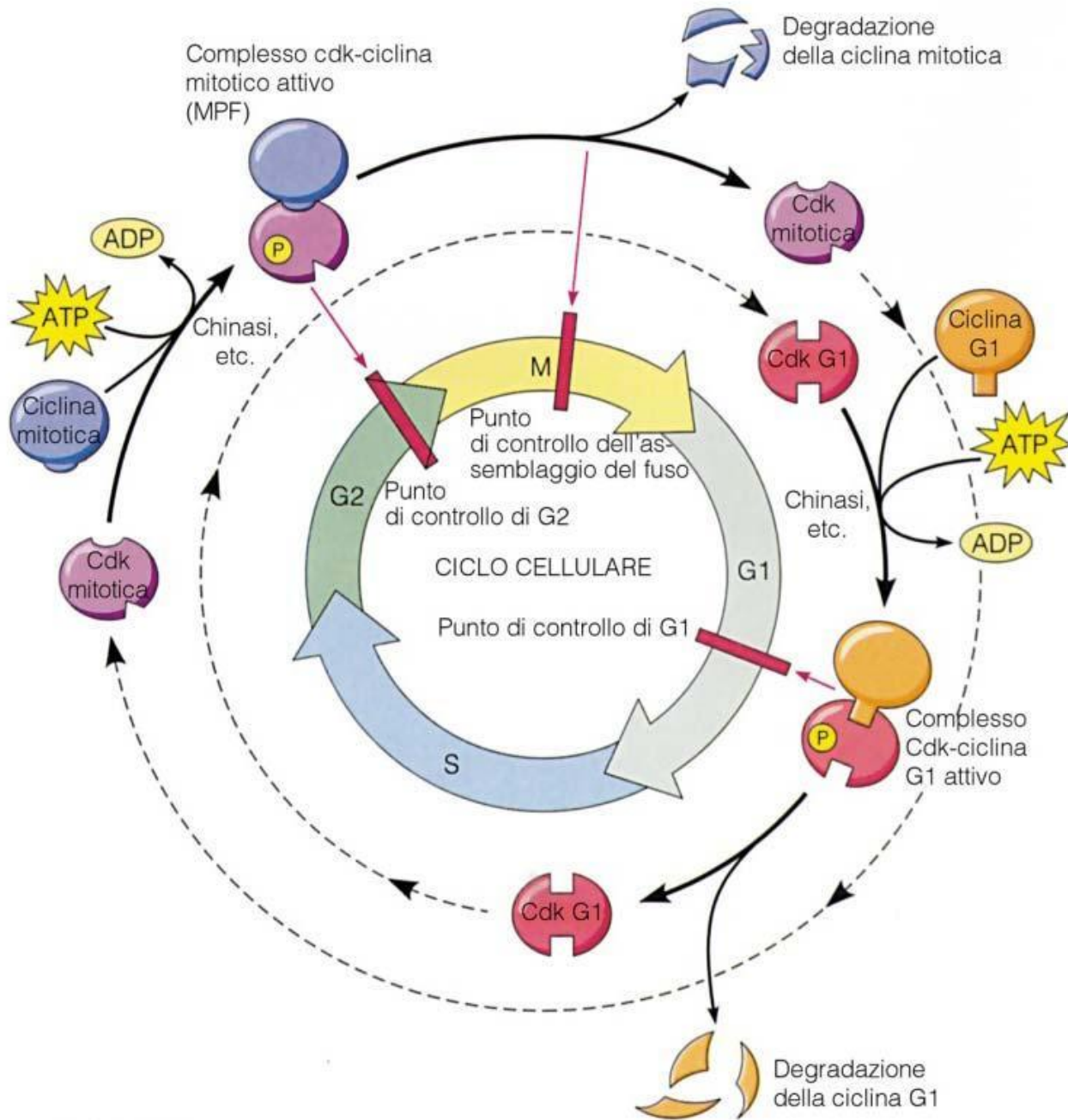


Figure 8.6 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

## I due componenti principali del sistema di controllo del ciclo cellulare



Il complesso ciclina/Cdk  
ha una attività kinasica,  
in assenza di ciclina, Cdk è  
inattiva



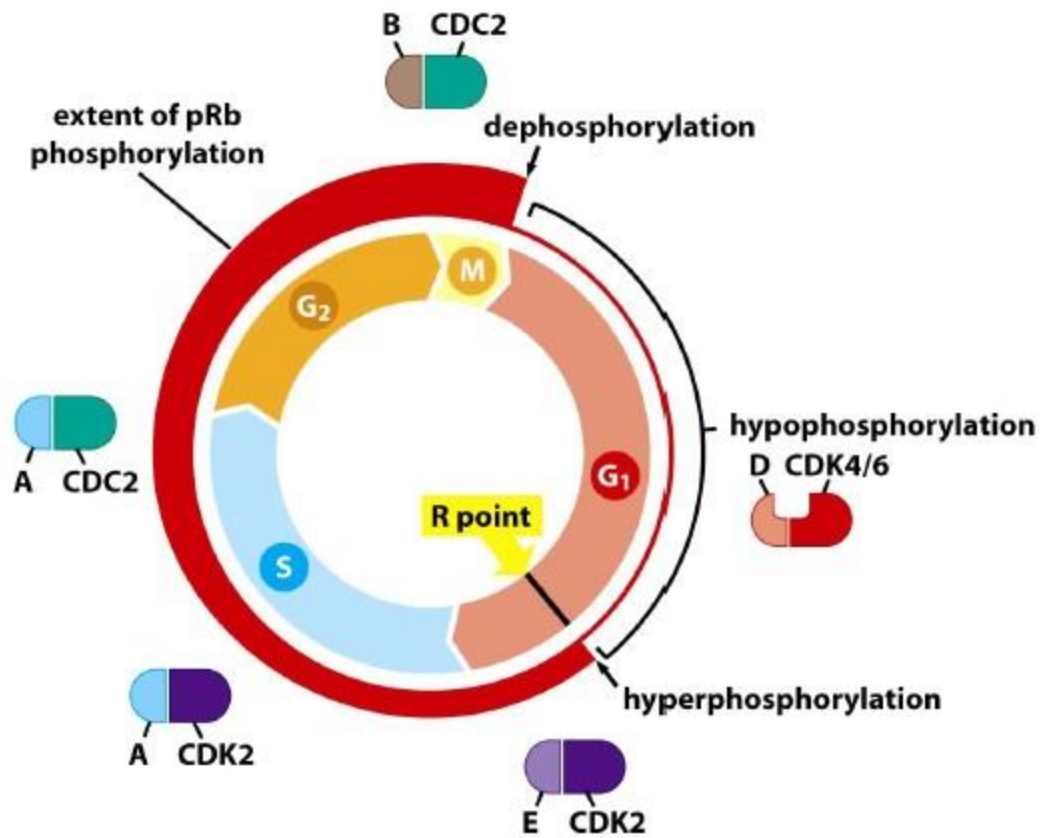
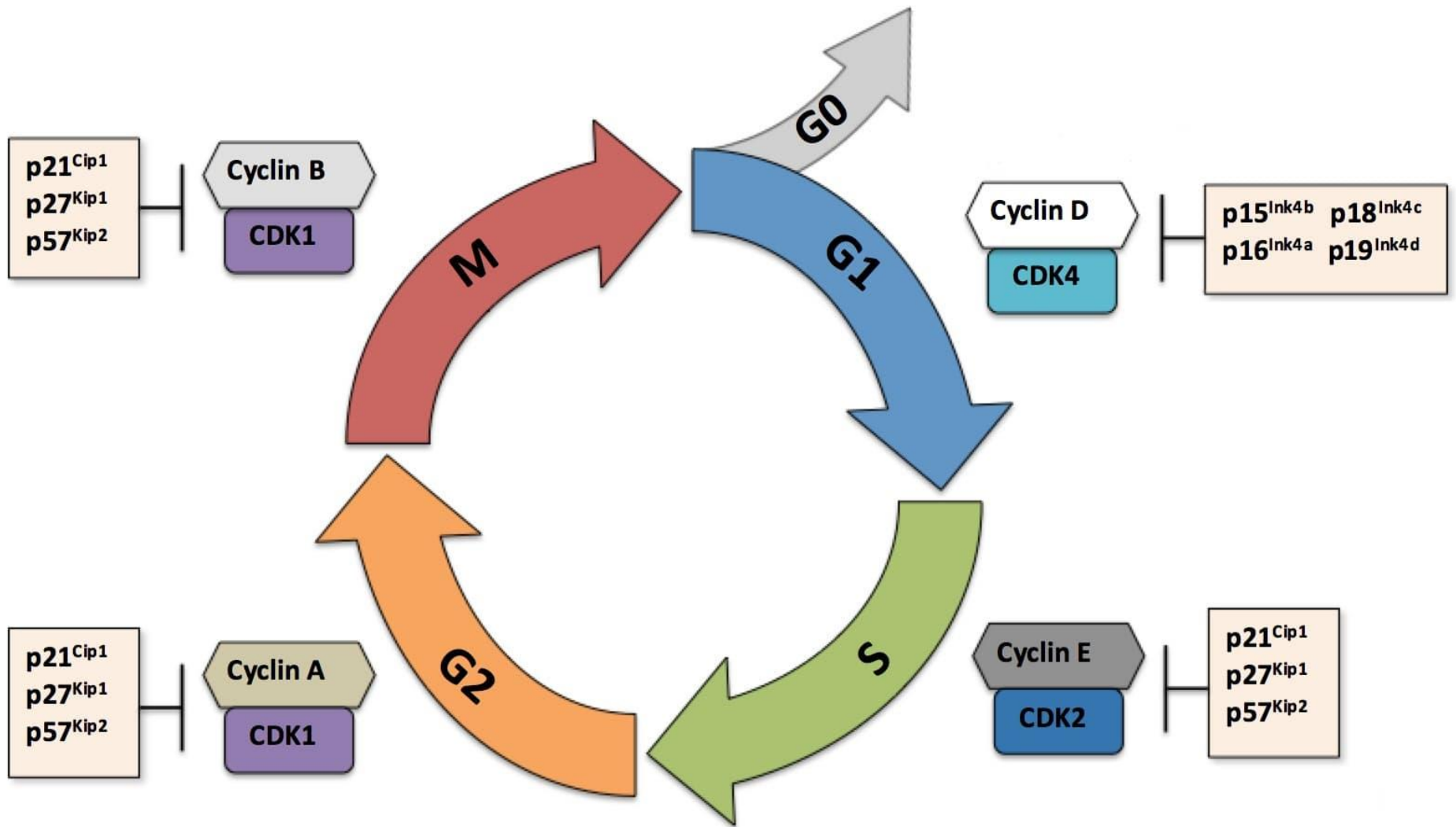


Figure 8.19 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)





Progressione delle cicline nel ciclo cellulare

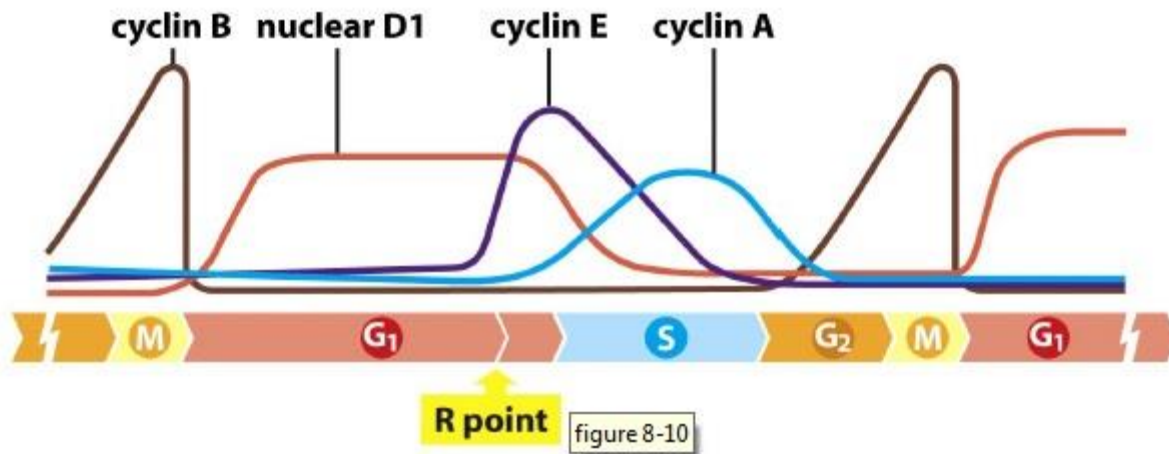


Figure 8.10 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

## Inattivazione delle cicline

Famiglie di inibitori

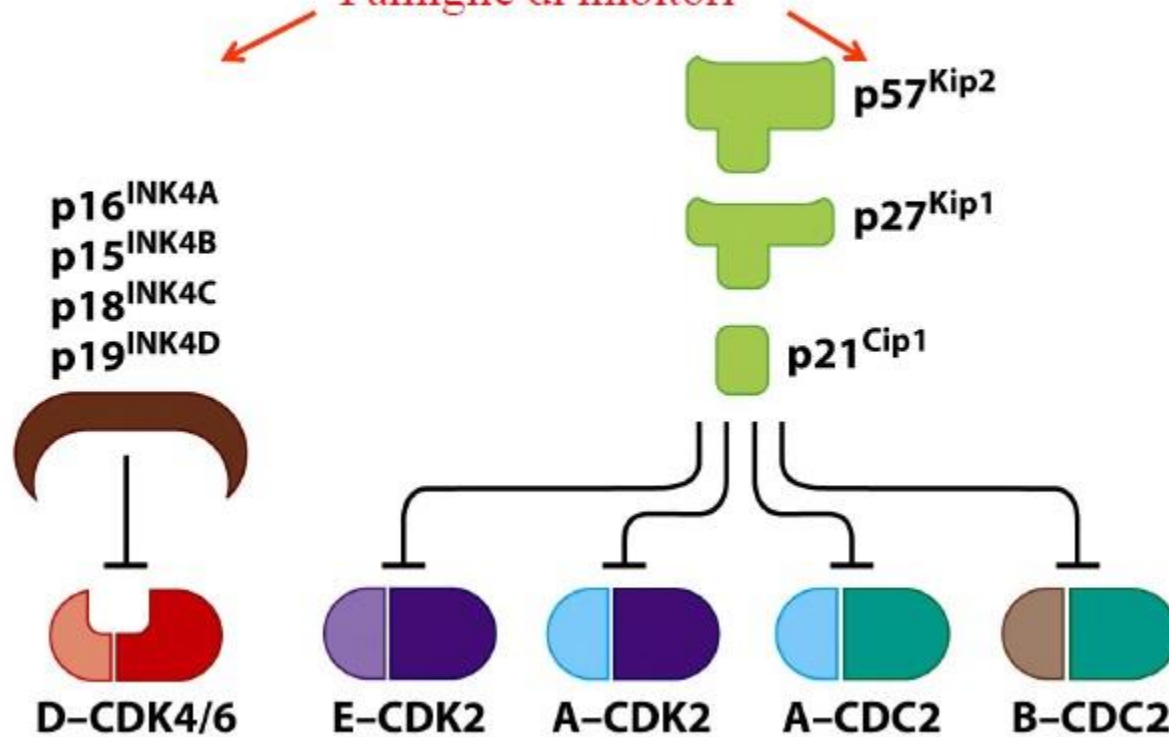
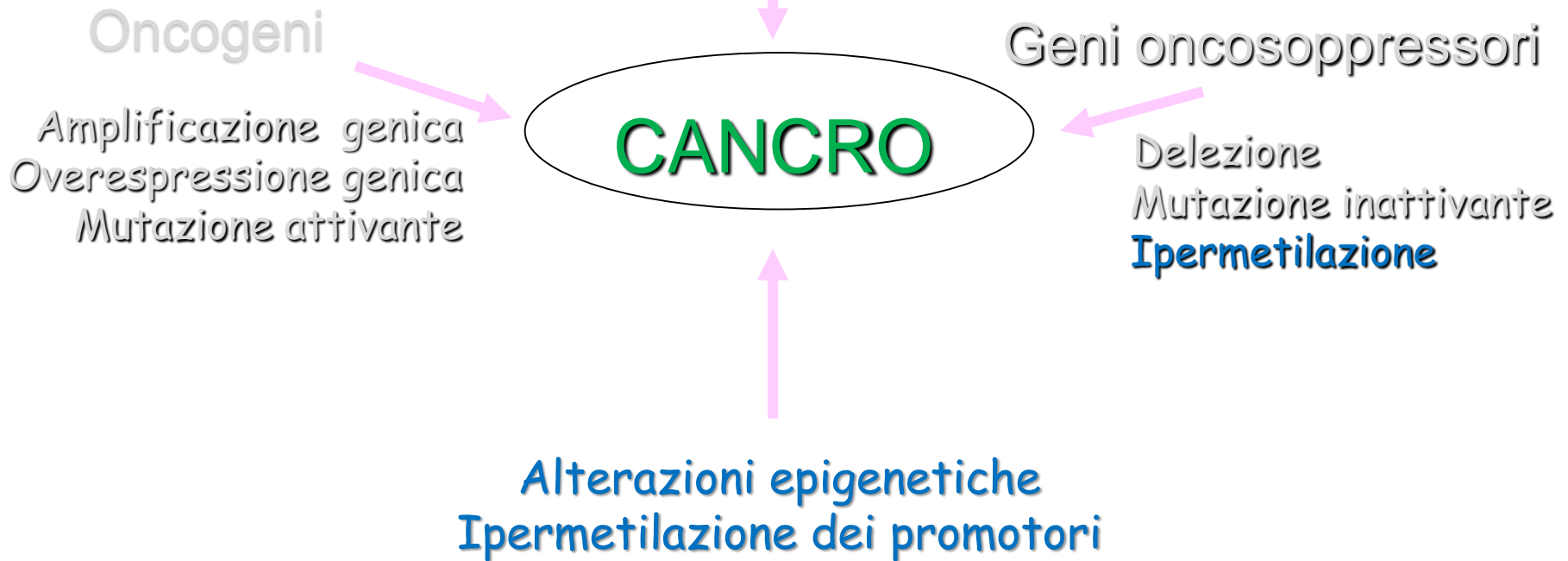


Figure 8.13a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

## Meccanismi di riparazione del DNA



# EPIGENETICA

Oltre la genetica c'è un mondo di meccanismi biologici ancora tutto da scoprire che si attua al di sopra dei geni stessi e che si basa sul controllo della loro attività mediante una serie di processi chimici.

Non viene toccata la sequenza del Dna ma alterano l'accessibilità fisica al genoma da parte di complessi molecolari deputati all'espressione genica e, quindi, alterano il grado di funzionamento dei geni.

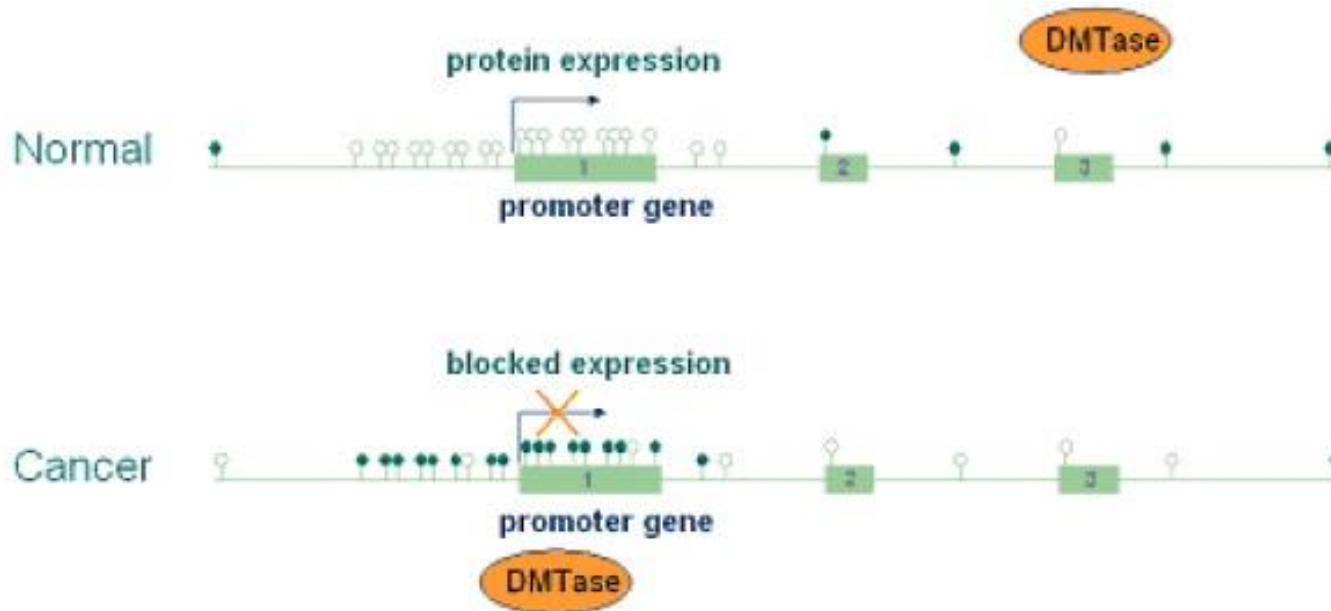
Questi fenomeni epigenetici sono a loro volta tramandati nelle generazioni così come l'ereditarietà genetica da più tempo nota e, quindi, si parla oggi di memoria epigenetica.

L'epigenetica studia le modifiche fenotipiche **EREDITABILI** nell'espressione del gene causate da meccanismi diversi dai cambiamenti nella sequenza genomica. Un segnale epigenetico è pertanto un qualsiasi cambiamento **EREDITABILE** che non altera la sequenza nucleotidica di un gene, ma altera la sua attività.

Tra i possibili meccanismi che possono provocare effetti epigenetici si annoverano:

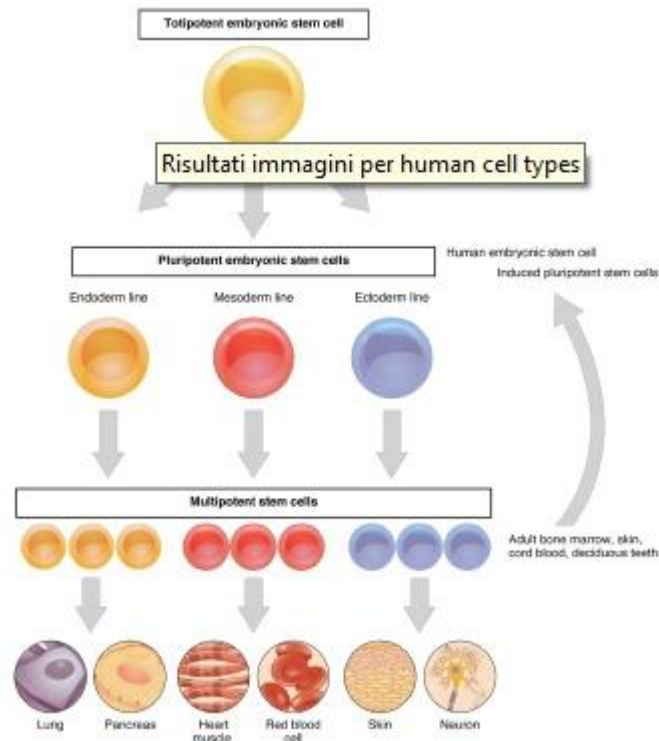
- modificazioni del DNA (**metilazione delle citosine** da parte delle metiltrasferasi)
- modificazione delle proteine (**modificazioni degli istoni**, quali acetilazione, metilazione etc)

Questi processi alterano l'accessibilità fisica alle regioni del genoma sulle quali si legano proteine e enzimi deputati all'espressione genica e quindi alterano l'espressione del gene



La metilazione del DNA è una modificazione chimica del DNA eseguita da enzimi chiamati metiltransferasi, grazie ai quali un gruppo metilico (m) è legato ad alcune citosine (C) del DNA. Questo processo non-mutazionale (mC) (epigenetico) è un fattore critico regolazione dell'espressione genica.

- ✓ 1 genoma: >200 tipi cellulari
- ✓ Nei diversi tipi cellulari solo l'informazione genetica necessaria per il loro funzionamento è utilizzata, gli altri geni sono SILENZIATI con meccanismi EPIGENETICI

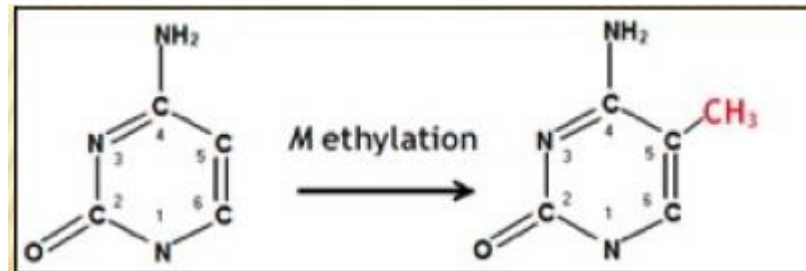




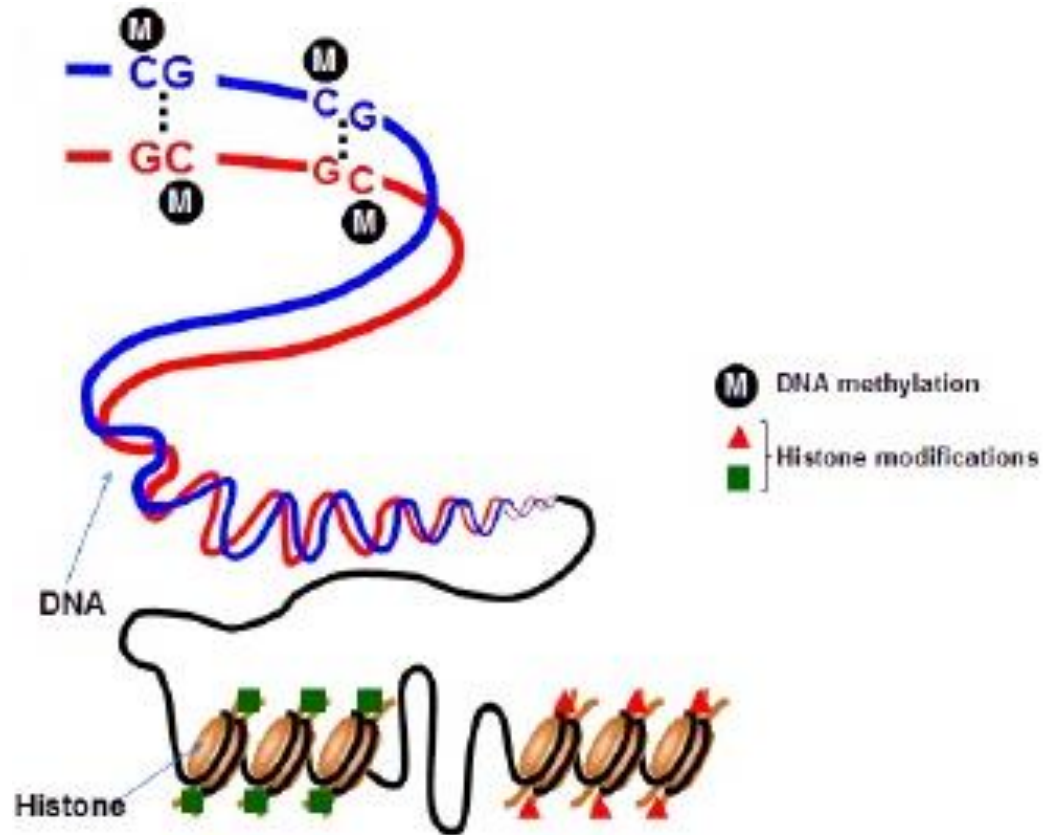
✘ Le cellule umane hanno lo stesso genoma ma presentano profili epigenetici distinti.

- ✘ La modulazione dei profili epigenetici contribuisce in modo cruciale:
- ✘ allo sviluppo embrionale, al passaggio da cellula staminale a cellula programmata,
- ✘ al differenziamento
- ✘ e costituisce la capacità di integrare i segnali provenienti dall'ambiente come i nutrienti, i cicli biologici e atmosferici, lo stress e gli stimoli ormonali.

- ✦ Delle quattro basi di cui è costituito il DNA (adenina, citosina, guanina e timina) è la **citosina** che, se particolarmente posizionata, ha la caratteristica di essere facilmente metilata in presenza di un enzima metilante (DNA metil-transferasi).

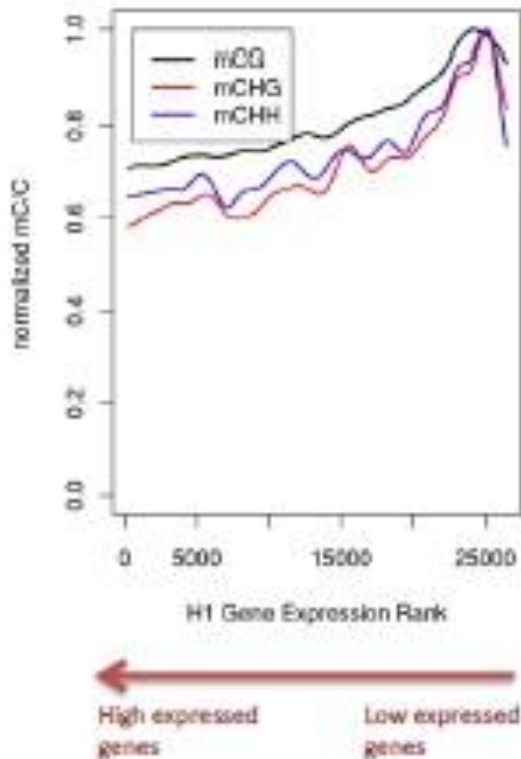


# ISOLE CpG



**Promoter methylation levels are inversely related with the level of gene expression**

Highly expressed genes have a lower promoter methylation (mCG, mCHG o mCHH) level compared to low expressed genes

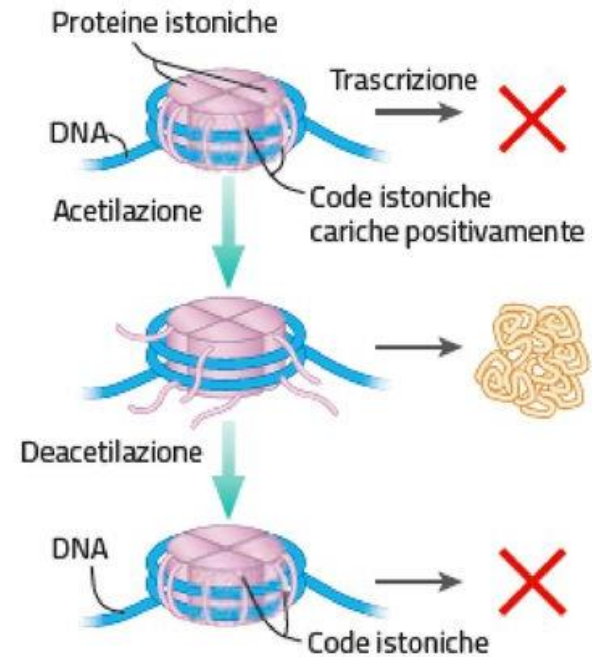


- ✘ l'acetilazione produce sui geni adiacenti azione di attivazione della trascrizione,
- ✘ la deacetilazione effetto negativo.

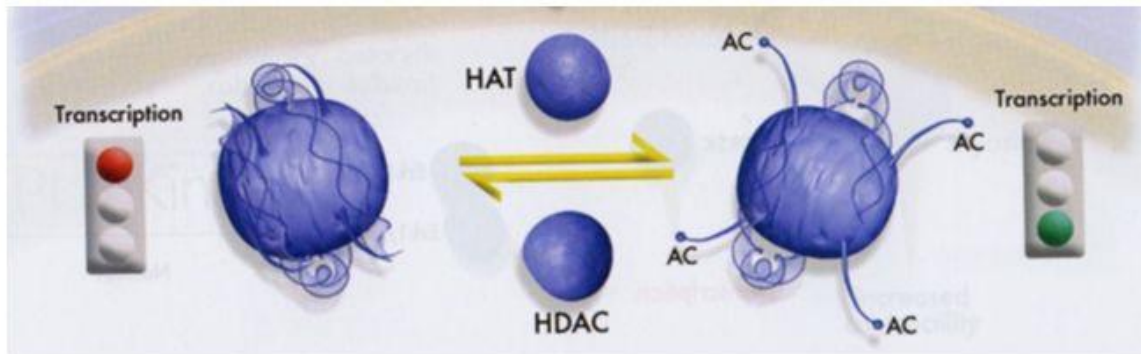
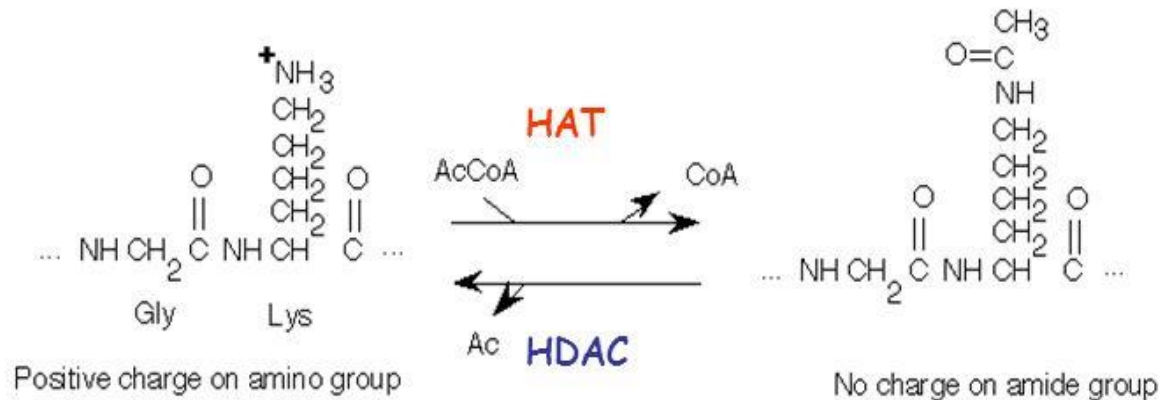
- ✘ Le proteine che interagiscono con gli istoni sono divise in tre categorie:
- ✘ 'writers' ( che scrivono), 'readers' (che leggono) and 'erasers' ( che cancellano).
- ✘ Le writers includono le **chinasi** (fosforilano), le HATs (**istone acetiltrasferasi**) e HMTs (**istone metil-trasferasi**), mentre le 'erasers' sono **fosfatasi**, HDACs (**istone deacetilasi**) e DMTs (**istone demetilasi**).

L'**acetilazione degli istoni** (cioè l'aggiunta di gruppi acetile) stimola la trascrizione ponendo la cromatina in una forma aperta, accessibile ai fattori proteici.

Al contrario, la **metilazione degli istoni** reprime la trascrizione aumentando il grado di condensazione della cromatina.



# RUOLO DELL'ACETILAZIONE ISTONICA



- Decondensa la fibra da 30nm
- Favorisce l'accesso dei fattori di trascrizione sulla cromatina
- Agisce come segnale per il legame di proteine non istoniche

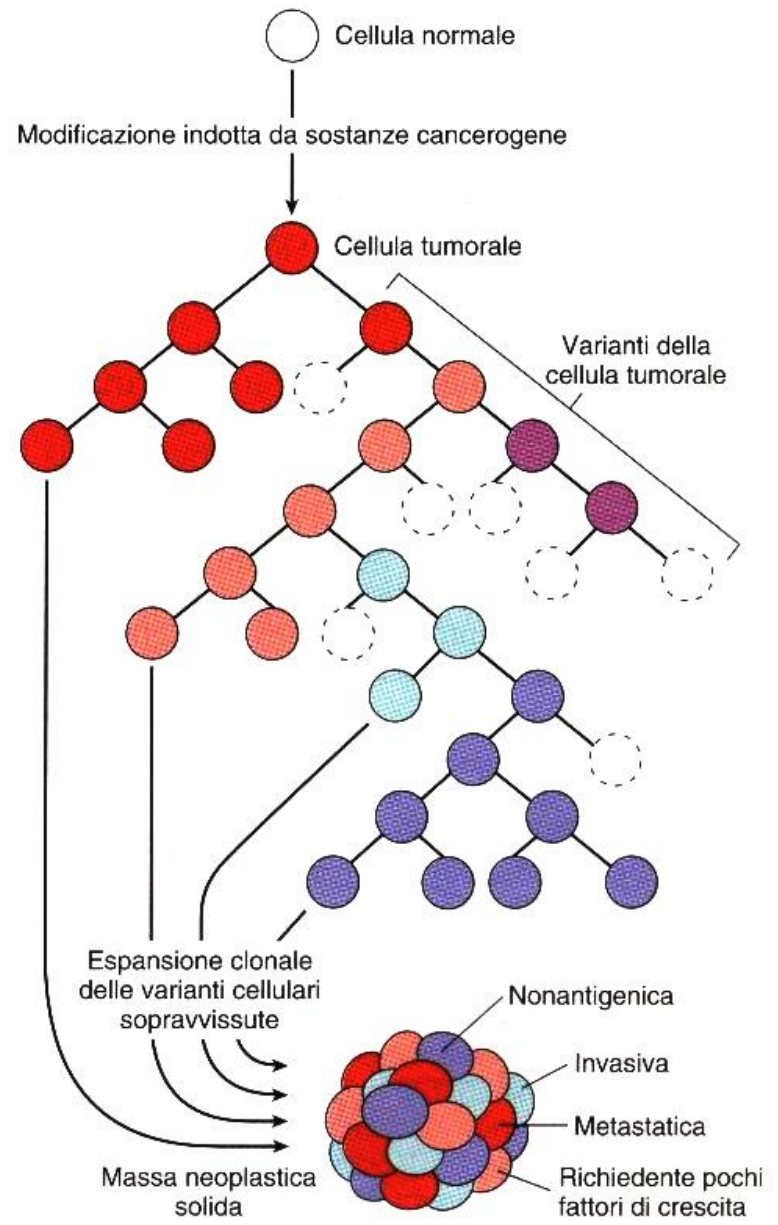
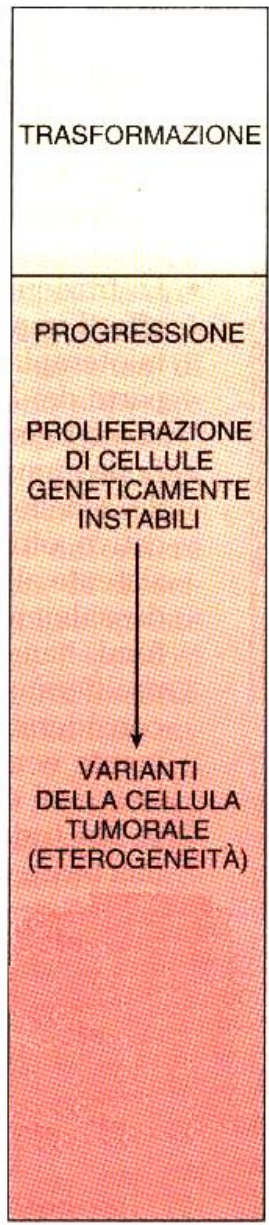
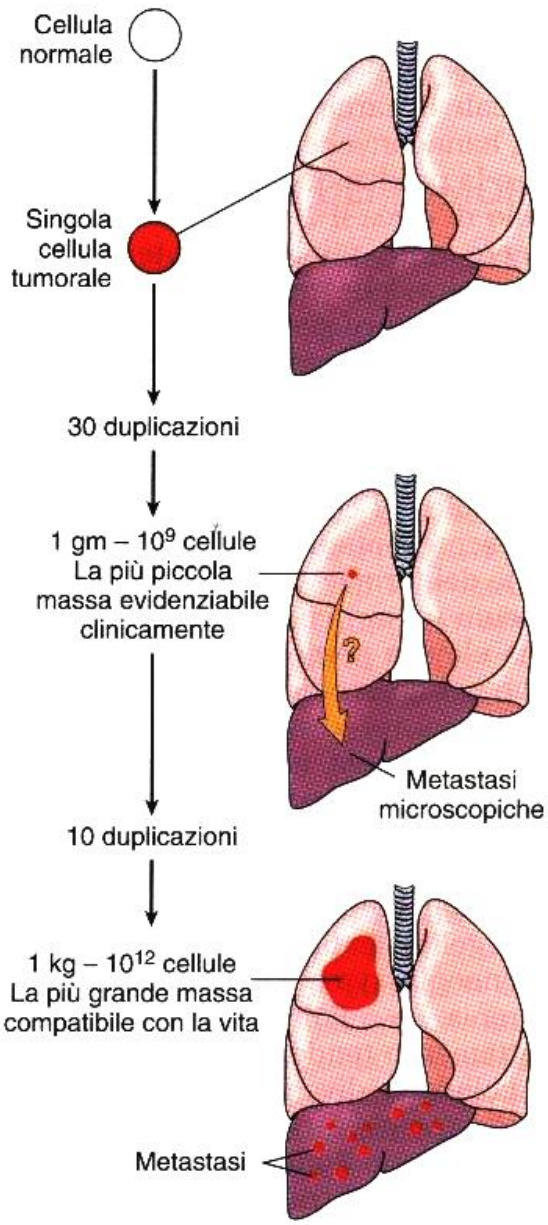
Solo da poco sappiamo che interferendo con gli enzimi di base dell'epigenetica, che rendono il Dna più o meno accessibile ai sistemi di produzione di proteine, possiamo controllare l'attività dei geni.

I tumori sono malattie complesse e possono innescarsi non solo con mutazioni sul Dna ma anche con funzionamento difettoso di uno o più fenomeni epigenetici.

Alterazioni del pattern epigenetico di una cellula possono dar luogo all'accensione di geni che invece normalmente sono spenti o viceversa al silenziamento di altri che invece devono funzionare.



# PROGRESSIONE NEOPLASTICA



Sono malattie dovute ad **ALTERAZIONI GENETICHE**

50-70% dei tumori è dovuto a **cause ambientali**

Non rispondono a fattori che normalmente controllano la  
**PROLIFERAZIONE CELLULARE**

ACCRESIMENTO ESPONENZIALE

$$N_t = N_0 \cdot e^{kt}$$

$N_t$  = N cellule in un dato momento

$N_0$  = N cellule iniziali

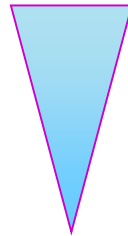
$e$  = costante dei logaritmi

$k$  = tempo di duplicazione cellule

$t$  =

tempo di accrescimento del tumore

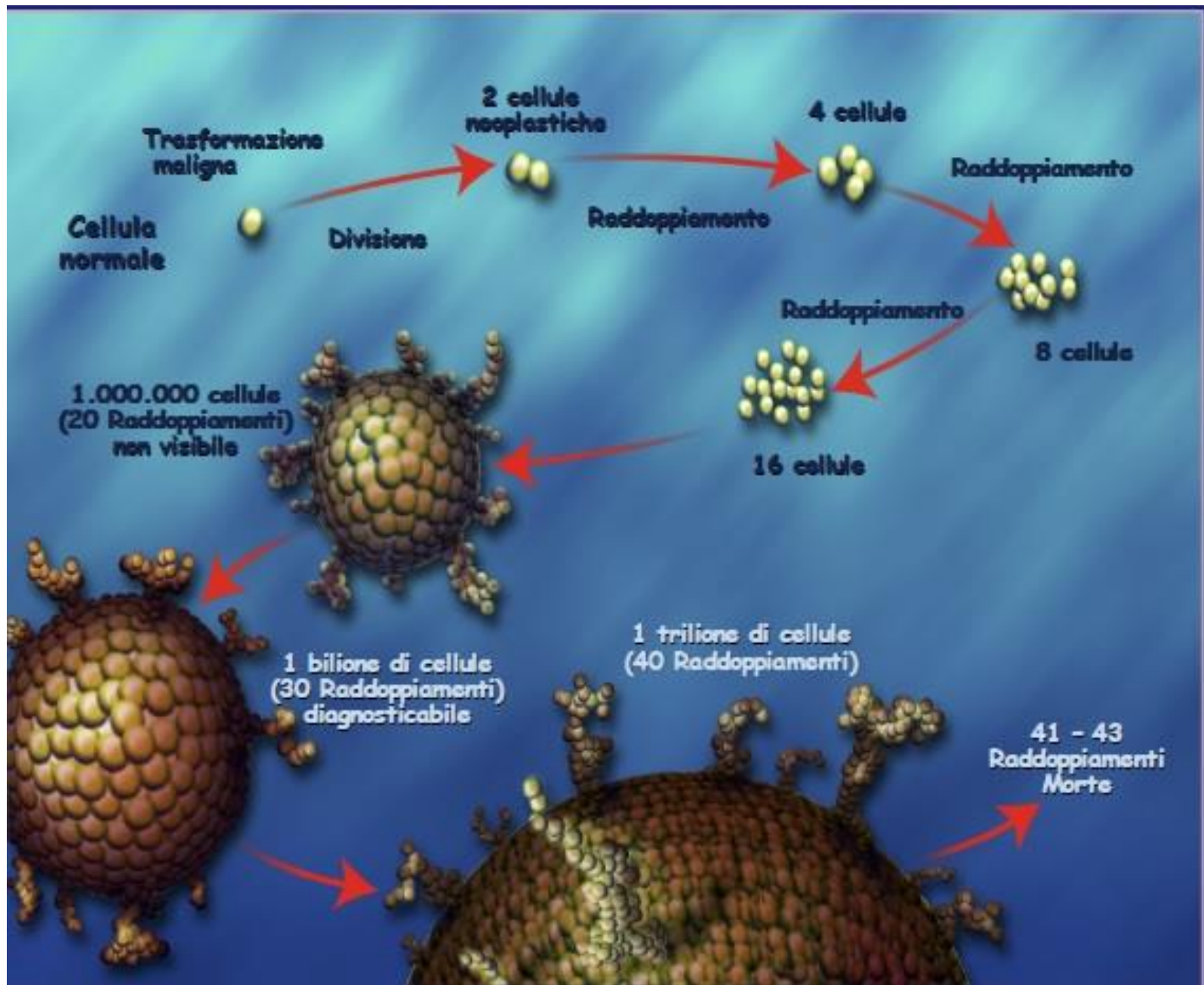
TIPI DI TESSUTO, IN BASE ALLE CAPACITA' PROLIFERATIVE:



**LABILI**

**STABILI**

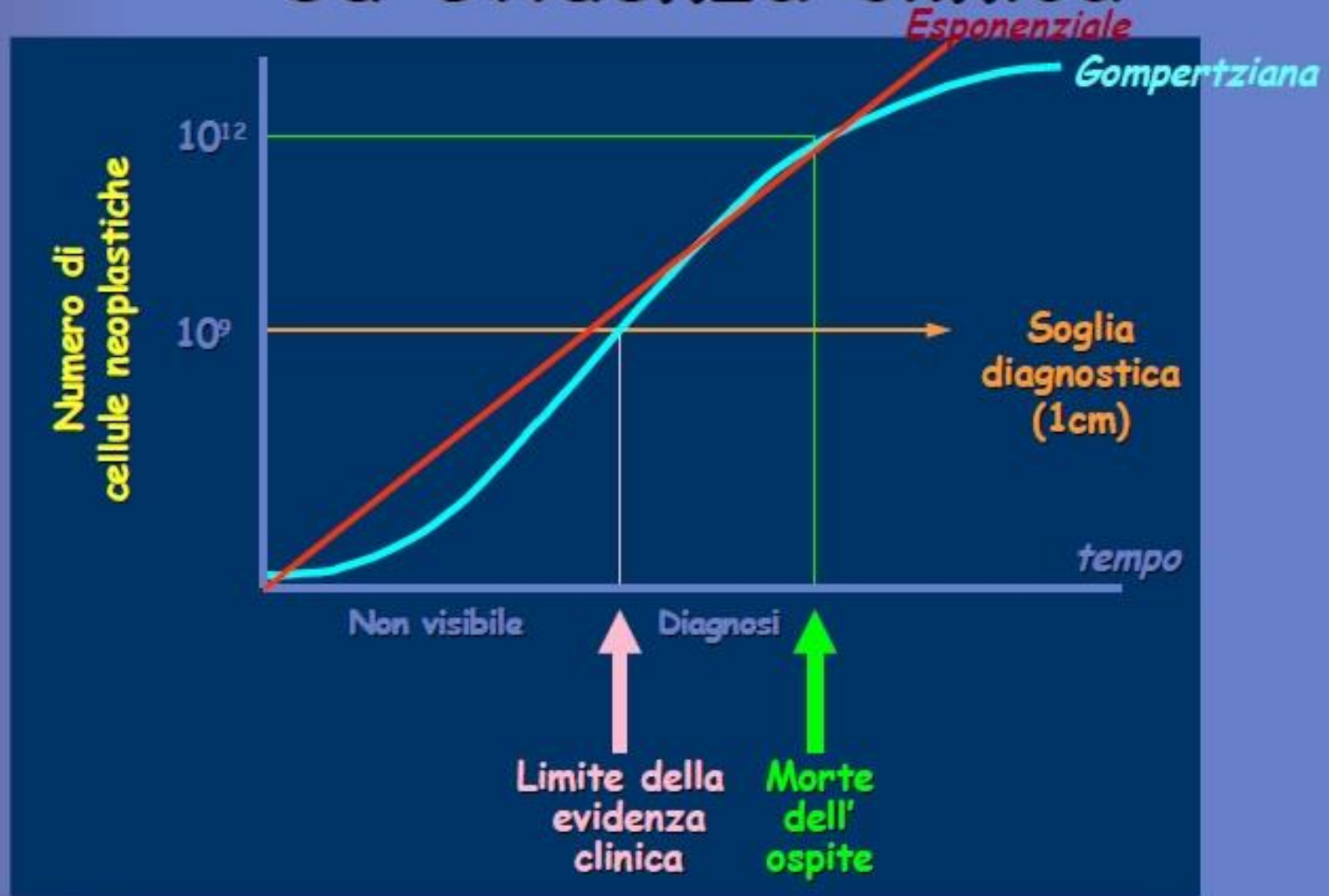
**PERENNI**



# Cinetica di crescita dei tessuti tumorali

- **Periodi di raddoppiamento:**
  - Tempo minimo nel quale una popolazione cellulare si moltiplica una volta (+rapido: mucosa duodenale: 1,6 giorni)
- **Nei tumori le cellule proliferanti sono una parte ridotta**
  - Altre sono in  $G_0$
  - Altre sono morte
  - Altre sono differenziate e non si replicano
- **Crescita esponenziale: proliferazione continua (tumori sperimentali)**
- **Crescita gompertziana: proliferazione con decremento di crescita in funzione del tempo (tumori solidi umani)**

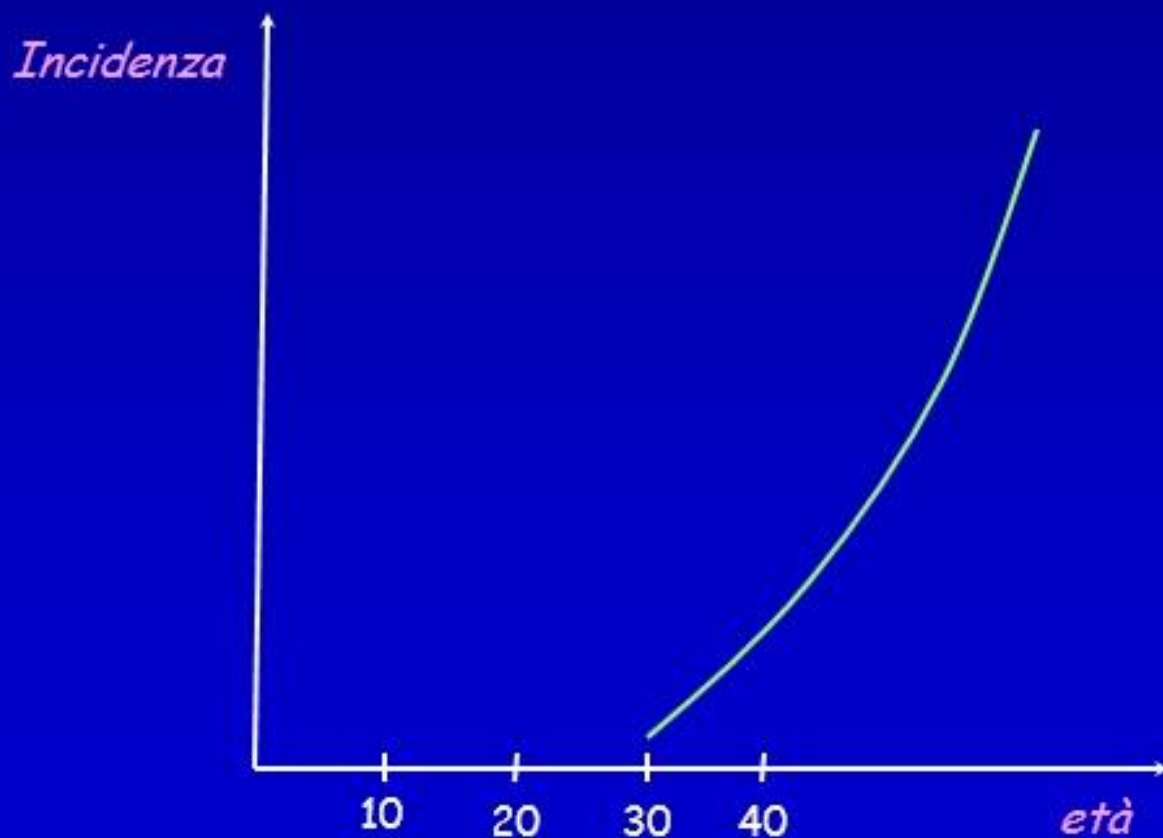
# Crescita neoplastica ed evidenza clinica



I tumori sono *processi multifasici*, si parla di **PROGRESSIONE NEOPLASTICA**

serie successiva di **mutazioni** che si accumulano  
nella progenie di una o poche cellule

ecco perché l'incidenza è  
legata all'**età**



$$I = c \times t^n$$

I = *incidenza*

c = *costante*

t = *tempo*

n = *dipende dall'età*

# Quiescienza delle cellule tumorali "cell dormancy"

- Le cellule neoplastiche possono rimanere quiescenti per anni
- Possibili meccanismi:
  - Arresto in  $G_0$
  - La frequenza di morte cellulare bilancia la proliferazione
- L'uscita dallo stato di quiescienza è clinicamente rilevabile  
**come recidiva o progressione di malattia**

Fidler I.J. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 5th ed. 1997;141.



# TRASFORMAZIONE NEOPLASTICA A CARICO DI QUALUNQUE CITOTIPO

**CELL. LABILI:** vita limitata, rinnovamento continuo, perdita per invecchiamento, esfoliazione, *proliferazione elementi staminali* che originano tali cellule, es. *epiteli*.

**CELL. STABILI:** vita più lunga, si moltiplicano solo *occasionalmente*, quando una quota va incontro a distruzione → moltiplicazione per ripristinare la quota normale, es. *fegato*.

**CELL. PERENNI:** la *perdita non è rimpiazzata* da cellule dello stesso tipo, es. *cellule nervose, muscolari*.



# CRESCITA NEOPLASTICA ESPONENZIALE

*carcinoma in situ*



AUMENTO DELLE **DIMENSIONI** (tumori solidi)



AUMENTO NECESSITA' DI OSSIGENO

NO MAGGIOR APPORTO NUTRIENTI



RALLENTAMENTO DELLA CRESCITA PER ASSENZA DI VASCOLARIZZAZIONE



SELEZIONE DI NUOVE VARIANTI



ACCENSIONE  
"NUOVI GENI"

es. fattori  
angiogenetici



CAPACITA' DI  
**SFUGGIRE AL**  
**SISTEMA**  
**IMMUNITARIO**  
(es. ↓ MHC)



MINORE  
NECESSITA'  
NUTRIENTI



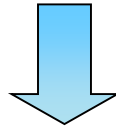
MINORE  
NECESSITA'  
OSSIGENO



**CAPACITA'**  
**METASTATICA**

**NEOVASCOLARIZZAZIONE**

LA POPOLAZIONE NEOPLASTICA SI MOLTIPLICA  
E *MUTA CONTINUAMENTE*



**PROGRESSIONE NEOPLASTICA**

il tumore è una *entità dinamica* in continua evoluzione

# L'INVASIVITA' DELLA CELLULA NEOPLASTICA

**INVASIVITA'** = colonizzazione di altri tessuti, diffusione nell'organismo per:

- ✓ *modificazione adesività cellulare* (aumento carica negativa → distacco cellule)
- ✓ *prod. di mediat. (citochine, recett., enzimi) che modificano la membrana basale, componente extracellulare (matrice)*
- ✓ *locomozione cellule neoplastiche (AMF = autocrine motility factor)*
- ✓ *perdita inibizione da contatto*
- ✓ *fattori che inducono la formazione di vasi (fattori angiogenici) nel tumore*

ADESIVITA': *diminuzione adesività omotipica, aumento adesività*

modificazione della distribuzione delle cariche elettriche della superficie → negativizzazione (maggior ricchezza in cariche negative)

diversa distribuzione molecolare di adesione

- produzione sostanze attive su:
- **MEMBRANA BASALE**
  - **MATRICE EXTRACELLULARE**
  - **CELLULE ADIACENTI**

comparsa di attività proteolitica per secrezione di **ATTIVATORE DEL PLASMINOGENO (PA)** → serinproteasi

## PLASMINOGENO

(polipeptide di 92.000 Da) prodotto dal fegato, è tagliato "attivato" in PLASMINA nel sangue ed in altre sedi

*proteasi* che trasforma il FIBRINOGENO in FIBRINA

*idrolisi di numerose proteine e glicoproteine della matrice extracellulare (es. fibronectina)*

Coaguli di fibrina che avviluppano le cellule neoplastiche presenti nel sangue circolante

*Produzione METALLOPROTEASI*

(Ca<sup>2+</sup> e Zn<sup>2+</sup>-dipendenti) → sono collagenasi attive su collagene di tipo I, II, III

*Produzione altre COLLAGENASI* → degradano collagene di tipo IV, V

*Secrezione CATEPSINA B* → miosina, actina, fibronectina, laminina, collagene tipo IV, proteoglicani

*Secrezione JALURONIDASI* → idrolizza e depolimerizza l'acido ialuronico, presente soprattutto nel tessuto connettivo

*Produzione LATTATO* → sintesi cellule neoplastiche a causa della *glicolisi anaerobia*



liquido extracellulare ipertonico, facilita modificazioni dell'ambiente extracellulare da parte degli enzimi secreti da parte delle cellule neoplastiche

# LOCOMOZIONE DELLA CELLULA NEOPLASTICA

Il movimento cellulare è un *processo attivo* che dipende da *contrazioni della membrana*, modificazioni dinamiche strutture contrattili.

*cellule che si muovono* → emissione lamella motoria, priva di organuli ma ricca di microfilamenti

Isolamento FATTORE CHEMIOCINETICO  
da parte di cellule tumorali



produce movimento disordinato nelle cellule tumorali ma non in quelle normali.

Proteina 50 kDa AMF "*Autocrine Motility Factor*" nelle urine di pazienti con carcinoma vescicale.

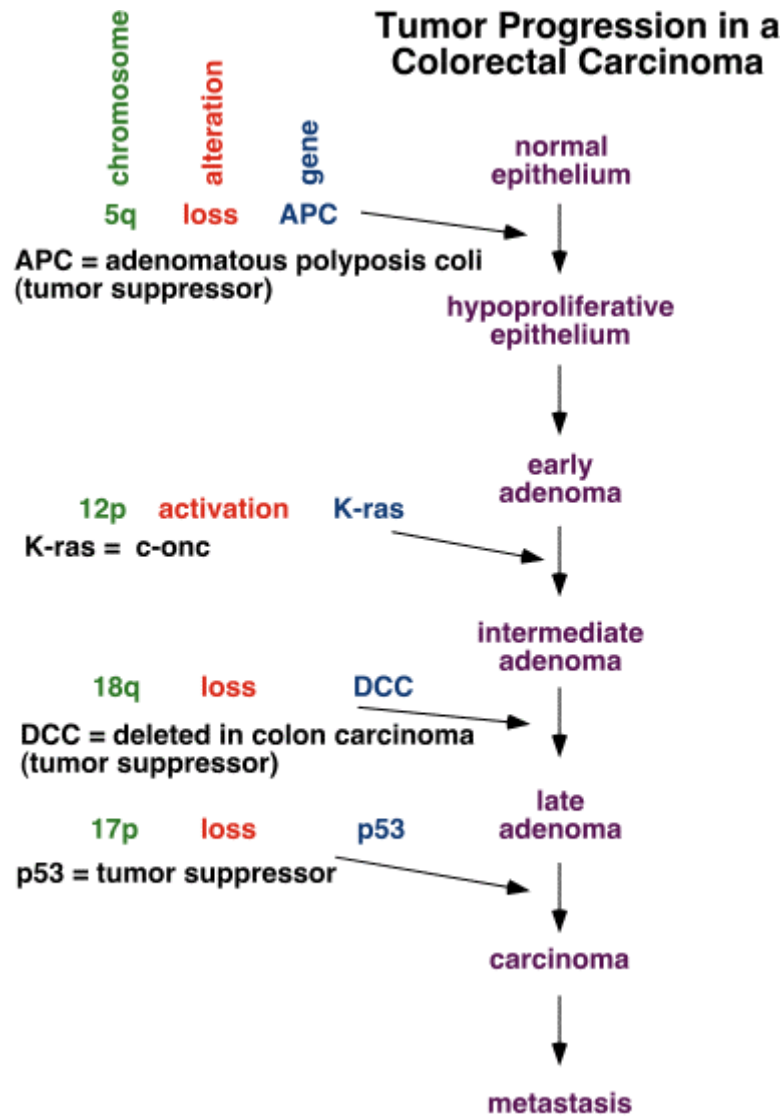
attività *autocrina* e *paracrina*

CELLULE NEOPLASTICHE

oncogeni → *fattori di crescita*  
→ *recettori per fattori di crescita*

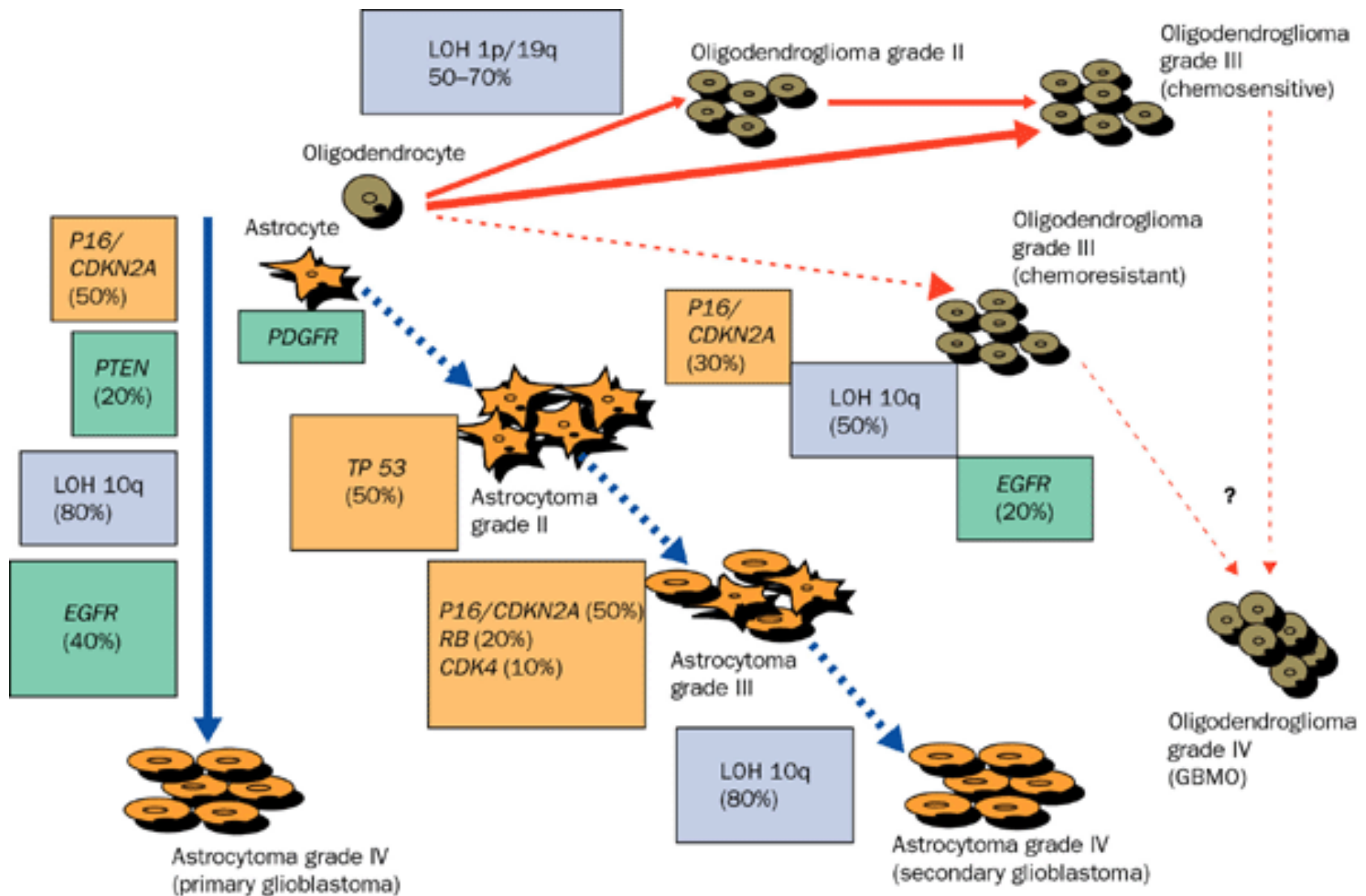
siero indipendenza in coltura

# COLON

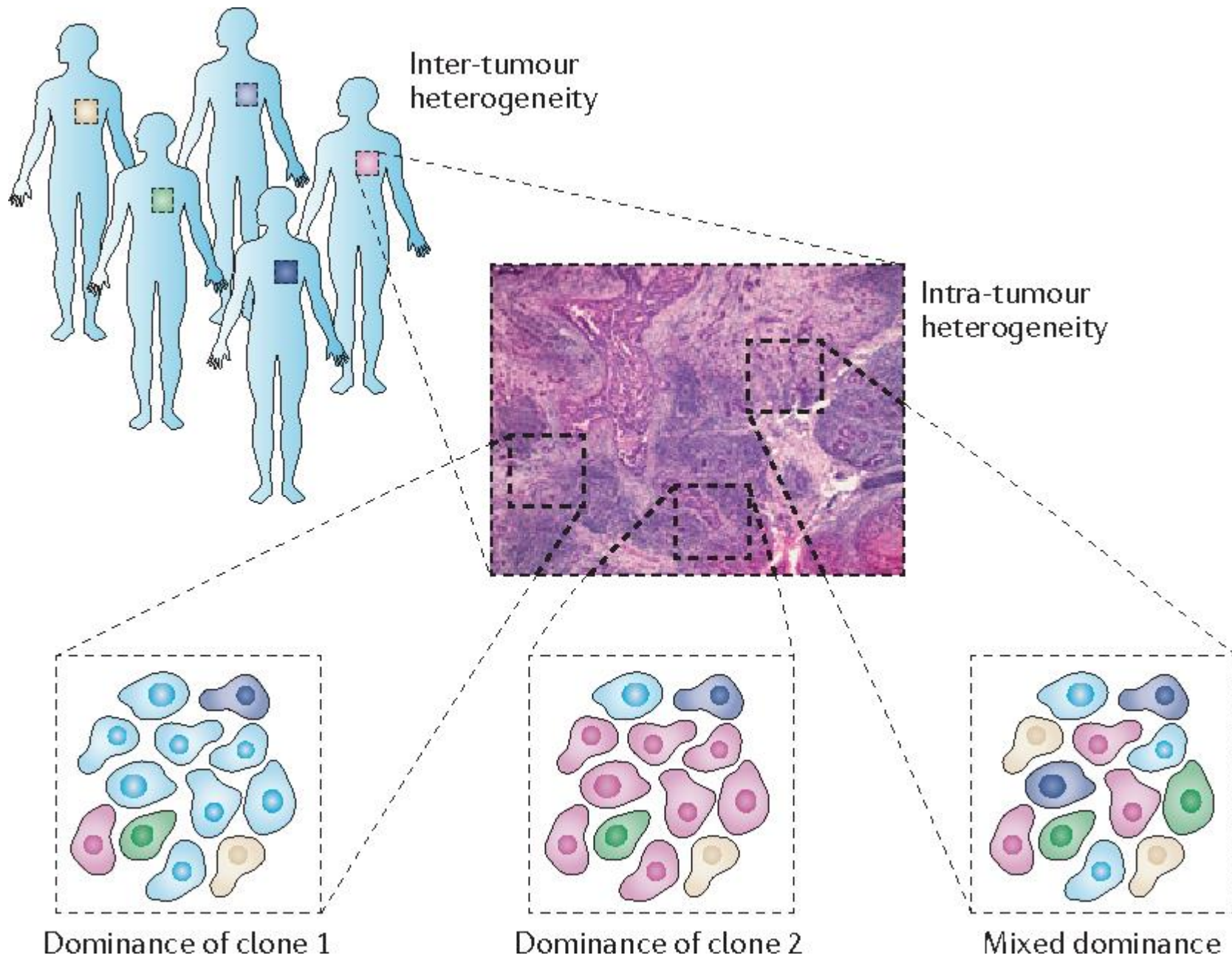


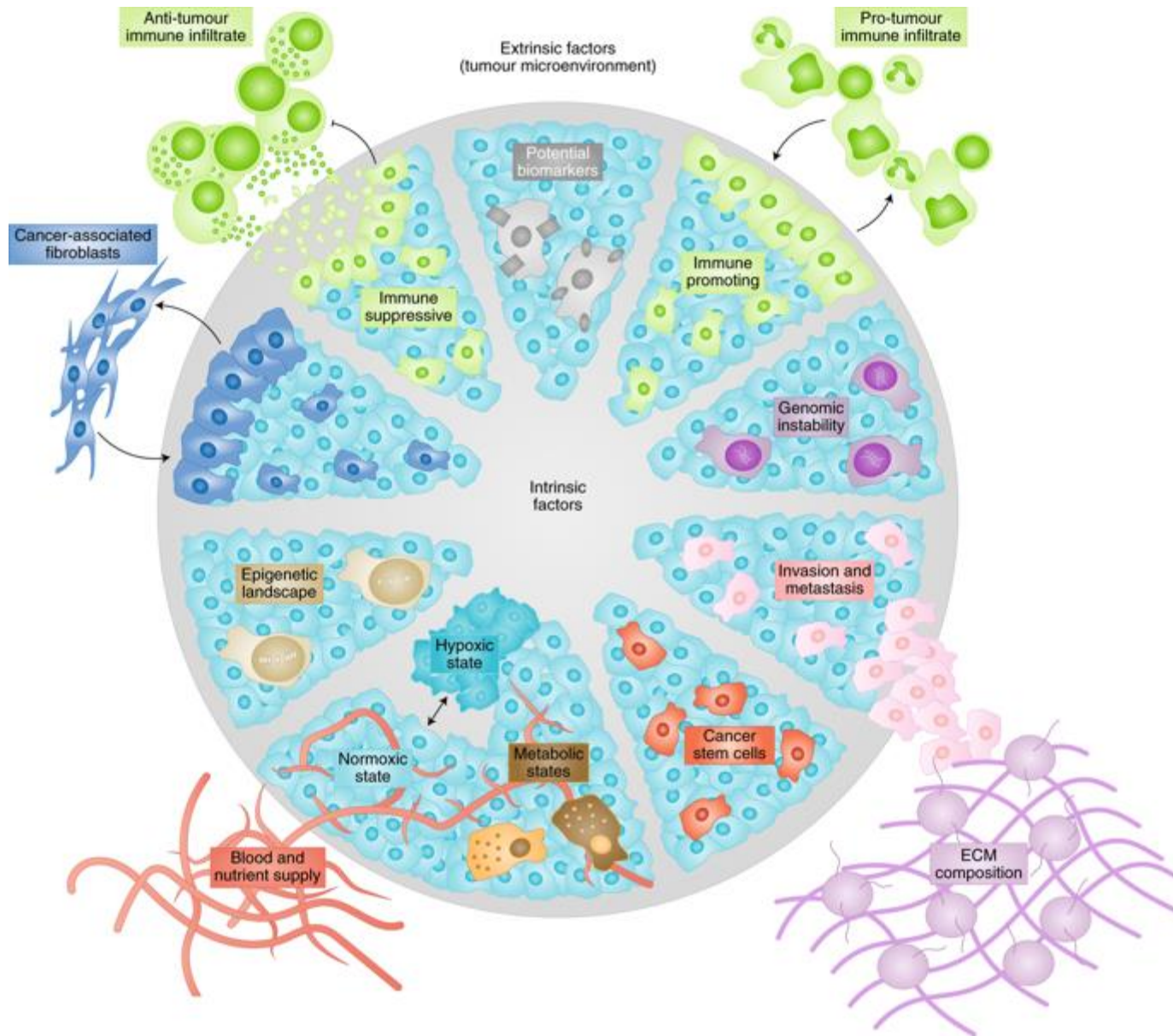


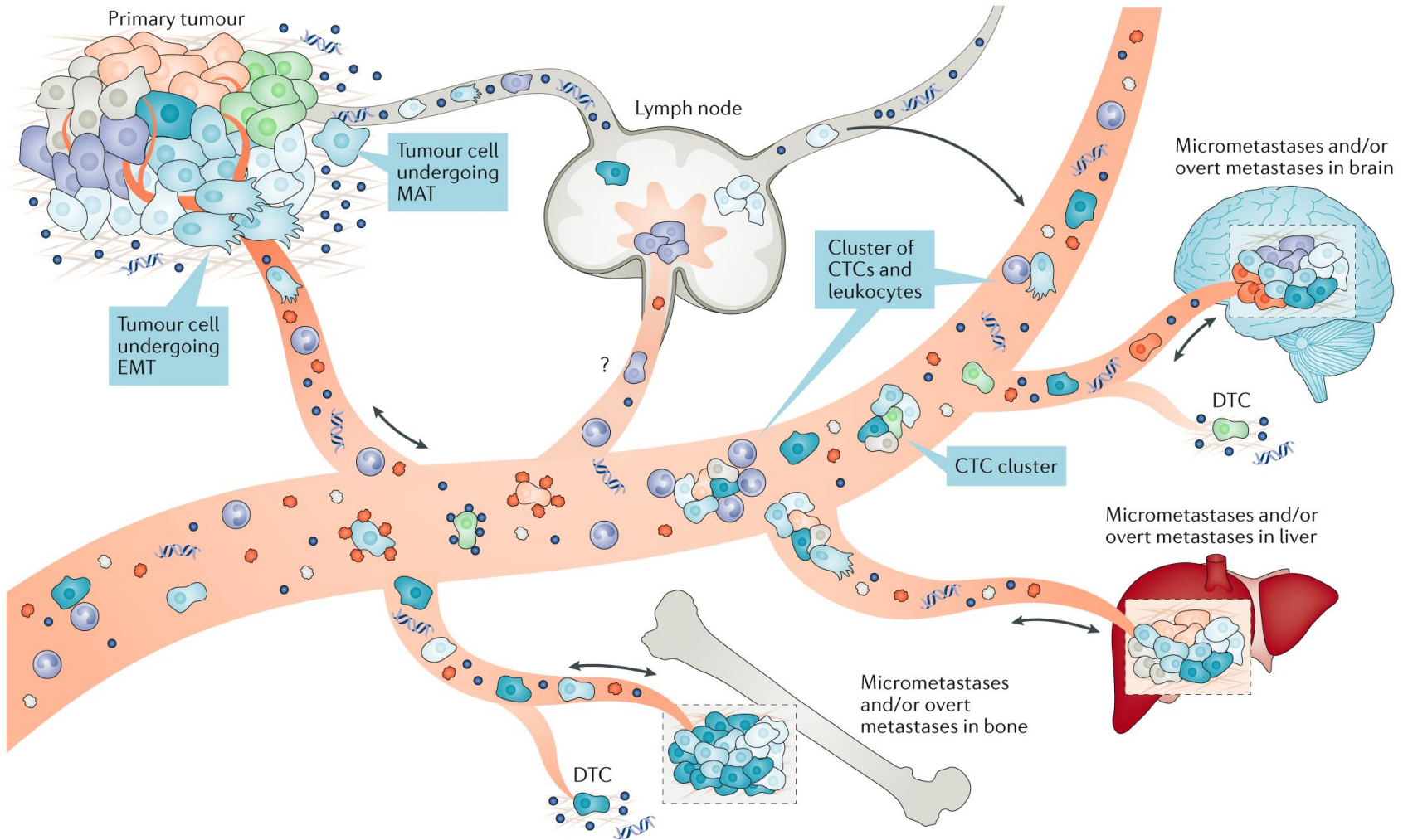
# TUMORI CEREBRALI












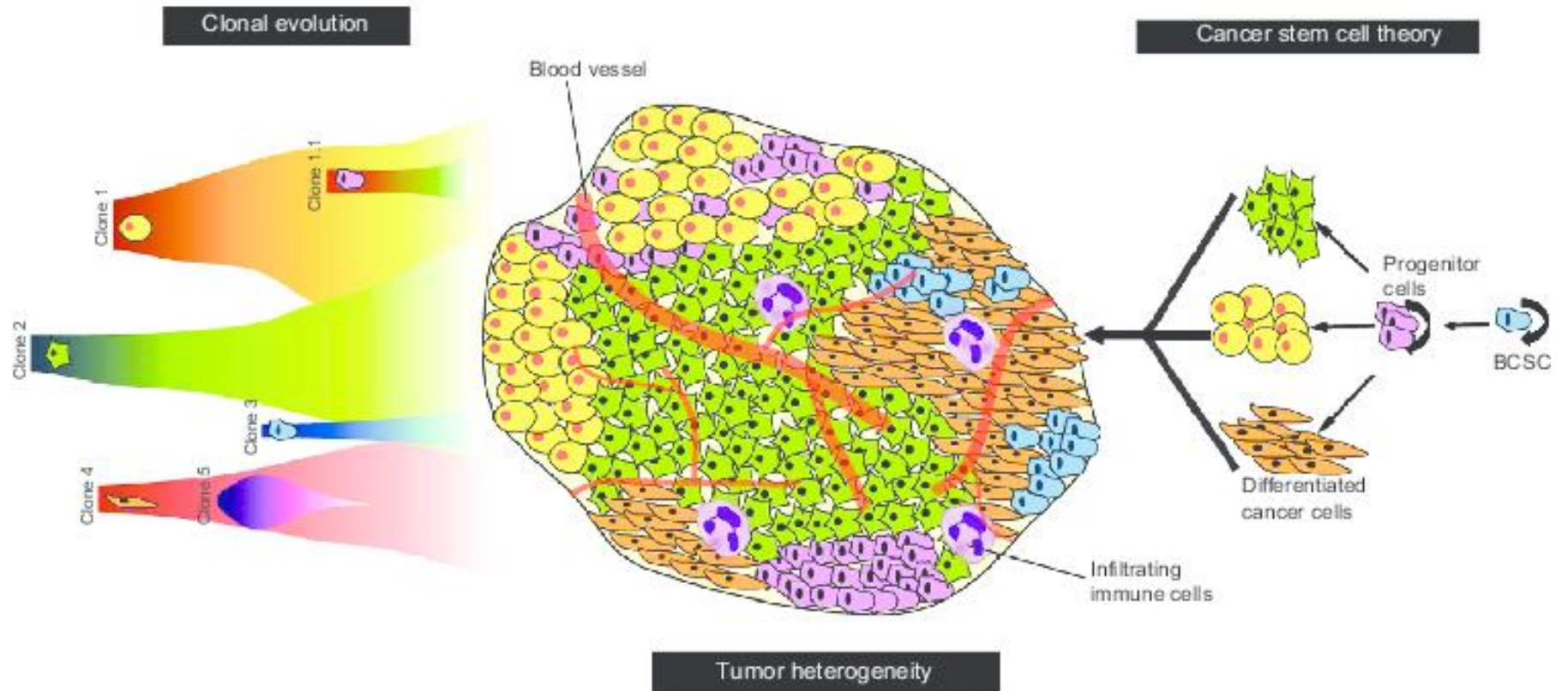
# ETEROGENEITA' TUMORALE





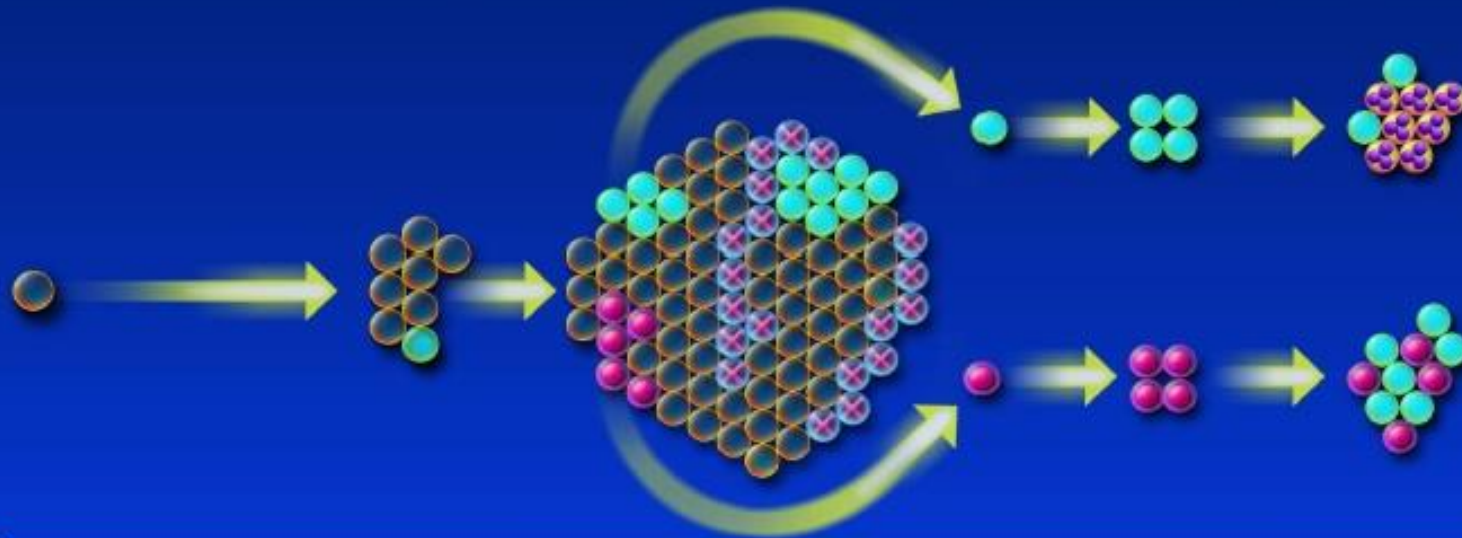


	Epithelial tumour cell		Mesenchymal tumour cell		Tumour cell clones		Platelets		Tumour-educated platelets
	Tumour cell with mixed epithelial and mesenchymal characteristics		Metastasis-initiating cell		Leukocyte		Cell-free nucleic acids (ctDNA, cRNA, cfmiRNA)		Extracellular vesicle



# Processo di metastatizzazione

## *Eterogeneità cellulare tumorale*



**Neoplasia primitiva**

**Metastasi**

**TRASFORMAZIONE**

**PROGRESSIONE**

**METASTASI**

