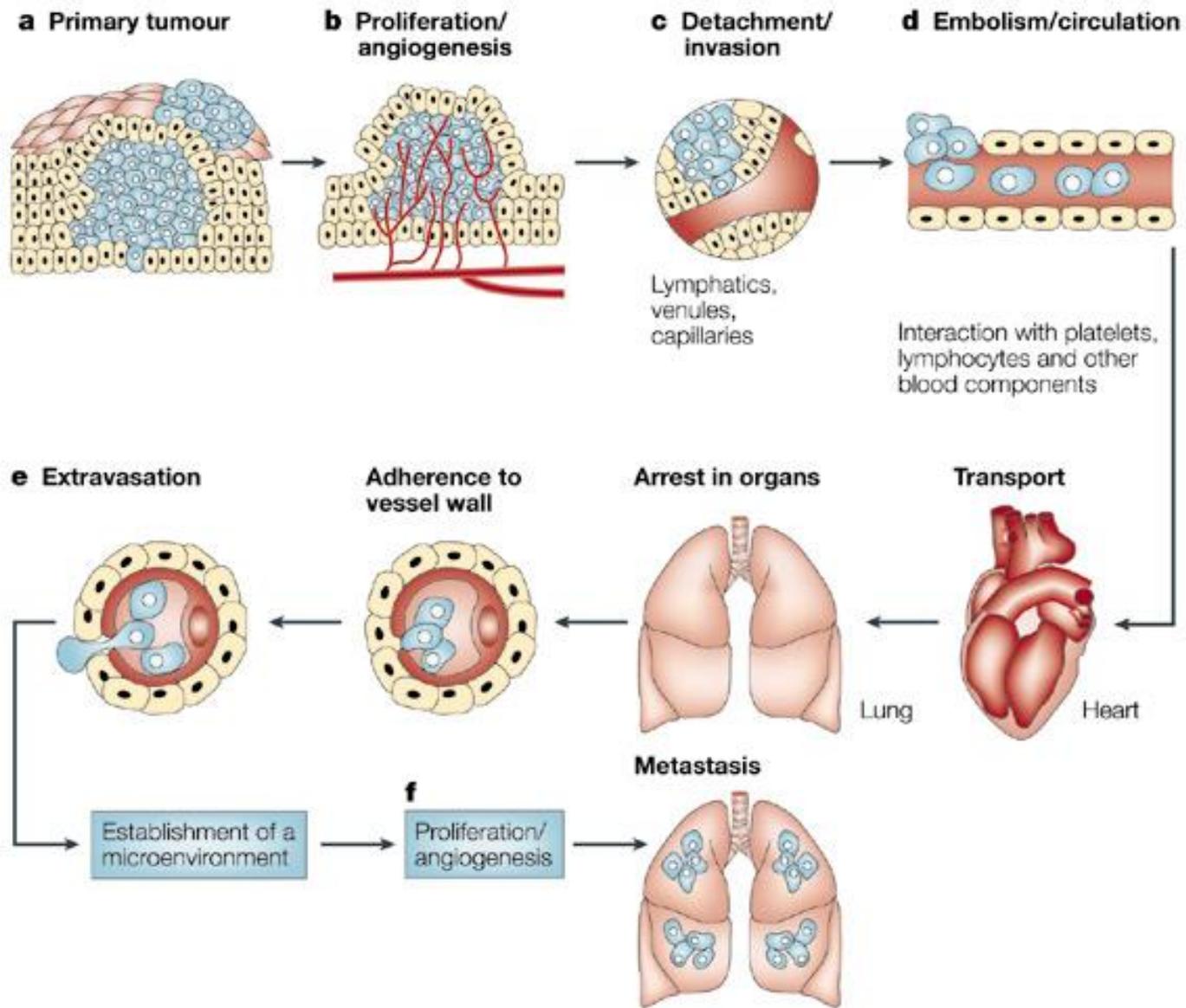




**LAUREA MAGISTRALE BIOLOGIA MOLECOLARE E APPLICATA-
Curriculum Biosanitario e della Nutrizione**

Corso di ONCOLOGIA

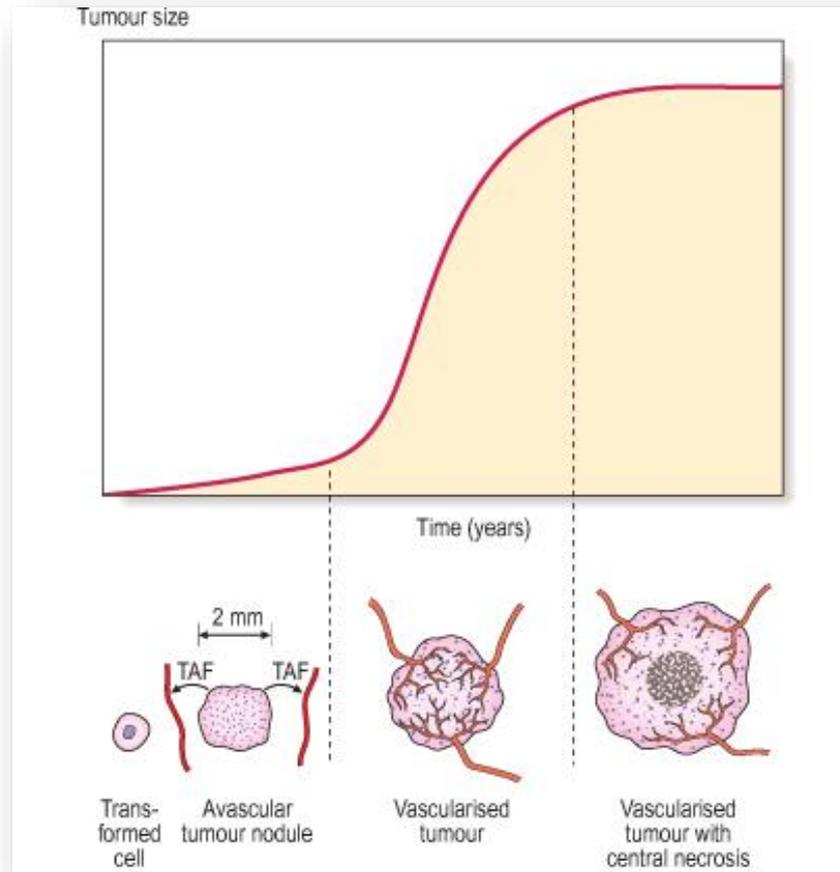
2 dicembre 2019



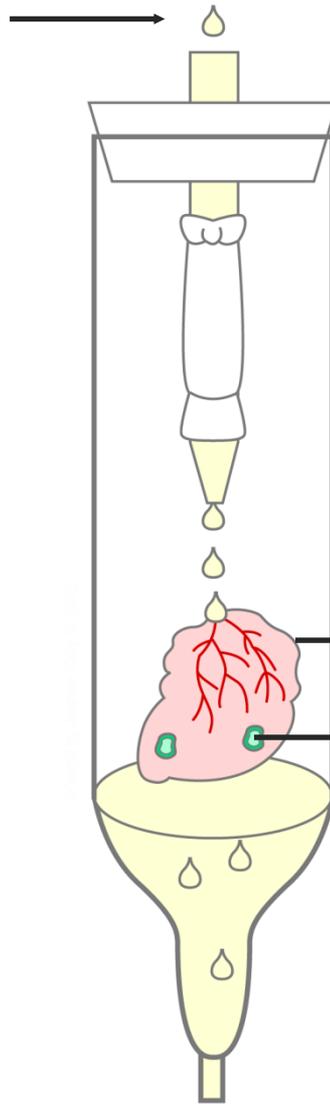
ANGIOGENESI

La crescita di un tumore dipende dalla sua capacità di indurre vasi sanguigni a perfonderlo.

A meno che non diventi permeato da un apporto vascolare la sua crescita sarà limitata dalla capacità delle sostanze nutritive di diffondere nel tumore, e le cellule tumorali cesseranno di crescere quando il nodulo ha raggiunto un diametro di non più di 1-2 mm.



**Infusione con
soluzione nutriente**



Organo isolato

Le cellule cessano di crescere quando il tumore raggiunge la massa di circa 1-2 mm di diametro

La trasformazione neoplastica di una singola cellula risulta nella crescita di un **nodulo tumorale di un diametro di 1-2 mm**, limitato dalla capacità delle sostanze nutritive che vi diffondono.

La produzione di fattori angiogenici tumorali (TAF) stimola la proliferazione e la **crescita interna dei vasi sanguigni**, permettendo la crescita tumorale sia sostenuta dalla perfusione.

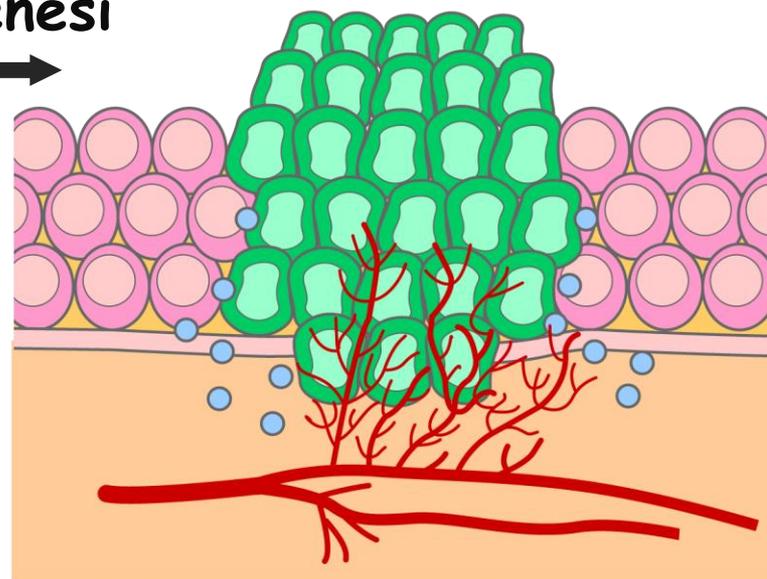
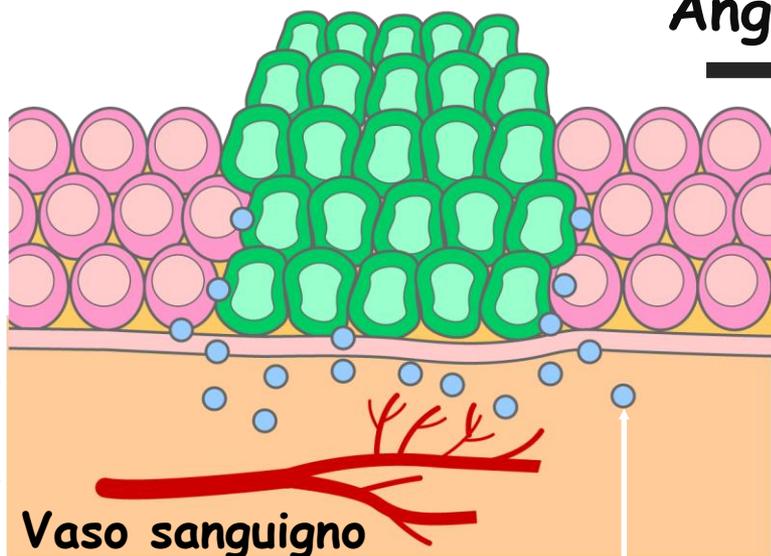
Alla fine, il tumore diventa troppo grande per il suo approvvigionamento di sangue, e compaiono aree di **necrosi**, con conseguente rallentamento della crescita.

L'angiogenesi tumorale comincia con le cellule del tumore che rilasciano molecole (VEGF etc) che inviano segnali al tessuto circostante normale. Questo segnale attiva alcuni geni nel tessuto ospite che, a sua volta, attiva la crescita di nuovi vasi sanguigni.

Piccolo tumore localizzato

Tumore che cresce e si diffonde

Angiogenesi



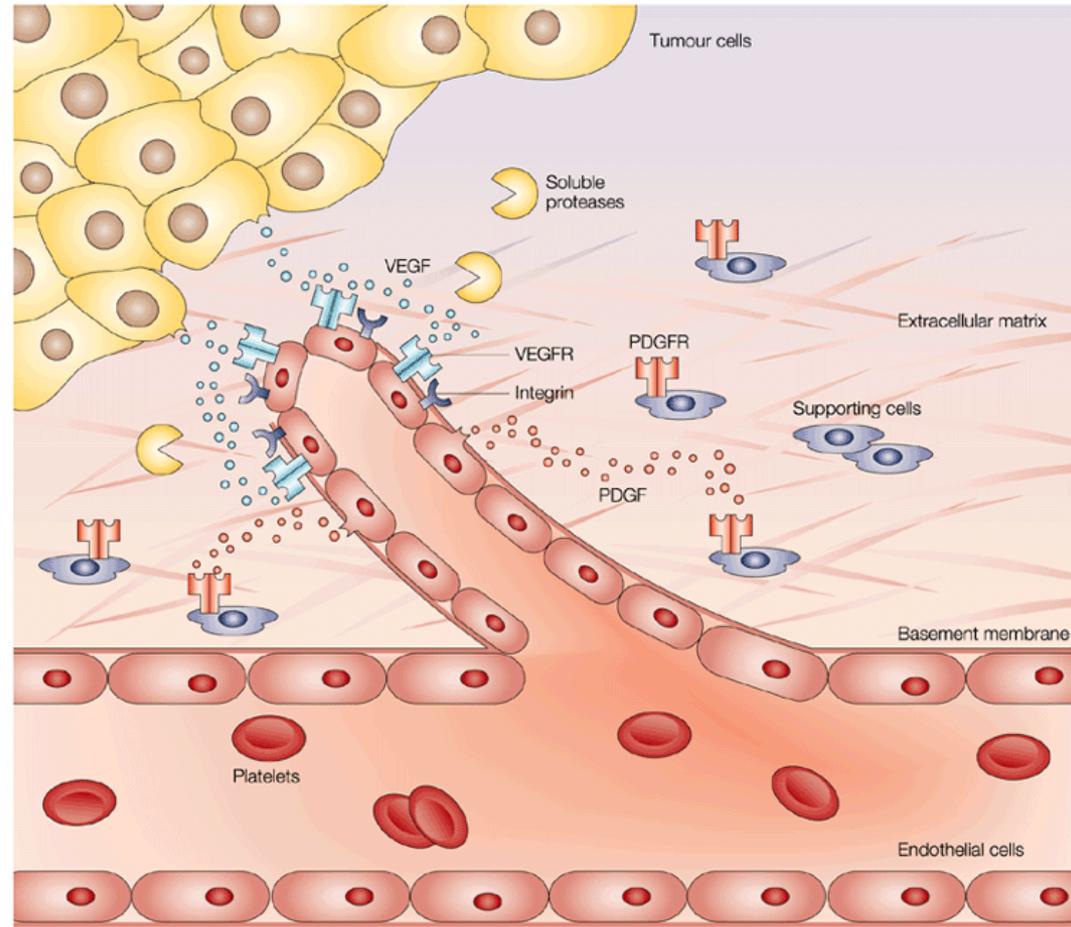
Molecole
segnale
(VEGF etc)

Fattore di crescita vascolare endoteliale (VEGF)
Fattore basico di crescita dei fibroblasti (bFGF)
Fattore Trasformante di crescita alfa (TGFa)

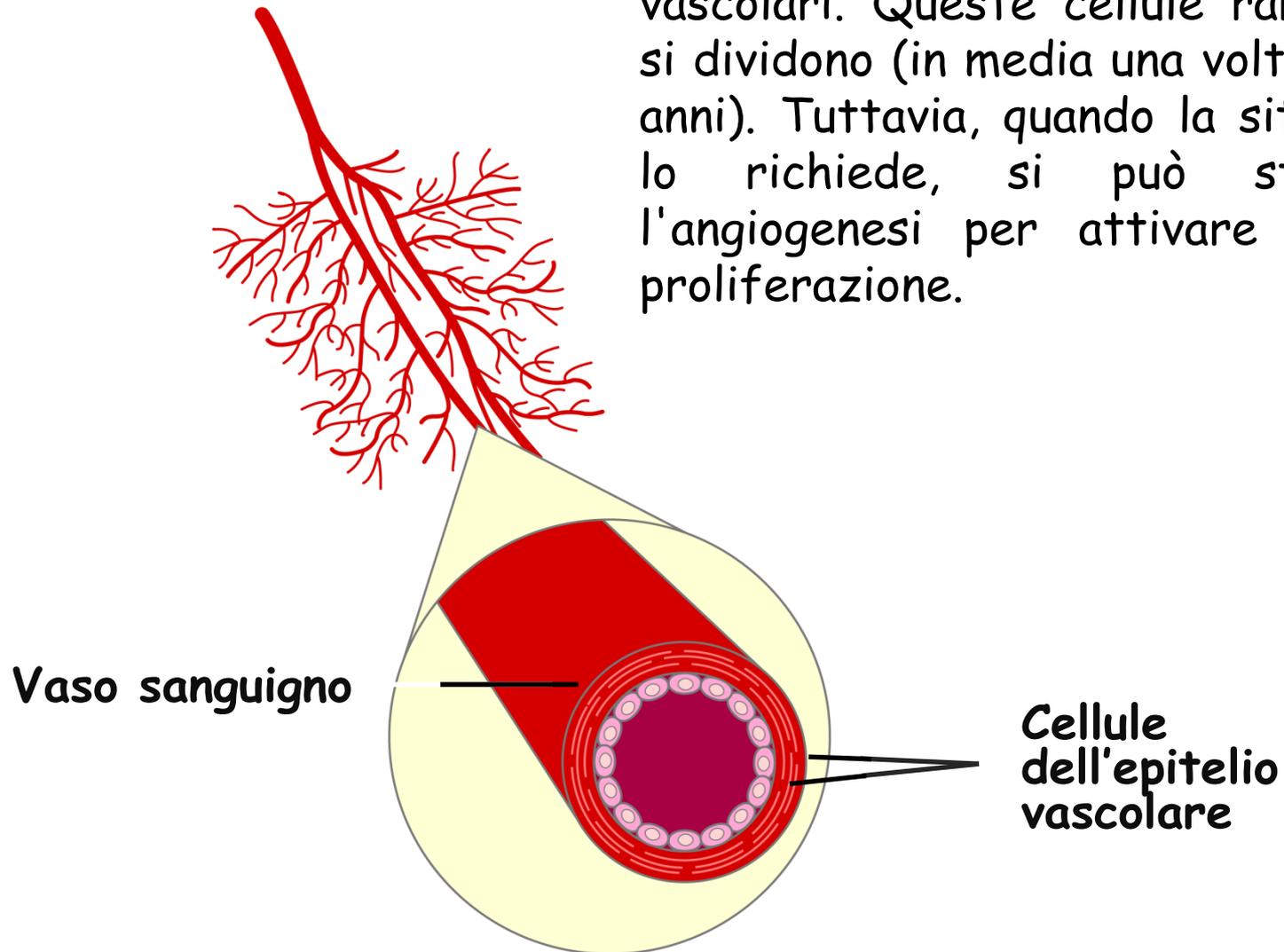
Nuovi vasi originano da venule e capillari adiacenti e non da vene arterie o arteriole

Quando le cellule endoteliali dei capillari e venule adiacenti al tumore sono stimulate:

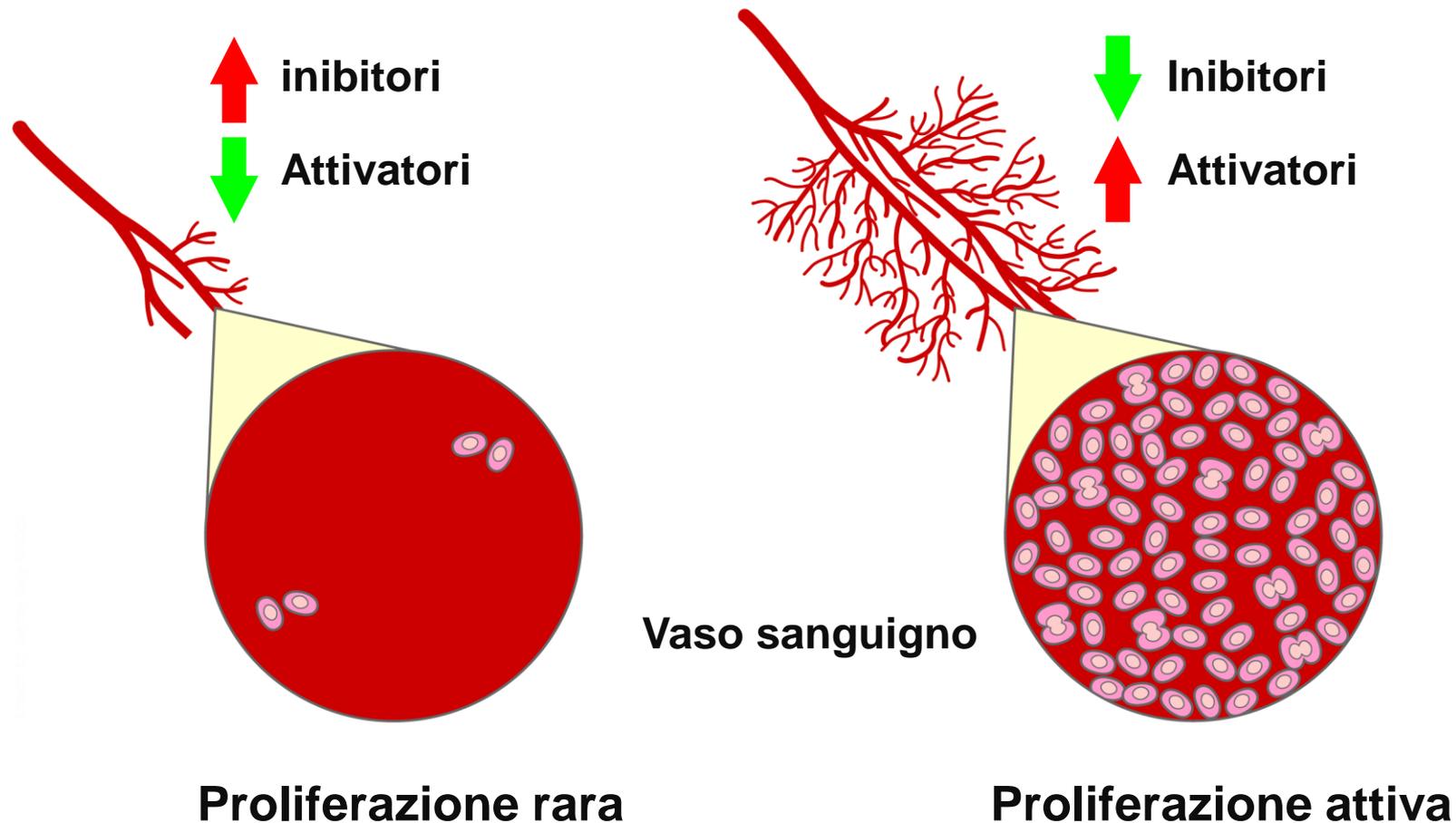
- Degradano la propria membrana basale
- Migrano all'interno e attraverso lo stroma extravascolare
- Formano gemme capillari che successivamente si dispongono a formare un lume



Le pareti dei vasi sanguigni sono formate da cellule endoteliali vascolari. Queste cellule raramente si dividono (in media una volta ogni 3 anni). Tuttavia, quando la situazione lo richiede, si può stimolare l'angiogenesi per attivare la loro proliferazione.



Normalmente, gli inibitori predominano, bloccando la crescita. In caso di necessità di nuovi vasi sanguigni, gli attivatori dell'angiogenesi aumentano mentre diminuiscono gli inibitori. Ciò induce la crescita e la divisione delle cellule endoteliali vascolari e, infine, la formazione di nuovi vasi sanguigni.



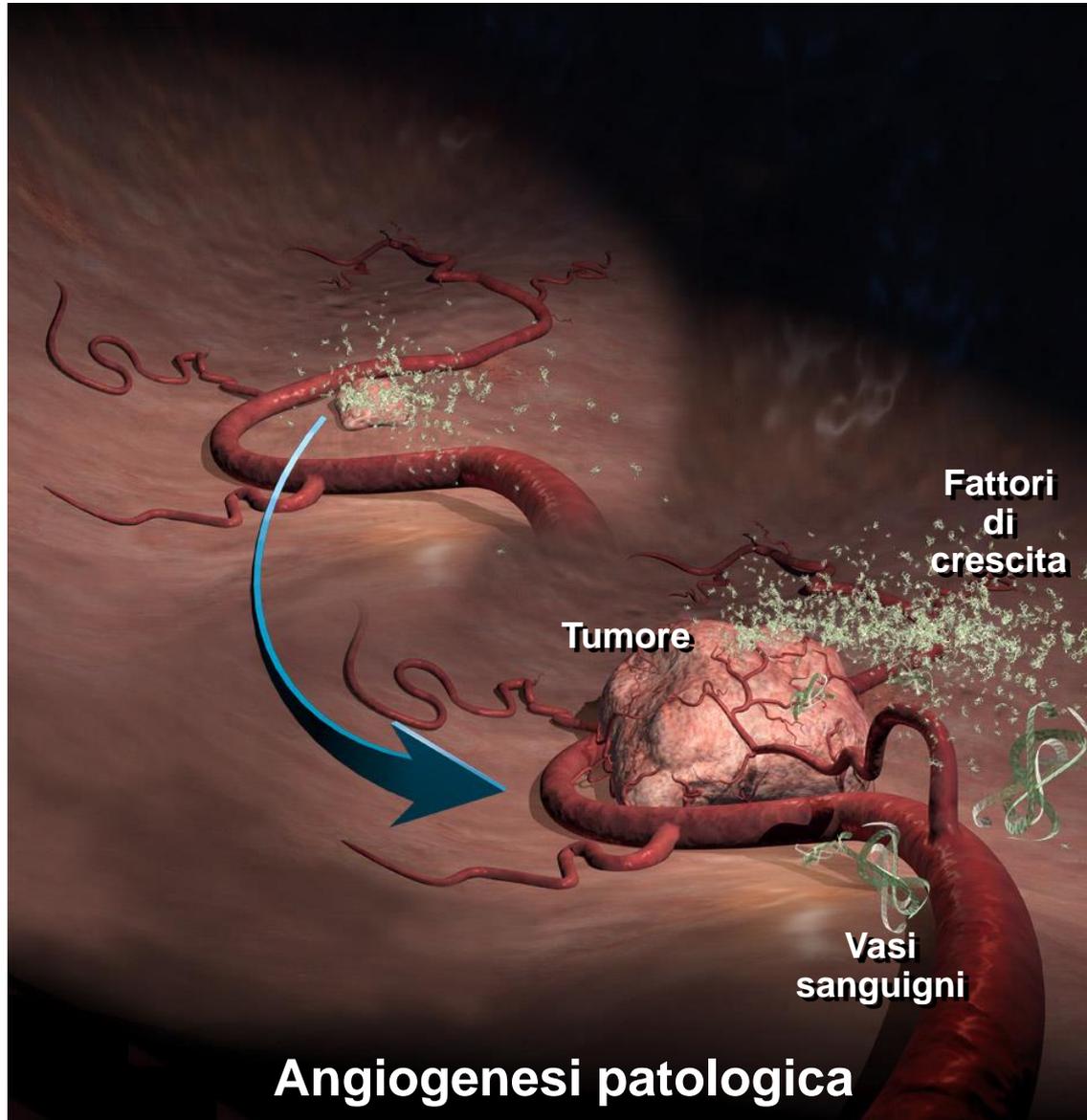
Angiogenesi

Processo di formazione di nuovi vasi sanguigni a partire dalle cellule endoteliali mature dei **vasi preesistenti**.

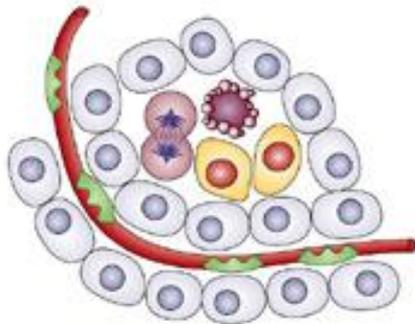
Vasculogenesi

Processo che si verifica durante lo sviluppo embrionale mediante il quale i vasi sanguigni originano da isole ematiche.

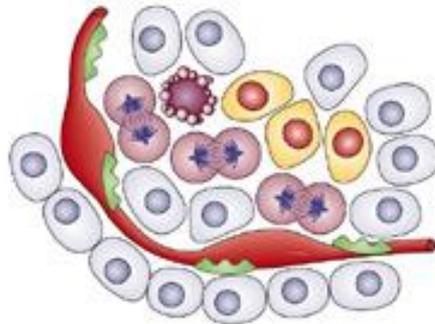
La vasculogenesi è la **formazione di vasi sanguigni *de novo***, ovvero senza che ne esistano già altri.



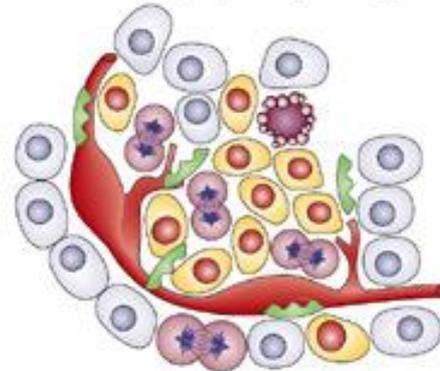
a Dormant



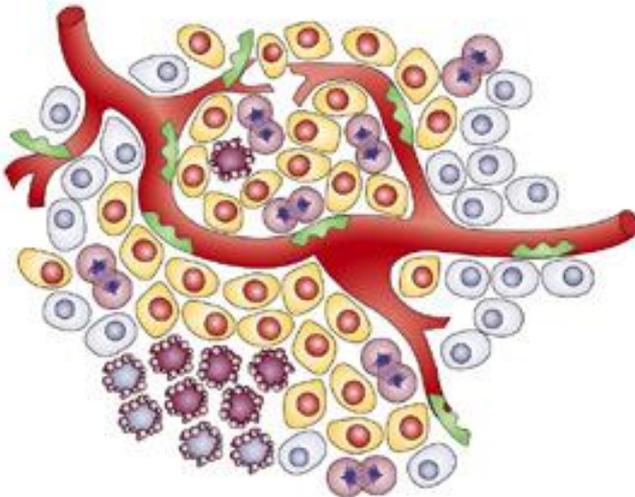
b Perivascular detachment and vessel dilation



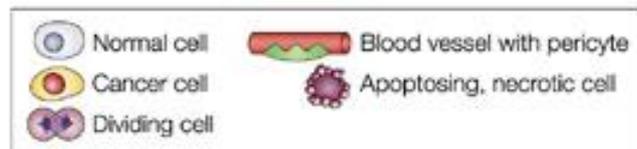
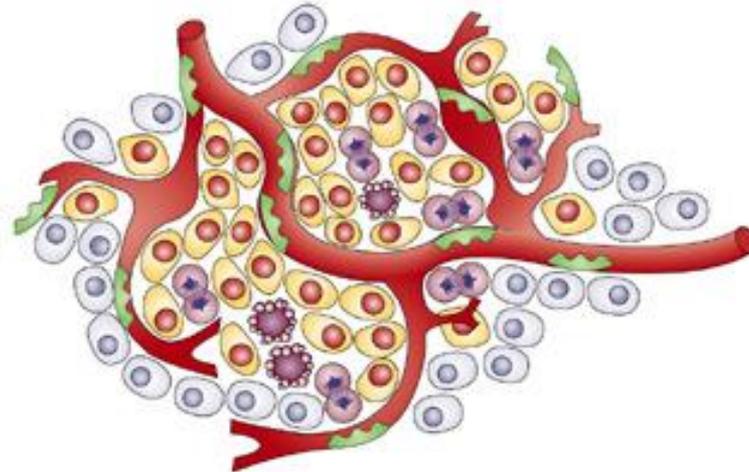
c Onset of angiogenic sprouting

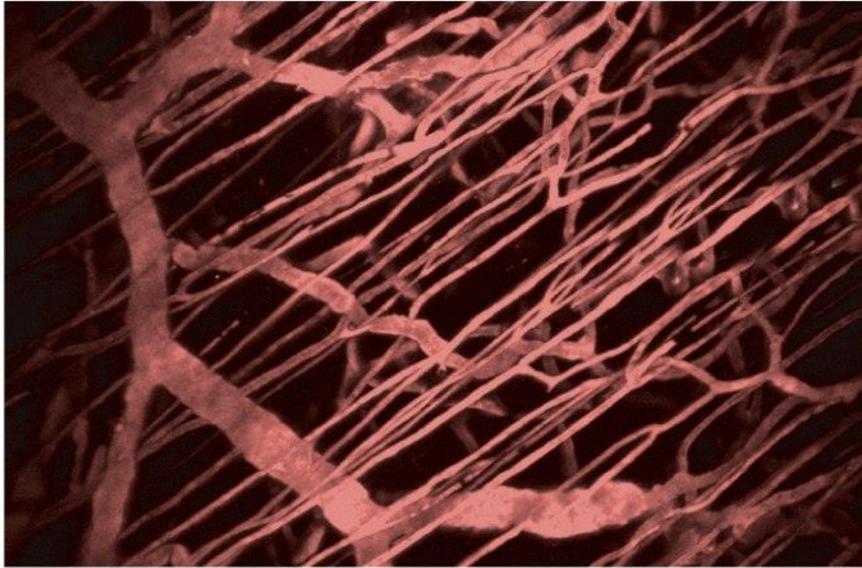


d Continuous sprouting; new vessel formation and maturation; recruitment of perivascular cells

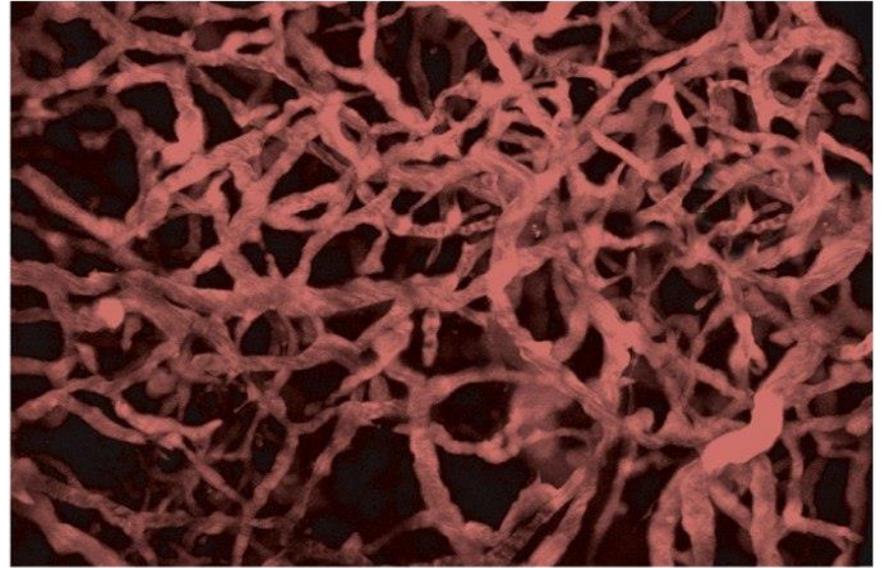


e Tumour vasculature





normal tissue



tumor

Inhibitors:

Thrombospondin-1

The statins:

Angiostatin

Endostatin

Canstatin

Tumstatin

Activators

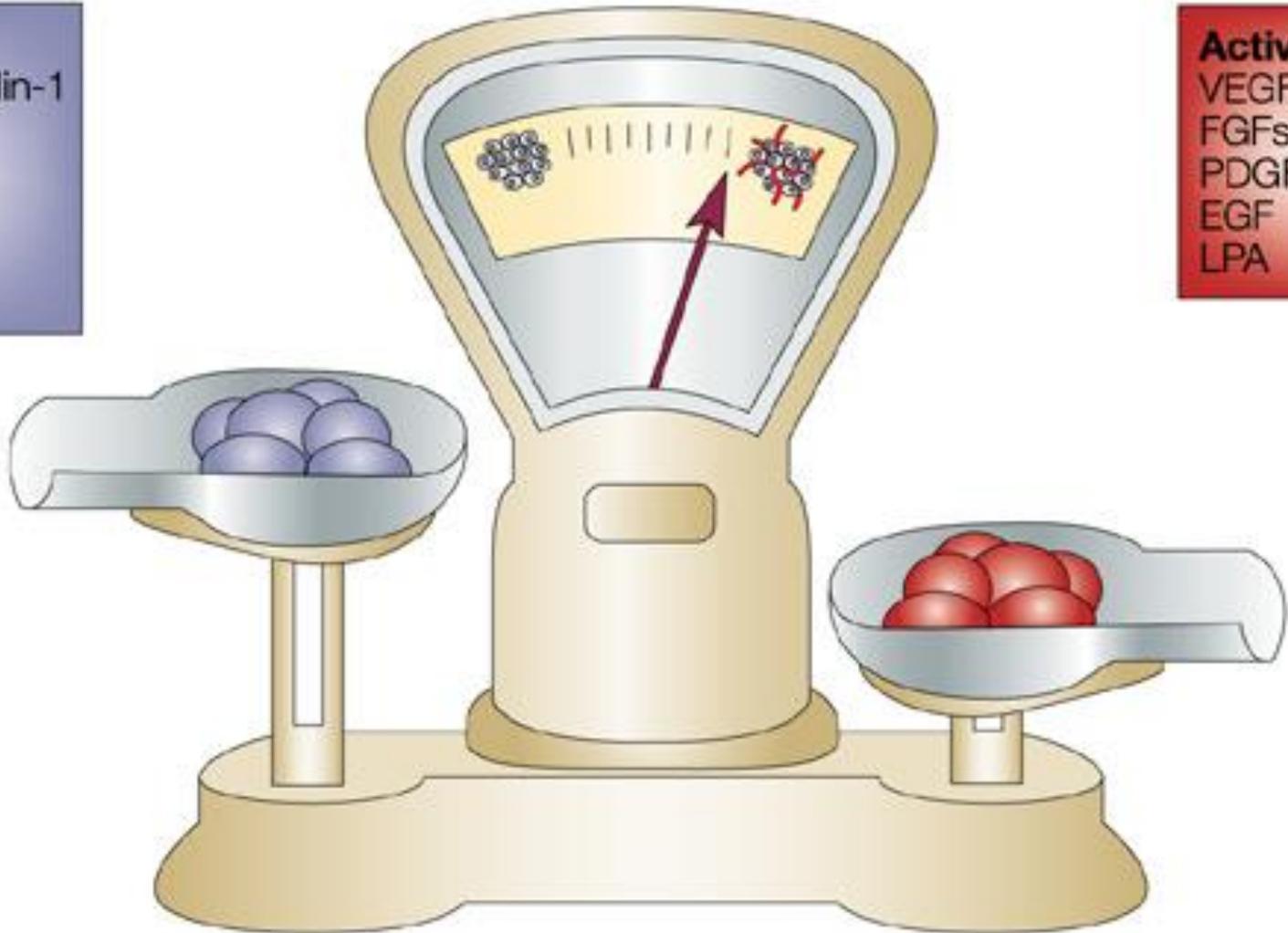
VEGFs

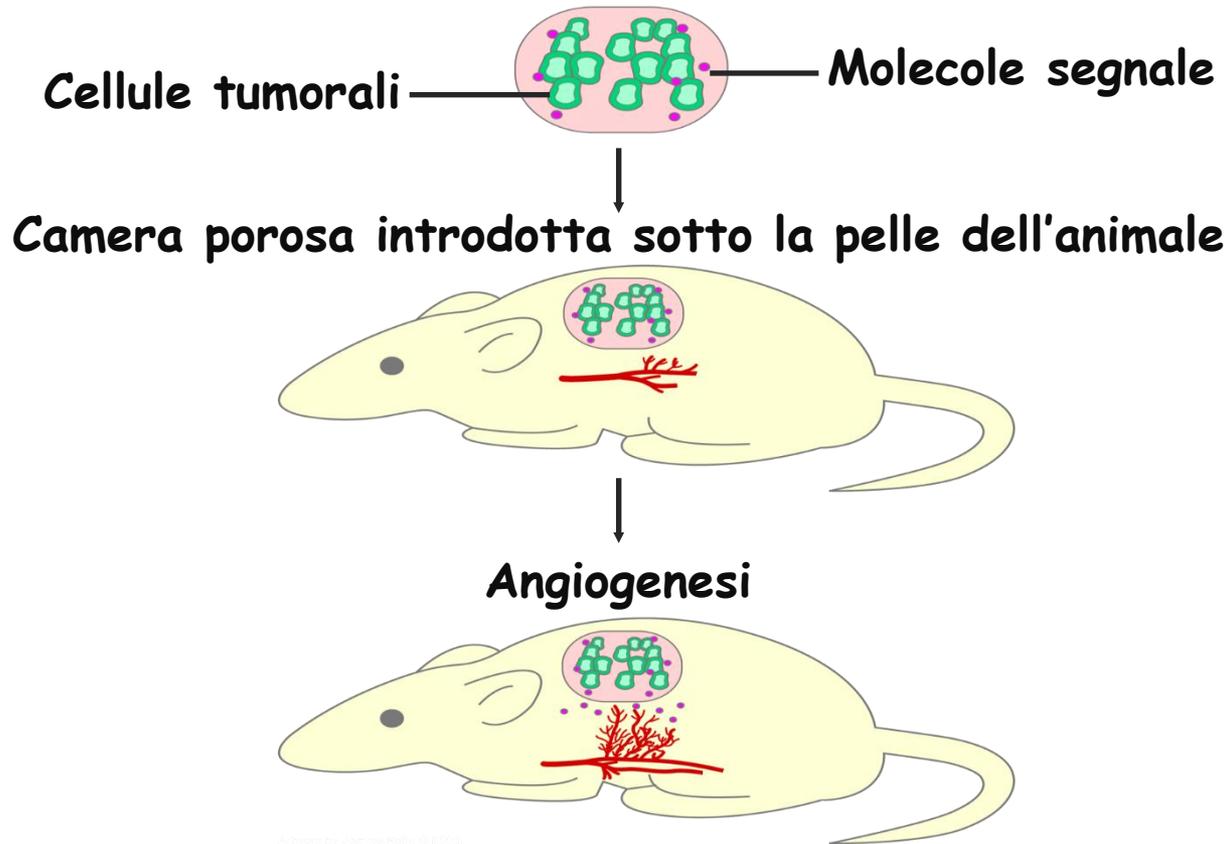
FGFs

PDGFB

EGF

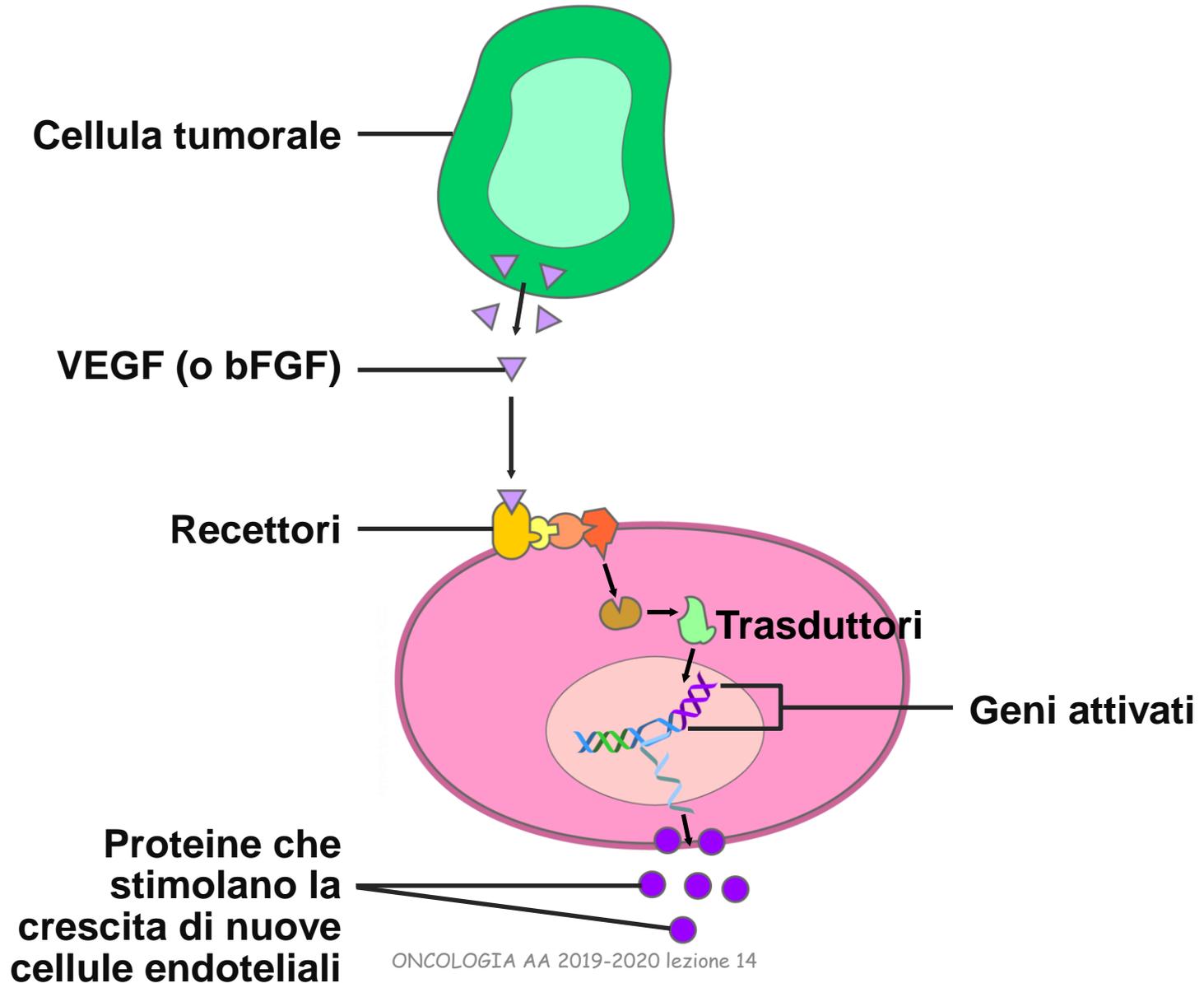
LPA





Al fine di scoprire se le cellule tumorali o suoi prodotti rilasciati nel tessuto circostante dell'ospite sono responsabili della induzione dell'angiogenesi, cellule tumorali sono state poste in una camera delimitata da una membrana con pori troppo piccoli per far uscire le cellule ed impiantata sotto cute. In queste condizioni, l'angiogenesi inizia nella regione circostante l'impianto. Piccole molecole di attivatore prodotte dalle cellule tumorali devono aver superato i pori della camera ed indotto l'angiogenesi nel tessuto circostante.

La cascata di segnali nell'angiogenesi

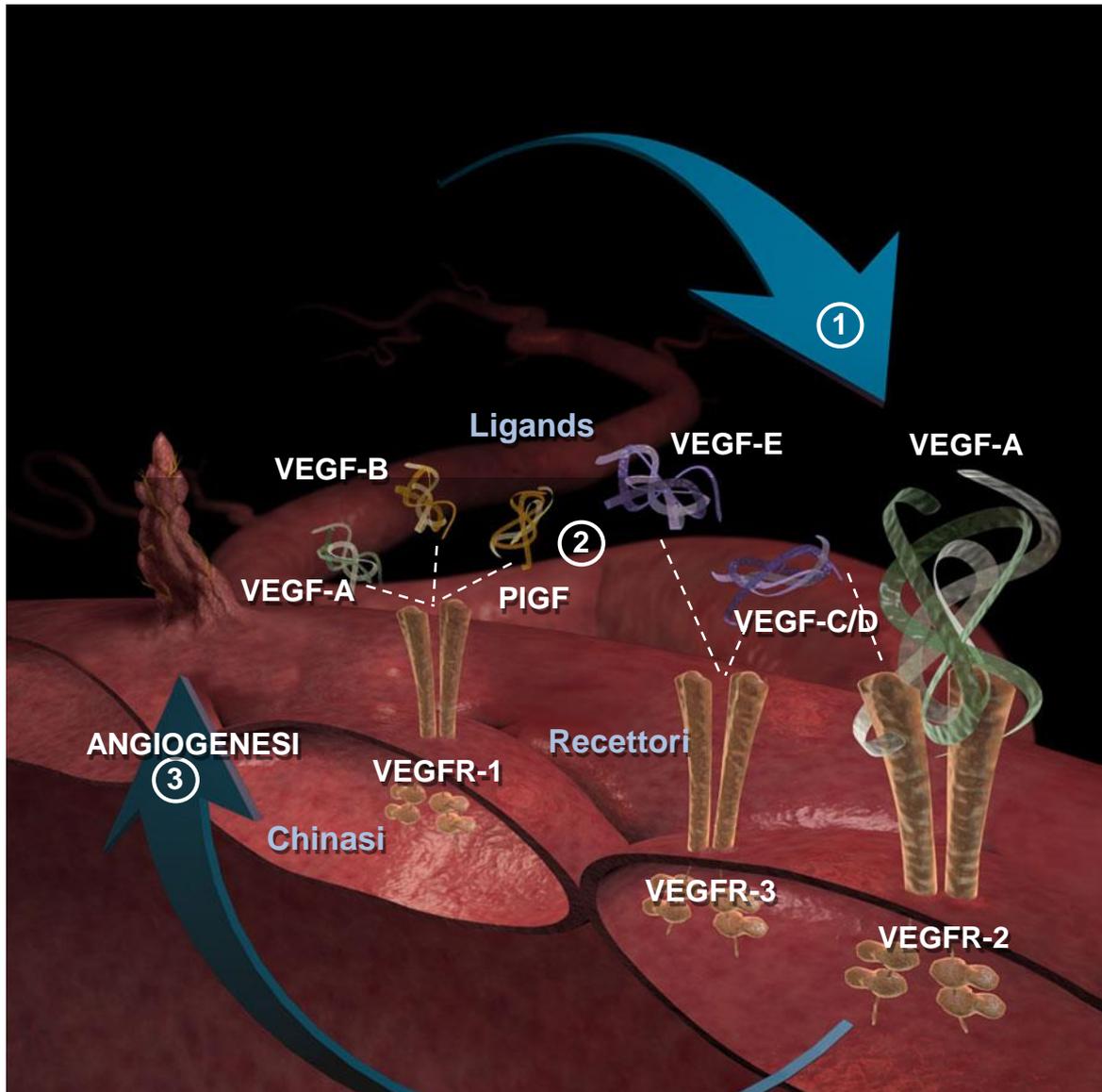


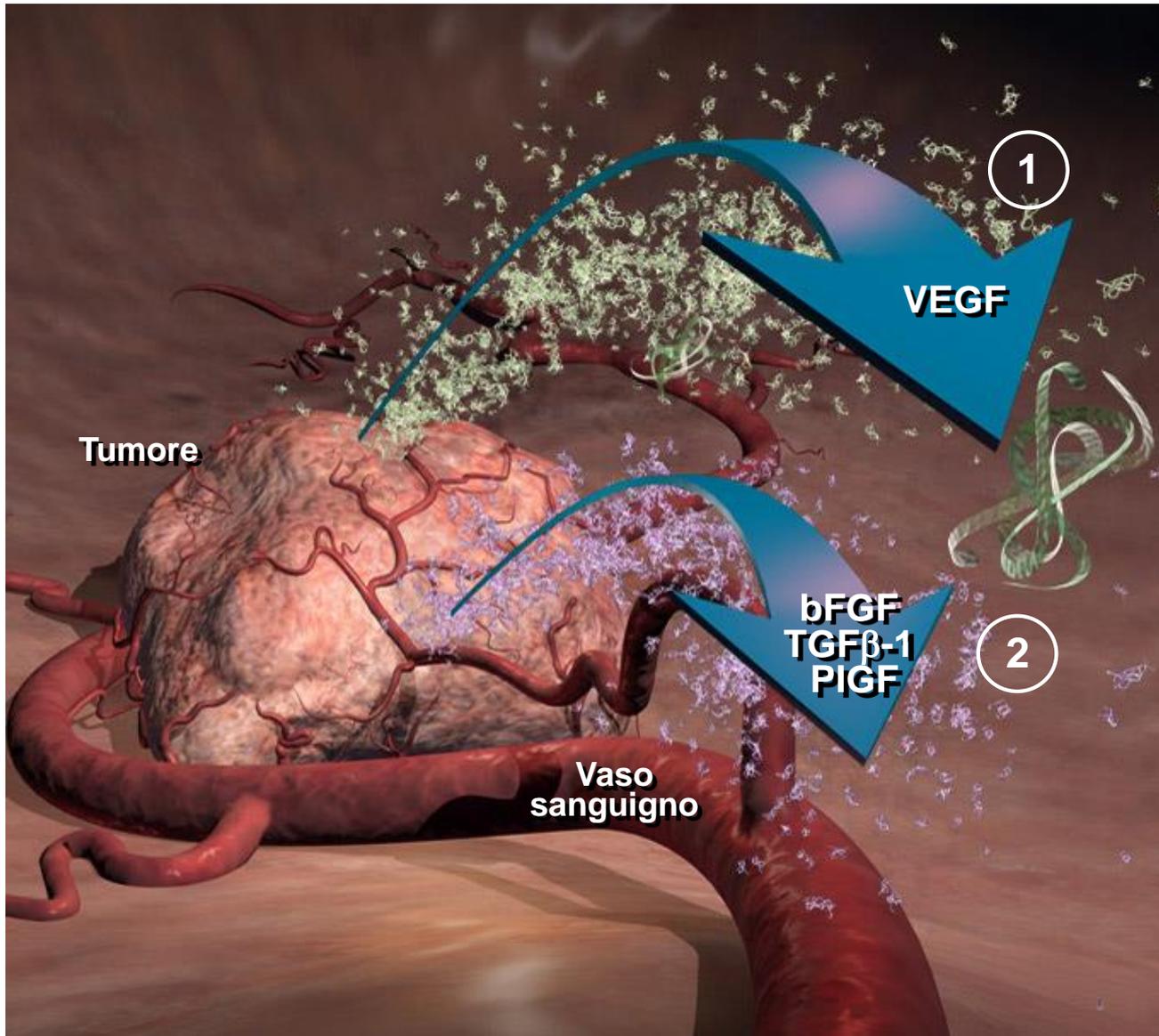
Fattori stimolanti l'angiogenesi

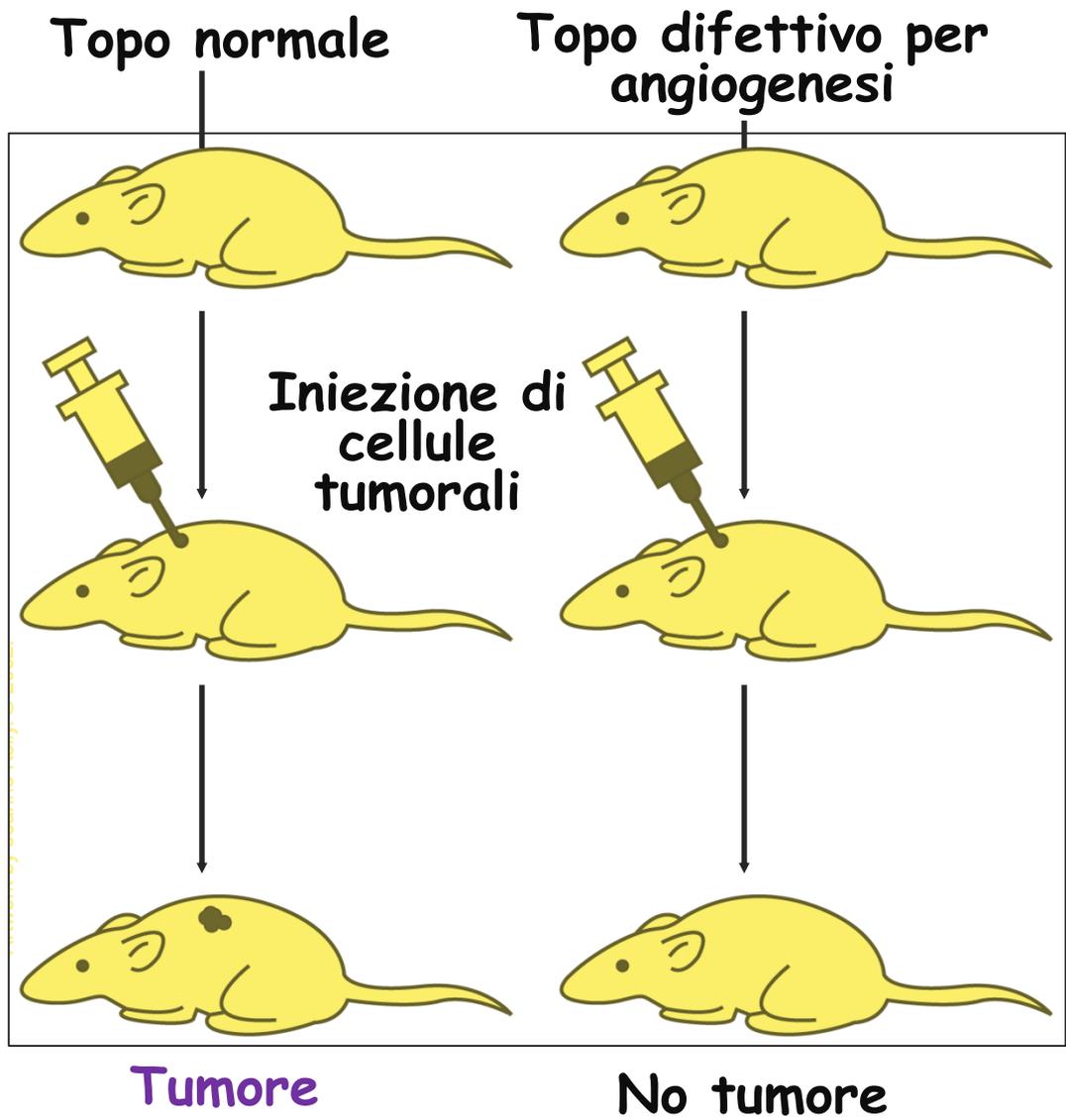
- ✓ Fattore di crescita acido dei fibroblasti (α FGF)
- ✓ Fattore di crescita basico dei fibroblasti (β FGF)
- ✓ Fattore di crescita trasformante alfa (α TGF)
- ✓ Fattore di crescita trasformante beta (β TGF)
- ✓ Eparina
- ✓ Angiogenina
- ✓ IL-1 α
- ✓ TNF α

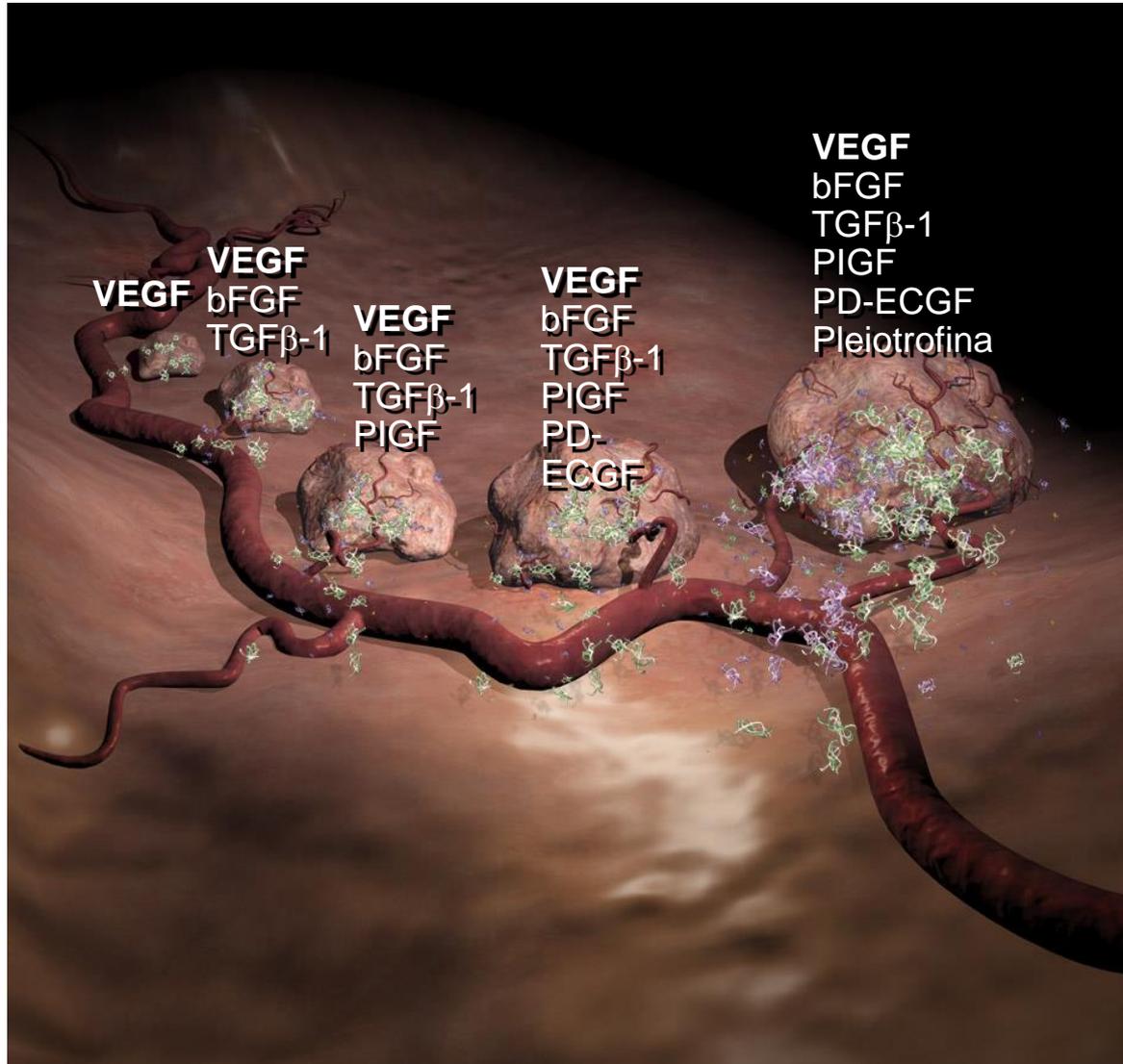
VEGF

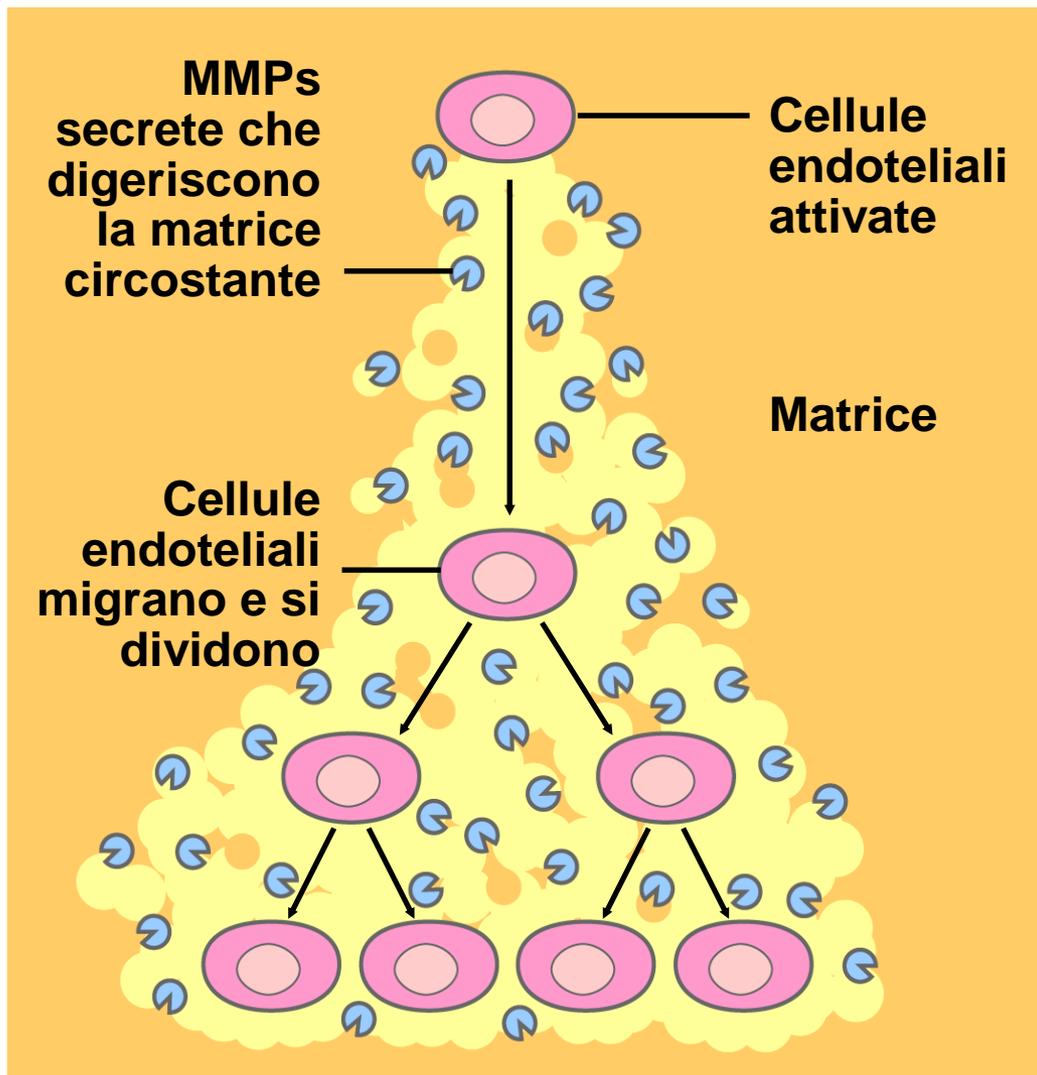
- Facilita la sopravvivenza dei vasi esistenti
- Contribuisce alle anomalie vascolari che possono impedire l'accesso dei chemioterapici al tumore
- Stimola la crescita di nuovi vasi, contribuendo alla progressione tumorale











Attivazione delle cellule endoteliali (bFGF o VEGF).

Produzione metalloproteasi della matrice (MMP). Degradazione del materiale di supporto della ECM.

Migrazione delle cellule endoteliali.

Attivazione cellule endoteliali che cominciano a dividersi.

Organizzazione in tubi cavi che si evolvono gradualmente in una rete di vasi sanguigni maturi.

VANTAGGI DELLE TERAPIE ANTI-ANGIOGENICHE

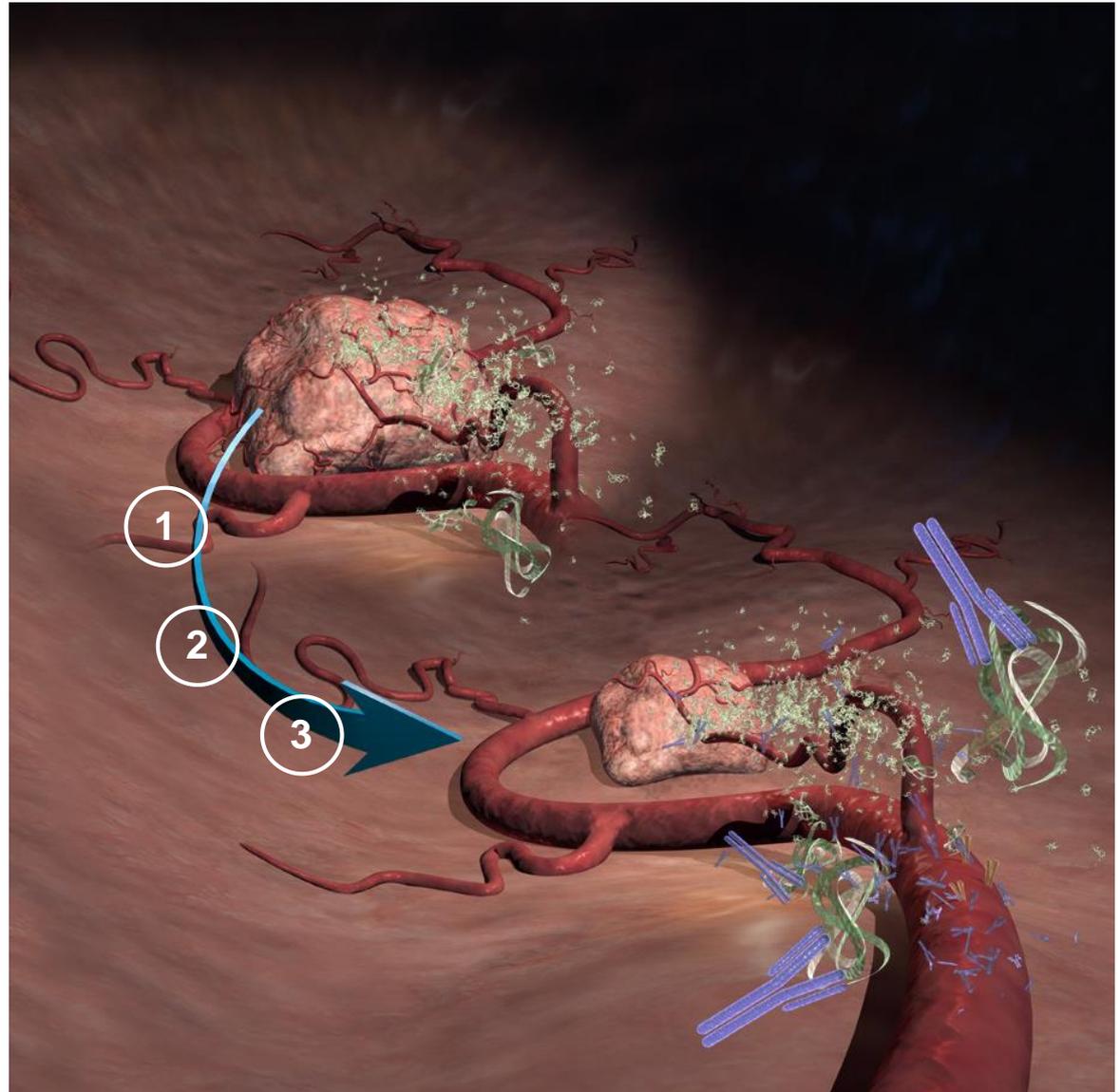
- facile accessibilità del bersaglio
- selettività
- minore probabilità di sviluppo di fenotipi resistenti

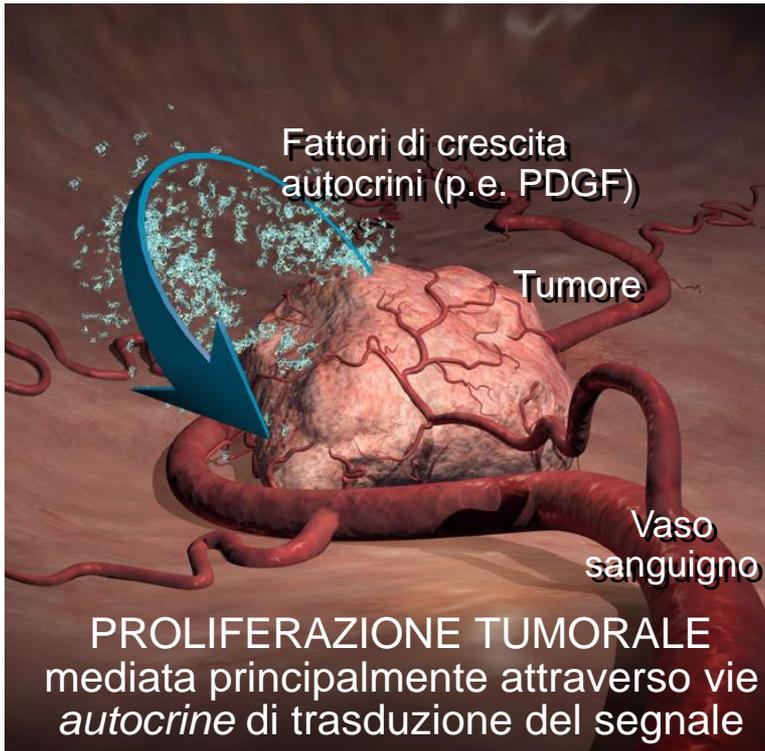
EFFETTI DELL'INIBIZIONE CONTINUATA DEL VEGF

1-Regressione della rete microvascolare esistente

2-“Normalizzazione” dei vasi maturi sopravvissuti

3-Inibizione della ricrescita vascolare e della neovascolarizzazione



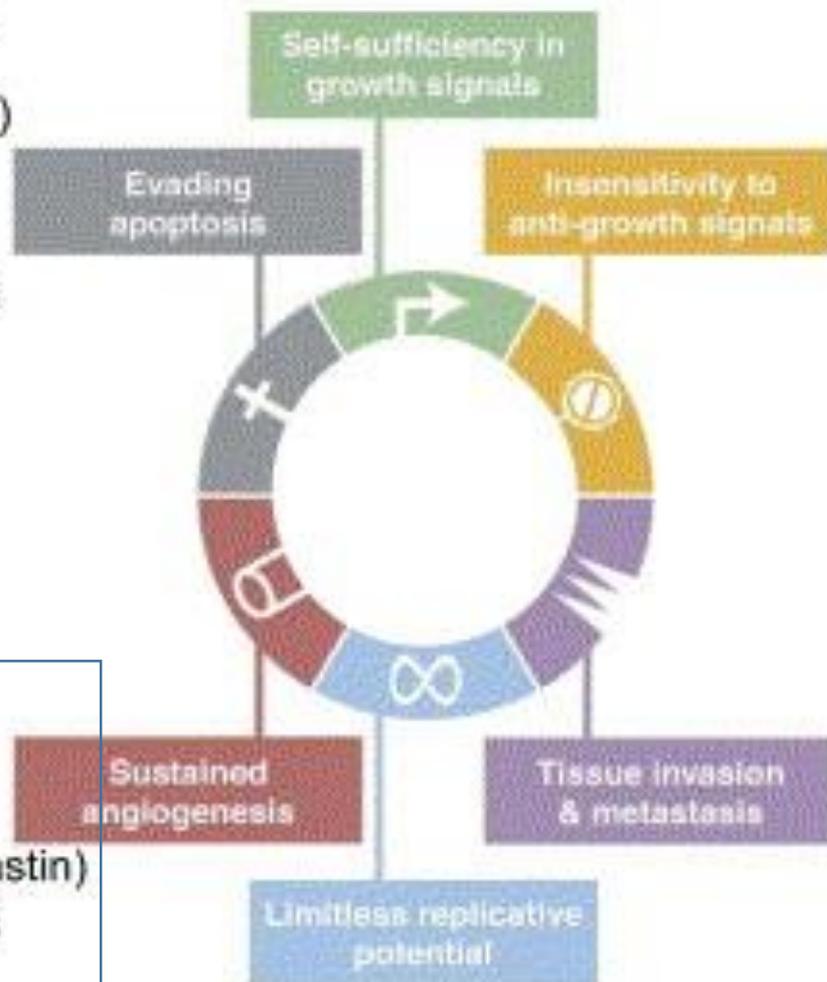


CELL CYCLE INHIBITORS

- Cyclin-dependent kinase inhibitors (flavopiridol, BMS387032, roscovitine)

APOPTOSIS MODULATORS

- anti-bcl2 (Genasens)
- ONYX-015
- Ad5CMV-p53
- Survivin antagonists
- TRAIL agonists



ANTI-ANGIOGENIC

- VEGF targeting:
 - VEGF antibodies (Avastin)
 - Oral VEGFR inhibitors (AZD2171, PTK/ZK, SU11248, BAY43-9006)
- Propagation targeting: Integrin antibodies (Vitaxine, EMD12974)

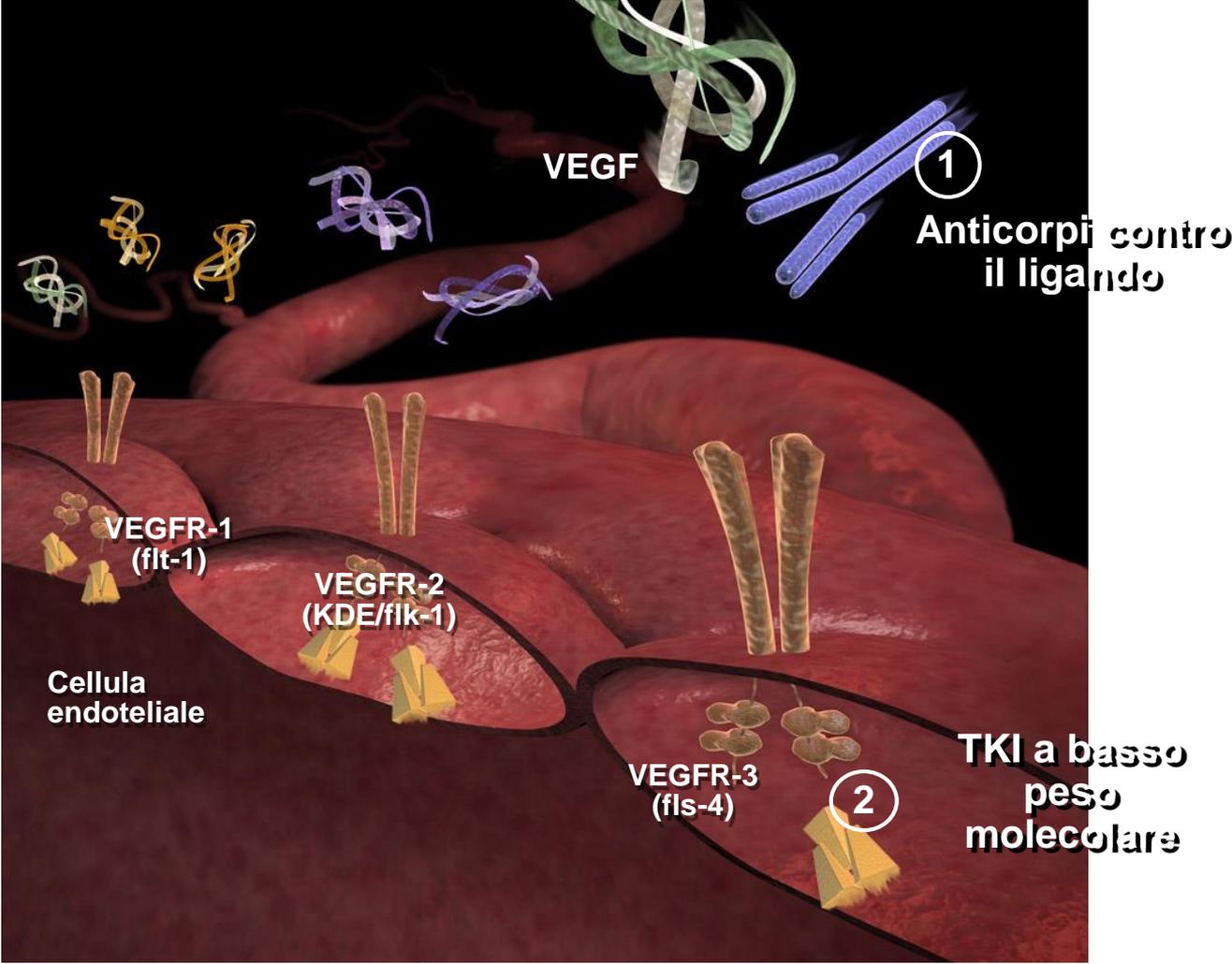
SIGNAL TRANSDUCTION INHIBITORS

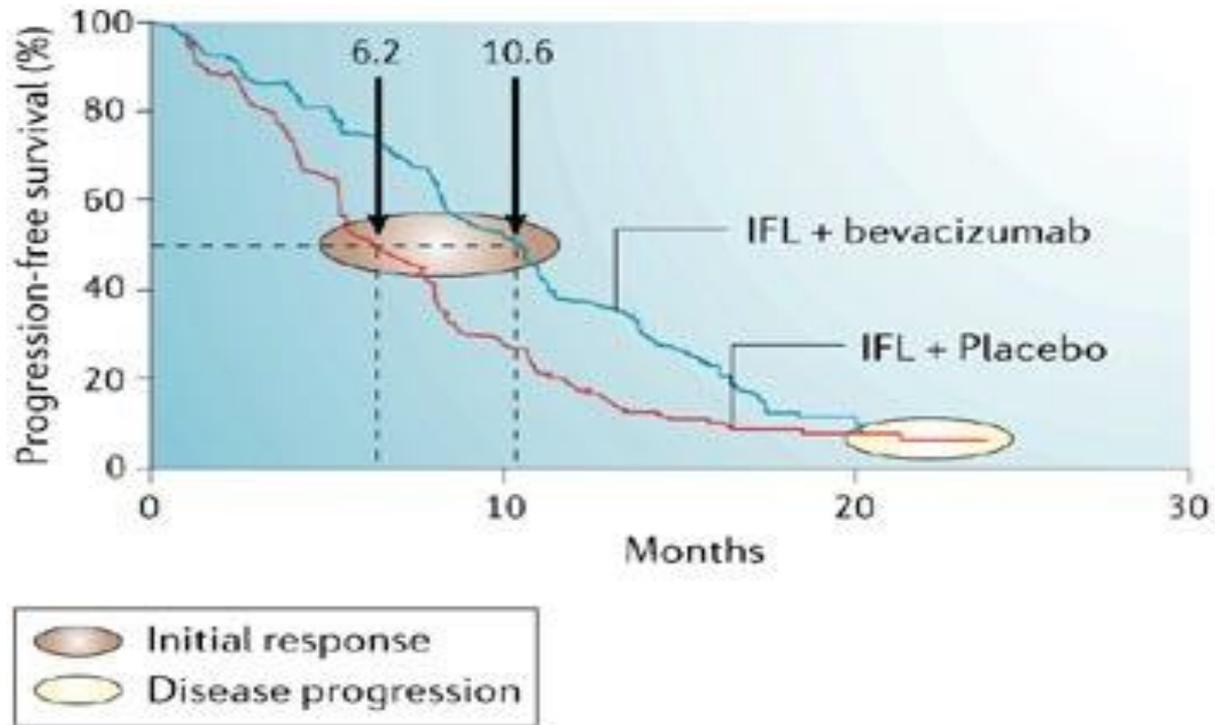
- HER Family:
 - Monoclonal antibodies (Herceptin, Erbitux)
 - Tyrosine kinase inhibitors (Gefitinib, erlotinib)
- PI3K pathway: mTOR inhibitors (CCI779, RAD001)
- PKC inhibitors (e.g. ISIS3521)
- Farnesyl transferase inhibitors (SCH66336, R115777, BMS214662)
- PDGFR and c-kit inhibitors (Gleevec)

ANTI-INVASIVE AGENTS

- MMP inhibitors (AG3340)
- Modulators of chemokines and their receptors
- Src inhibitors (AZD0530)

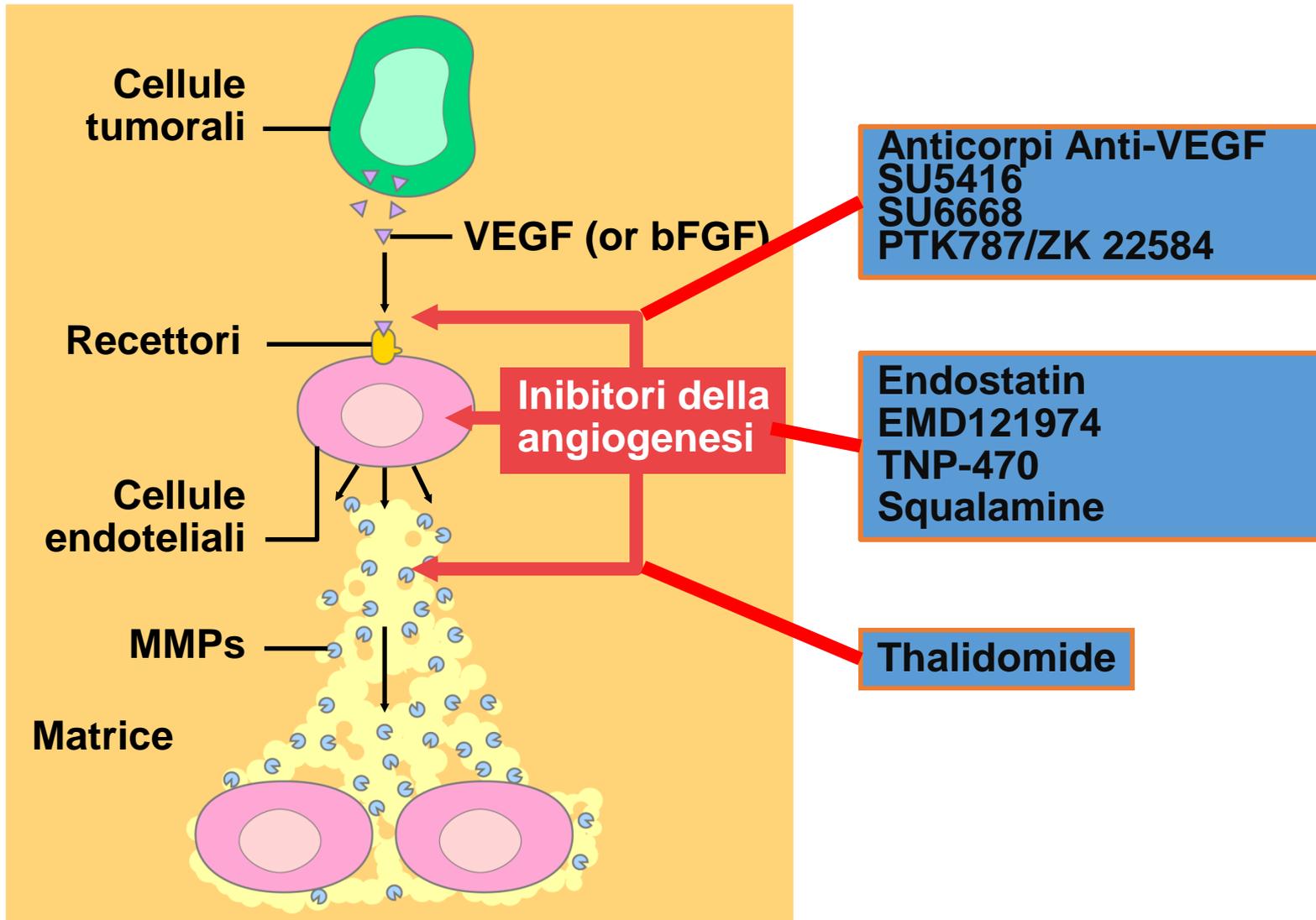
- Anti-telomerase
- Telomere interacting agents





Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Cancer

Jubb *et al.* *Nature Reviews Cancer* advance online publication;
 published online 13 July 2006 | doi:10.1038/nrc1946



PROCESSO METASTATICO

Comportamento dei tumori

Gli effetti clinici dei tumori sono determinati dal comportamento biologico delle cellule neoplastiche al loro interno.

Nei tumori maligni, le proprietà più importanti da questo punto di vista sono la capacità di invadere e metastatizzare.

LE METASTASI

METASTASI: *autotrapianto spontaneo di cellule neoplastiche* che si distaccano dal tumore raggiungendo con varie modalità uno o più siti diversi → nuove formazioni

METASTATIZZAZIONE

(malignità del tumore): correlazione tra *capacità metastatica* e *mortalità* dei pazienti

Controllo delle metastasi → difficile e drammatico

Diagnosi tumore maligno → ci sono già metastasi e micrometastasi clinicamente silenti

Nella popolazione neoplastica tutte le cellule sono tumorigene ma solo alcune sono metastatiche

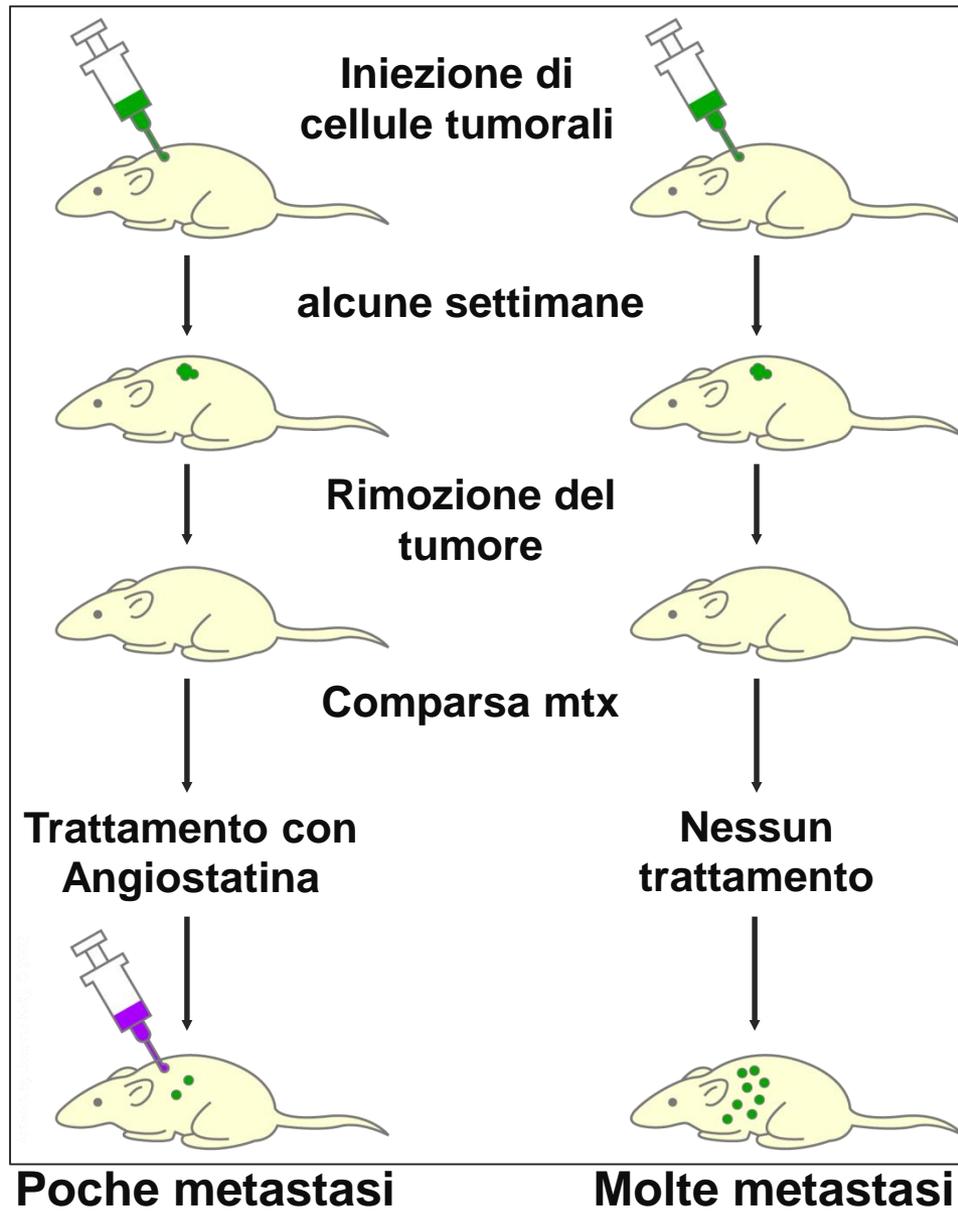
ONCOGENI CHE CONFERISCONO METASTATICITA'

H-ras (Harvey-ras) dal virus di Harvey → transfettato in cellule tumorigene → competenza metastatica

maggiore è l'espressione di H-ras nelle cellule → più elevata è la capacità metastatica

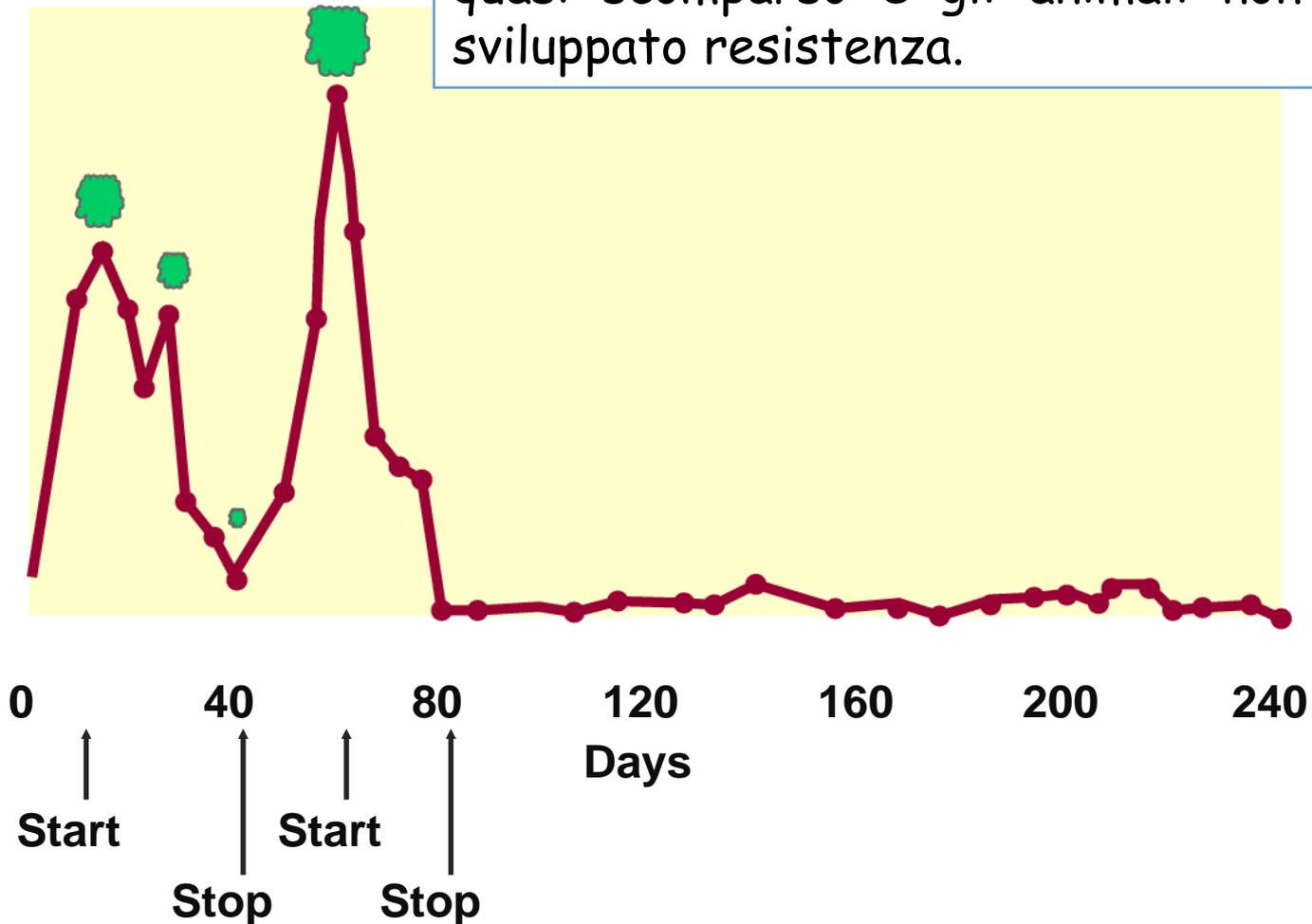
mos, raf, src, fes, fms

ONCOGENI ALTERATI IN MOLTI TUMORI: *c-myc, c-ras, c-myb*



Topi con diversi tipi di cancro sono stati trattati con endostatina. Dopo alcuni cicli di trattamento, il tumore primario era quasi scomparso e gli animali non hanno sviluppato resistenza.

Dimensione del tumore



Treatment with Endostatin

Invasione e metastasi

- L'invasività del tumore è il criterio più importante per definire la malignità della neoplasia
- L'invasività è dovuta alla motilità delle cellule neoplastiche, alla ridotta coesione cellulare e alla produzione di enzimi proteolitici
- La metastasi è il processo di formazione di tumori secondari a distanza
- Le vie di diffusione dei tumori per la formazione delle metastasi sono i vasi linfatici, i vasi sanguigni, e attraverso la cavità.

Invasività neoplastica

L'invasività dei tumori maligni è determinata dalle proprietà delle cellule tumorali che lo compongono.

I fattori che influenzano l'invasione del tumore sono:

- **Modificazioni dell'adesività cellulare** (permettendo il distacco dal tumore e l'adesività ad altre cellule)
- **Locomozione** mediata da fattori chemiotattici
- Produzione di molecole che ledono cellule normali e matrice extracellulare (secrezione di enzimi proteolitici)
- Sintesi e secrezione di molecole che inducono la formazione di stroma e letto vascolare (apporto ematico adeguato)

Adesività

Diversi fattori influenzano la modifica della adesività e la perdita delle funzioni di inibizioni da contatto e migrazione nella cellula tumorale.

Principalmente:

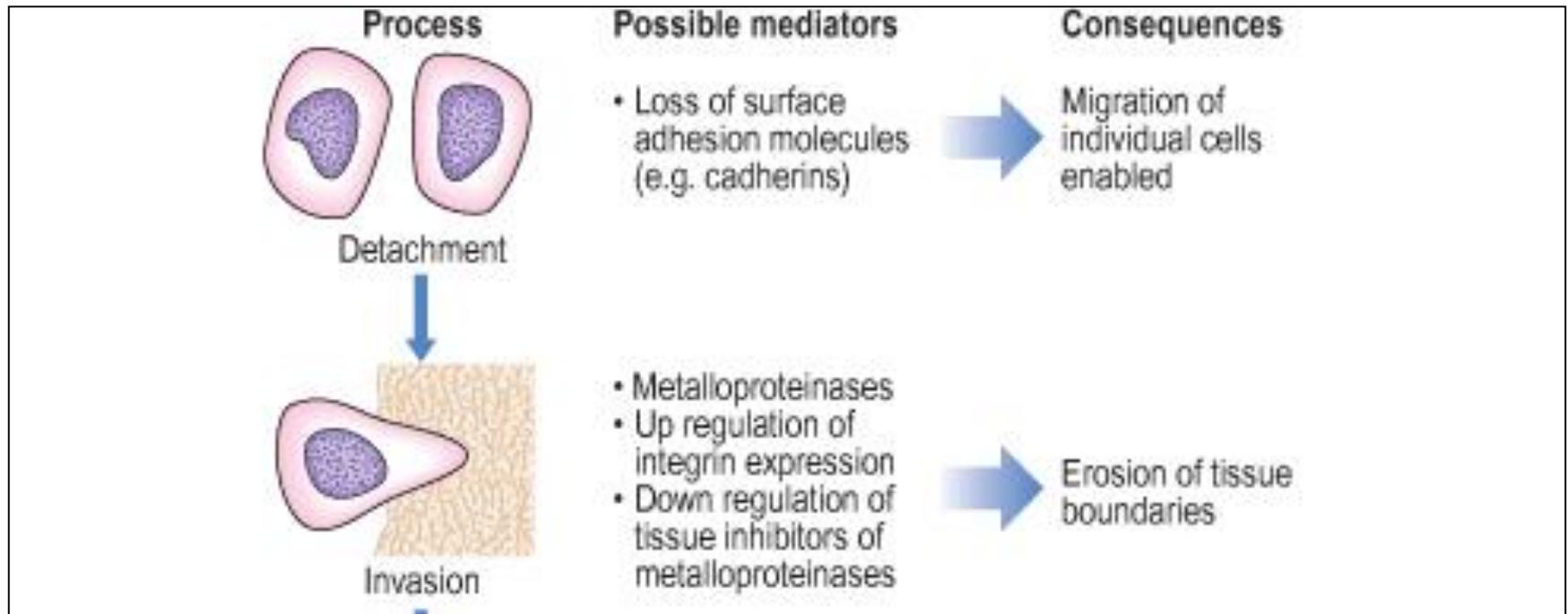
- ↑ Carica negativa sulla superficie di cellule maligne (eccessiva produzione di sialomucoproteine)
- ↓ desmosomi
- ↓ E-caderina

Proteasi ed invasività

- Diversi enzimi secreti dalle cellule tumorali hanno la proprietà di degradare la matrice extracellulare facendo aumentare la diffusione del tumore
- Le metalloproteinasi sono tra le più importanti proteasi responsabili della invasione neoplastica. Questi enzimi sono secreti dalle cellule neoplastiche maligne, consentendo loro di digerire il tessuto connettivo circostante. Ci sono tre famiglie:
 - Metalloproteasi interstiziali (che degradano il collagene di tipo I, II e III)
 - Gelatinasi (che degradano il collagene IV e la gelatina)
 - Stromelisine (che degradano il collagene di tipo IV e i proteoglicani)
- Altre proteasi coinvolte sono:
 - Aparinasi
 - Serin-proteasi
 - Proteasi tiolo-dipendenti

Invasività neoplastica

L'aumentata motilità delle cellule neoplastiche, la ridotta coesione cellulare e la produzione di enzimi proteolitici determinano la capacità invasiva del tumore, evento primario alla sua diffusione



Metastasi

- Metastasi è il processo mediante il quale il tumore maligno migra dal luogo di origine (tumore primario) per formare altri tumori (tumori secondari) in siti distanti.
- La massa tumorale totale risultante da questo processo può essere molto grande, infatti, la massa totale dei tumori secondari supera invariabilmente quella della lesione primitiva

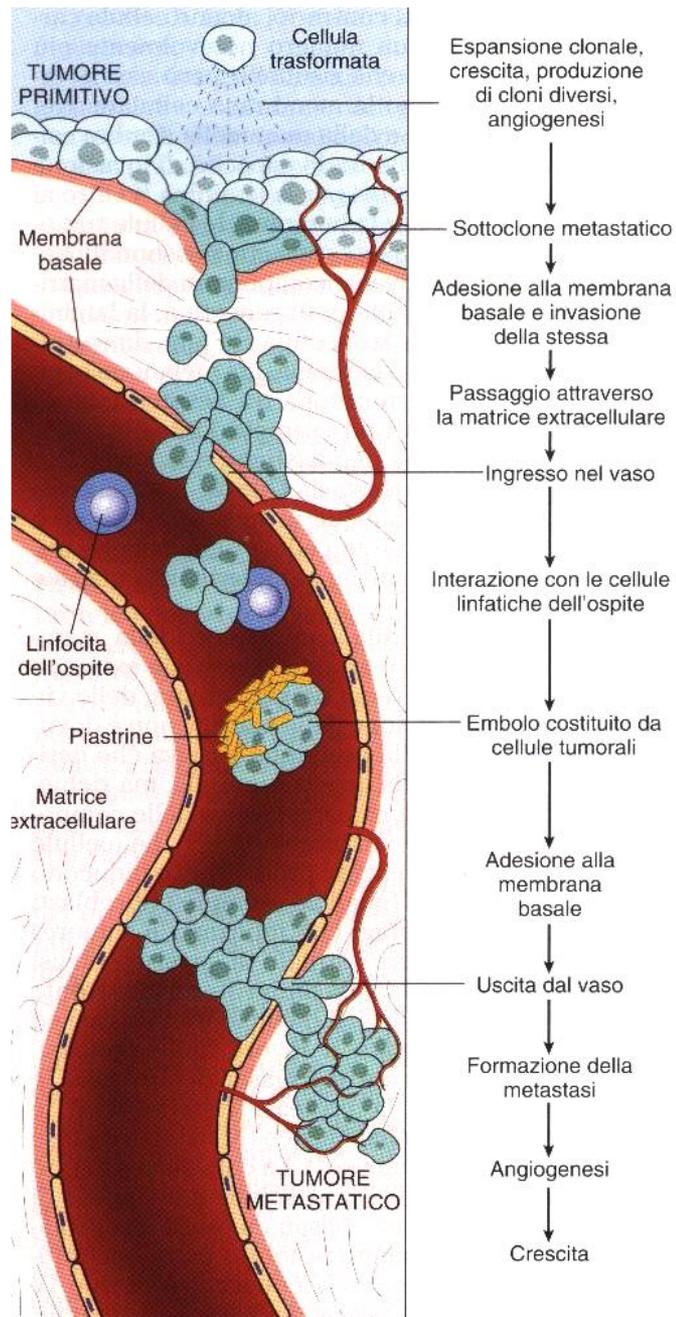
"la cascata metastatica"

- Le cellule neoplastiche devono completare con successo una cascata di eventi prima di formare un tumore metastatico.
- Solo una parte delle cellule neoplastiche in un tumore maligno può avere l'insieme delle proprietà necessarie per il completamento della cascata. Infatti, in molti tumori studiati sia in modelli animali che nell'uomo, I cloni tumorali metastatici appaiono istologicamente meno ben differenziati rispetto alla lesione primaria, il che suggerisce che non vi è evoluzione clonale del fenotipo metastatico.
- Ci sono prove sperimentali per l'inattivazione di geni 'anti-metastasi' (o metastogeni), come nm23, nelle cellule neoplastiche capaci di metastasi, ma il loro ruolo preciso nella cascata metastatica è incerto.

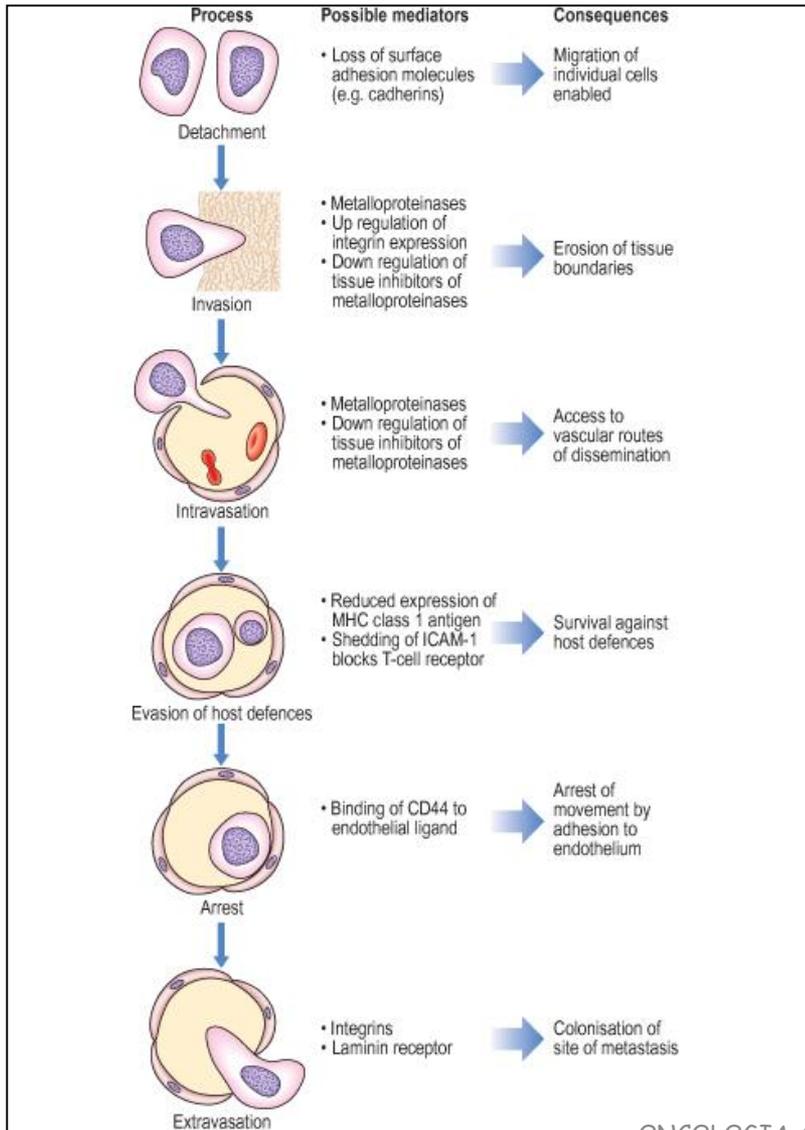
"la cascata metastatica"

➤ I passaggi sequenziali coinvolti nella cascata metastatica sono i seguenti:

- ✓ **Distacco** di cellule dalla massa tumorale primaria
- ✓ **Invasione** dei vasi ematici e linfatici
- ✓ **Trasporto** delle cellule tumorali come emboli tumorali a siti distanti
- ✓ **Adesività** all'endotelio del letto vascolare di organi o tessuti distanti
- ✓ **Migrazione** dei vasi in cui gli emboli si arrestano
- ✓ Sopravvivenza nel nuovo sito → **angiogenesi**
- ✓ Moltiplicazione e crescita per formare **tumori secondari**



«la cascata metastatica»



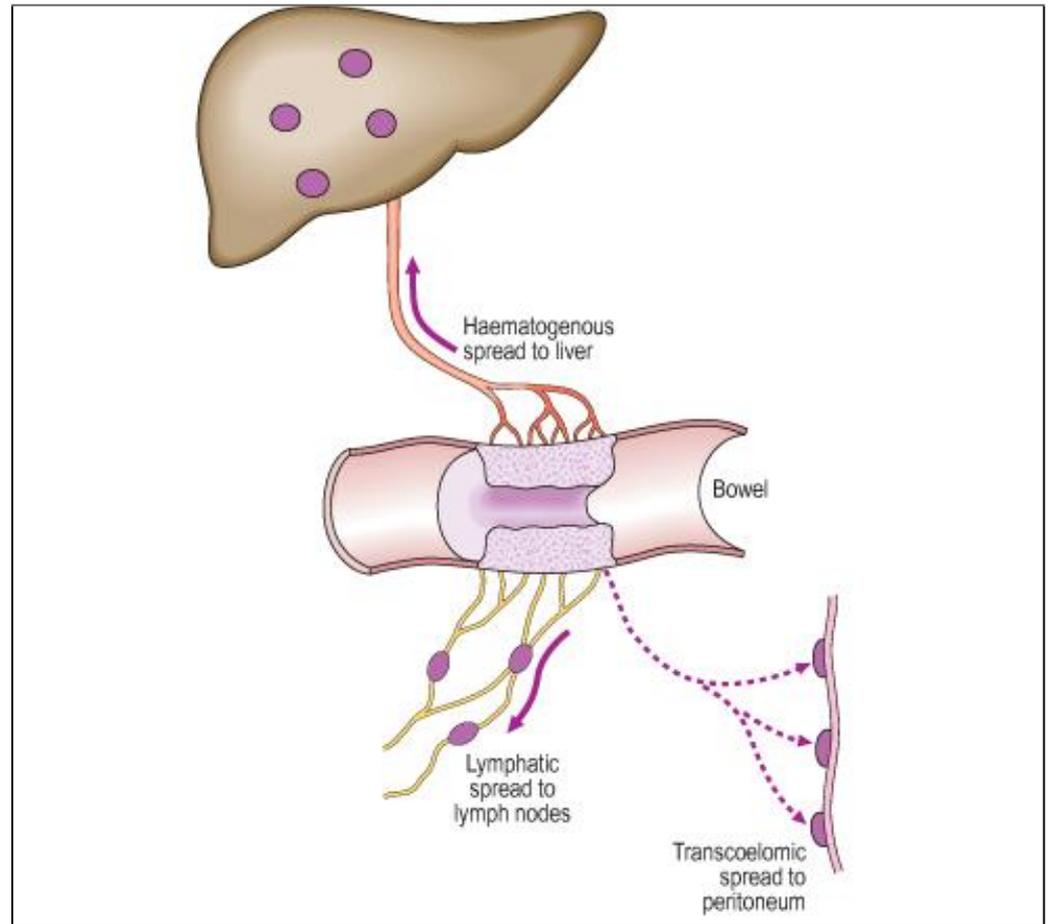
La diffusione delle cellule tumorali dal sito di origine, il tumore primario, a formare tumori secondari in altri luoghi richiede l'insieme di una sequenza logica di eventi mediati da interazioni tumore-ospite

Vie di diffusione metastatica

- Le vie di diffusione di un tumore in una sede secondaria metastatica sono :
 - ✓ Diffusione diretta ai tessuti adiacenti;
 - ✓ Via Ematogena, con il flusso di ematico, a formare tumori secondari di organi perfusi dal sangue ha drenato dall'organo affetto dal tumore primario
 - ✓ Per via linfatica, a formare tumori secondari nei linfonodi regionali
 - ✓ Per via transcelomatica ad occupare le cavità (pleurica, pericardica e peritoneale), dove il risultato è un versamento neoplastico
 - ✓ Da impianto, ad esempio versamento accidentale di cellule tumorali nel corso dell'intervento chirurgico di rimozione.

- I carcinomi tendono a preferire la diffusione linfatica, almeno inizialmente, mentre i sarcomi preferiscono diffusione ematogena. Tuttavia, eccezioni a tali tendenze sono comuni.

Esempio di diffusione del tumore primario (carcinoma intestinale) per via ematica (al fegato), linfatica (ai linfonodi prossimali) e transcelomatica nel peritoneo con ascite.



MODALITA' DI DIFFUSIONE METASTATICA

Percorsi
diversi

a) per CONTIGUITA'

b) per VIA CELOMATICA
(*cavità sierose*)

c) per VIA LINFATICA

d) per VIA EMATICA

e) per VIA CANALICOLARE
(*ghiandole*)

a) per CONTIGUITA'

Invasione di organo anatomicamente limitrofo a quello del tumore primitivo. A volte "per innesto" o "iatrogenica" se il trasporto avviene accidentalmente nel corso di un intervento operatorio → comparsa del tumore nella zona della cicatrice o in zone attigue.

b) per VIA CELOMATICA (cavità sierose)

Nelle cavità sierose dell'organismo, interessamento pleura, peritoneo e indirettamente pericardio.

c) per VIA LINFATICA

E' la via più frequentemente seguita per la diffusione metastatica dei tumori epiteliali. Cellule che aderiscono alla superficie del vaso, che proliferano e penetrano nei vasi linfatici → occlusioni, diffusione ai linfonodi, micrometastasi nei vasellini dei linfonodi.

d) per VIA EMATICA

Nel sangue circolante, enzimi proteolitici, collagenolitici elab. dalle cellule tumorali → superamento parete capillare. Formazione di *trombi* (aggregati di fibrina e piastrine) → protezione cellule tumorali dall'attacco del S. I.

e) per VIA CANALICOLARE (ghiandole)

Dotto escretore di una ghiandola esocrina nella quale ha sede il tumore primario. Le cellule raggiungono organo in cui il dotto sbocca. Adenocarcinoma pelvi renali → uretere → metastasi nella vescica.

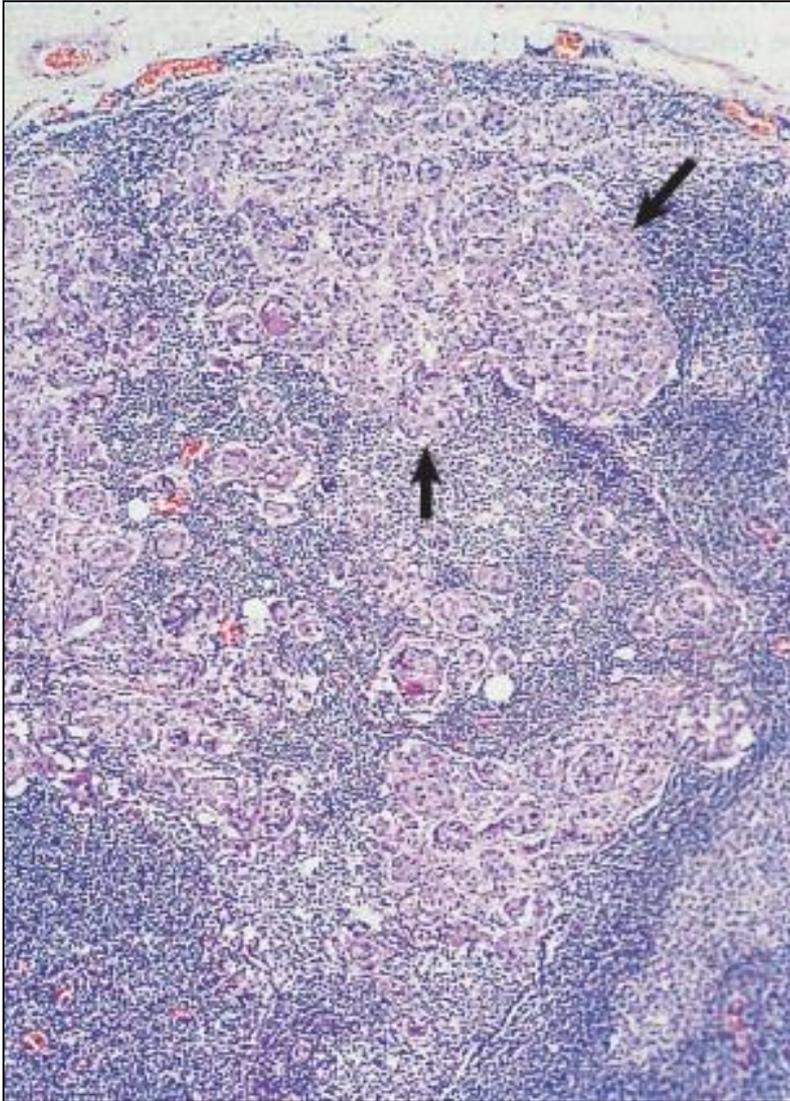
Diffusione ematogena

- L'osso è un sito favorito dalla metastasi ematogena per i tumori:
 - ✓ del polmone,
 - ✓ della mammella,
 - ✓ del rene,
 - ✓ della tiroide
 - ✓ della prostata.
- Altri organi comunemente coinvolti da metastasi ematogene sono polmone, fegato e cervello.
- Le metastasi sono spesso multiple, mentre i tumori primari che emergono nell'organo colpiti sono generalmente solitari.

Diffusione linfatica

- Le cellule tumorali raggiungono il linfonodo attraverso i canali linfatici afferenti.
- Tipicamente le cellule tumorali si insediano e proliferano nella periferia del linfonodo, estendendosi e gradualmente vanno a sostituire il tessuto.
- Linfonodi interessati da tumori metastatici sono di solito di consistenza più solida e più grandi del normale. Gruppi di linfonodi coinvolti possono essere arruffati insieme da tanto tessuto tumorale e la reazione del tessuto connettivo ad esso.
- Metastasi linfonodali spesso interrompono il flusso linfatico, provocando edema nel territorio coinvolto.
- Clinicamente, è necessario essere cauti nell'interpretare il significato del drenaggio linfatico allargata nodi tumori, perché l'allargamento potrebbe essere semplicemente dovute a cambiamenti reattivi.

Diffusione linfatica



Metastasi linfonodale. Il tessuto del linfonodo è in parte sostituito da un deposito di adenocarcinoma metastatico (indicato dalla freccia) da un tumore primario dello stomaco.

Metastasi transcelomatica

- Le cavità peritoneale, pleurica e pericardica sono luoghi comuni di metastasi transcelomatiche, il che comporta un versamento di liquido nella cavità.
- Il fluido è ricco di **proteine** (vale a dire **si tratta di un essudato**) e **può contenere fibrina**.
- Il liquido contiene anche le cellule neoplastiche che causano il versamento, e l'esame citologico del liquido aspirato è molto importante per diagnosticare la causa del versamento.
- Le cellule tumorali crescono spesso come noduli sulla superficie mesoteliali della cavità.
- Versamenti peritoneali (asciti) possono essere dovuti a diffusione e metastasi di un tumore addominale, o dalle ovaie.
- Versamenti pleurici e pericardici sono conseguenza comune di carcinomi del seno e polmonari.

Metastasi transcelomatica

Ascite causato da carcinoma. Il liquido è stato aspirato e centrifugato per concentrare le cellule su un vetrino che è stato poi colorato. Le cellule di carcinoma presenti in blocchi sono più grandi delle cellule mesoteliali normali delle cellule infiammatorie presenti.

