

Apoptosi e tumori

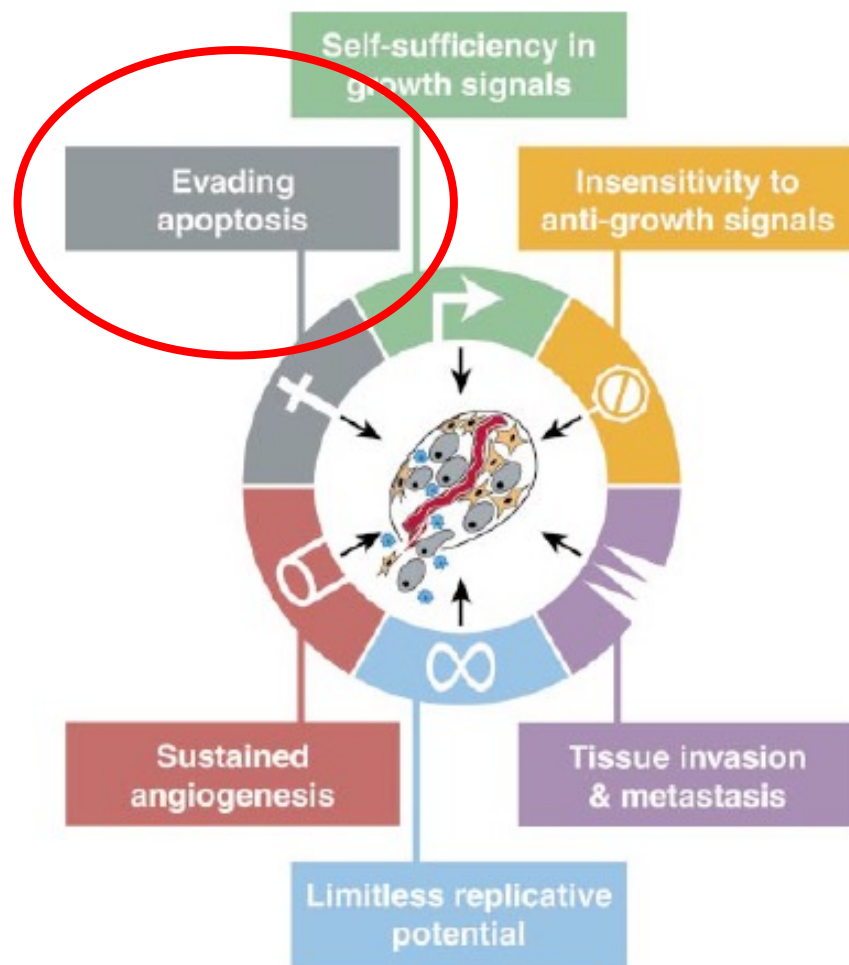


Figure 1. Acquired Capabilities of Cancer

We suggest that most if not all cancers have acquired the same set of functional capabilities during their development, albeit through various mechanistic strategies.

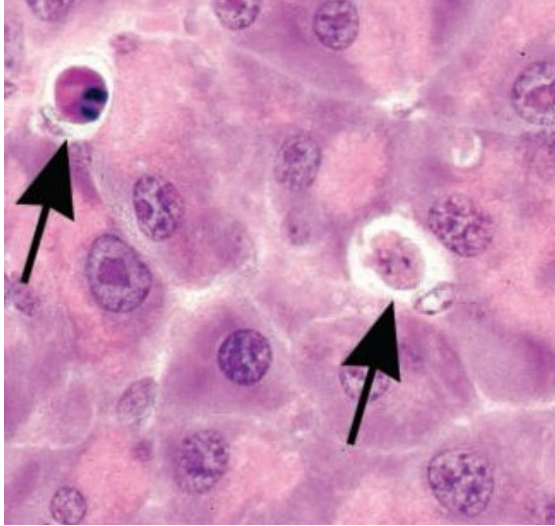
L'evasione dell'apoptosi o la resistenza alla morte è un'altra caratteristica delle cellule tumorali. La capacità di evadere l'apoptosi è rilevante specialmente nel processo di trasformazione neoplastica. Infatti molti degli eventi che sono alla base della trasformazione neoplastica e che includono: l'attivazione degli oncogeni, l'invasione dei tessuti e le metastasi provocano degli stimoli apoptotici.

Tra gli oncogeni MYC, E2F1 e la ciclina D inducono apoptosi. Per questa ragione l'evasione dalla apoptosi è necessaria affinché possa avvenire la trasformazione neoplastica. Tali stimoli devono essere sopportati dalla cellula per poter sopravvivere.

Diversi modelli sperimentali hanno dimostrato che il blocco dell'apoptosi facilita lo sviluppo dei tumori.

Per questo si può affermare che il processo di oncogenesi sottopone le cellule a stress pro-apoptotici che devono essere bloccati affinché il processo di trasformazione neoplastica possa generare la cellula tumorale.

Apoptosi



Durante la fase precoce dell'apoptosi la cellula si restringe e la cromatina si condensa. Nella colorazione con ematossilina eosina la cellula appare come una massa ovale e con frammenti di cromatina densi. La membrana plasmatica va incontro ad un estensivo rigonfiamento seguito dalla frammentazione del nucleo e dalla separazione dei frammenti cellulari in corpi apoptotici durante il «budding». I corpi apoptotici sono costituiti da citoplasma con organelli strettamente impacchettati delimitati dalla membrana plasmatica. Questi corpi sono eliminati attraverso la fagocitosi da parte dei macrofagi e degradati nel fagolisosoma.

L'apoptosi è un programma di suicidio che gli organismi hanno evoluto per eliminare le cellule non necessarie o malate dal corpo nel corso dello sviluppo o durante lo stress.

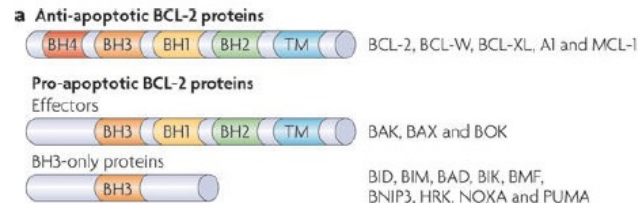
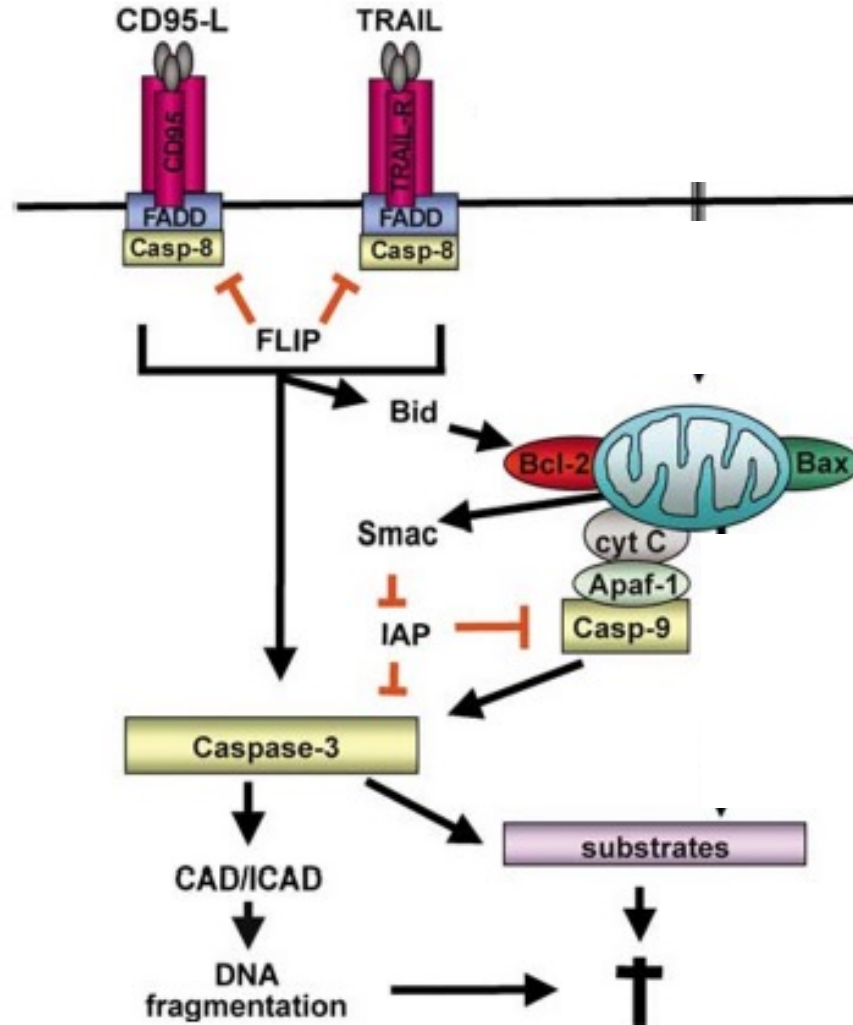
Questa coinvolge una serie di eventi che alla fine determinano l'attivazione di cistein proteasi denominate caspasi.

In risposta a vari stimoli sono attivate le caspasi iniziatrici (es. caspasi 8 e 9) che a loro volta attivano le caspasi effettrici (caspasi 7 e 3) che a loro volta tagliano specifici substrati causando la morte cellulare

Le caratteristiche dell'apoptosi sono:

- frammentazione del DNA
- taglio proteolitico delle proteine del citoscheletro e nucleari
- esposizione della fosfatidil serina sulla superficie della cellula

Vie di attivazione dell'apoptosi



L'apoptosi può essere indotta attraverso la via estrinseca o la via intrinseca.

Nel primo caso le caspasi iniziatrici sono attivate in seguito all'ingaggio di recettori extracellulari.

Nella via intrinseca è invece implicata la permeabilizzazione della membrana mitocondriale.

Questa permette il rilascio del citocromo c che nel citoplasma si lega ad APAF-1 (adaptor protein apoptotic protease-activating factor 1) per formare il complesso di attivazione della caspasi 9 denominato apoptosoma.

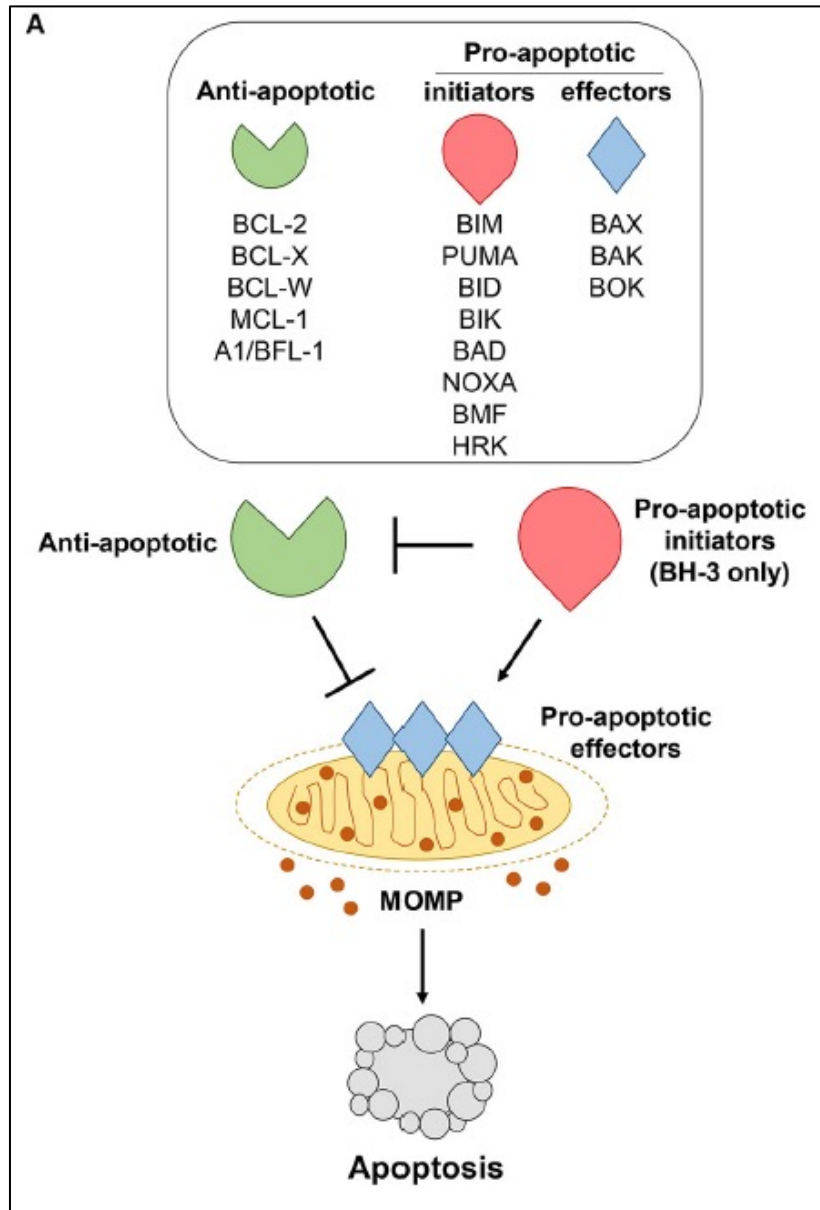
Il bilancio fra proteine pro-apoptotiche e anti-apoptotiche della famiglia BCL-2 è fondamentale nel determinare l'inizio della permeabilità della membrana mitocondriale.

La famiglia delle molecole BCL-2 è costituita da molecole anti-apoptotiche e pro-apoptotiche.

Le anti-apoptotiche includono BCL-2, BCL-XL, MCL-1.

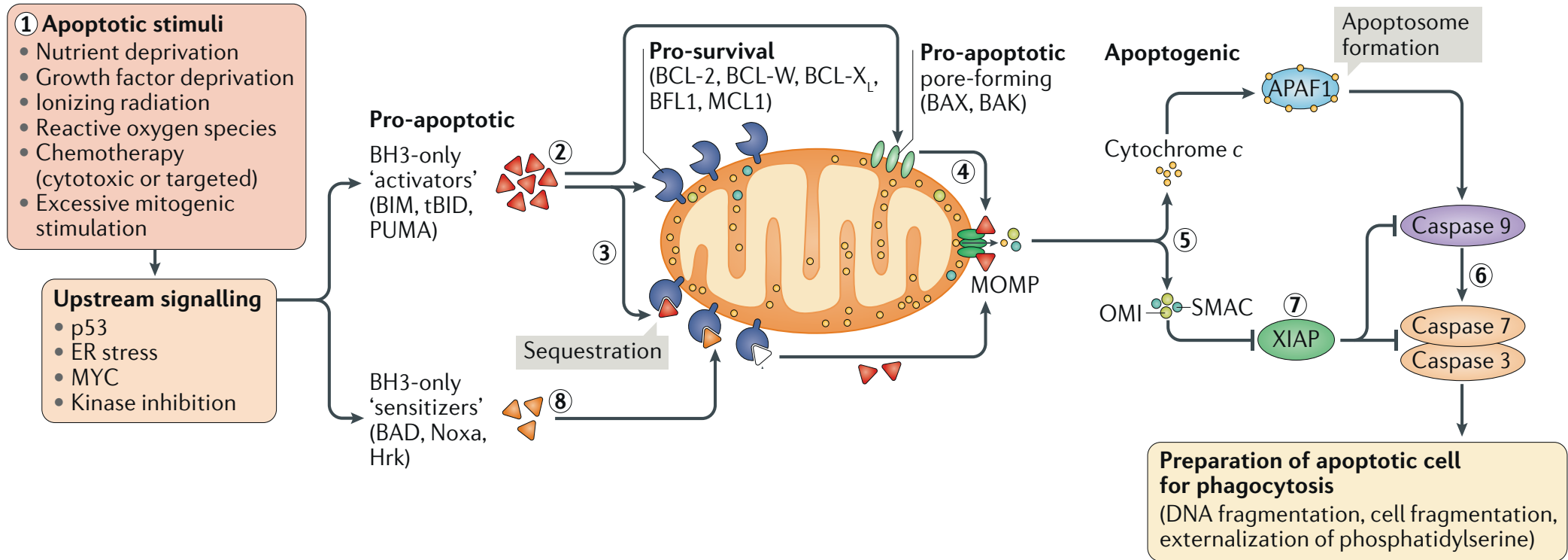
Le pro-apoptotiche BAX, BAK e i BH3 only.

Regolazione della apoptosi dalle molecole BCL-2

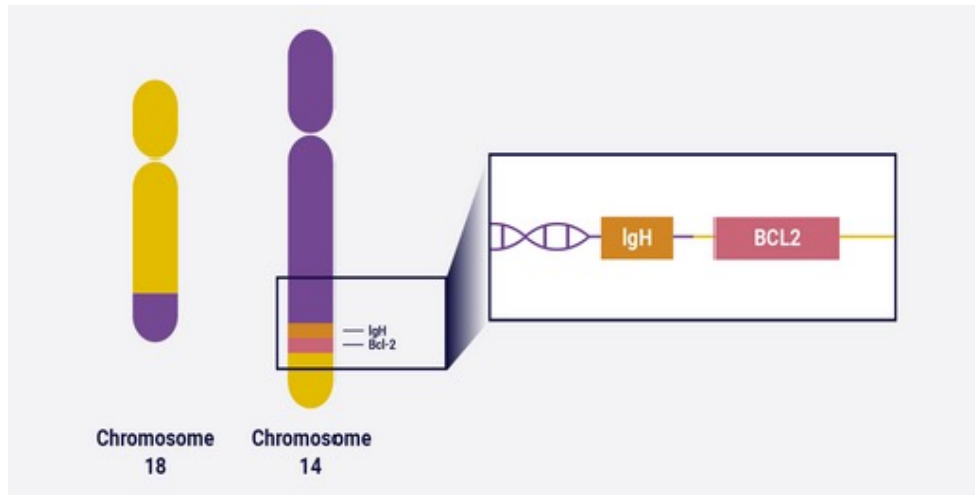


I membri della famiglia Bcl-2 regolano la via intrinseca dell'apoptosi. Diversi stress cellulari inducono l'apoptosi attraverso la via intrinseca che è regolata dalle molecole appartenenti alla famiglia Bcl-2. Questi segnali di stress attivano le molecole pro-apoptotiche iniziatrici BH-3 (rosso) che inibiscono le proteine anti-apoptotiche (verde). Questo permette che i membri pro-apoptotici effettori della famiglia bcl-2 (blu) siano attivati. L'attivazione delle proteine effettrici determina la loro oligomerizzazione e la conseguente permeabilizzazione della membrana mitocondriale esterna (MOMP) che permette il rilascio del cictocromo c che nel citoplasma si lega ad APAF-1 (adaptor protein apoptotic protease-activating factor 1) per formare il complesso di attivazione della caspasi 9 denominato apoptosoma dando inizio alla cascata di attivazione delle caspasi che portano alla morte della cellula.

L'apoptosi mitocondriale



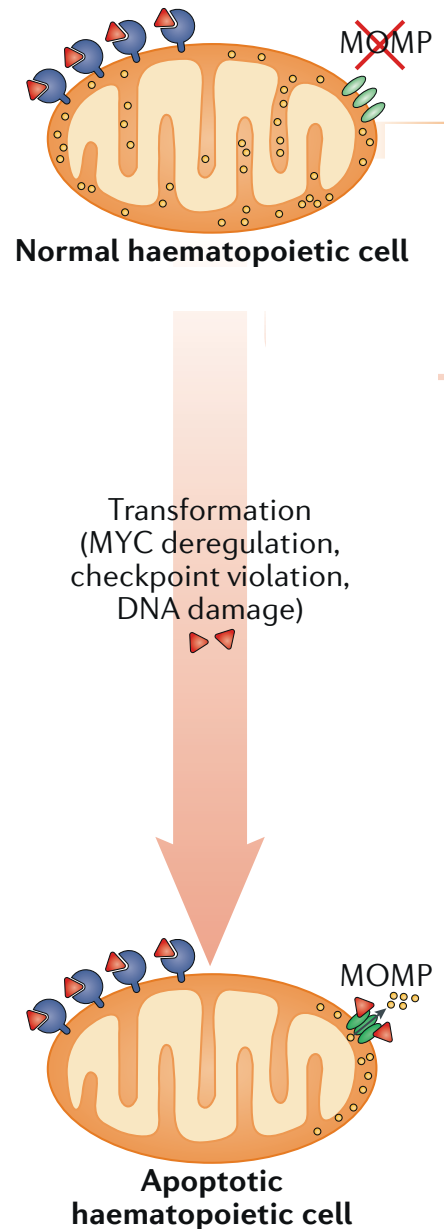
Evasione dell'apoptosi



L'inibizione dell' apoptosi può facilitare la carcinogenesi. La prima evidenza di tale effetto è stata dimostrata nei linfomi B follicolari in cui circa l'85% dei casi mostra una traslocazione t(14;18) in cui il gene BCL-2 è traslocato dal locus 18q21 al locus 14q32 delle catene pesanti delle Immunoglobuline. Questo determina un aumento della trascrizione e l'iper-espressione di BCL-2.

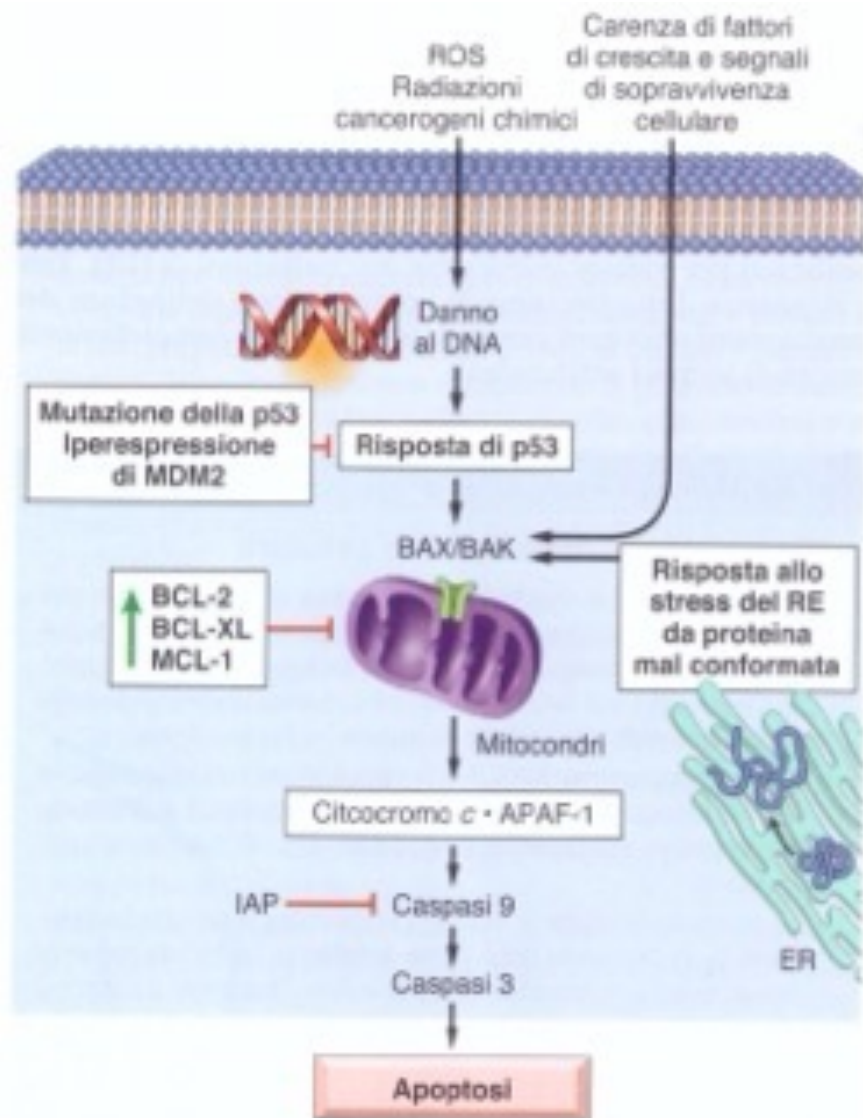
L'amplificazione di BCL-XL è stata riportata anche in tumori del polmone e della mammella.

L'inibizione dell'apoptosi facilita la trasformazione neoplastica



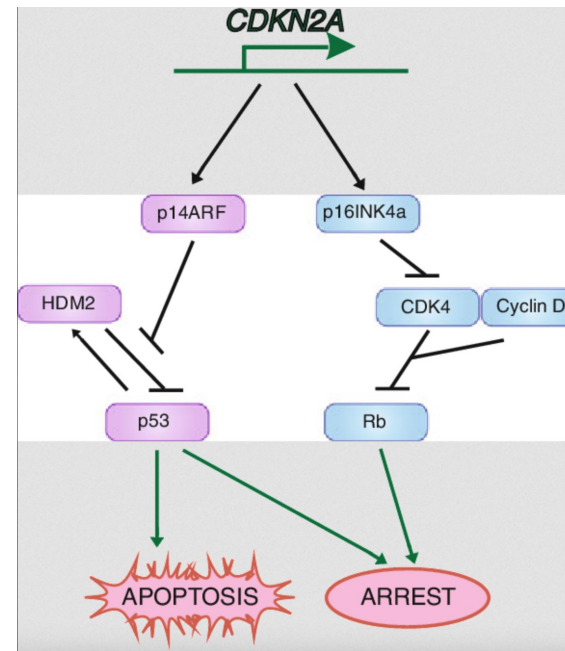
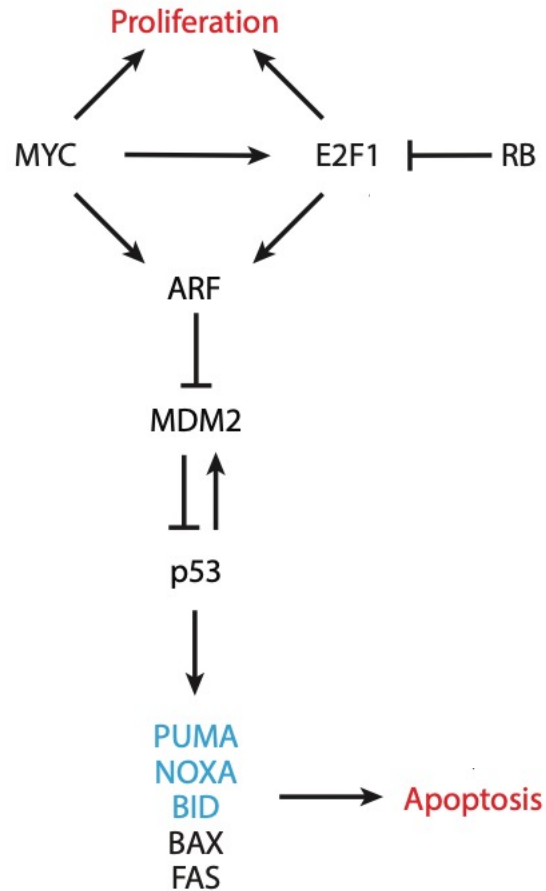
La trasformazione neoplastica causa stress cellulare perché si associa al danno al DNA, a segnali proliferativi aberranti, all'attivazione di oncogeni. L'evasione dalla apoptosi durante la trasformazione neoplastica è necessaria alla cellula per poter continuare a proliferare. La soppressione dell'apoptosi è particolarmente necessaria nei tumori di origine ematopoietica. I meccanismi frequentemente utilizzati includono l'up-regolazione delle molecole anti-apoptotiche (BCL-2, MCL1, BCL-X_L, BFL1, BCL-W), la down-regolazione delle molecole pro-apoptotiche (BIM, BID, BAX, Noxa, PUMA) o la downregolazione o l'inattivazione di BAX e BAK.

Perdita di funzione di p53 nella evasione dell'apoptosi delle cellule tumorali



P53 in risposta al danno al DNA o ad altri stress può causare la morte della cellula danneggiata attraverso l'inducendo la trascrizione del gene codificante la proteina BH3-only PUMA.

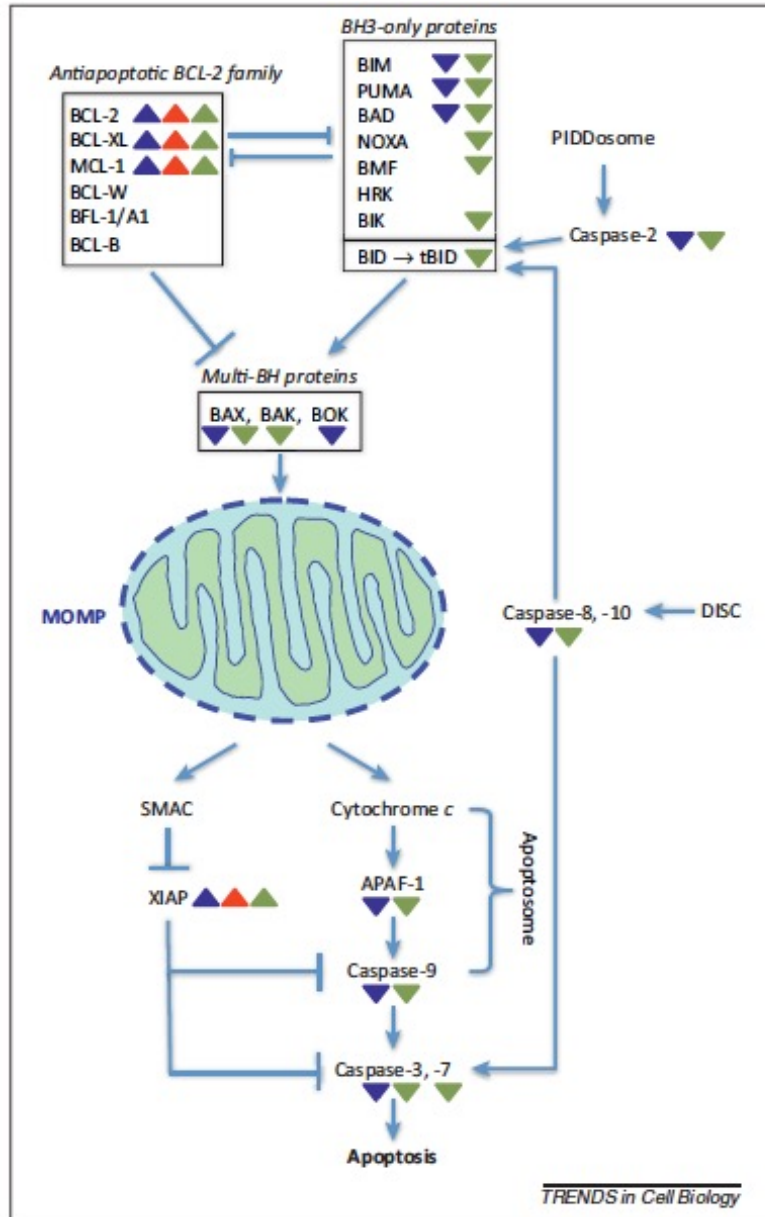
Segnali di proliferazione aberranti (oncogeni MYC e E2F1) inducono apoptosi nelle cellule sane



Un altro stimolo di stress è l'attivazione di oncogeni. Per esempio l'attivazione di oncogeni nelle cellule normali induce la morte. MYC e E2F1 nelle cellule inducono l'espressione non solo dei geni necessari per la progressione del ciclo cellulare ma anche di ARF. ARF si lega a MDM2 e blocca la sua interazione con p53 stabilizzandola. p53 induce la trascrizione di PUMA, NOXA, BID inducendo la morte per apoptosi.

Il gene CDKN2A codifica per due diverse proteine p16INK4 e ARF.

Evasione dell'apoptosi attraverso la soppressione delle proteine pro-apoptotiche



Oltre alle alterazioni nell'espressione di molecole a funzione anti-apoptotica, mutazioni delle molecole a funzione pro-apoptotica sono state riportate in diversi tumori.

Inattivazione di Bax e delle proteine BH3= cancro del colon o tumori delle cellule del sangue.

Aumento delle proteine IAP (inibitori delle caspasi) nei linfomi.

I triangoli colorati indicano che i geni o le proteine possono essere regolati a livello della trascrizione (blue), della traduzione (rosso), o post-traduzione (verde) nelle cellule tumorali.

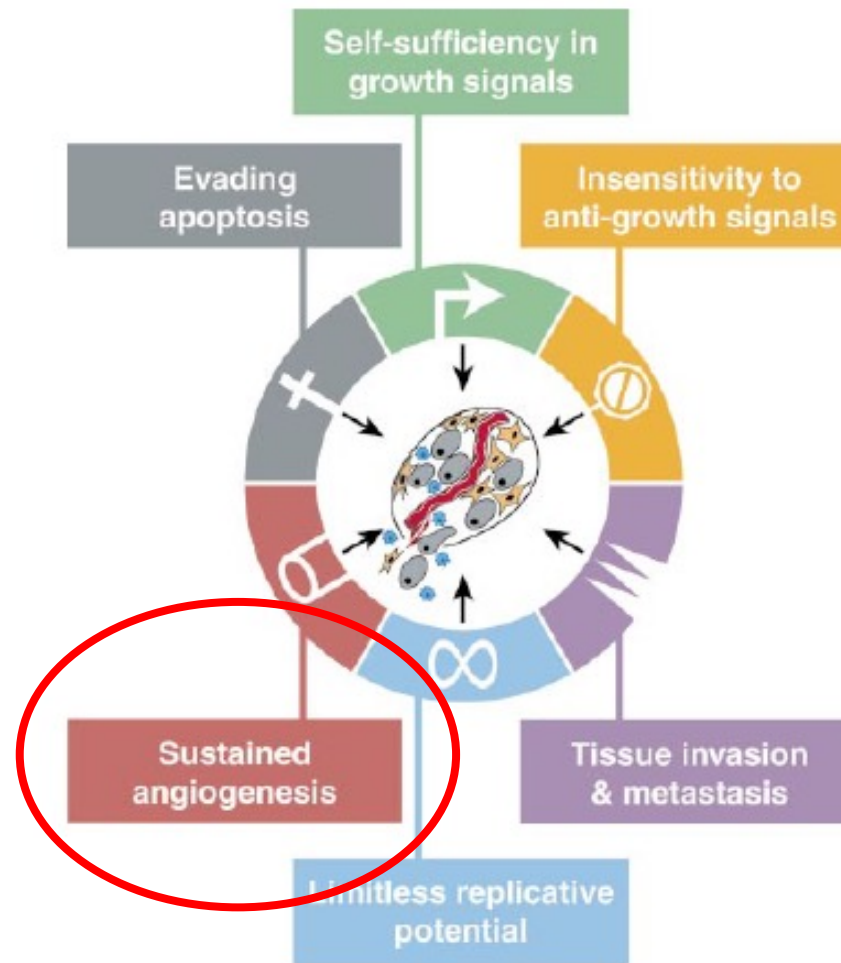
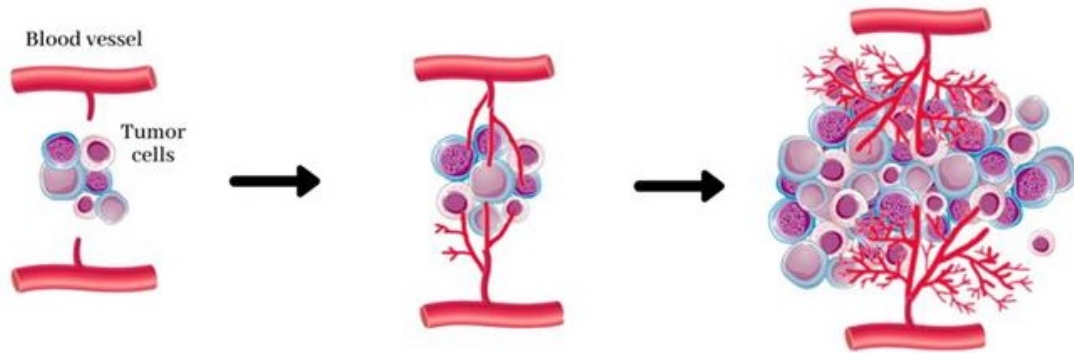


Figure 1. Acquired Capabilities of Cancer

We suggest that most if not all cancers have acquired the same set of functional capabilities during their development, albeit through various mechanistic strategies.

Angiogenesi protratta



I tumori non possono superare 1-2 mm di grandezza se non vengono vascolarizzati.

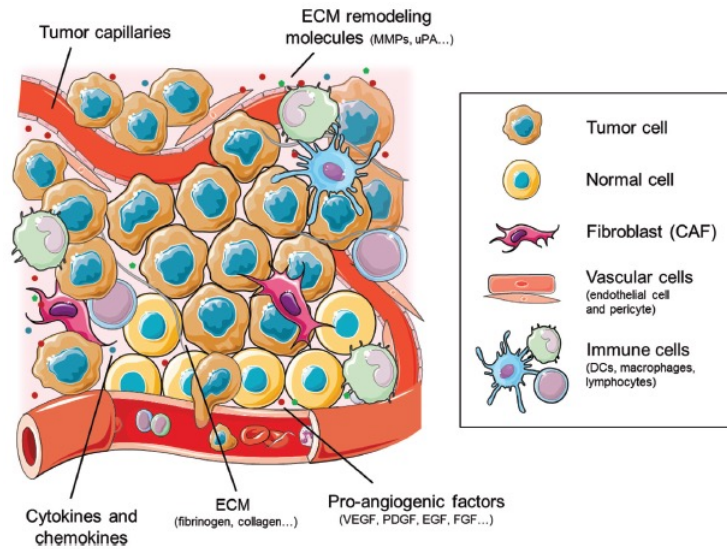
Questa è infatti la massima distanza attraverso la quale l'ossigeno e le sostanze nutritive possono diffondere dai vasi ematici.

Senza la vascolarizzazione il tumore non riesce ad aumentare di volume oltre 1-2 mm a causa della morte cellulare indotta dall'ipossia.

La vascolarizzazione ha due effetti sulla crescita tumorale:

- i) fornisce sostanze nutritive e ossigeno
- ii) le cellule endoteliali neoformate stimolano la crescita delle cellule tumorali attraverso la produzione di fattori di crescita. I vasi garantiscono l'accesso delle cellule tumorali al circolo sanguigno favorendo la diffusione del tumore a distanza.

Angiogenesi per gemmazione



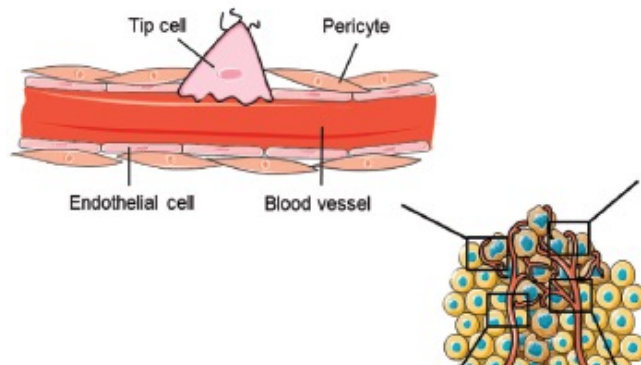
Componenti cellulari e molecolari nell'ambiente tumorale.

Nel 2003 uno studio clinico ha dimostrato che la somministrazione di un anticorpo specifico anti-VEGF insieme alla chemioterapia aumentava la sopravvivenza di pazienti con tumore metastatico del colon.

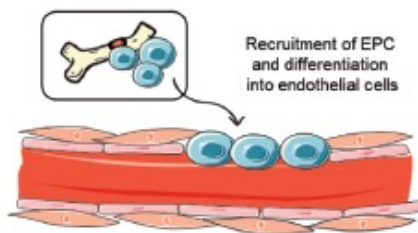
La nuova vascolarizzazione può avvenire attraverso diversi meccanismi che includono la gemmazione o il reclutamento dei precursori dal midollo osseo.

La vascolarizzazione è regolata da diversi fattori pro-angiogenici che includono il VEGF, l'FGF-2, il PDGF, l'angiopoietina.

A Sprouting angiogenesis



B Vasculogenesis



Angiogenesi per gemmazione

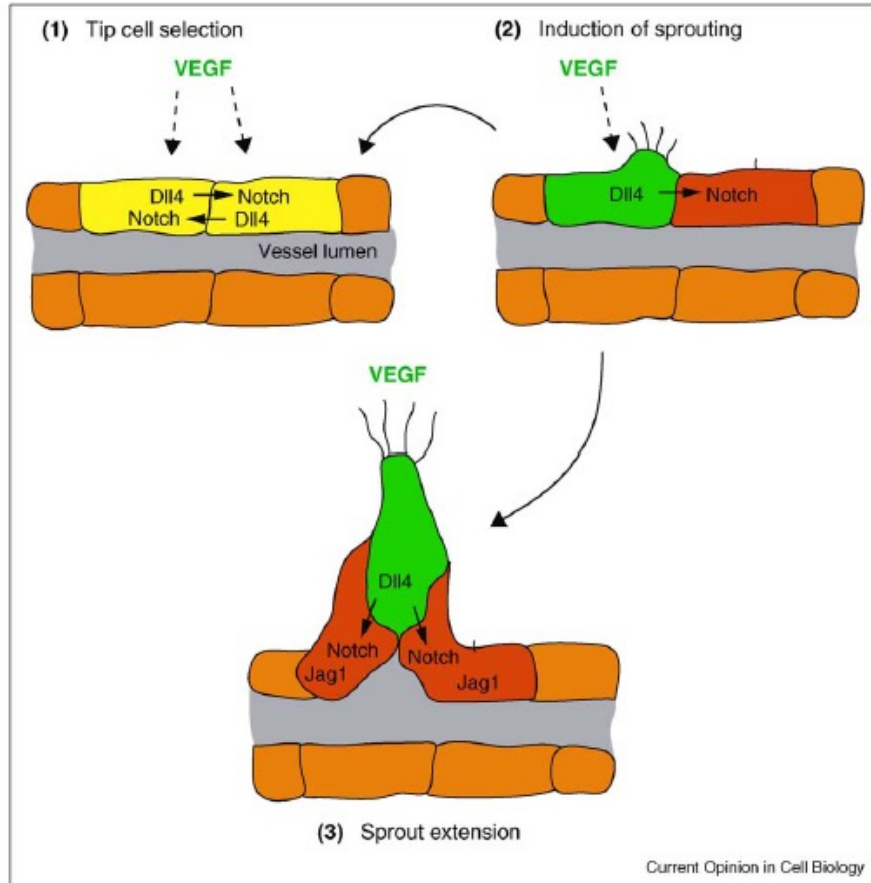
L'angiogenesi per gemmazione ha inizio con la destabilizzazione dei contatti fra cellule endoteliali, periciti e membrana basale sottostante le cellule endoteliali. Le cellule endoteliali vanno incontro ad una attivazione caratterizzata dall'acquisizione di capacità proliferative, migratorie e di invasività.

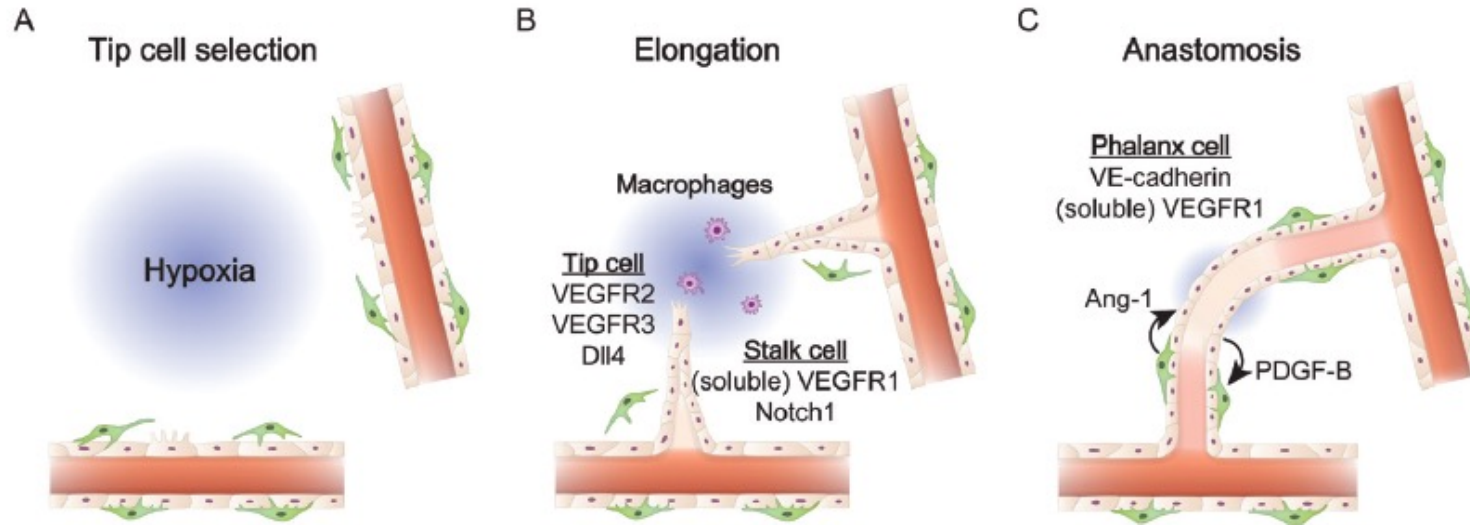
Questa attivazione aumenta anche il rilascio di proteasi responsabili della degradazione della matrice extracellulare che permette la migrazione e la proliferazione guidata delle cellule vascolari.

Durante la gemmazione dei vasi le cellule endoteliali che sono all'estremità del vaso nascente presentano capacità migratorie (cellule tip) e presentano numerosi filopodi. Le cellule stalk seguono le cellule Tip e hanno capacità proliferativa.

La selezione delle cellule endoteliali in cellule tip o stalk dipende dal VEGF che nelle cellule tip induce la gemmazione, la formazione di filopodi e la capacità migratoria. In tali cellule induce inoltre la produzione del ligando di Notch DLL4.

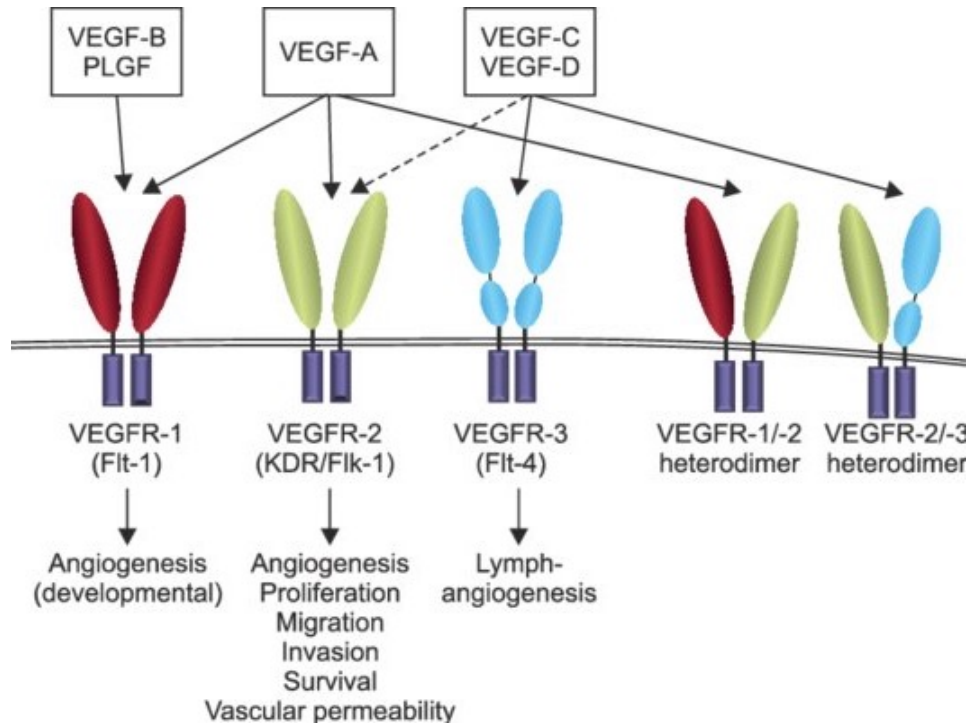
Nelle cellule endoteliali adiacenti DLL4 attiva la via di Notch sopprimendo la formazione di ulteriori cellule tip.





Attraverso l'anastomosi con le cellule di vasi neoformati adiacenti si stabilisce la continuità vascolare. In seguito alla formazione del neo-vaso immaturo le cellule endoteliali tornano in uno stato di quiescenza. La maturazione del vaso è caratterizzata dalla sintesi della membrana basale e dal reclutamento dei periciti.

Fattori di crescita coinvolti nell'angiogenesi: VEGF



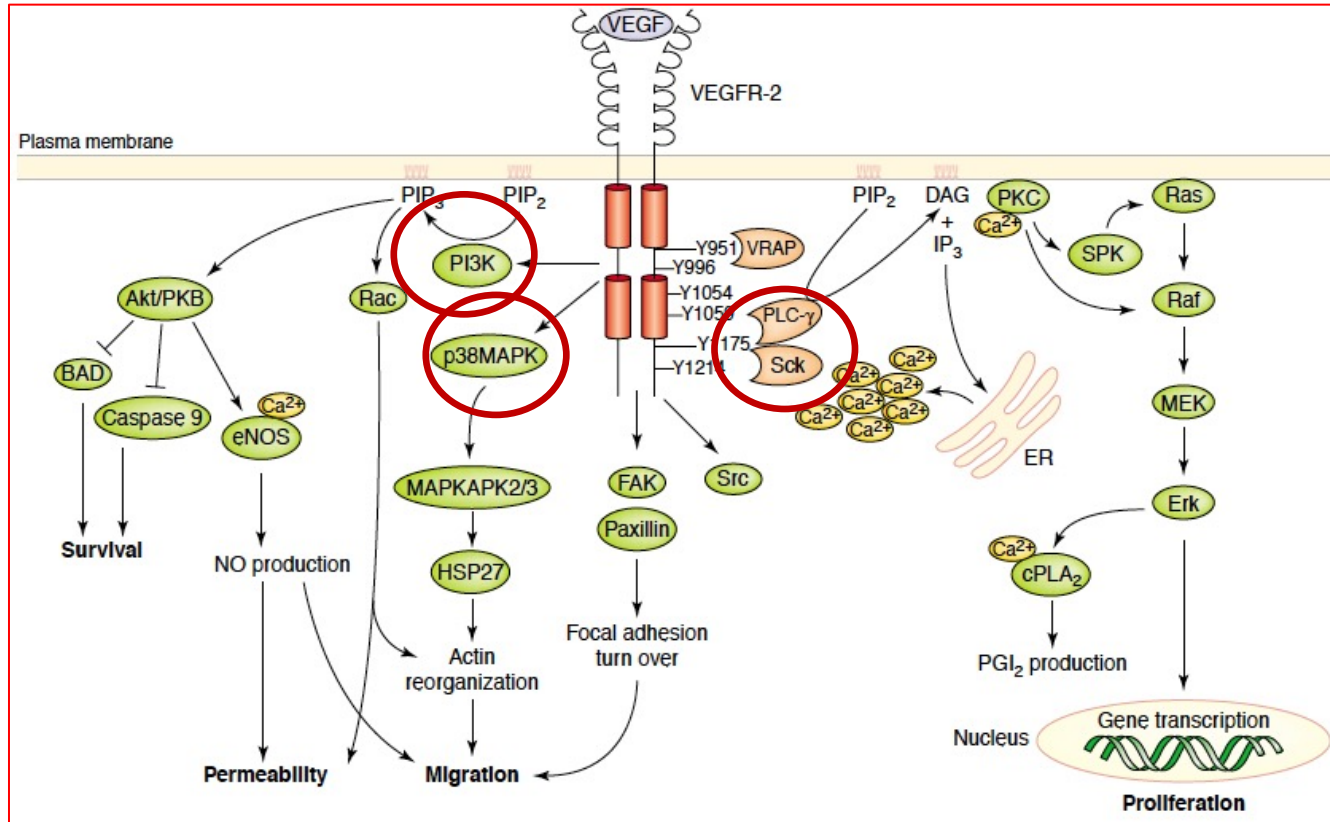
Il VEGF-A è il maggior induttore di angiogenesi dopo danno tissutale e nei tumori.

Nei tumori il VEGF-A è prodotto e secreto dalle cellule tumorali o dalle cellule dello stroma circostanti al tumore.

Il VEGF-A agisce sulle cellule endoteliali legandosi al recettore tirosin chinasi VEGFR-2.

Il VEGF-A appartiene alla famiglia dei fattori di crescita VEGF che include anche il VEGF-B, -C, -D, -E.

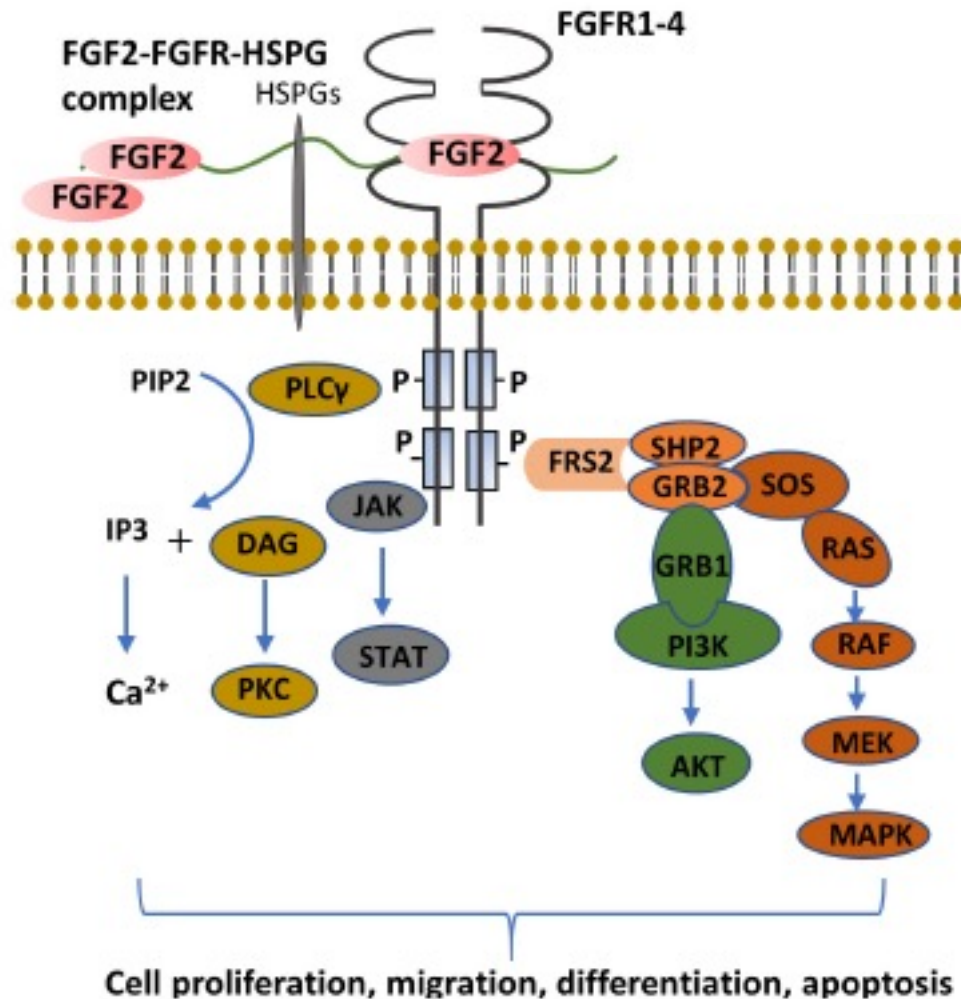
La via di segnalazione del VEGF



Il legame del VEGF al recettore in seguito a dimerizzazione causa l'autofosforilazione dei residui di tirosina della regione intracitoplasmatica del VEGFR2. Il VEGFR fosforilato avvia una serie di vie di segnalazione mediate dalla attivazione della PI3K, p38MAPK e dalla PLC-γ che determinano nelle cellule endoteliali: la migrazione, la proliferazione e la sopravvivenza.

Il VEGF induce l'espressione delle metalloproteasi MMP-2 e MMP-9 che permettono la degradazione della membrana basale e della matrice extracellulare favorendo la gemmazione e la migrazione delle cellule endoteliali.

FGF Fibroblast growth factor



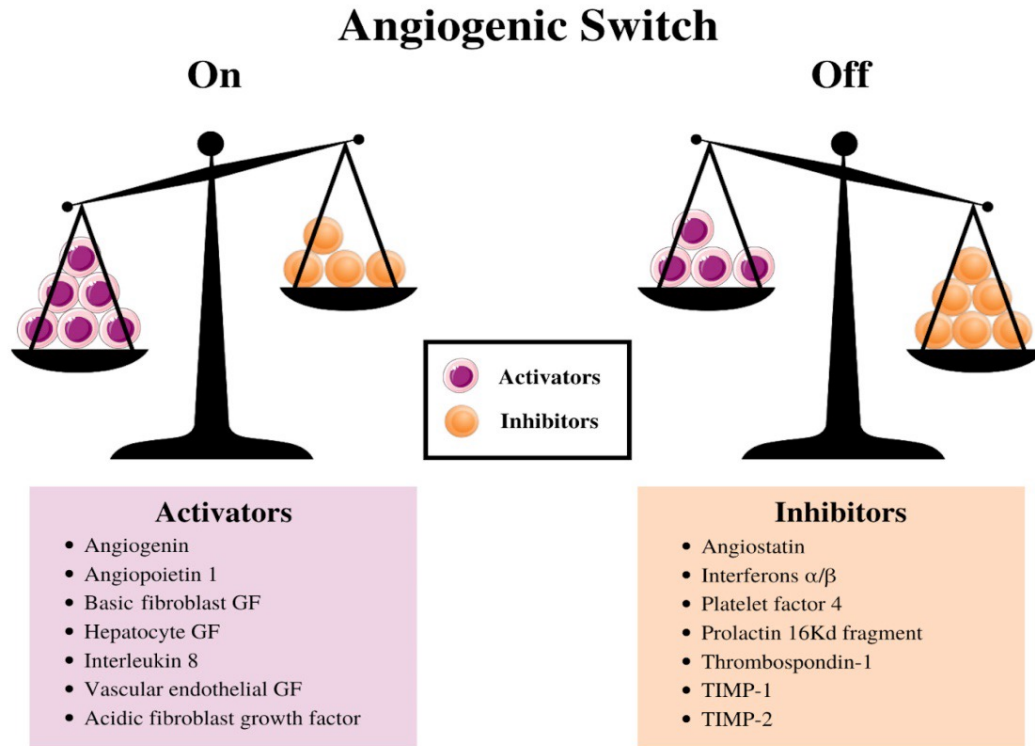
Il fibroblast growth factor 2 (FGF2) è un altro importante fattore pro-angiogenico nella progressione neoplastica. L'FGF 2 attraverso l'interazione con il suo recettore FGFR stimola la migrazione, la proliferazione e la resistenza alla morte delle cellule endoteliali.

La famiglia dei fibroblast growth factor ha più di 20 membri e i più conosciuti sono l'FGF-1 e l'FGF-2.

Questi fattori si legano al recettore che dimerizza e transfosforila i domini intracitoplasmatici. Il maggiore substrato dell'FGFR, FRS2a (FGFR substrate 2a) è fosforilato e recluta le proteine adattatrici SHP2 e GRB2. Questo determina l'attivazione delle MAPK e della via PI3K e AKT. Inoltre sono attivate la JAK e la PLC-γ con conseguente attivazione di STAT e produzione di DAG e IP3.

Un altro fattore che stimola l'angiogenesi è Platelet derived growth factor (PDGF).

Lo switch angiogenico



Dati sperimentali e clinici indicano che la maggior parte dei tumori non induce angiogenesi ma rimane in situ per molti anni.

Successivamente alcune cellule nel tumore acquisiscono un fenotipo angiogenico.

Questo processo prende il nome di switch angiogenico ed è la conseguenza dell'alterato bilancio nella produzione di fattori pro- e anti-angiogenici.

Inibitori dell'angiogenesi

Diversi fattori anti-angiogenici agiscono in modo opposto ai fattori angiogenici.

Costituenti e frammenti proteolitici della matrice extracellulare e della membrana basale agiscono da potenti inibitori dell'angiogenesi.

La trombospondin-1 (TSP1) è una grande proteina presente nella ECM che appartiene alla famiglia di proteine che legano il calcio e può essere prodotta dalle cellule tumorali. TSP1 blocca la migrazione e la proliferazione delle cellule endoteliali.

Un altro inibitore dell'angiogenesi è il prodotto di scissione proteolitica del collagene XVIII definito endostatina.

Altri inibitori sono l'Interferon-alpha e -beta e l'angiostatina, un prodotto di degradazione proteolitica della plasmina. L'angiostatina è prodotta in risposta al tumore ed è secreta dalle piastrine attivate.

Le citochine IL-1 β e IL-4 sono inibitrici dell'angiogenesi.

L'ipossia favorisce l'angiogenesi

L'ipossia è una importante causa di angiogenesi.

L'ipossia induce nelle cellule tumorali l'espressione del fattore inducibile dall'ipossia (HIF) che regola l'espressione di diversi fattori ad azione pro-angiogenica quali il VEGF, l'angiopoietina 1 e 2, il bFGF (basic fibroblast growth factor).

HIF è un eterodimero costituito da HIF- α e HIF-1 β . HIF-1 β è espresso costitutivamente mentre HIF-1 α è indotto dall'ipossia. In condizioni normali i residui di prolina di HIF- α sono idrossilati da idrossilasi ossigeno dipendenti (PHDs) e l'HIF- α idrossilata è degradata dal proteasoma. HIF- α idrossilata è riconosciuta dalla proteina Von Hippel-Lindau (pVHL) che è una E3 ligasi. Inoltre i residui di asparagina di HIF- α sono idrossilati da fattori inibitori HIF (FIHs) che inibiscono il legame di HIF con i coattivatori p300/CREB.

In condizioni di ipossia le attività delle PHD e dei FIH sono sopprese e HIF- α stabilizzata trasloca nel nucleo dove si lega a HIF-1 β (HIF1B) formando un complesso dimerico che aumenta la trascrizione di geni bersaglio.

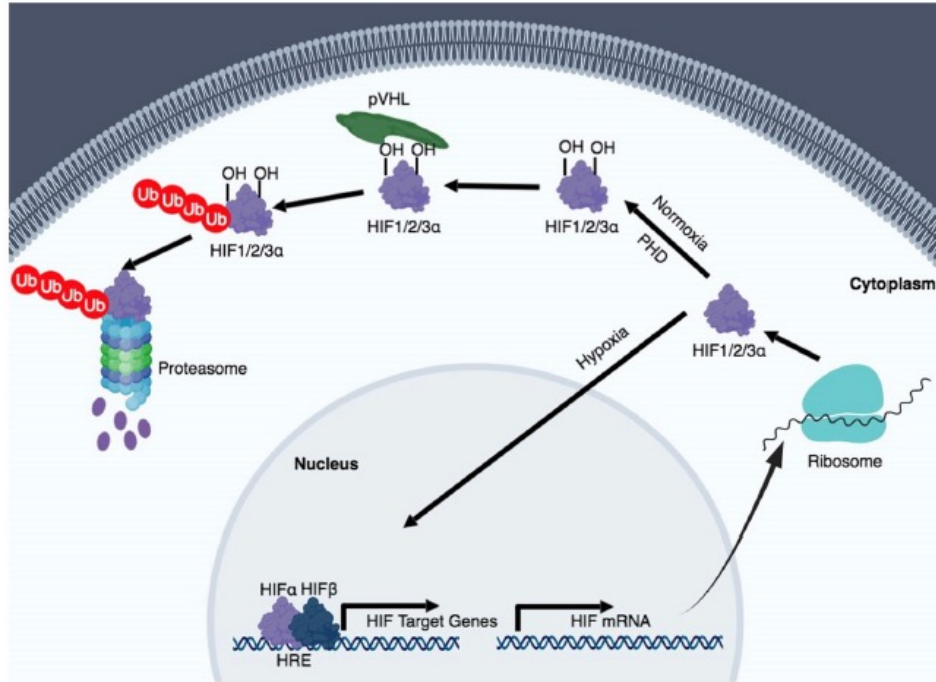
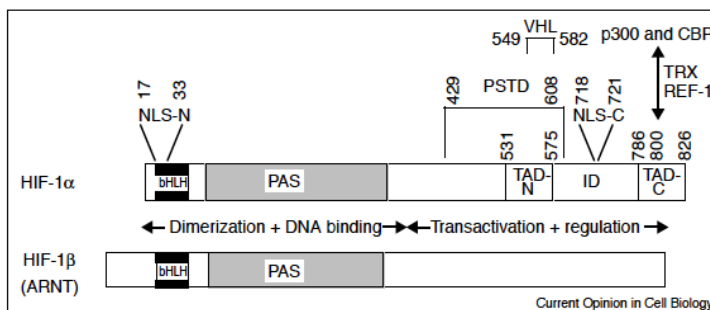
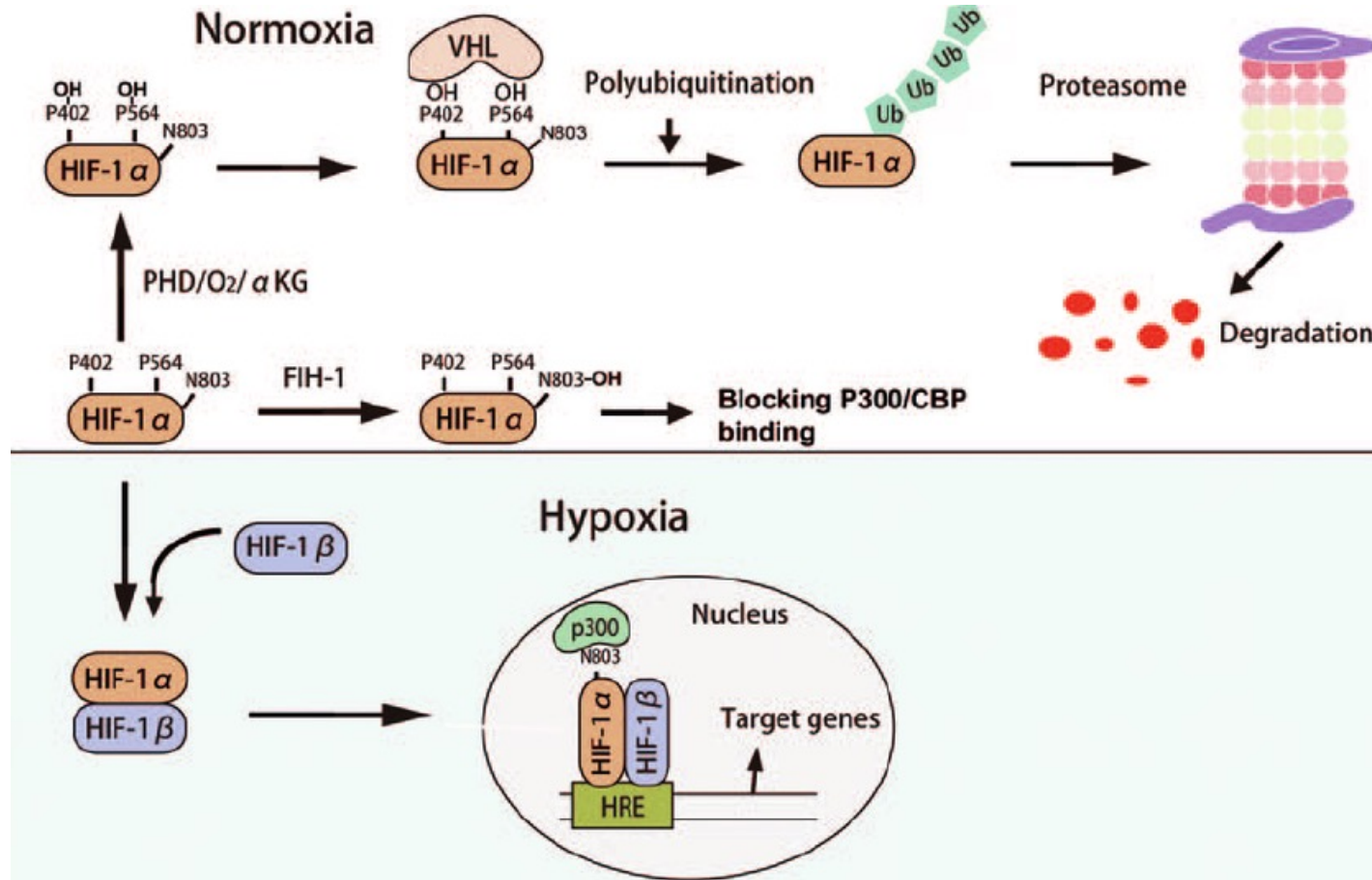


Fig. 1 Hypoxia-inducible factor (HIF) regulation during normoxia and hypoxia. In oxygenated conditions, HIF is hydroxylated on proline residues by prolyl-4-hydroxylases (PHDs) and polyubiquitinated by the von Hippel-Lindau protein (pVHL). This leads to degradation of HIF by the 26S proteasome system. In hypoxic conditions, HIF is stabilized and translocated into the nucleus, where it binds to its dimerization partner HIF1B and enhances the transcription of HIF target genes.



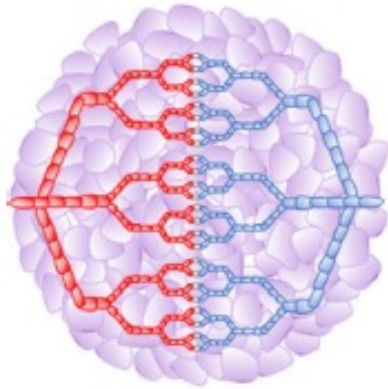
Structure and function of HIF-1. The HIF-1 α and HIF-1 β subunits are shown with the basic helix-loop-helix (bHLH) and PER-ARNT-SIM (PAS) domains that are required for dimerization and DNA binding. Also shown for HIF-1 α are the amino-terminal (N) and carboxy-terminal (C) nuclear localization signal (NLS) and TAD; the Pro-Ser-Thr rich protein stabilization domain (PSTD; also known as the oxygen-dependent degradation domain); and sites of interaction with VHL, and p300 and CBP. The double-headed arrow indicates that reduction of Cys800, which is mediated by thioredoxin (TRX) and redox factor 1 (REF-1), is required for the interaction of TAD-C with cofactor p300 or CBP. The relevant amino acid residues are indicated numerically. See text and [29] for additional details and references.

Il pathway HIF regola l'espressione di fattori pro-angiogenici

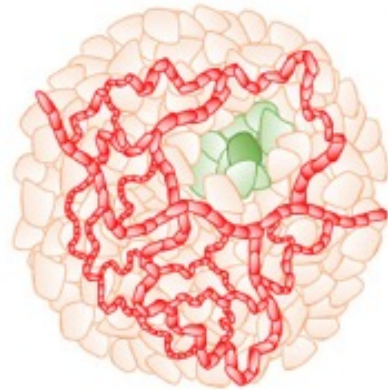


La via dell'HIF regola l'espressione di diversi geni pro-angiogenici quali il VEGF, il bFGF il PDGF. Inoltre HIF1A è associato con l'up-regolazione di geni della glicolisi come la lattato deidrogenasi per fare in modo che la cellula si adatti alla privazione di ossigeno e alla sintesi anaerobica di ATP.

Angiogenesi tumorale



Normal vasculature



Tumor vasculature

Rispetto ai normali vasi, i vasi del tumore sono tortuosi e di forma irregolare. Mentre arteriole capillari e venule sono chiaramente distinguibili nei vasi normali nei vasi del tumore sono disorganizzati e indistinguibili.

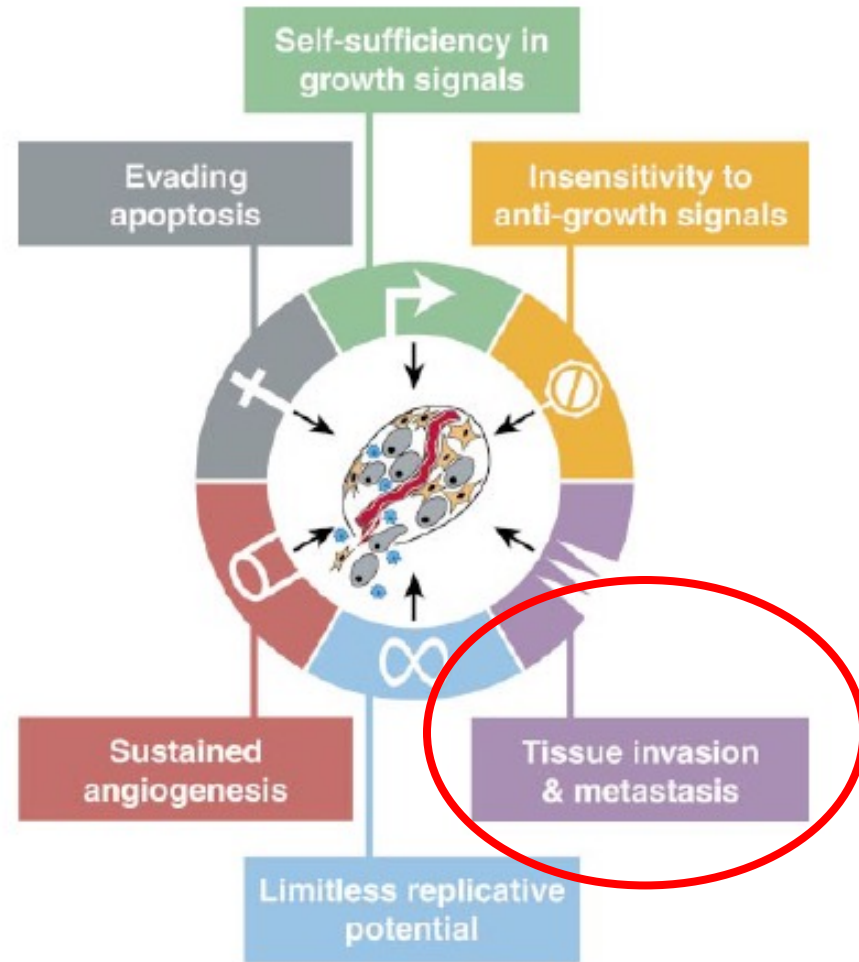
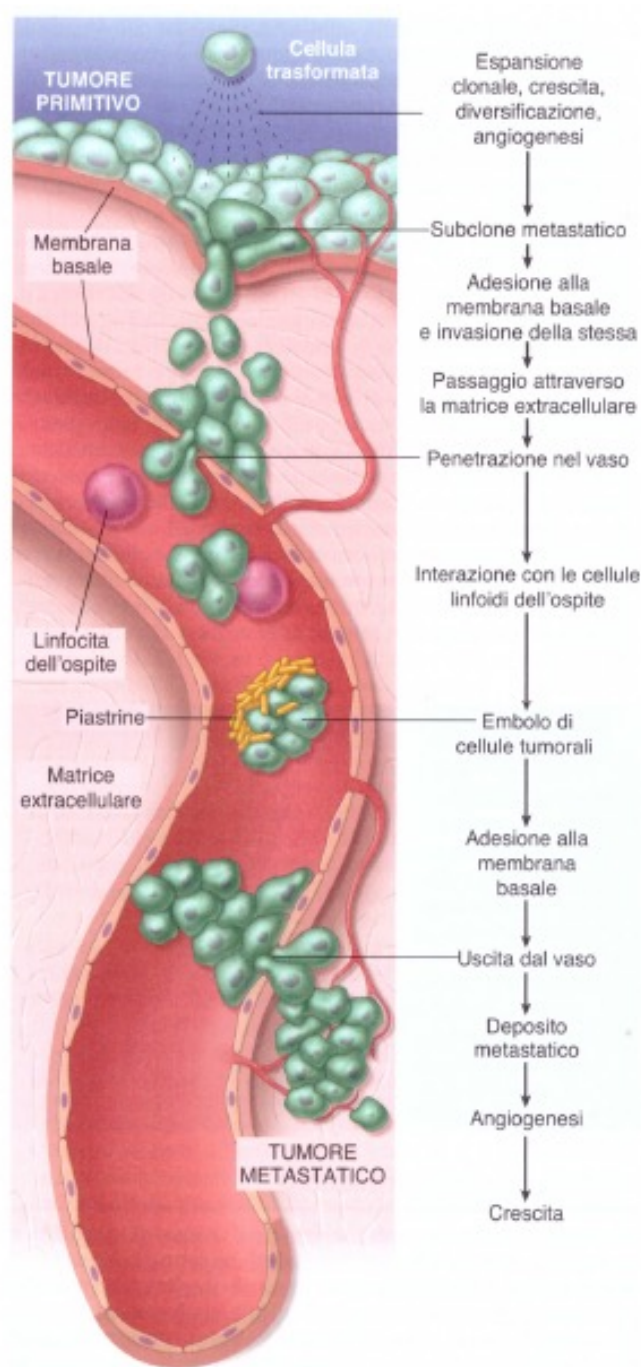


Figure 1. Acquired Capabilities of Cancer

We suggest that most if not all cancers have acquired the same set of functional capabilities during their development, albeit through various mechanistic strategies.

Capacità di invasione e metastatizzazione



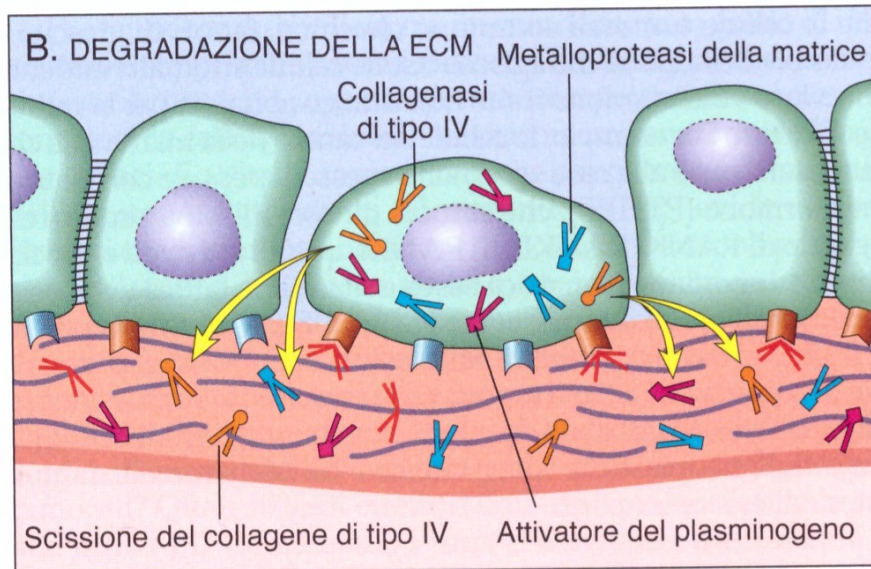
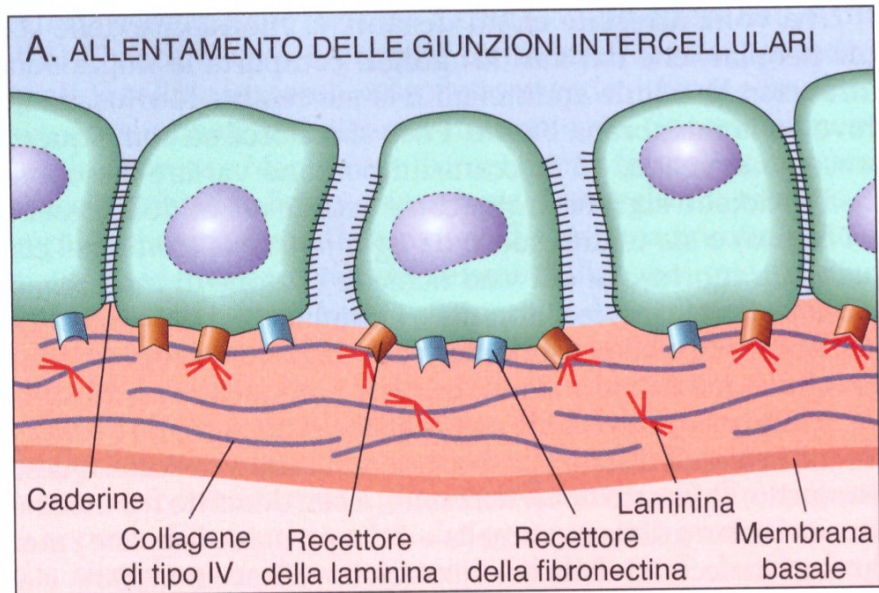
La diffusione dei tumori implica una serie di processi sequenziali indicati come cascata di invasione e metastasi. Questi processi prevedono che le cellule tumorali: i) invadano i tessuti locali; ii) penetrino nei vasi ematici e linfatici (intravasazione); iii) transitino lungo i vasi; iv) fuoriuscano dai vasi, v) formino metastasi.

I tessuti sono organizzati in compartimenti separati dalla matrice extracellulare (ECM) che costituisce le membrane basali e il tessuto connettivo interstiziale.

Le cellule tumorali devono interagire con la ECM nelle diverse fasi della cascata metastatica.

Figura 7.34 Cascata metastatica. Tappe sequenziali implicate nella diffusione ematogena di un tumore.

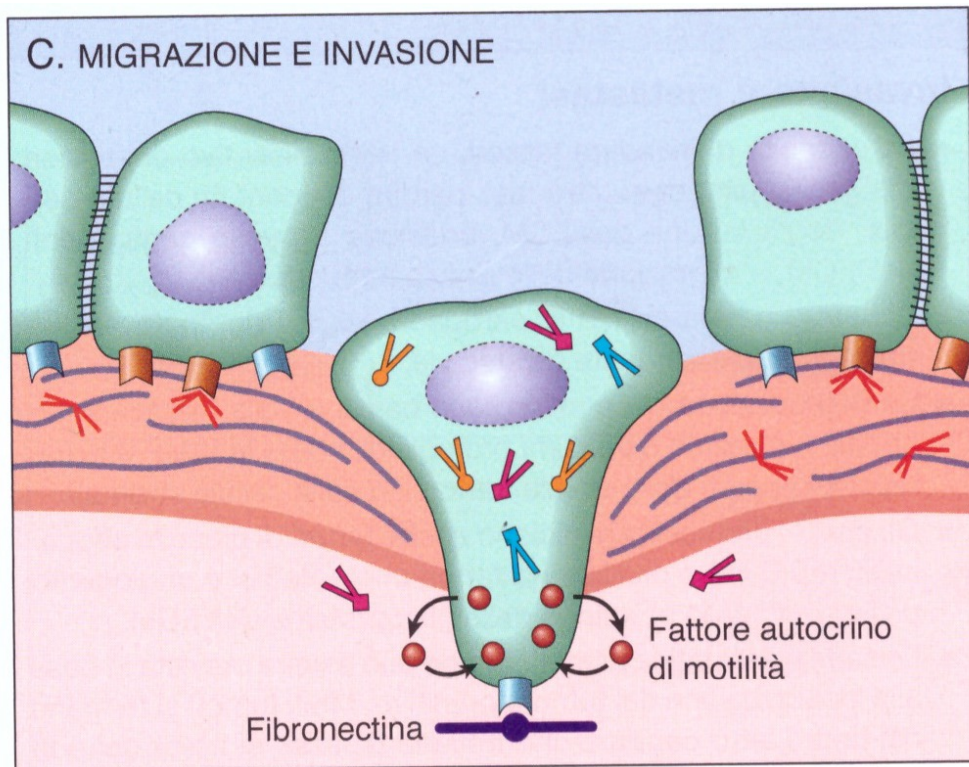
Invasione della matrice extracellulare



i) la prima fase nella cascata metastatica è **la perdita di adesione fra le cellule tumorali**. Le cellule normali sono strettamente adese fra di loro. L'adesione fra le cellule epiteliali è anche mediata dalla adesione omotipica delle caderine.

Nella maggior parte dei tumori delle cellule epiteliali la funzione della E-caderina viene persa. Mutazioni inattivanti la E-caderina sono state riportate per i tumori del seno, dello stomaco e dell'ovaio. In altri tumori è stato ipotizzato che la E-caderina sia silenziata attraverso la transizione epiteliale-mesenchimale (EMT). Questa transizione è definita dalla down regolazione delle molecole tipiche delle cellule epiteliali (es: E-caderina) e l'up-regolazione di marcatori mesenchimali (es: vimentina e actina).

ii) la seconda fase prevede la **degradazione locale della membrana basale e del tessuto connettivo interstiziale**. Diverse famiglie di proteasi sono implicate in questo processo e includono: le metallo proteasi (MMP9), la catepsina D, e l'attivatore del plasminogeno. Queste possono essere prodotte dalle cellule tumorali o dalle cellule dello stroma.



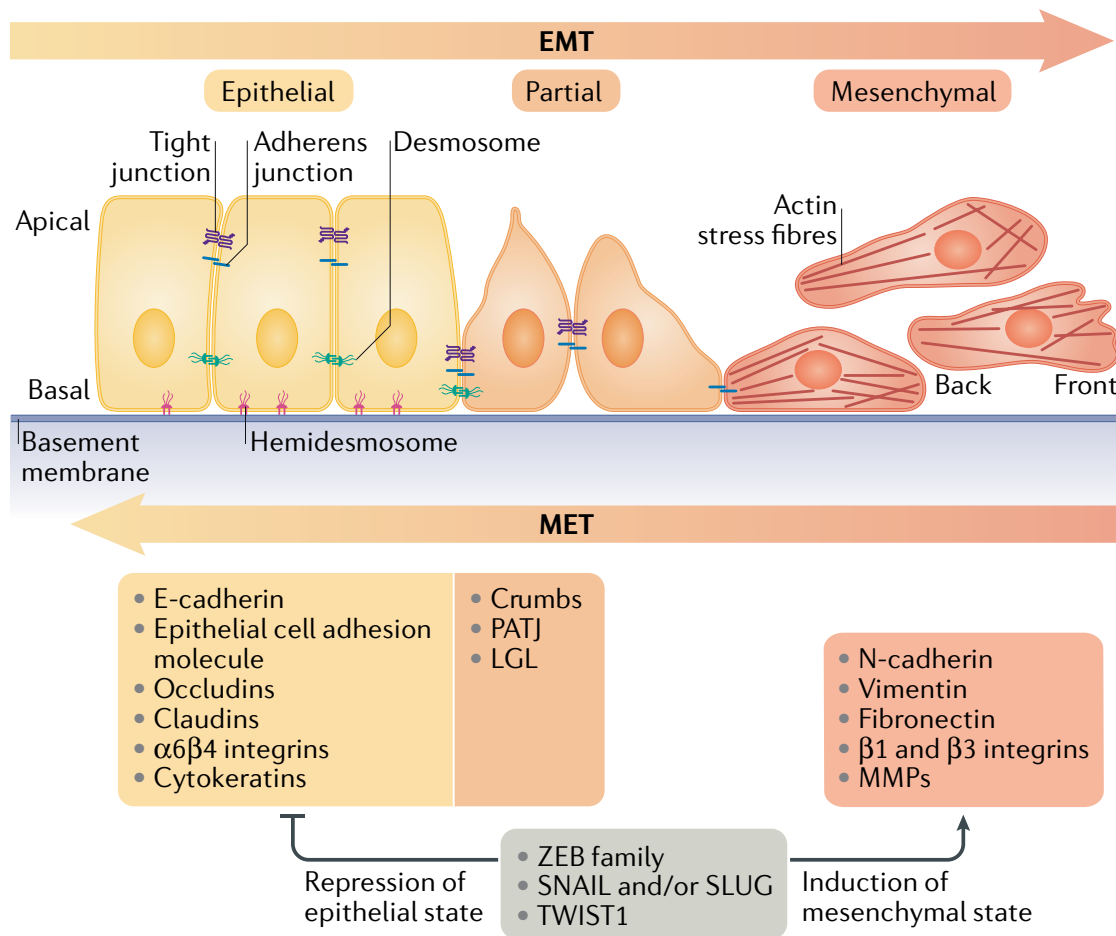
iii) Nelle cellule epiteliali normali l'interazione fra le integrine e le molecole della membrana basale quali la laminina e il collagene contribuiscono a mantenere le cellule in uno stato di quiescenza. In tali cellule la perdita dell'adesione determina la morte cellulare per apoptosi. Le cellule tumorali presentano cambiamenti nella espressione delle integrine e sono resistenti alla morte indotta dalla perdita di adesione.

Il taglio delle proteine della matrice extracellulare da parte di MMP-2 e MMP-9 crea nuovi siti nei frammenti di collagene e della laminina della membrana basale che si legano alle cellule tumorali stimolandone la **migrazione**.

iv) le cellule tumorali sono spinte attraverso la membrana basale e le aree degradate della matrice extracellulare sotto l'azione di citochine prodotte dalle cellule tumorali o di prodotti del taglio proteolitico della ECM (collagene, laminina) o di fattori di crescita come l'insulin like growth factor (IGF).

Un altro tipo di motilità è stato attribuito alla temporanea conversione derivata dalla transizione epitelio mesenchimale che determina il distacco delle cellule tumorali e l'acquisizione della capacità delle cellule di migrare.

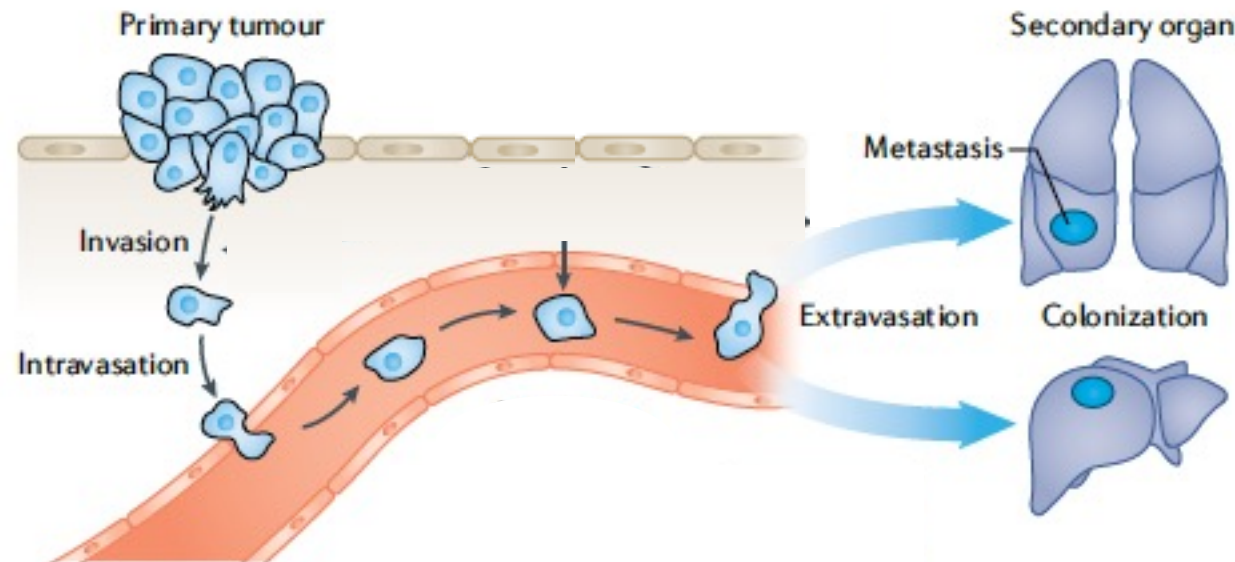
Transizione epitelio mesenchimale



Normalmente le cellule che formano lo strato epiteliale nei diversi tessuti dell'organismo presentano una polarità apicale-basale e sono tenute insieme lateralmente da giunzioni strette, giunzioni aderenti e desmosomi. Le cellule epiteliali interagiscono con la membrana basale attraverso gli emidesmosomi e le integrine $\alpha 6 \beta 4$. Le giunzioni aderenti sono costituite dalle molecole E-caderine.

L'induzione della transizione epitelio mesenchimale (EMT) induce l'espressione di fattori trascrizionali che inibiscono l'espressione di geni che codificano per molecole caratteristiche degli epitelii (giallo) e attivano l'espressione di geni caratteristici delle cellule mesenchimali (arancione scuro). Questo determina cambiamenti nelle cellule che includono il disassemblaggio delle giunzioni cellula-cellula e la perdita della polarità basale apicale. Durante l'EMT le cellule diventano mobili e acquisiscono le capacità invasive. L'EMT è controllata da fattori di trascrizione quali ZEB1 e ZEB2, SNAIL e TWIST.

Disseminazione vascolare



Disseminazione: le cellule tumorali raggiungono il circolo sanguigno e fuoriescono dai vasi dopo aver aderito all'endotelio, degradato la membrana basale e raggiunto il parenchima dell'organo.

La distribuzione delle metastasi può dipendere da:

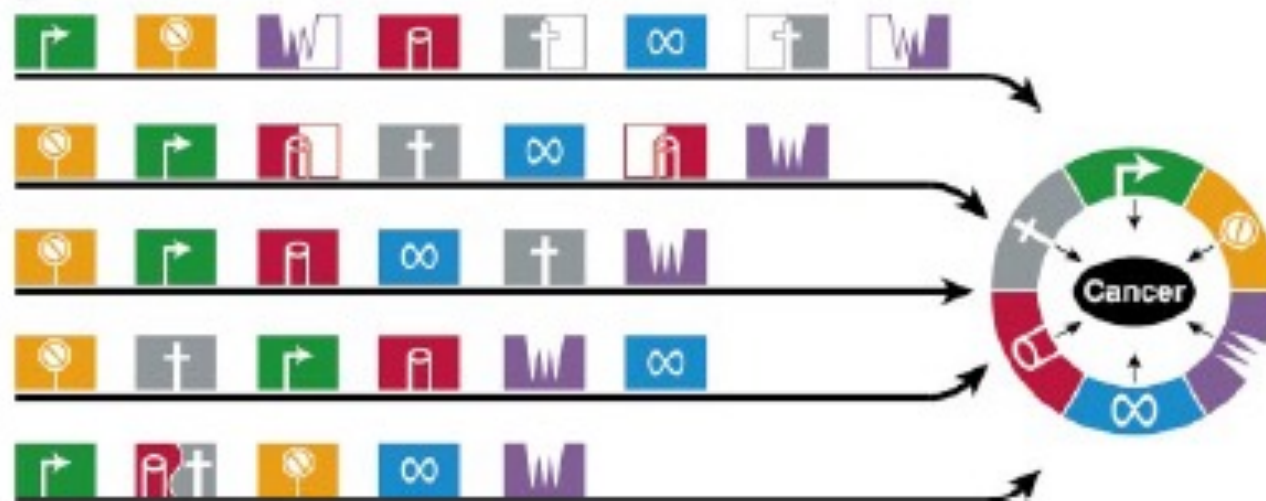
- l'espressione di molecole di adesione da parte dei tumori i cui ligandi sono espressi sulla superficie delle cellule endoteliali dell'organo bersaglio
- espressione di chemochine e recettori

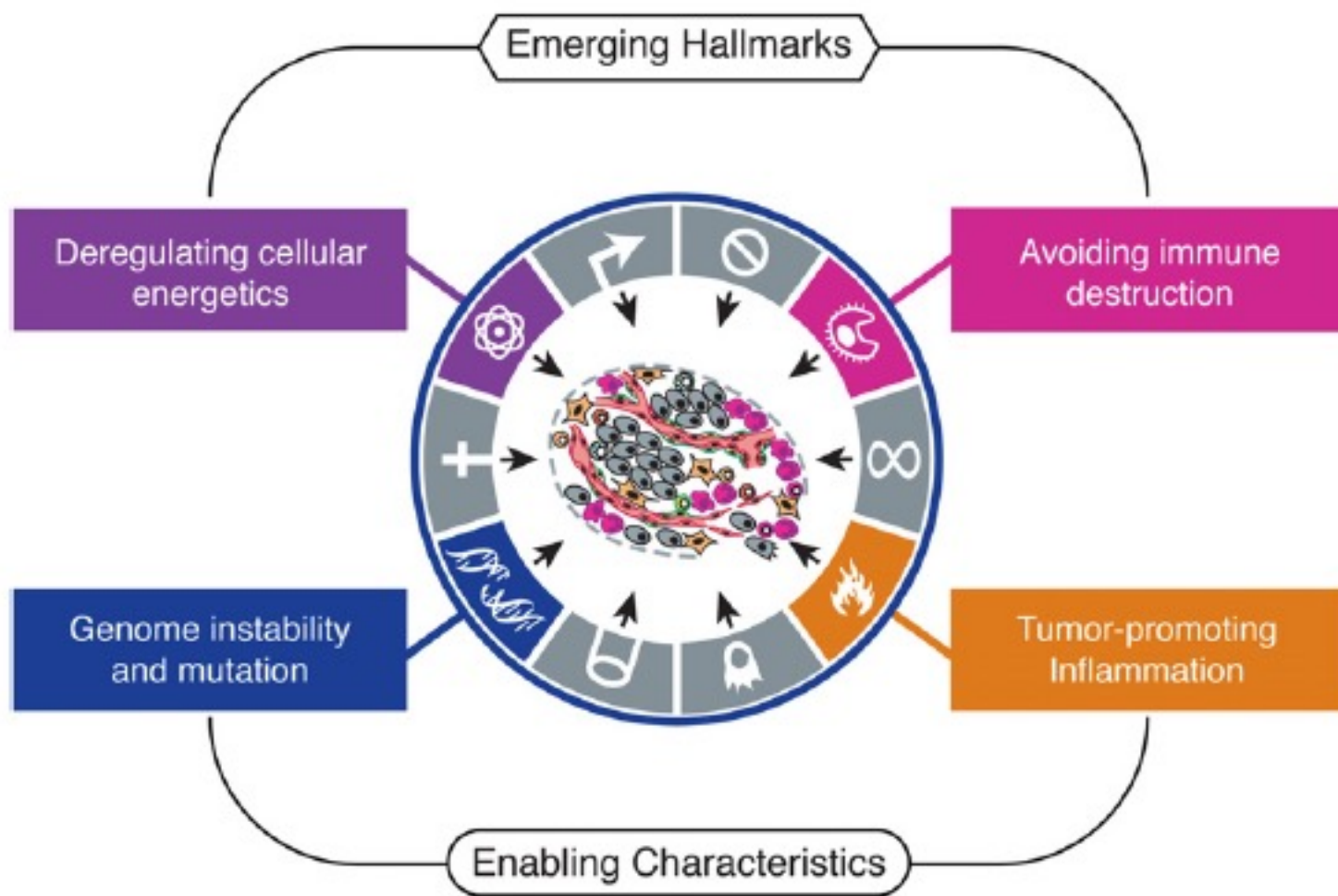
Vie parallele nella tumorigenesi

A

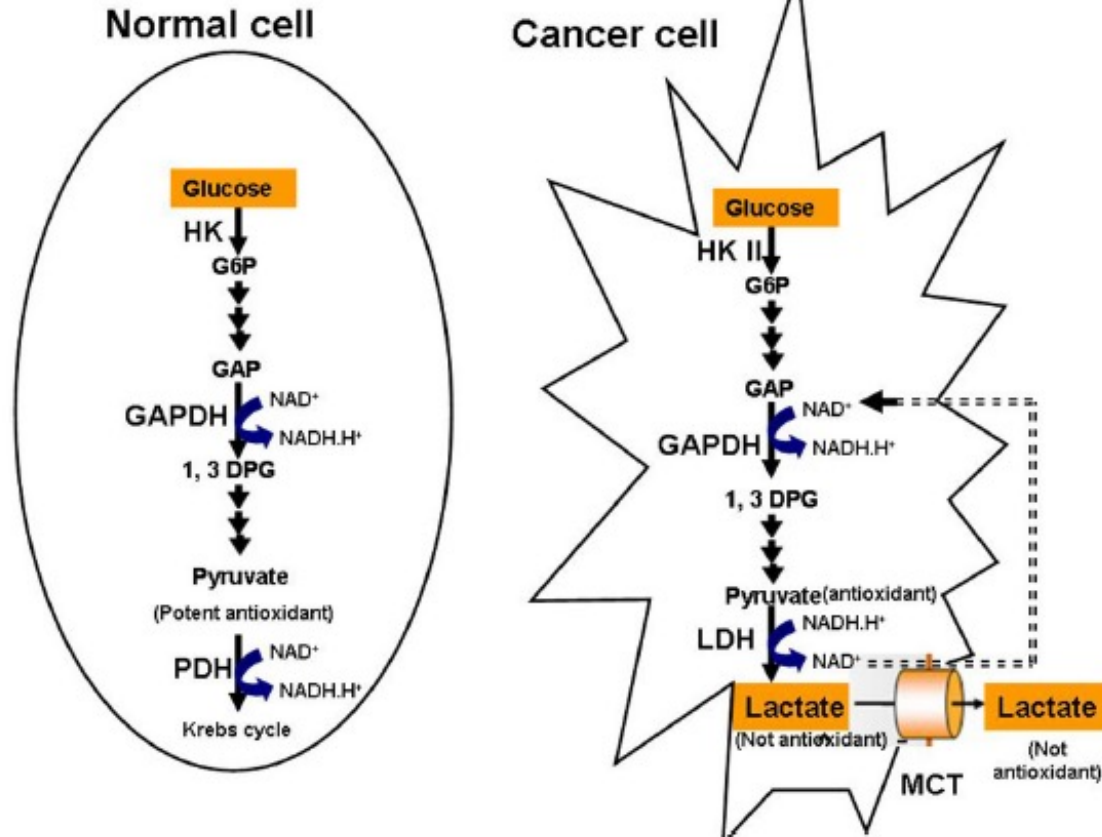
Component	Acquired Capability	Example of Mechanism
	Self-sufficiency in growth signals	Activate H-Ras oncogene
	Insensitivity to anti-growth signals	Lose retinoblastoma suppressor
	Evading apoptosis	Produce IGF survival factors
	Limitless replicative potential	Turn on telomerase
	Sustained angiogenesis	Produce VEGF inducer
	Tissue invasion & metastasis	Inactivate E-cadherin

B



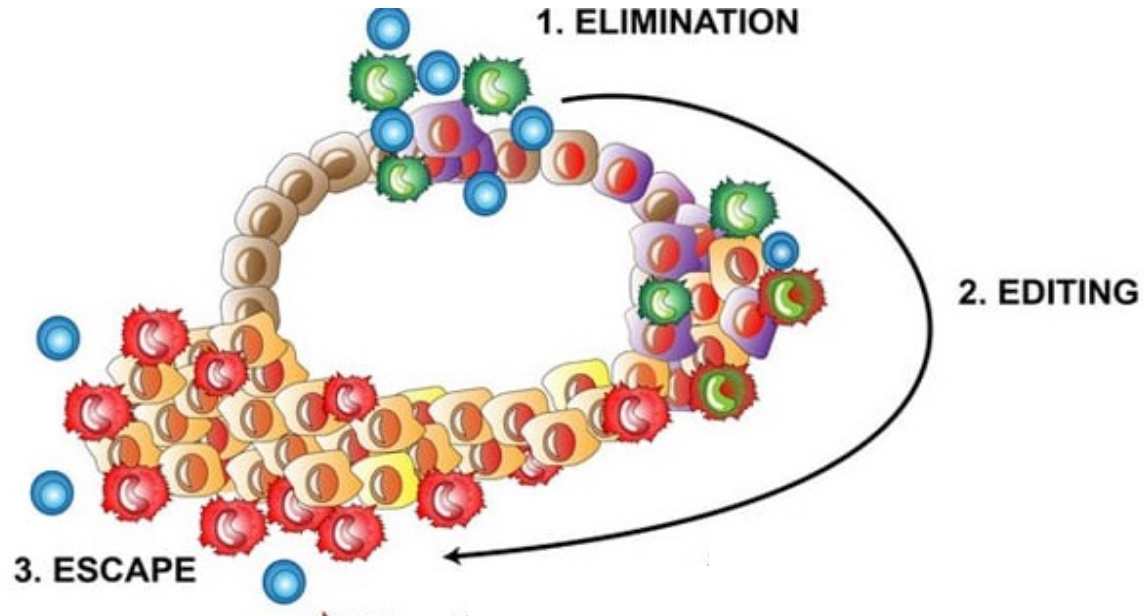


Riprogrammazione del metabolismo energetico



Le cellule tumorali hanno un modo diverso di metabolizzare il glucosio rispetto alle cellule normali. Anche in presenza di abbondante ossigeno le cellule tumorali metabolizzano il glucosio a lattato che è rilasciato nell'ambiente tumorale. Questo processo è detto effetto Warburg. Nelle cellule normali invece il glucosio viene metabolizzato in piruvato che è trasformato in acetyl CoA che entra nel ciclo di Krebs. La glicolisi è meno efficiente della fosforilazione ossidativa mitocondriale nel produrre ATP poiché produce 2 molecole di ATP per una di glucosio rispetto alle 36 prodotte dalla via mitocondriale. I tumori che adottano la glicolisi aerobica sono i tumori a crescita più rapida

Elusione del sistema immunitario



Il sistema immunitario è in grado di eliminare le cellule tumorali. Queste però hanno sviluppato diversi meccanismi per evitare di essere riconosciute dai linfociti T e per sviluppare un ambiente in grado di sopprimere la risposta immune.

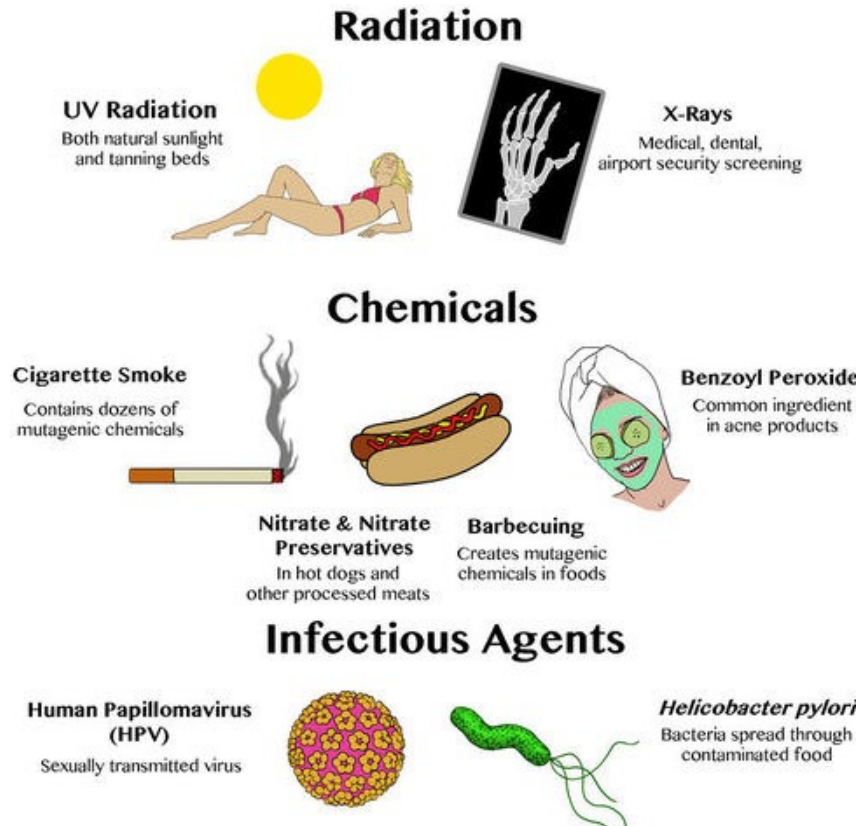
L'instabilità genomica favorisce la trasformazione e la progressione neoplastica

L'acquisizione delle sei capacità tipiche delle cellule tumorali avviene attraverso l'accumulo di successive alterazioni del genoma.

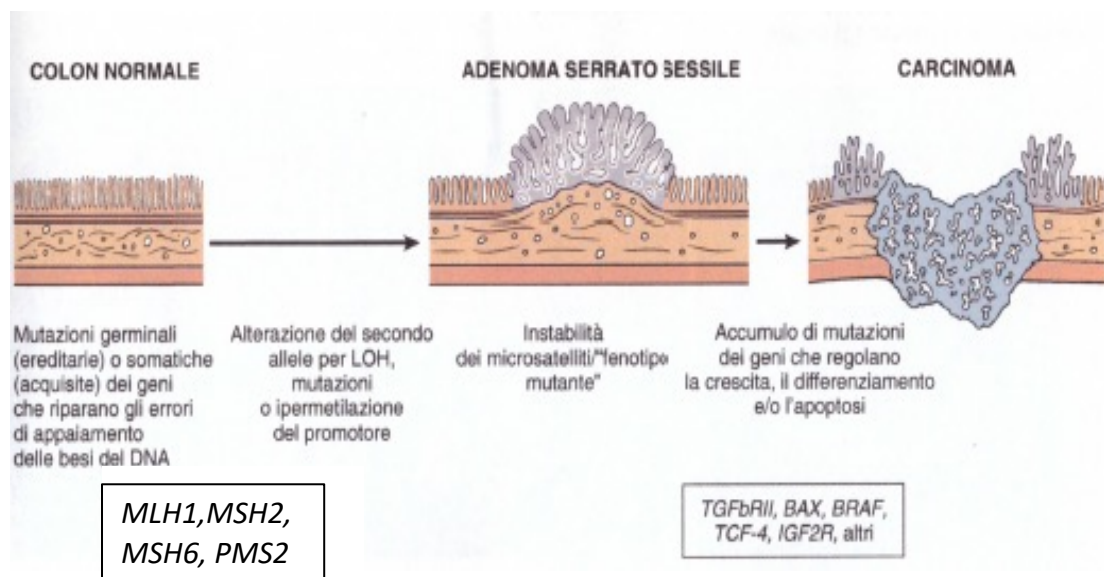
I meccanismi di riparo del DNA garantiscono il mantenimento dell'integrità del genoma che è costantemente esposto ad agenti mutageni che includono gli agenti fisici, chimici e biologici.

Gli individui affetti da disordini ereditari in cui sono difettosi i geni che codificano per proteine implicate nella riparazione del DNA presentano un rischio molto più elevato di sviluppare tumori.

Difetti al livello di diversi meccanismi di riparazione del DNA sono stati osservati nelle cellule tumorali e includono difetti della riparazione degli errori di appaiamento, della riparazione per escissione e della ricombinazione.



Sindrome del tumore ereditario del colon non-polipoide

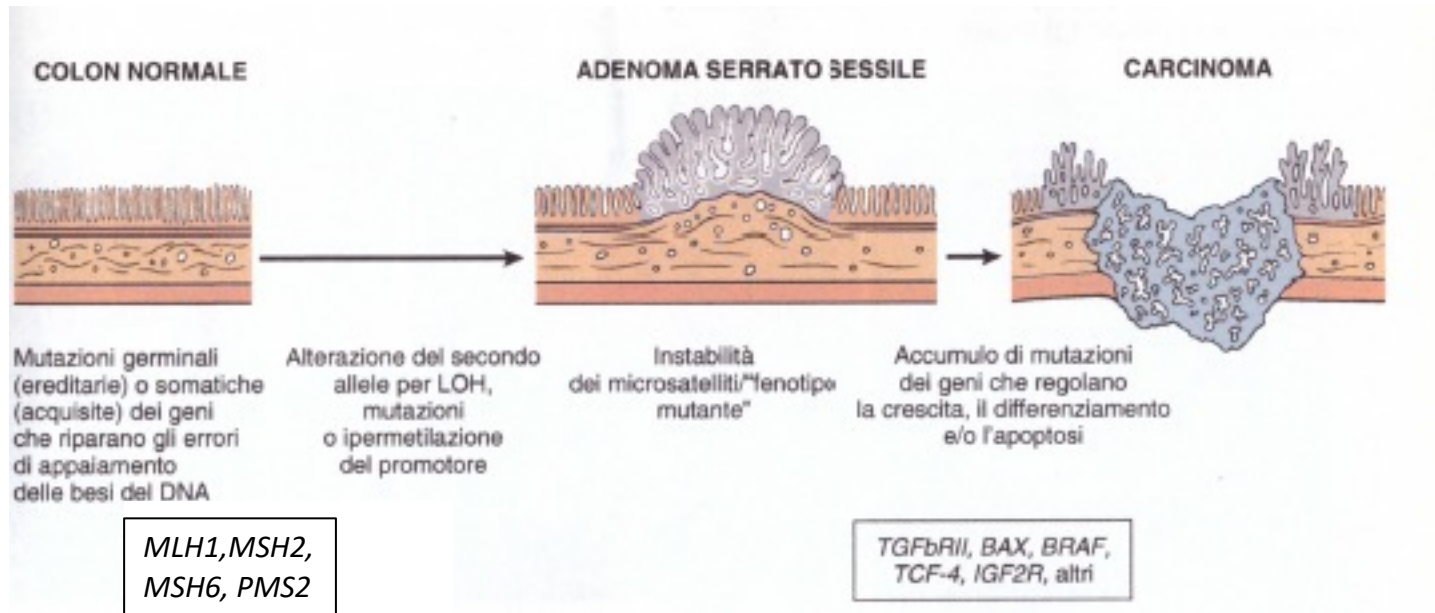


La sindrome del carcinoma del colon ereditario non associato a poliposi (Hereditary nonpolyposis colorectal cancer; HNPCC) detta anche sindrome di Lynch è caratterizzata dallo sviluppo di carcinomi del colon. Questa malattia è causata da difetti dei geni che correggono gli errori di appaiamento del DNA. In assenza di questi correttori si accumulano errori con frequenza aumentata. E' la forma più frequente di tumore ereditario del colon (2-5%) e più del 90% dei tumori colon-rettali nei pazienti affetti da HNPCC dimostrano instabilità dei microsatelliti (MSI-H).

L'instabilità dei microsatelliti è caratteristica dei difetti di riparazione degli errori di appaiamento.

I microsatelliti sono regioni genomiche in cui corte sequenze di DNA sono ripetute. Nel genoma umano ci sono centinaia di migliaia di microsatelliti. Durante la replicazione il non corretto allineamento delle sequenze può favorire l'insorgenza di mutazioni con conseguente instabilità. Il meccanismo di riparo del mismatch normalmente corregge queste anomalie ma in presenza di difetti delle componenti del mismatch come avviene nei pazienti affetti dalla sindrome di Lynch si osserva instabilità dei satelliti che rappresenta anche un marcatore dei difetti di riparazione di questo tipo.

Alterazioni istologiche e molecolari



Il cancro del colon retto nei pazienti con HNPCC ha esordio più precoce rispetto alle forme sporadiche.

Nei pazienti con deficit degli enzimi che correggono gli errori di appaiamento, le mutazioni si accumulano nelle regioni ripetitive dei microsatelliti.

Tali mutazioni sono generalmente silenti in alcuni casi però queste regioni si trovano in regioni codificanti o nei promotori dei geni che regolano la crescita o il differenziamento o l'apoptosi come quelli che codificano per il TGFRII, BAX, BRAF causando il tumore.

Tumore del seno e mantenimento dell'integrità del genoma

L'importanza dei geni implicati nella riparazione del DNA nell'insorgenza dei tumori è dimostrata dagli studi sulla forma familiare di tumore del seno. Mutazioni a carico di BRCA1 e BRCA2 sono associate alle forme di tumore del seno ereditarie e a circa il 30-40% delle forme sporadiche.

Negli Stati Uniti il rischio di una donna di sviluppare un tumore del seno nella vita è del 12%. Nelle donne che presentano mutazioni in BRCA1 o BRCA2 questo rischio sale fino al 72%. Il tumore del seno associato con mutazioni in BRCA1 o BRCA2 si sviluppa nelle donne giovani. BRCA1 e BRCA2 fanno parte delle proteine implicate nel riparo del DNA attraverso ricombinazione omologa in seguito a rotture del doppio filamento di DNA.

Le donne con mutazioni di *BRCA1* or *BRCA2* hanno anche un maggiore rischio di sviluppare tumore dell'ovaio, colon, pancreas e melanoma.

GENOME MAINTAINANCE PATHWAYS



Malattie da difetti di riparazione del DNA per ricombinazione omologa

Un gruppo di disordini autosomici recessivi che comprendono la sindrome di Bloom e l'atassia teleangectasia sono caratterizzati dalla ipersensibilità ad agenti che danneggiano il DNA come le radiazioni ionizzanti che causano rotture del doppio filamento di DNA.

Il fenotipo di queste patologie è complesso e include oltre che la predisposizione allo sviluppo di tumori altre patologie come quelle neurologiche nella atassia-teleangectasia o difetti nello sviluppo nella sindrome di Bloom.

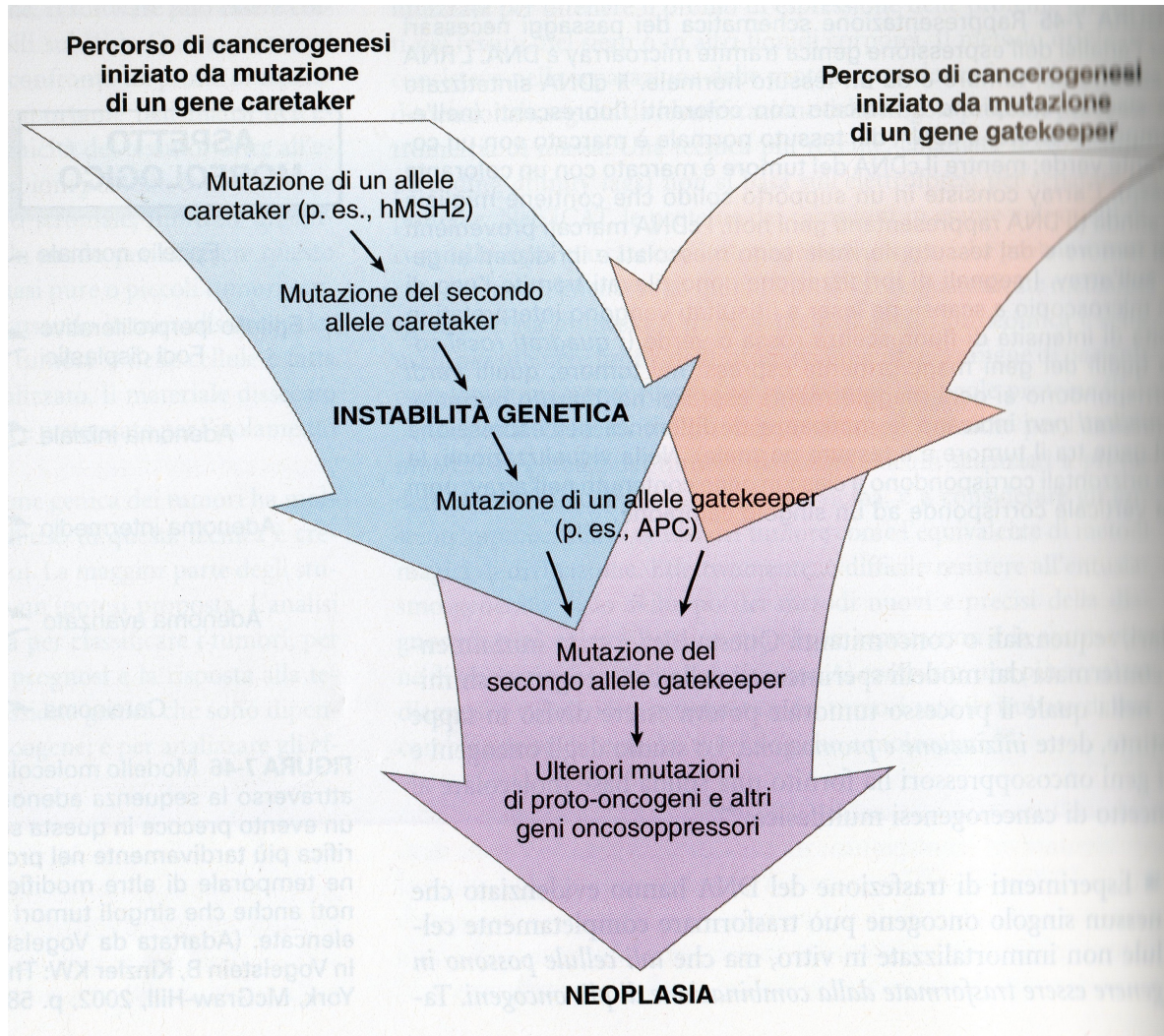
L'atassia teleangectasia è causata da mutazioni in ATM mentre la sindrome di Bloom è dovuta alle mutazioni del gene *BLM* (15q26.1), che codifica per la DNA elicasi RecQ13, un enzima coinvolto nel mantenimento dell'integrità del genoma.

Xeroderma pigmentoso

I pazienti affetti da xeroderma pigmentoso hanno un rischio aumentato di sviluppare tumori della cute in seguito ad esposizione ai raggi solari.

I raggi ultravioletti causano legami crociati nei residui di pirimidina i quali alterano la replicazione del DNA. Questo danno al DNA è riparato dal sistema di riparazione per escissione nucleotidica. Mutazioni in nove geni sono state implicate.

L'instabilità genetica favorisce l'entrata della cellula nel percorso di cancerogenesi



I geni che non controllano direttamente la crescita tumorale ma influenzano la stabilità genomica sono definiti “caretaker”. A questa categoria appartengono i geni della riparazione del DNA. La perdita dei geni caretaker porta ad un incremento delle mutazioni a carico di tutti i geni. Negli individui con mutazioni somatiche dei geni caretaker sono necessarie mutazioni successive nelle cellule somatiche per iniziare la trasformazione neoplastica.