

Basi molecolari dei tumori

Il cancro ha origine dall'accumulo di alterazioni genetiche in un precursore cellulare.

Alcuni aspetti genetici sono in comune a tutte le neoplasie:

- *Il tumore è formato dall'espansione clonale di un singolo precursore cellulare che ha subito diverse lesioni genetiche*
- *Il danno genetico non letale è alla base della cancerogenesi.* I danni genetici possono essere causati dall'azione di agenti ambientali (radiazioni, sostanze chimiche) o ereditari. Alcune mutazioni possono essere spontanee e casuali.
- *La cancerogenesi è un processo progressivo (multistep) a livello fenotipico e genetico.* La neoplasia maligna ha diverse caratteristiche fenotipiche come l'eccessiva crescita, l'invasività locale e la capacità di metastatizzare. Queste caratteristiche sono acquisite in maniera graduale attraverso un processo denominato progressione tumorale. A livello molecolare la progressione tumorale deriva dall'accumulo di lesioni genetiche.
- *I principali bersagli dei danni genetici interessano classi di geni implicati nella proliferazione cellulare come i proto-oncogeni e gli oncosoppressori, geni che regolano l'apoptosi e geni coinvolti nel riparo del DNA.*

Tappe della carcinogenesi

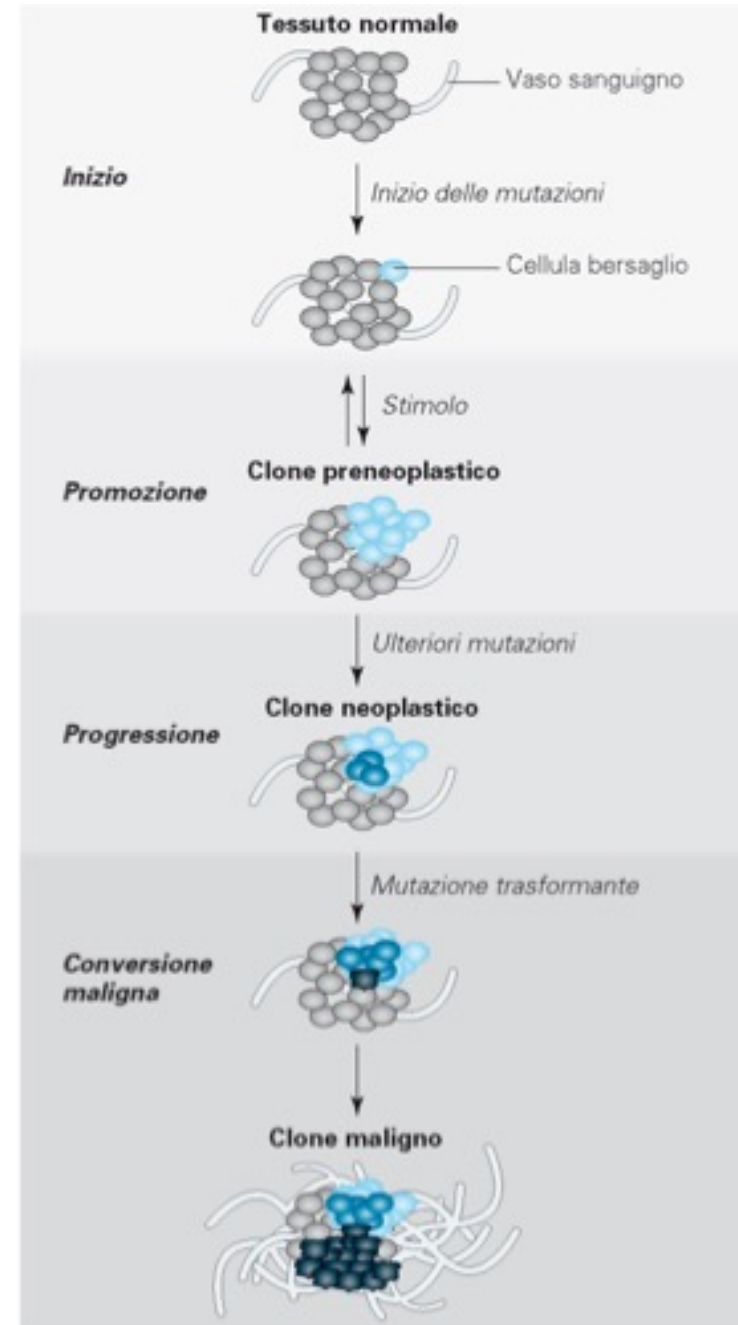
Quattro fasi della carcinogenesi:

Inizio: il DNA della cellula muta introducendo un errore che non viene riparato e altera la sequenza di una proteina coinvolta nella regolazione della crescita, del differenziamento o dell'apoptosi (cellula bersaglio o di origine del tumore).

Promozione: esposizione della cellula a uno stimolo che ne permette la proliferazione selettiva. Processo reversibile (clone preneoplastico).

Progressione: Insorgenza di mutazioni secondarie che riguardano geni che controllano la crescita, il differenziamento e l'apoptosi (clone neoplastico)

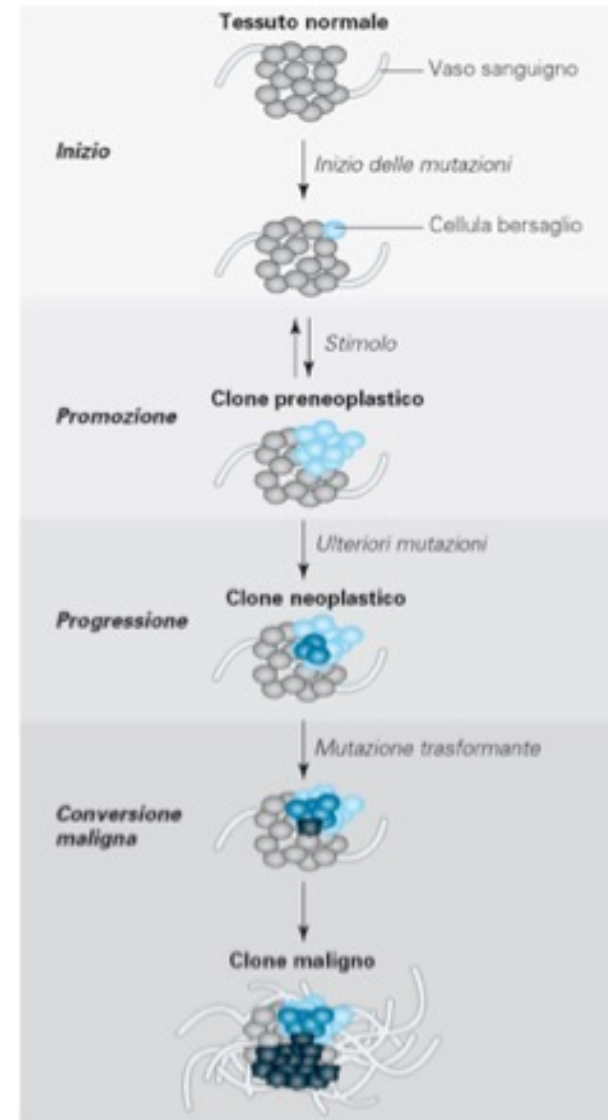
Trasformazione maligna: acquisizione di una mutazione trasformante che la spinge ad adottare una crescita invasiva.



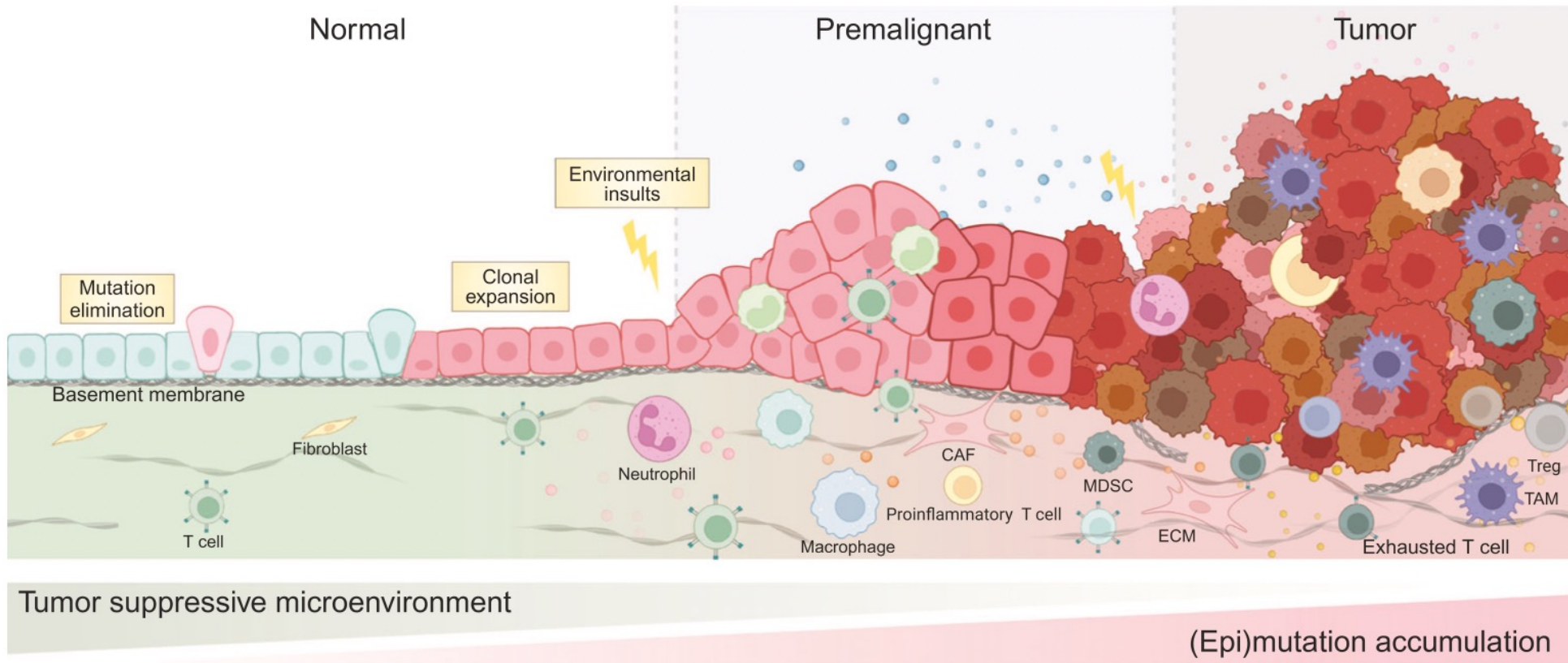
Le cellule mutate e maligne danno origine a cellule che crescono in modo totalmente sregolato e danno origine al tumore primario.

Per crescere al di sopra di una dimensione minima il tumore primario deve indurre la formazione di nuovi vasi sanguigni in grado di portare sostanze nutritive all'interno della massa tumorale.

Questo processo definito angiogenesi è guidato da molecole secrete sia dal tumore primario che dalle cellule stromali circostanti.



Tappe della tumorigenesi



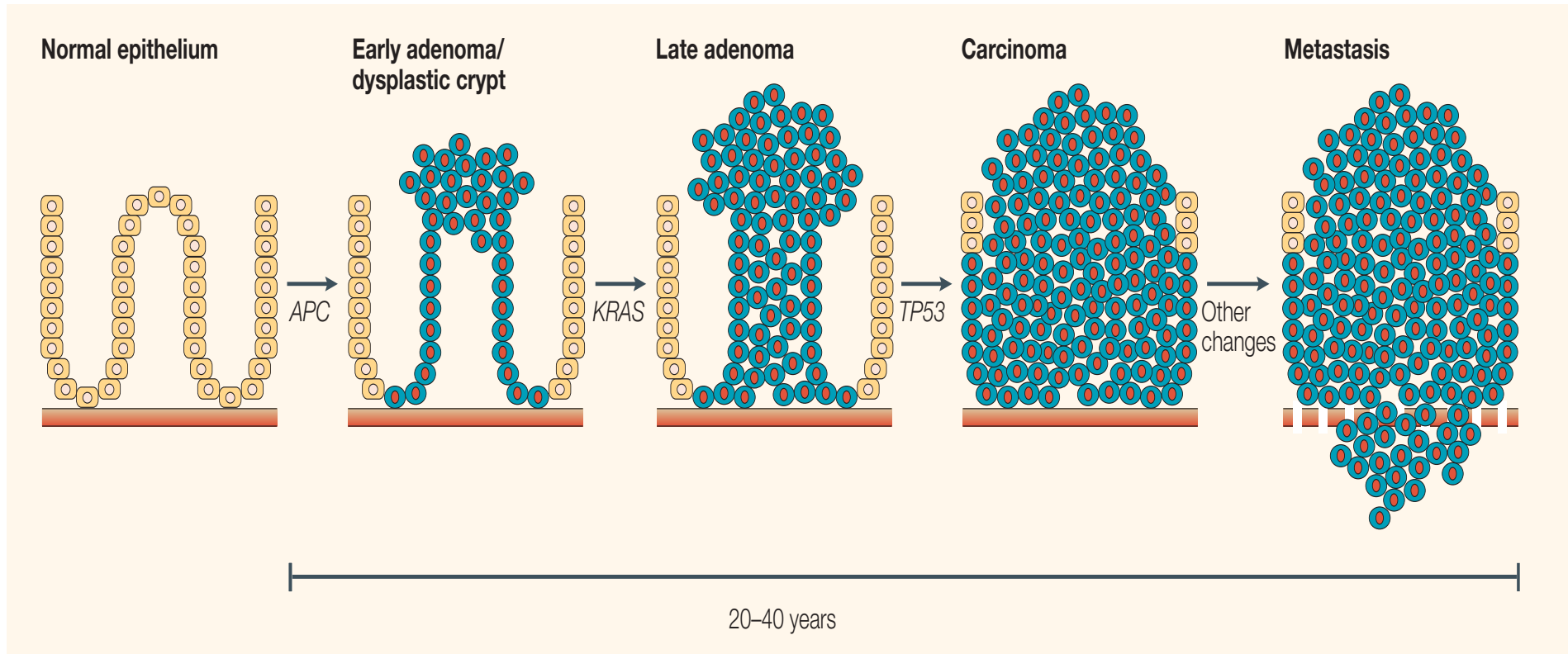
Nel tessuto normale mutazioni somatiche insorgono spontaneamente. Le cellule che presentano tali mutazioni o sono eliminate dai meccanismi che sopprimono i tumori o possono acquisire un vantaggio proliferativo sulle altre cellule fino a formare cloni di cellule. I cloni mutanti possono mantenere un equilibrio finché non sono esposti ad un ulteriore stimolo. La proliferazione incontrollata e l'accumulo di mutazioni genetiche e di alterazioni epigenetiche sono responsabili della evoluzione della lesione premaligna a tumore. Le cellule tumorali continuano ad acquisire mutazioni e alterazioni epigenetiche che aumentano la malignità del tumore inclusa l'invasività e l'evasione della risposta immunitaria.

Carcinogenesi

La carcinogenesi è un processo multifasico e queste fasi rappresentano alterazioni genetiche responsabili della progressiva trasformazione delle cellule normali in cellule altamente maligne.

- ❑ I genomi delle cellule tumorali sono alterati in più siti e queste lesioni includono mutazioni puntiformi fino a alterazioni cromosomiche.
- ❑ L'evidenza che l'incidenza dei tumori aumenta con l'aumentare dell'età ha suggerito che siano necessarie da quattro a sette lesioni nella genesi del tumore.
- ❑ L'analisi di campioni patologici di diversi organi ha dimostrato l'esistenza di stadi intermedi nel processo di evoluzione della cellula normale in cellula tumorale invasiva.
- ❑ Lo studio degli oncogeni e oncosoppressori ha dimostrato che nessun singolo oncogene è in grado da solo di trasformare cellule *in vitro*. La combinazione di più oncogeni è necessaria per poter trasformare cellule *in vitro*.
- ❑ Conferma nei modelli sperimentali della cancerogenesi chimica nei quali il processo tumorale è distinto in fasi: inizio, promozione, progressione, conversione maligna

Modello multi-step dello sviluppo del tumore del colon



Il modello proposto di sviluppo del tumore dell'intestino (Vogelstein) prevede che cellule alterate delle cripte diano origine a adenomi precoci con un basso grado di displasia che evolvono in adenomi tardivi con alto grado di displasia e successivamente in carcinomi. Il tumore del colon-retto deriva dall'accumulo di mutazioni in oncogeni come *KRAS* e in oncosoppressori come *APC* (Adenomatous polyposis coli) e *TP53*. Queste mutazioni insorgono nelle cellule con una sequenza caratteristica. Una singola cellula acquisisce in modo sequenziale mutazioni nei geni *APC*, *KRAS*, *TP53*. Il tumore del colon retto si sviluppa in 20-40 anni.

Cancerogenesi

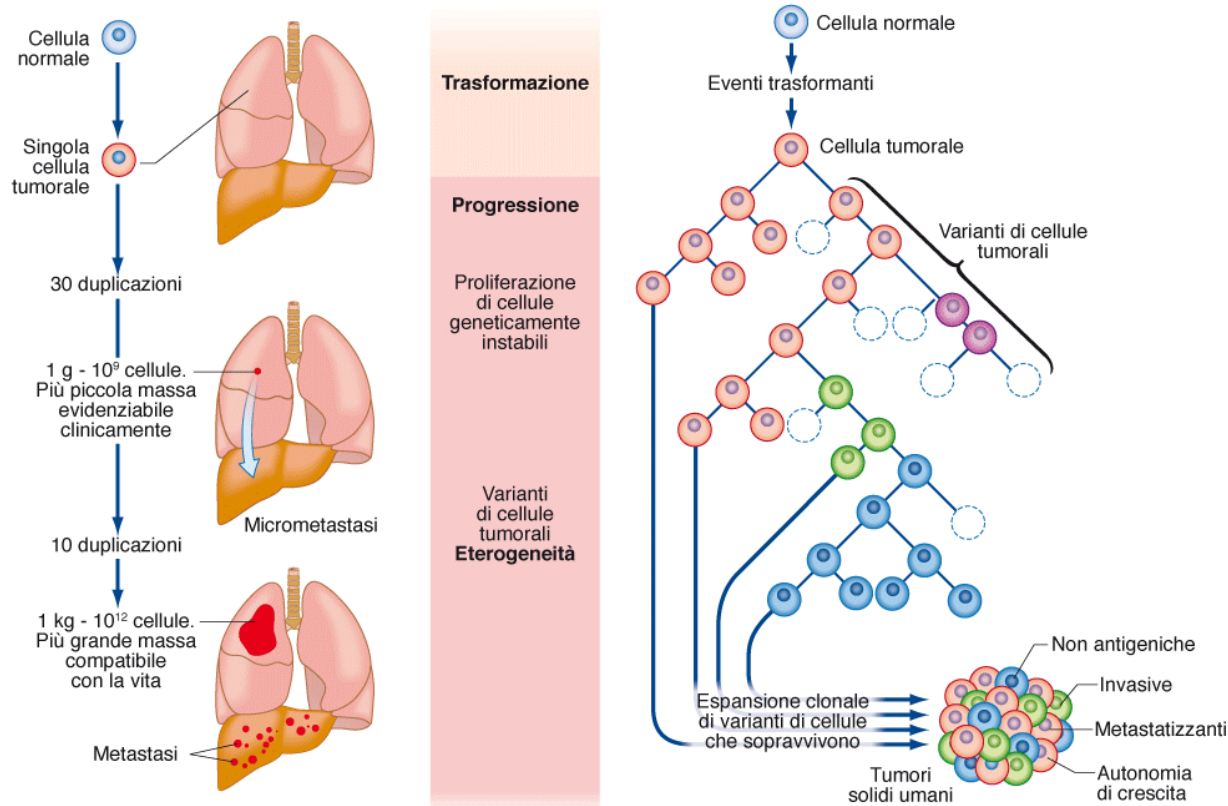


FIGURA 2-3 ► Sviluppo di una neoplasia. A sinistra è rappresentato il progressivo ingrossamento della massa neoplastica (e il numero minimo di duplicazioni cellulari necessarie per la sua formazione) a partire da una singola cellula fino al raggiungimento della massima dimensione compatibile con la vita. A destra, è schematicamente rappresentata la sommatoria di mutazioni che portano alla formazione di un tumore maligno. Come è possibile notare, la neoplasia ha un'origine clonale, non tutte le mutazioni sono favorevoli alla progressione tumorale (il colore viola è destinato a scomparire) e non tutte le mutazioni portano alla malignità (solo quelle degli stadi più avanzati). La massa tumorale è costituita da cellule diverse fra loro (eterogeneità).

Il tumore origina da una cellula che accumula mutazioni in geni chiave nel controllo della crescita, della sopravvivenza e dell'invecchiamento.

Dopo un certo periodo di tempo i tumori diventano più aggressivi e acquisiscono un maggiore potenziale maligno.

A livello molecolare la progressione neoplastica è caratterizzata dall'acquisizione di molteplici mutazioni nelle cellule trasformate che danno origine a sottocloni con differenti caratteristiche. In questo processo oltre a favorire la generazione di varianti in grado di sopravvivere, crescere e metastatizzare alcune cellule moriranno.

Per questo sebbene l'origine dei tumori è monoclonale nel tempo le cellule che costituiscono le neoplasie sono eterogenee.

Alterazioni caratteristiche della fisiologia cellulare delle cellule tumorali

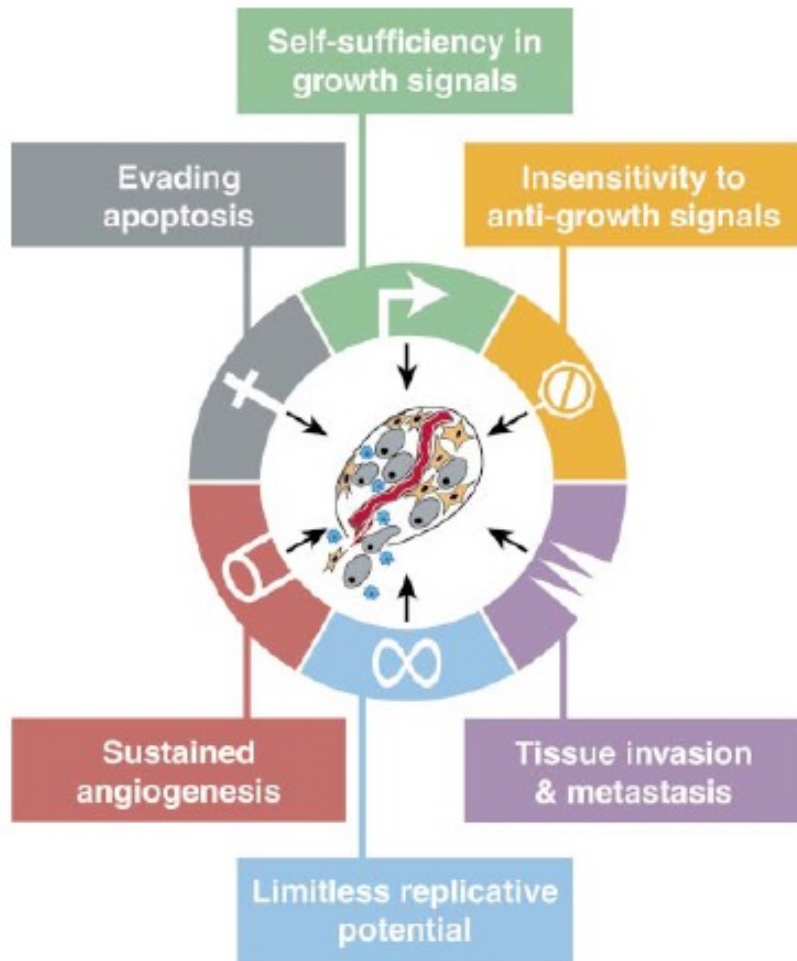


Figure 1. Acquired Capabilities of Cancer

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

Le cellule tumorali presentano alterazioni nei processi che regolano la proliferazione e l'equilibrio cellulare.

Esistono più di 100 diversi tipi di cancro e alterazioni in centinaia di geni sono state associate ai tumori.

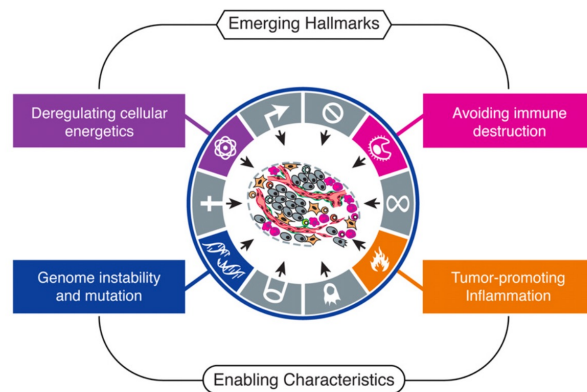
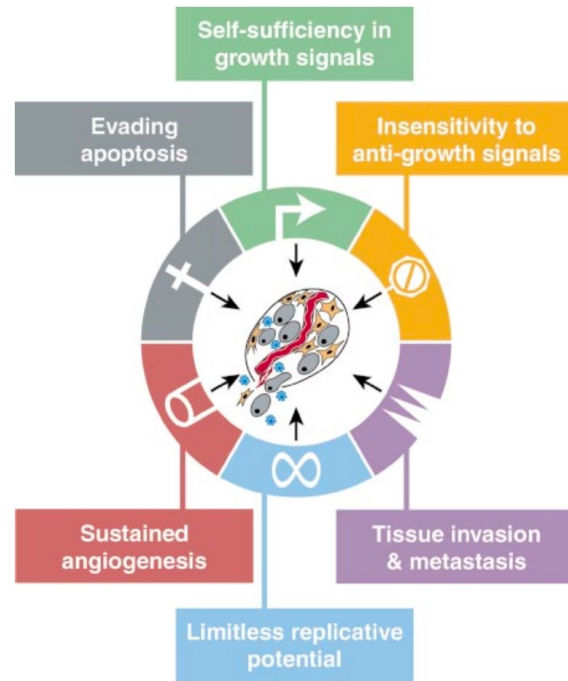
Malgrado questa grande complessità è stato inizialmente proposto che l'alterazione di 6 funzioni fisiologiche cellulari caratterizza i genotipi delle cellule tumorali:

- 1) l'indipendenza dai segnali di crescita
- 2) Insensibilità ai segnali di controllo della crescita
- 3) Evasione dall'apoptosi
- 4) Potenziale replicativo illimitato
- 5) Angiogenesi protratta
- 6) Capacità di invasione e di formare metastasi

1) Deficit nella riparazione del DNA

Queste caratteristiche sono comuni probabilmente a tutti i tipi di tumori.

Ulteriori funzioni caratteristiche acquisite dalle cellule tumorali



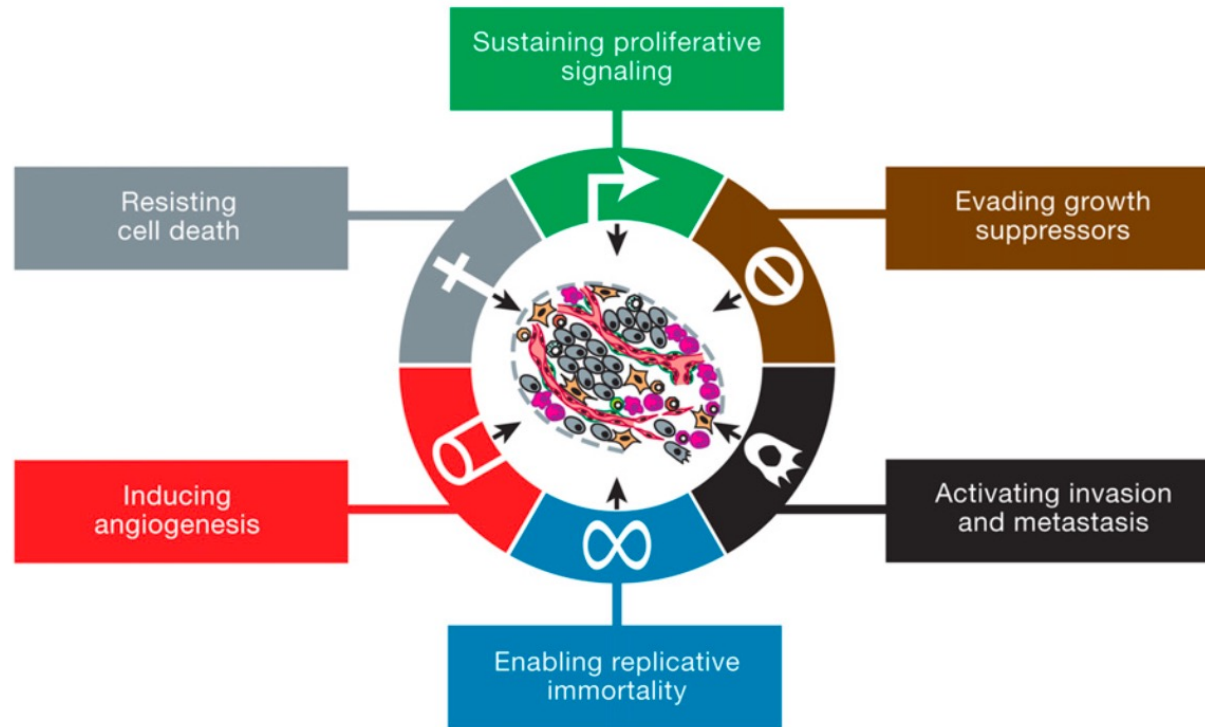
Oltre alle 6 funzioni caratteristiche delle cellule tumorali inizialmente descritte, successivamente sono state proposte altre 2 proprietà delle cellule tumorali che includono la capacità di sfuggire alla risposta immune dell'ospite e di riprogrammare il metabolismo.

Attualmente è stato proposto che l'acquisizione di 8 funzioni distinguono le cellule tumorali dalle normali.

Queste includono

- 1) l'indipendenza dai segnali di crescita
- 2) Insensibilità ai segnali di controllo della crescita
- 3) Evasione dall'apoptosi
- 4) Potenziale replicativo illimitato
- 5) Angiogenesi protratta
- 6) Capacità di invasione e di formare metastasi
- 7) Riprogrammazione del metabolismo
- 8) Capacità di sfuggire alla risposta immunitaria

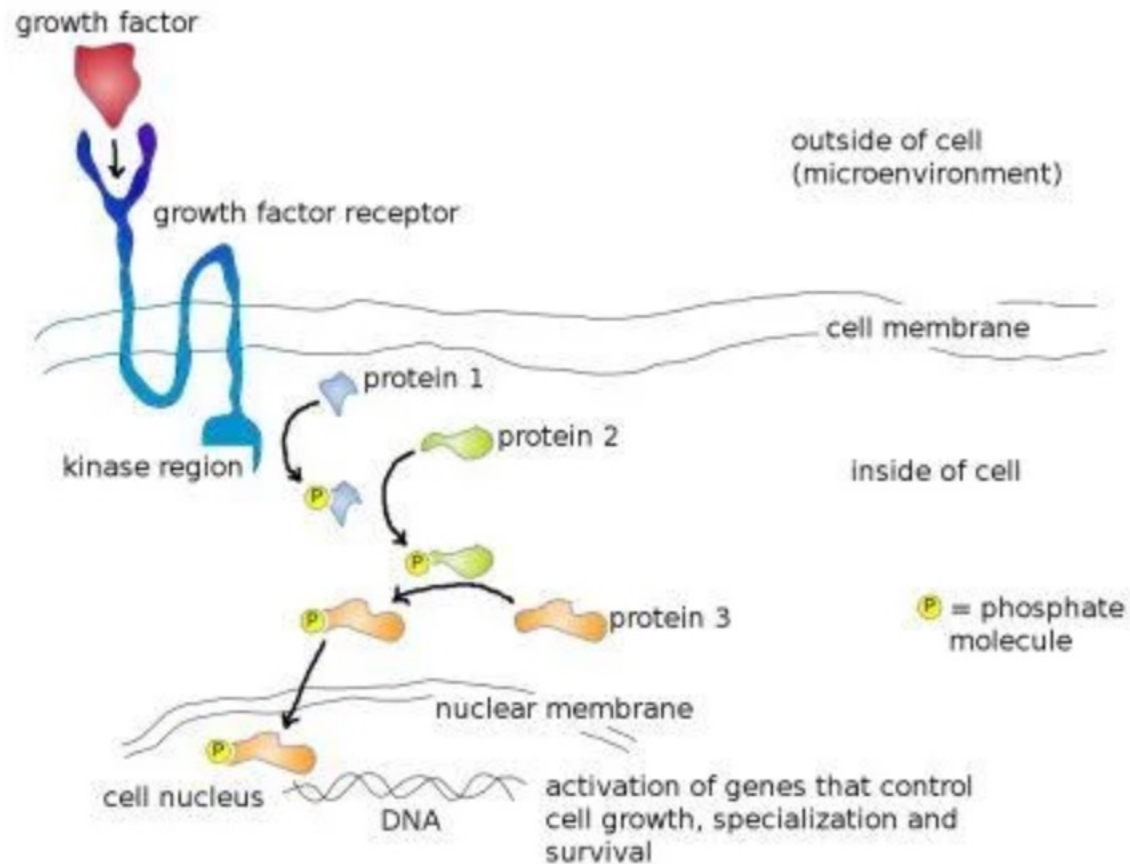
Le cellule hanno diversi meccanismi di difesa antitumorali



Ogni cambiamento e nuova capacità acquisita durante il processo di trasformazione neoplastica rappresenta il superamento di un meccanismo di difesa dalla trasformazione neoplastica delle cellule e dei tessuti.

La molteplicità di queste barriere spiega la relativa rarità dell'insorgenza di tumore durante la vita.

La proliferazione delle cellule normali



Le cellule normali per passare da uno stato di quiescenza in uno stato di proliferazione attiva hanno bisogno di ricevere stimoli da fattori in grado di promuovere la crescita (fattori di crescita solubili, interazione con molecole espresse da cellule o presenti nella matrice extracellulare).

Nelle cellule tumorali molti oncogeni agiscono mimando l'azione degli stimoli di crescita.

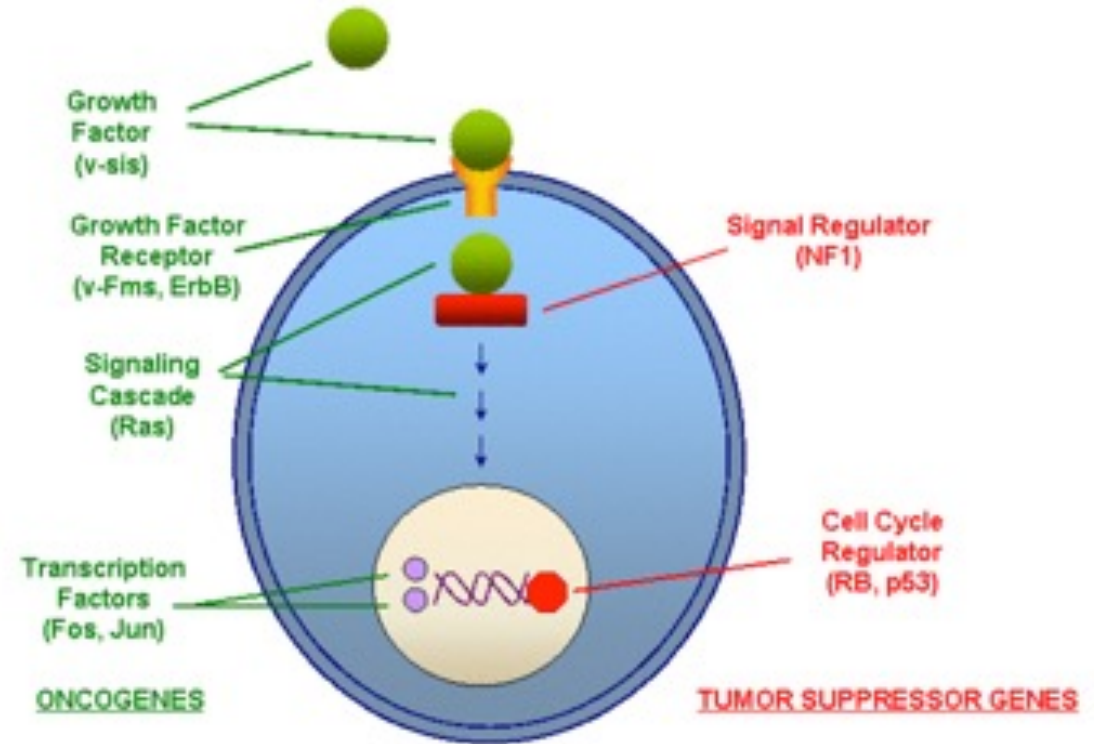
In vitro diversamente dalle cellule normali che per poter proliferare hanno bisogno della presenza di fattori di crescita, le cellule tumorali non dipendono dalla presenza di questi fattori.

Induzione della proliferazione nelle cellule normali

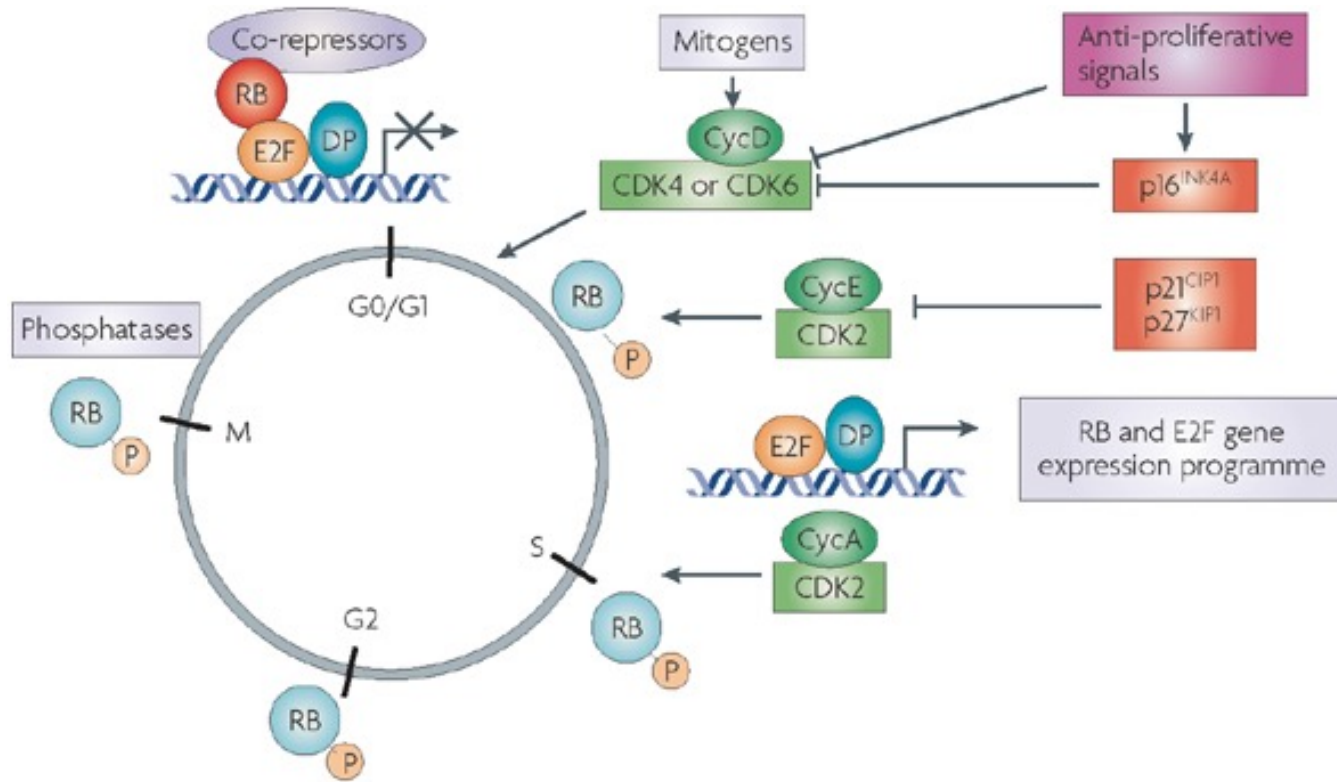
La normale proliferazione cellulare è indotta dalla interazione dei fattori di crescita con i loro **recettori cellulari**. Tale interazione determina l'attivazione **di vie di trasduzione intracellulari** che regolano l'entrata della cellula nel ciclo cellulare e la proliferazione.

Il legame del fattore di crescita al recettore determina:

- i) l'attivazione del recettore e trasduzione del segnale
- i) l'induzione e l'attivazione di fattori nucleari che iniziano la trascrizione del DNA.
- ii) l'ingresso e la progressione della cellula nel ciclo cellulare

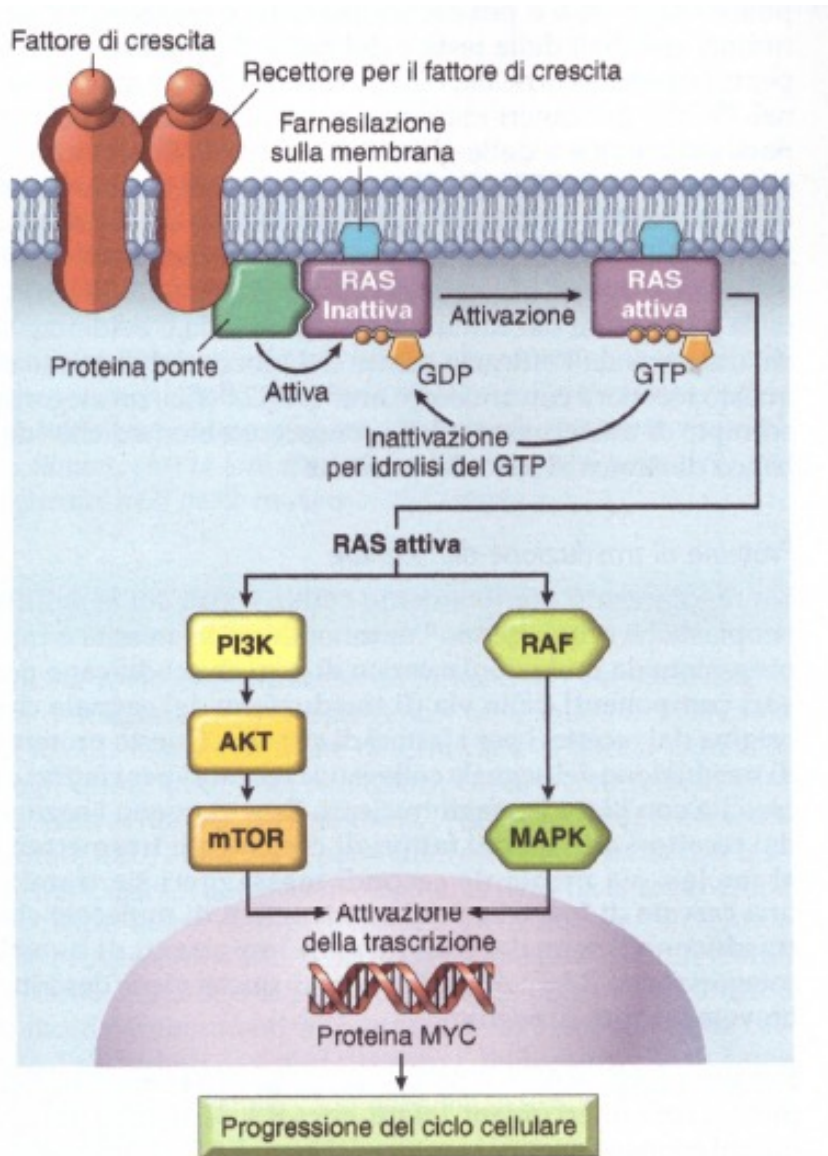


Induzione della proliferazione da parte di fattori di crescita



I fattori di crescita promuovono l'assemblaggio dei complessi funzionali cicline D-CDK4 o cicline D-CDK6 nella fase G1 del ciclo cellulare. I complessi cicline D-CDK4/6 fosforilano le proteine della famiglia Rb favorendo la dissociazione fra Rb e i fattori E2F. In questo modo viene attivata la trascrizione dell'mRNA di diversi geni fra cui la ciclina E. La ciclina E si complessa con la CDK2 e completa la fosforilazione di Rb che promuove l'ulteriore rilascio dei fattori E2F che mediano l'espressione di geni responsabili della progressione del ciclo cellulare nella fase S.

Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita delle cellule tumorali



Le cellule neoplastiche possono acquisire la capacità di proliferare autonomamente perché possono:

- i) prodursi i fattori di crescita
- ii) avere mutazioni in recettori di crescita o alterata espressione dei recettori che li attivano indipendentemente dal legame con il ligando
- iii) avere mutazioni in componenti della cascata di trasduzione del segnale avviata dall'interazione del fattore di crescita con il suo recettore
- iv) avere mutazioni in geni codificanti fattori che regolano la trascrizione del DNA

Gli oncogeni

Categoria	Proto-oncogene	Modalità di attivazione	Tumore umano associato
Fattori di crescita			
PDGFb	PDGFB	Iperespressione	Astrocitoma
Fattori di crescita fibroblastici	HST1 FGF3	Iperespressione Amplificazione	Osteosarcoma Tumore dello stomaco Tumore della vescica Tumore della mammella Melanoma
TGFa	TGFA	Iperespressione	Astrocitomi
HGF	HGF	Iperespressione	Carcinomi epatocellulari Tumore della tiroide
Recettori per fattori di crescita			
Famiglia dei recettori dell'EGF	ERBB1 (EGFR)	Mutazione	Adenocarcinoma polmonare
	ERBB2 (HER)	Amplificazione	Carcinoma della mammella
Tirosin-chinasi 3 FMS-simile	FLT3	Mutazione puntiforme o piccole duplicazioni	Leucemia
Recettore per i fattori neurotrofici	RET	Mutazione puntiforme	Neoplasie endocrine multiple di tipo 2A e B, carcinomi midollari familiari della tiroide
Recettore per il PDGF	PDGFRB	Amplificazione, traslocazione	Gliomi, leucemie
Recettore per il ligando KIT	KIT	Mutazione puntiforme	Tumori stromali gastrointestinali, seminomi, leucemie
Recettore per ALK	ALK	Traslocazione, mutazione puntiforme	Adenocarcinoma del polmone, alcuni linfomi Neuroblastoma
Proteine coinvolte nella trasduzione dei segnali			
Leganti GTP (G)	KRAS	Mutazione puntiforme	Tumori del colon, del polmone e del pancreas
	HRAS	Mutazione puntiforme	Tumori della vescica e del rene
	NRAS	Mutazione puntiforme	Melanomi, neoplasie ematologiche
	GNAQ	Mutazione puntiforme	Melanoma uveale
	GNAS	Mutazione puntiforme	Adenoma della ghiandola pituitaria, altri tumori endocrini
Tirosin-chinasi non recettoriale	ABL	Traslocazione	Leucemia mieloide cronica Leucemia linfoblastica acuta
Trasduzione del segnale RAS	BRAF	Mutazione puntiforme	Melanomi, leucemie, carcinoma del colon, altro
Trasduzione del segnale Notch	NOTCH1	Mutazione puntiforme, traslocazione	Leucemie, linfomi, carcinomi della mammella
Trasduzione del segnale JAK/STAT	JAK2	Mutazione puntiforme, traslocazione	Malattie mieloproliferative Leucemia linfoblastica acuta
Proteine di regolazione nucleare			
Attivatori trascrizionali	MYC	Traslocazione	Linfoma di Burkitt
	N-MYC	Amplificazione	Neuroblastoma
Regolatori del ciclo cellulare			
Ciclina	CCND1 (ciclina D1)	Traslocazione Amplificazione	Linfoma mantellare, mieloma multiplo Tumore della mammella e dell'esofago
Chinasi ciclina-dipendente	CDK4	Amplificazione o mutazione puntiforme	Glioblastoma, melanoma, sarcoma

I geni che promuovono la crescita autonoma della cellula tumorale sono definiti oncogeni e la loro controparte fisiologica è definita proto-oncogene.

I proto-oncogeni regolano la proliferazione e il differenziamento cellulare in condizioni fisiologiche.

Le proteine codificate dai proto-oncogeni possono funzionare come:

ligandi e recettori per fattori di crescita

trasduttori del segnale

fattori di trascrizione

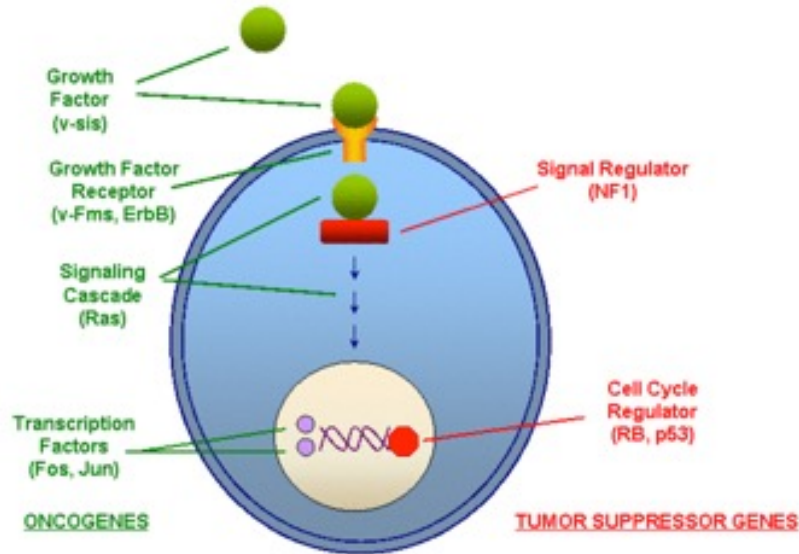
regolatori del ciclo cellulare

Diversi tipi di lesioni genetiche (mutazioni, riarrangiamenti cromosomici, amplificazioni) possono convertire i proto-oncogeni in oncogeni.

Gli oncogeni sono versioni mutate o iperespresse di proto-oncogeni che saranno così in grado di funzionare in maniera autonoma, indipendentemente dai normali meccanismi che li regolano.

E' sufficiente che sia alterato un singolo allele affinché l'oncogene favorisca la trasformazione neoplastica.

Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita: capacità di sintetizzare fattori di crescita



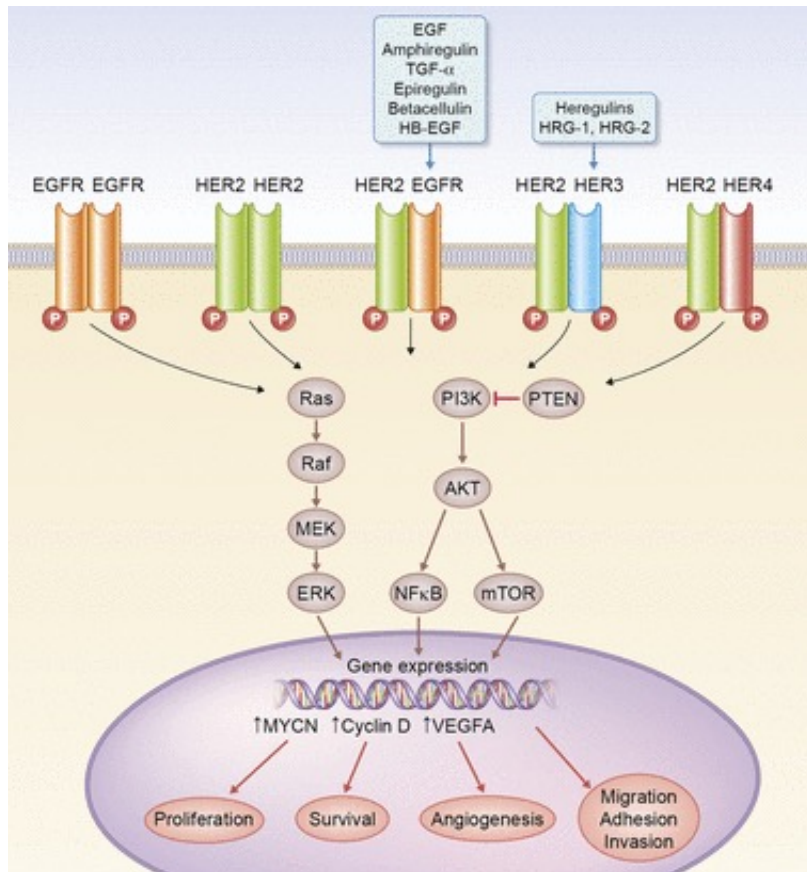
Molte cellule tumorali sono in grado di sintetizzare i fattori di crescita a cui rispondono.

Il proto-oncogene SIS codifica per la catena β del platelet derived growth factor (PDGF) è iperespresso in molti tumori quali gli astrocitomi e gli osteosarcomi che esprimono il recettore. In molti casi il gene del fattore di crescita non è alterato ma iperespresso.

Nel caso del Transforming growth factor- α (TGF- α) che è un fattore di crescita correlato all'EGF (epidermal growth factor) e che induce la proliferazione cellulare legandosi all'EGFR, la sua iper-espressione è causata dall'oncogene RAS che causa un aumento della produzione del fattore da parte delle cellule. L'espressione anormale del TGF- α è stata dimostrata nei tumori del fegato, della mammella, della pelle e negli astrocitomi.

Un gruppo di oncogeni che codificano per fattori di crescita dei fibroblasti (FGFs) è attivato in tumori gastrointestinali e della mammella.

Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita: alterazione nel legame fra recettore e fattore di crescita

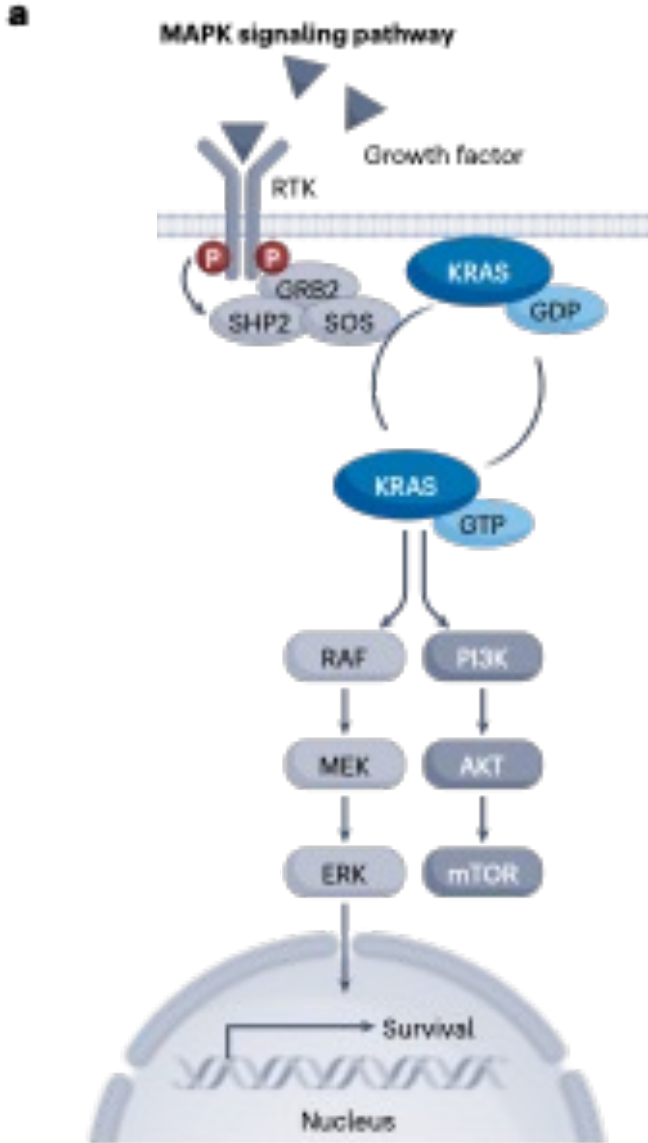


Molti oncogeni codificano per i recettori di fattori di crescita. Fra questi i più diffusi nei tumori sono i recettori ad attività tirosin chinasi. Tali recettori presentano una regione extracitoplasmatica che lega il fattore di crescita e una regione intracitoplasmatica che possiede attività tirosin chinasi. In seguito alla interazione con il ligando il recettore omo- o etero-dimerizza e fosforila le tirosine nella propria regione intracitoplasmatica. Questi residui fosforilati agiscono da sedi per l'interazione con altre molecole di segnalazione.

La famiglia dei recettori dell'epidermal growth factor (EGFR) sono recettori ad attività tirosin chinasi. Questa famiglia include ErbB1/HER1, ErbB2/HER2, ErbB3/HER3, ErbB4/HER4. ErbB2 non contiene il dominio che lega il ligando ma dimerizza con gli altri membri della famiglia.

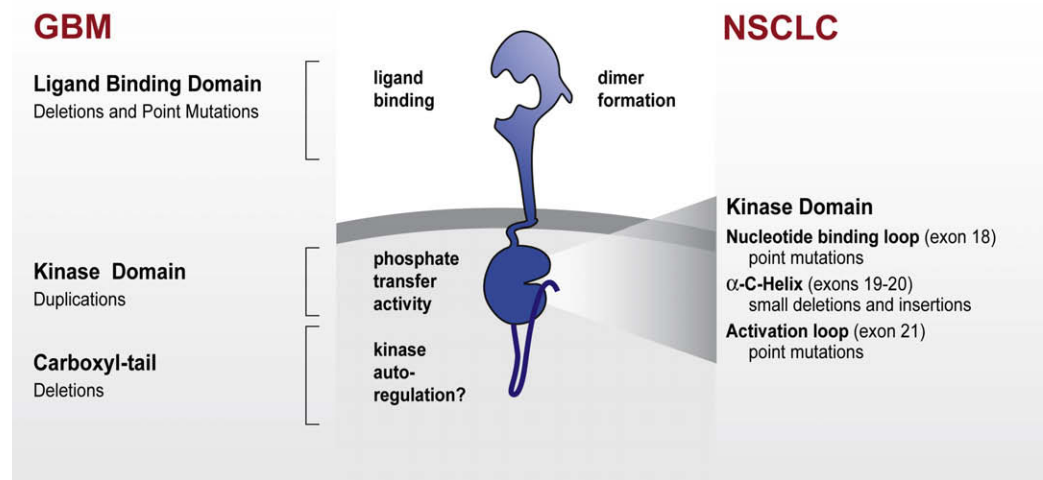
Tutte le cellule ad eccezione di quelle ematopoietiche esprimono le molecole appartenenti alla famiglia ErbB. Mutazioni nei geni ErbB causano la morte embrionaria o perinatale nel modello murino.

Vie di segnalazione dell' EGFR



In seguito all'interazione con il ligando l'EGFR dimerizza e si autofosforila nella regione intracitoplasmatica avviando nelle cellule di mammifero diverse vie di segnalazione fra cui la via delle MAP chinasi (MAPK, RAS-ERK) e la via della PI3K-AKT-mTOR. Entrambe queste vie sono necessarie per stimolare la crescita e la proliferazione cellulare promuovendo l'entrata della cellula nella fase G1/S del ciclo cellulare.

Mutazioni dell'EGFR nei tumori



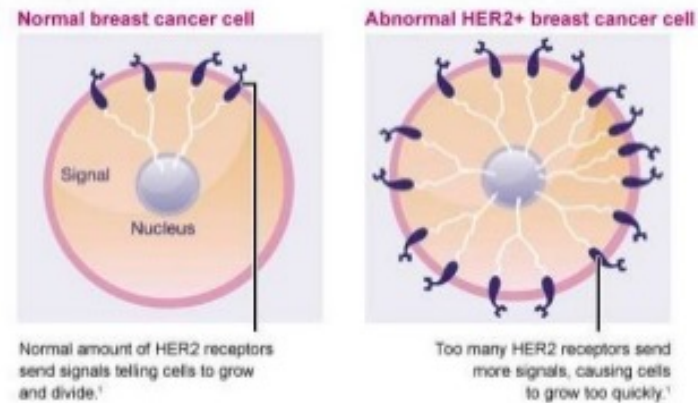
Mutazioni nell' EGFR avvengono in mutational «hotspots» nella regione extracitoplasmatica, nel dominio chinamico e nella regione C-terminale intracitoplasmatica.

Nei glioblastomi (GBM) sono presenti mutazioni nella regione extracitoplasmatica mentre nei tumori del polmone (non-small cell lung cancer NSCLC) mutazioni nel dominio chinamico. Queste mutazioni determinano l'attivazione costitutiva del recettore.

Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita: alterazione nel legame fra recettore e fattore di crescita

Overexpression

- HER2 is overexpressed in 15–30% of invasive breast cancer.
- Associated with high-grade disease, nodal metastases and tumour size.
- HER2 Overexpression occurs also in other forms of cancers also such as stomach, ovary, uterine serous endometrial carcinoma, colon, bladder, lung, uterine cervix, head and neck, and esophagus.



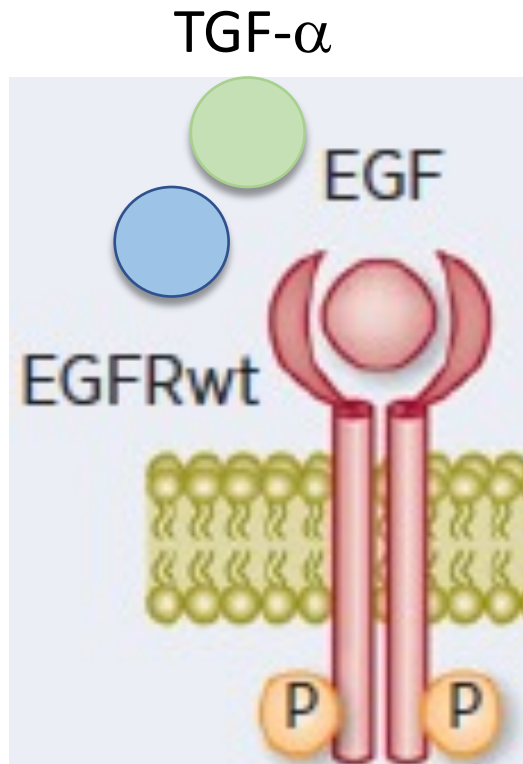
I recettori per i fattori di crescita possono essere alterati attraverso l'amplificazione del gene e l'overespressione del recettore.

HER2 è overespresso nel 15-30% dei tumori invasivi del seno e in altre forme di cancro.

L'importanza di questi recettori tirosin chinasi mutati nella crescita e proliferazione delle cellule tumorali è dimostrata dall'efficacia degli agenti che hanno come bersaglio tali molecole.

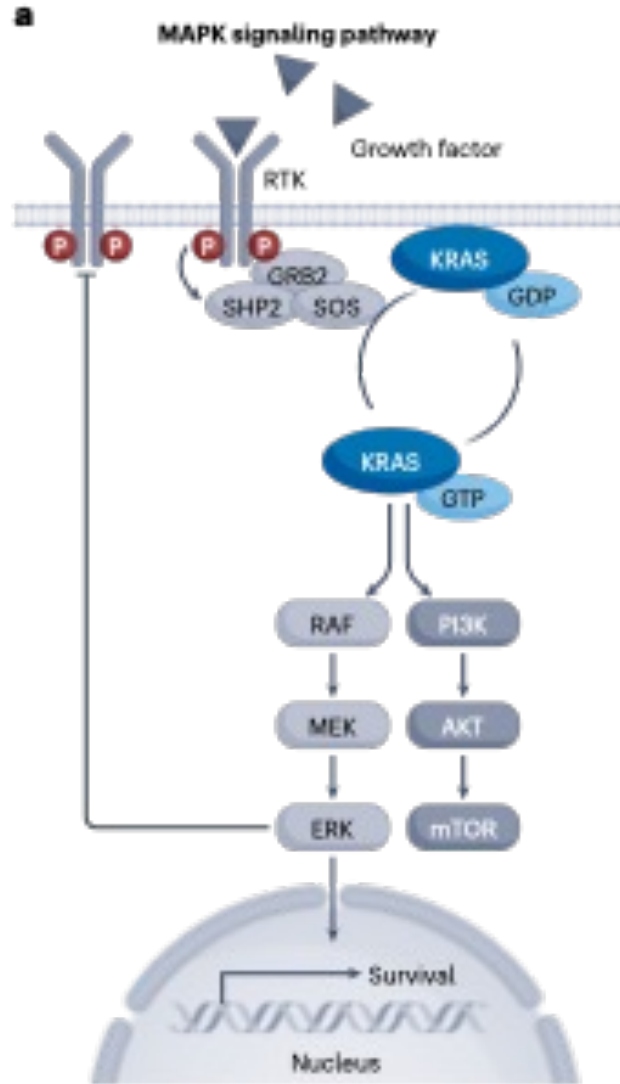
I tumori della mammella con amplificazione di HER2 rispondono al trattamento con anticorpi anti-HER2 che bloccano la crescita del tumore e ne inducono l'apoptosi.

Ligandi della famiglia dell'EGFR



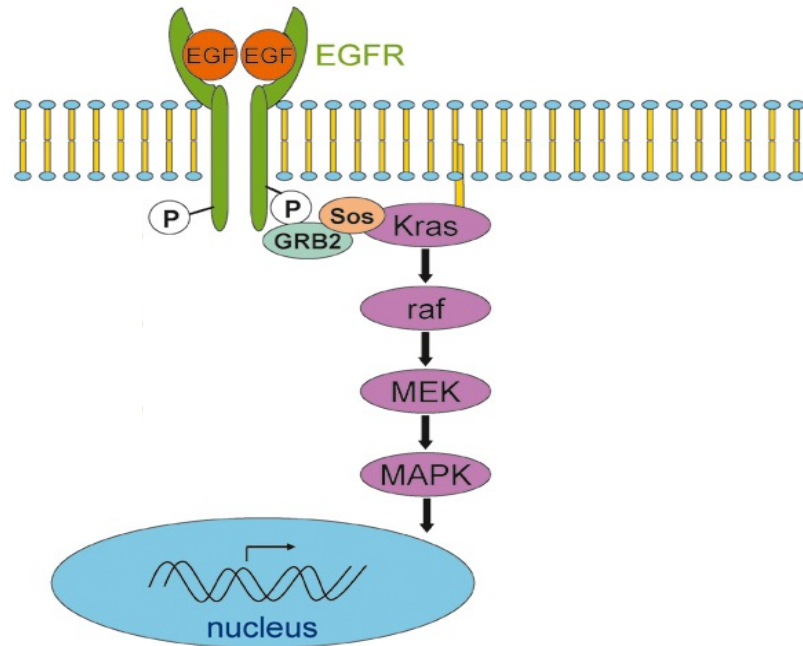
Il recettore per il fattore di crescita epidermico oltre all'EGF ha altri ligandi che includono: il (transforming growth factor- α (TGF- α), l'amfiregulina (AREG) l'epiregulina (EREG), betacellulina (BTC)

Vie di segnalazione dell' EGFR



La stimolazione dell'EGFR avvia diverse vie di segnalazione fra cui la **via delle MAP chinasi (MAPK, RAS-ERK)** e la via della PI3K-AKT-mTOR. Entrambe queste vie sono necessarie per stimolare la crescita e la proliferazione cellulare promuovendo l'entrata della cellula nella fase G1/S del ciclo cellulare.

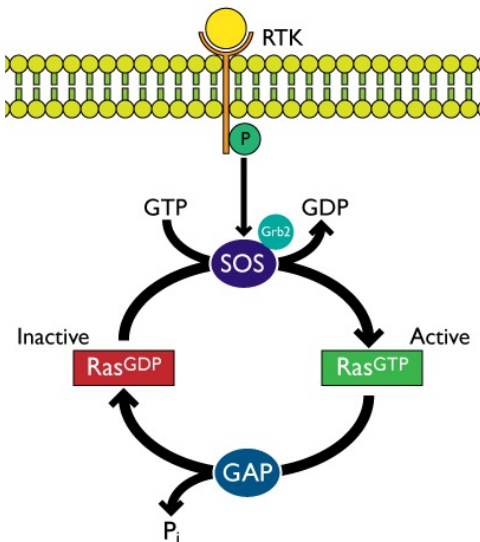
La segnalazione dell'EGFR: attivazione della via delle MAP chinasi nelle cellule sane



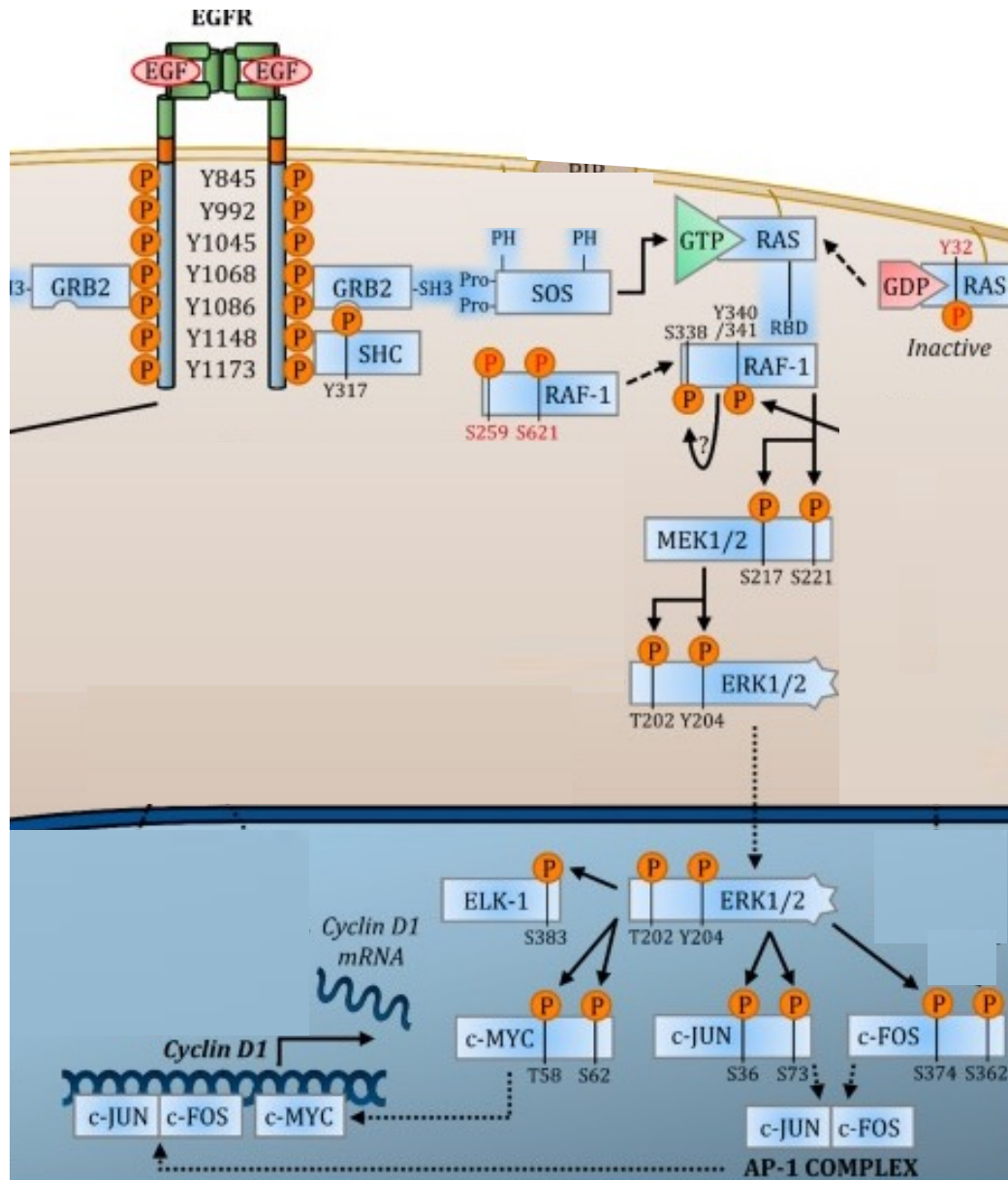
In seguito alla transfosforilazione dell' EGFR i residui di tirosina fosforilati legano la proteina GRB2 (growth factor binding receptor 2) attraverso il suo dominio SH2.

GRB2 a sua volta si lega allo scambiatore di nucleotidi SOS1 (son of sevenless 1) attraverso i suoi domini SH3.

- SOS1 attiva RAS attraverso lo scambio di GDP con il GTP inducendo un cambiamento conformazionale di RAS.
- RAS attivato attiva la serin treonin chinasi RAF
- RAF attiva le MAPKK chinasi MEK1/2
- MEK1/2 attivano attraverso la fosforilazione le MAPK ERK1/2 che a loro volta attivano diversi fattori trascrizionali responsabili della trascrizione di geni coinvolti nella progressione del ciclo cellulare.

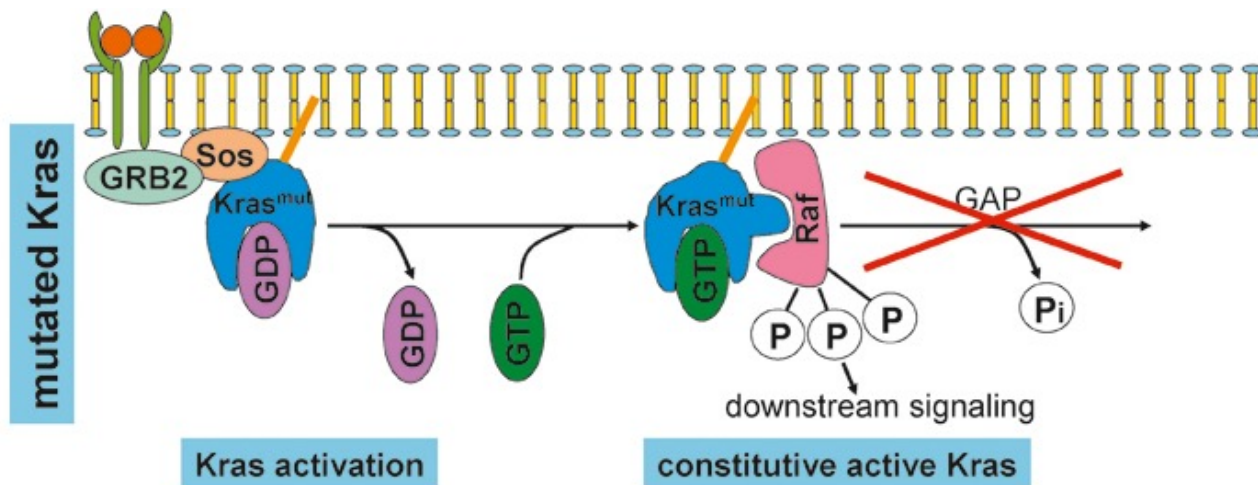
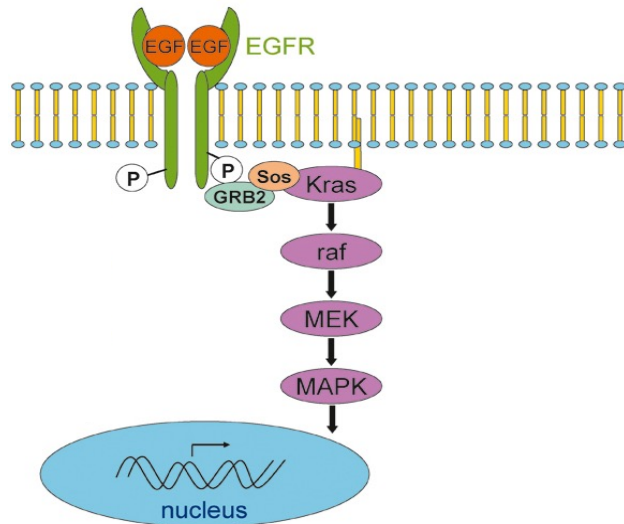


La segnalazione dell'EGFR: attivazione della via delle MAP chinasi nelle cellule sane



I geni codificanti le proteine RAS sono tre (*HRAS*, *KRAS*, *NRAS*) e codificano per proteine G associate alla membrana che legano il GDP e il GTP.

Attivazione della via delle MAPK chinasi nei tumori umani



In circa il 25% dei tumori umani le proteine Ras presentano mutazioni che alterano la struttura della molecola causando l'attivazione costitutiva della segnalazione.

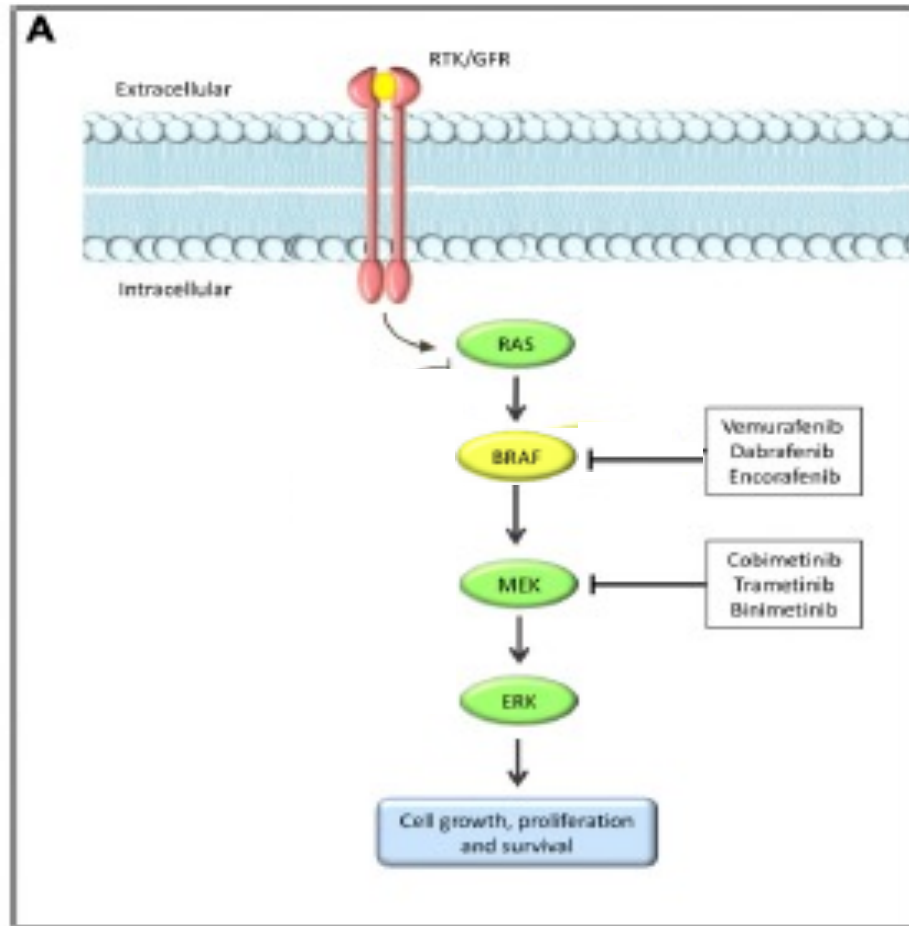
Nella forma attiva Ras interagisce con la proteina citosolica Raf sulla via delle MAP chinasi. Le MAP chinasi attivate, attivano fattori trascrizionali e promuovono la mitosi. Mutazioni in RAS sono presenti nel 90% dei carcinomi del pancreas e nel 50% delle neoplasie del colon.

Frequenza delle mutazioni di RAS nei tumori

Table 2
Frequency of RAS mutation in various cancers.

Tissue/ organ	Type of cancers	Type of mutation	Percentage of RAS mutation	References	
Pancreas	Pancreatic ductal adenocarcinoma	K-RAS	50–90%	[44–48]	
Colon	Colorectal cancer	K-RAS	> 40%	[57–60]	
Thyroid	Anaplastic carcinoma	N-RAS	10–20%	[42,73]	
	Follicular carcinoma	N-RAS	15–20%	[42]	
	Hurthle cell carcinoma	H-RAS	15–20%	[42]	
	Papillary Thyroid Carcinoma	K-RAS	15–30%	[74,75]	
Leukemia	Chronic myelomonocytic leukemia	N-RAS	17–60%	[42,80]	
	Juvenile myelomonocytic myeloid leukemia	N-RAS	15–20%	[42]	
	Acute myelogenous leukemia	K-RAS N-RAS	4–10% 4–10%	[42,81]	
	Acute lymphoblastic leukemia	K-RAS N-RAS	10–15% 10–15%	[42,82]	
	Lung	Non-small cell lung carcinoma	K-RAS	20–50%	[91–93]
	Liver	Hepatocellular carcinoma	K-RAS	5–20%	[96]
Breast	Carcinoma	K-RAS	0.9–20%	[97–100]	
		N-RAS	1–5%	[97,98]	
Ovary	Ovarian carcinoma	N-RAS	1–10%	[101]	
		K-RAS	10–15%	[102]	
Kidney	Renal cell carcinoma	H-RAS	2%	[103]	
Skin	Malignant melanoma	N-RAS	10–25%	[104–107]	
Urinary Bladder	Urothelial bladder cancer	H-RAS	10–30%	[108–110]	

Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita: alterazione delle molecole che mediano la trasduzione del segnale dei recettori per i fattori di crescita



Oltre a RAS altri membri della cascata di trasduzione del segnale RAS/RAF/MAP chinasi possono essere alterati nelle cellule tumorali.

Il 40-50% dei melanomi presentano mutazioni attivanti la proteina BRAF.

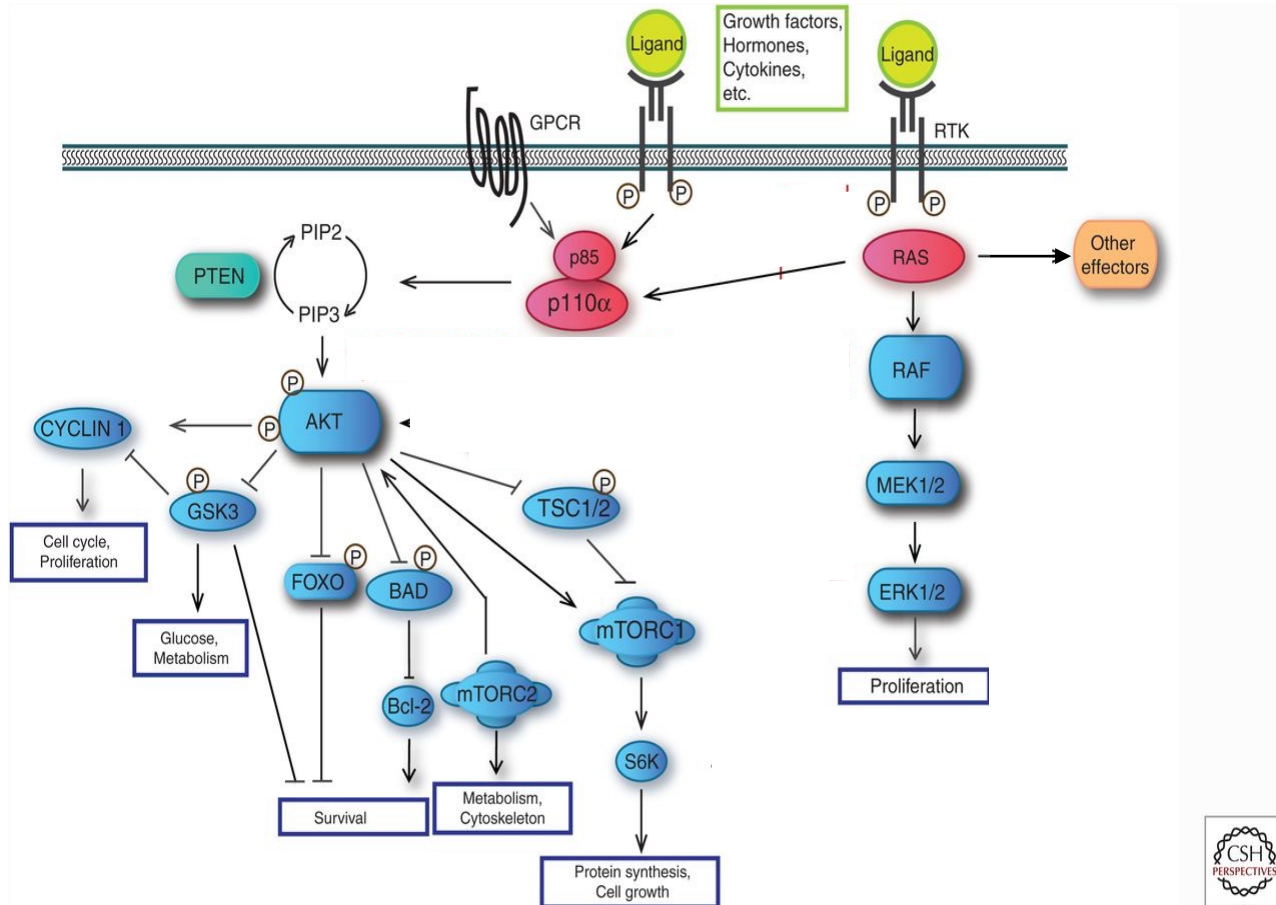
BRAF è una serin treonin chinasi e la mutazione V600E è presente nel 70-88% dei casi.

I melanomi con tale mutazione sono sensibili al trattamento con inibitori di BRAF.

La alta dipendenza di un tumore da un oncogene prende il nome di «oncogene addiction».

Sebbene, il cancro si sviluppi attraverso l'accumulo progressivo di mutazioni geniche che attivano diversi oncogeni, studi preclinici e di pazienti trattati con terapie oncogene-mirate suggeriscono che la sopravvivenza del tumore dipende da un numero ristretto di alterazioni geniche definite «driver». Il termine «oncogene addiction» è stato coniato per descrivere questo fenomeno di dipendenza del tumore da pochi oncogeni per sopravvivere.

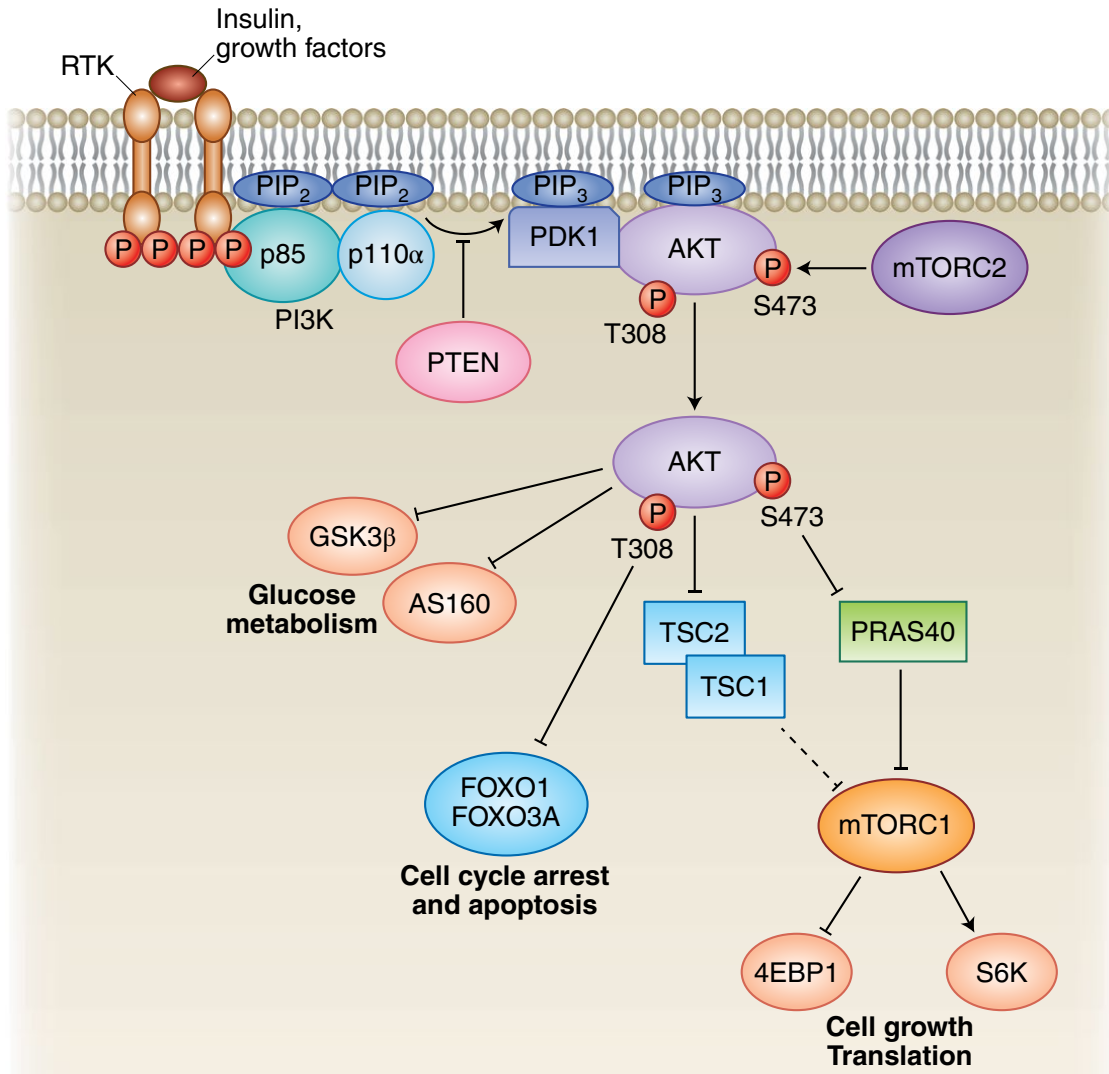
Vie di segnalazione dell' EGFR



La stimolazione dell'EGFR avvia diverse vie di segnalazione che comprendono la via delle MAP chinasi (MAPK, RAS-ERK) e la via della fosfatidil inositolo 3 chinasi o PI-3 chinasi (PI3K) **PI3K-AKT-mTOR**. Entrambe queste vie sono necessarie per stimolare la crescita e la proliferazione cellulare promuovendo l'entrata della cellula nella fase G1/S del ciclo cellulare.



La segnalazione dell'EGFR: attivazione della via della PI3K nelle cellule sane



L'interazione del fattore di crescita con il suo recettore ad attività tirosin chinasi media la fosforilazione del recettore che permette il reclutamento della PI3K alla membrana mediante la sua subunità regolatoria p85. La PI3K fosforila il fosfatidil inositolo bi-fosfato (PIP₂) in fosfatidil inositolo trifosfato (PIP₃). Il PIP₃ recluta la serin treonin chinasi AKT alla membrana plasmatica dove è attivata dalla fosforilazione mediata dalla chinasi PDK1.

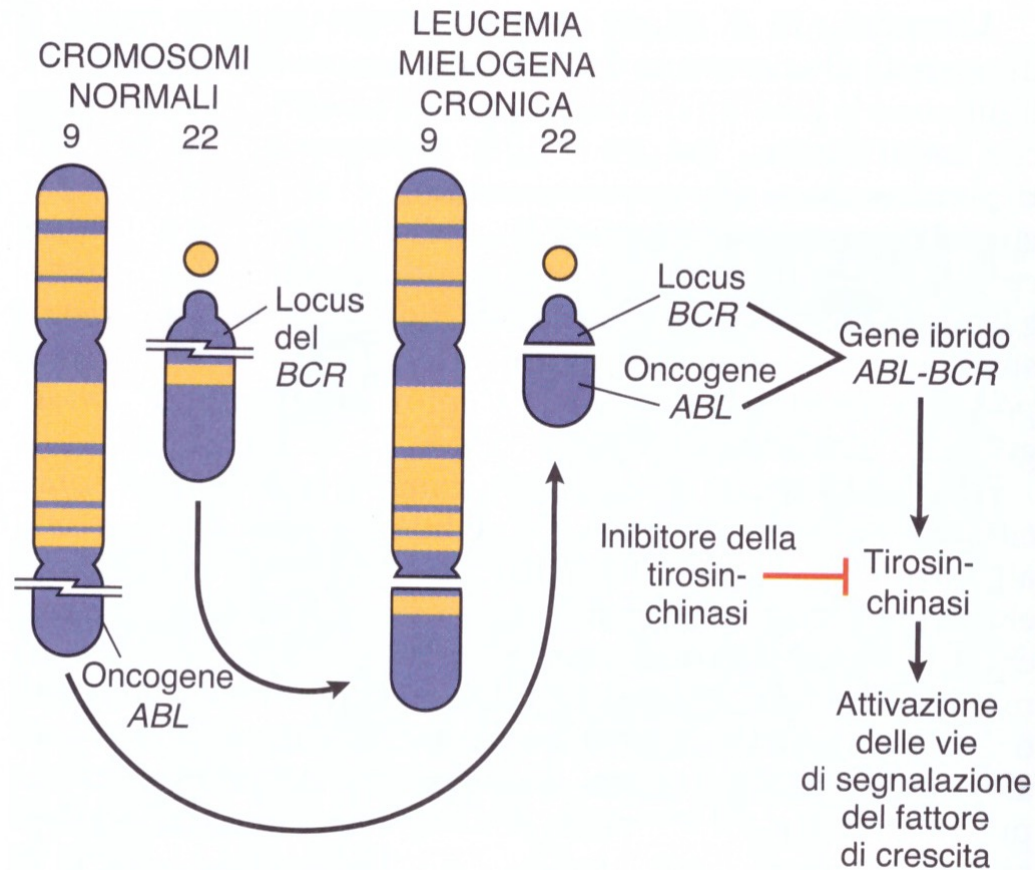
AKT fosforila diversi substrati che controllano processi cellulari fondamentali. Fra questi substrati è compreso mTORC1. AKT attiva mTORC1 inibendo gli inibitori di mTORC1 TSC2 e TSC1.

mTORC1 regola la crescita, la sintesi proteica e il metabolismo cellulare.

mTORC1 inibisce 4E-BP che inibisce eIF4E (eukariotic translation initiation factor 4E). Inoltre mTOR attiva la chinasi S6K che fosforila la proteina ribosomale S6. Questo determina un aumento della sintesi proteica della cellula.

Questa via è regolata dalla fosfatasi PTEN che converte il PIP₃ in PIP₂ inattivando la segnalazione della PI3K.

Mutazioni oncogeniche in proteine intracitoplasmatiche



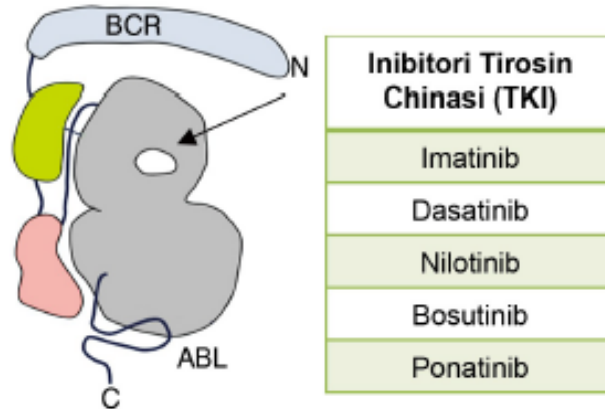
Le mutazioni oncogeniche avvengono anche in proteine localizzate nel nucleo o nel citoplasma delle cellule.

Nella leucemia mieloide cronica e in un sottogruppo di leucemia linfoblastica acuta il gene ABL è soggetto a traslocazione dalla sua normale sede sul cromosoma 9 al cromosoma 22 dove si fonde con il gene BCR (Breakpoint cluster gene) dando origine al cromosoma Philadelphia. Il gene risultante codifica per una proteina chimerica BCR-ABL che ha attività tirosin chinasi costitutiva.

L'oncoproteina bcr-abl ha un'attività tirosina chinasi incontrollata, che deregola la proliferazione cellulare, diminuisce l'aderenza delle cellule leucemiche allo stroma del midollo osseo e protegge le cellule leucemiche dalla morte cellulare programmata normale (apoptosi).

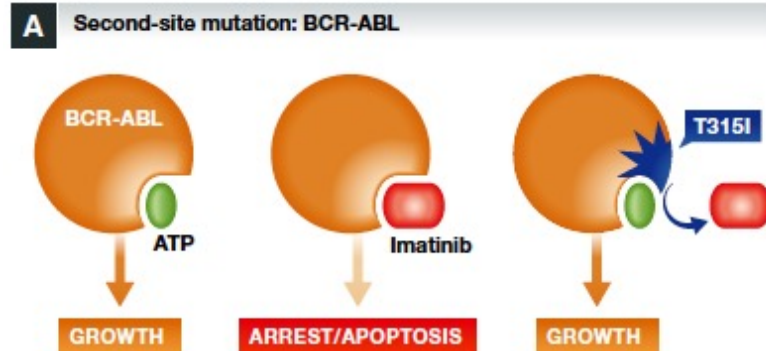
La leucemia mieloide cronica si verifica quando una cellula progenitrice ematopoietica pluripotente anormale dà inizio a un'eccessiva produzione di sole cellule di stirpe mieloide, principalmente nel midollo osseo ma anche in sedi extramidollari (p. es., milza, fegato). Le chinasi ABL sono tirosin chinasi coinvolte nello sviluppo embrionario, nella divisione cellulare, adesione e risposta allo stress.

Trattamento con gli inibitori della chinasi BCR-ABL

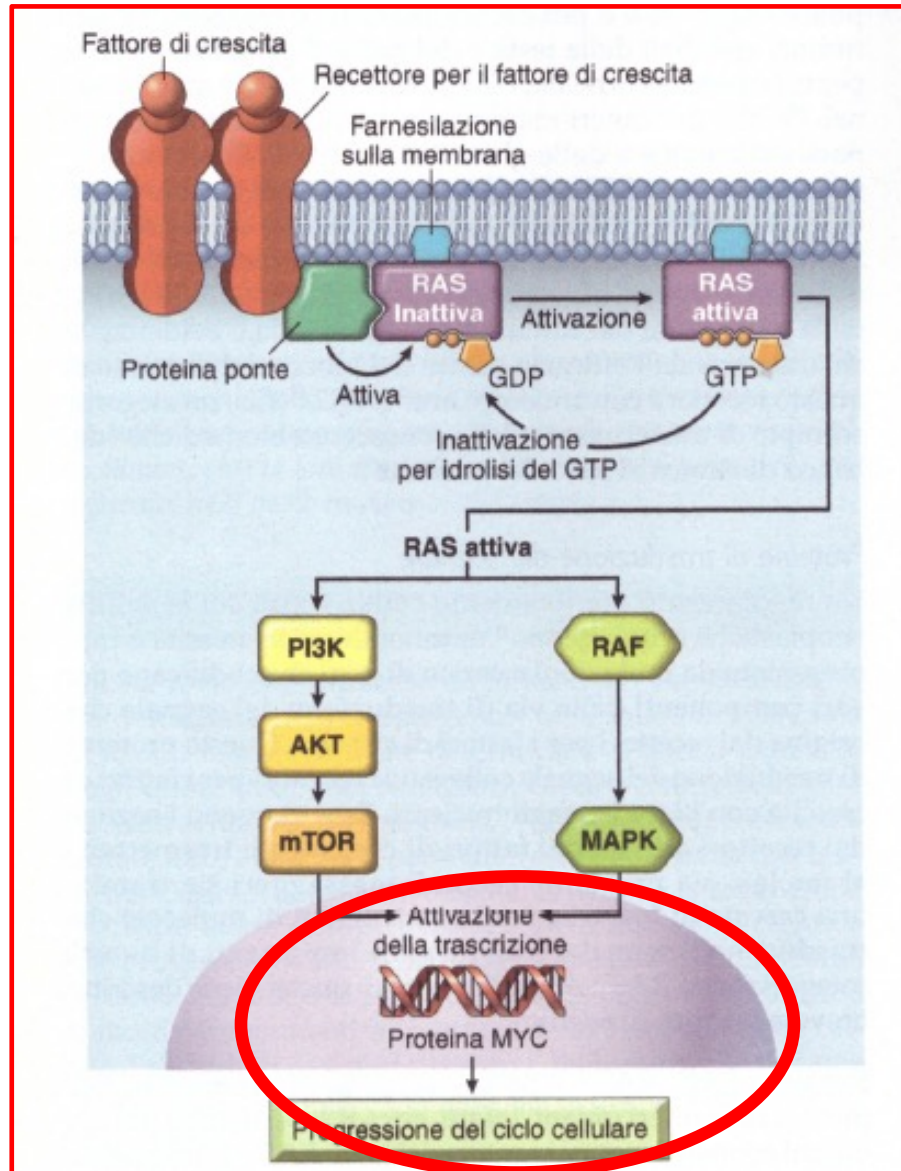


Il trattamento con inibitori della chinasi BCR-ABL rappresenta un esempio di «oncogenic target therapy» (terapia oncogene mirata). Il trattamento con l'inibitore Imatinib ha dimostrato una robusta risposta clinica in un elevata percentuale di pazienti affetti da leucemia mieloide cronica dovuta alla induzione di apoptosi nelle cellule tumorali. Questo è un altro esempio di «oncogene addiction».

Nel tempo tuttavia una frazione di pazienti sviluppa resistenza al trattamento.



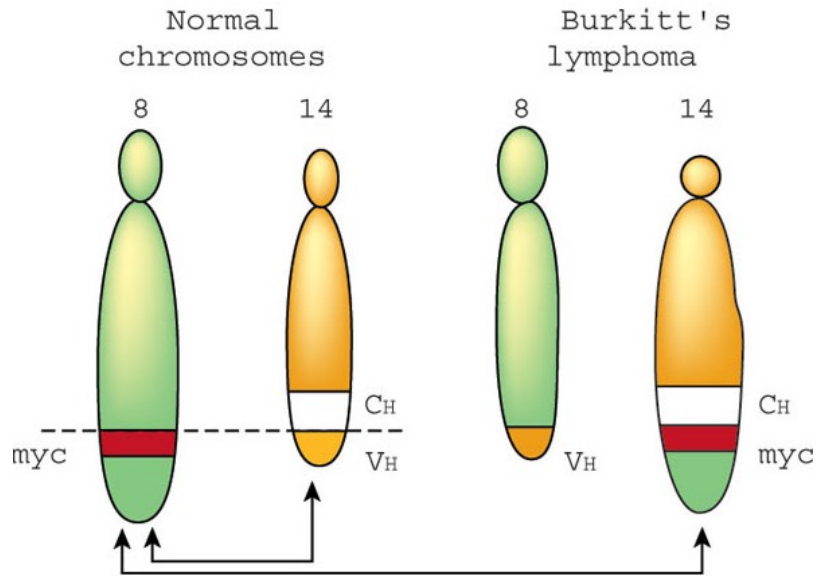
Capacità proliferativa indipendente dalla presenza di segnali di crescita



I meccanismi che conferiscono alle cellule neoplastiche la capacità di proliferare possono interessare ognuna di queste fasi. Quindi le cellule tumorali possono

- i) produrre i fattori di crescita
- ii) avere mutazioni in recettori di crescita o alterata espressione dei recettori
- iii) avere mutazioni in componenti della cascata di trasduzione del segnale del fattore di crescita
- iv) avere mutazioni in geni che codificano per molecole che regolano la trascrizione del DNA

Oncogeni: fattori trascrizionali



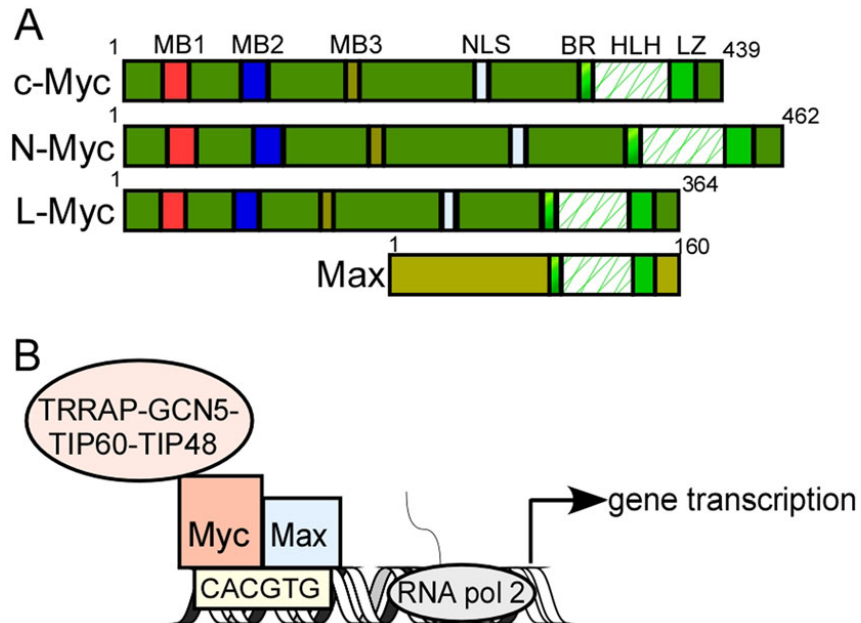
Tutte le vie di trasduzione del segnale avviate dai fattori di crescita culminano con la attivazione di fattori trascrizionali che guidano l'espressione di geni che promuovono la crescita cellulare.

L'autonomia della crescita cellulare può essere acquisita dalle cellule tumorali come conseguenza di mutazioni in geni che regolano la trascrizione del DNA.

Diverse oncoproteine fra cui MYC, JUN, FOS sono fattori di trascrizione che regolano l'espressione di geni che promuovono la crescita cellulare. Fra questi MYC è quello più comunemente attivato nel cancro.

L'attivazione dell'oncogene MYC è stata inizialmente descritta nel linfoma di Burkitt che è una neoplasia delle cellule B mature. MYC è trascrizionalmente attivato come conseguenza della sua traslocazione dal cromosoma 8 al locus della catena pesante delle immunoglobuline sul cromosoma 14.

La famiglia dei proto-oncogeni MYC

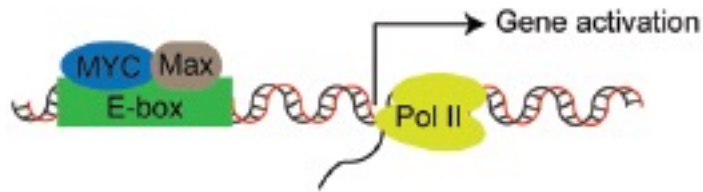


I proto-oncogeni MYC codificano per una famiglia di fattori di trascrizione a cui appartengono *MYC*, *MYCL* e *MYCN*.

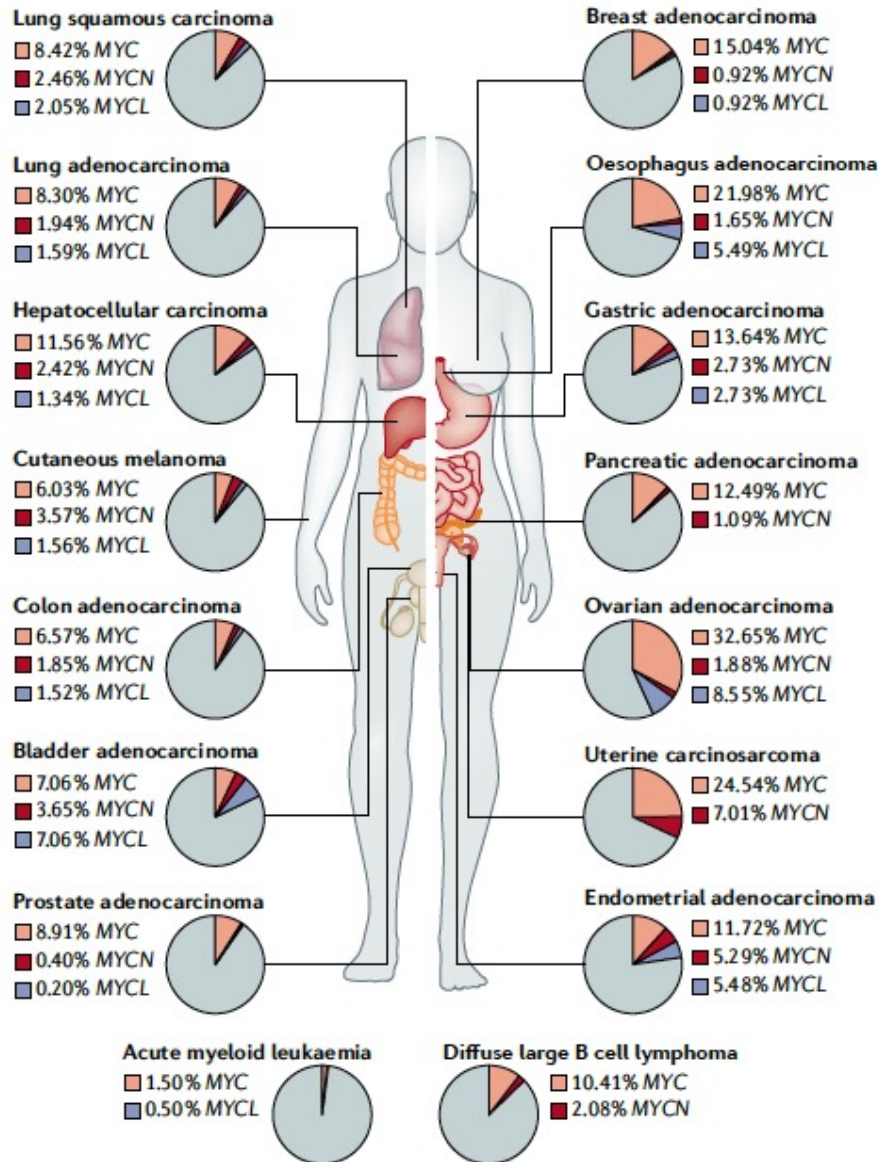
Le oncoproteine Myc regolano potenzialmente la trascrizione di almeno il 15% dell'intero genoma. I geni bersaglio di Myc includono quelli coinvolti nella biogenesi dei ribosomi, nella traduzione delle proteine, nella progressione del ciclo cellulare orchestrando diverse funzioni biologiche come la proliferazione, la sopravvivenza, il differenziamento cellulare.

Proto-oncogene: c-MYC

- Il proto-oncogene c-MYC codifica per un fattore di trascrizione
- negli adulti è espresso nei tessuti con elevata capacità proliferativa come la pelle, l'intestino e la sua espressione correla con la proliferazione
- nelle cellule in coltura in risposta a fattori di crescita l'mRNA e la proteina c-MYC sono rapidamente espressi e la cellula entra nella fase G1 del ciclo cellulare.
- C-MYC forma un complesso eterodimerico con la molecola MAX che lega specifiche sequenze di DNA denominate E-box. Attraverso il reclutamento di molecole co-regolatorie associate alla acetilazione degli istoni aumenta l'espressione di una serie selettiva di geni.



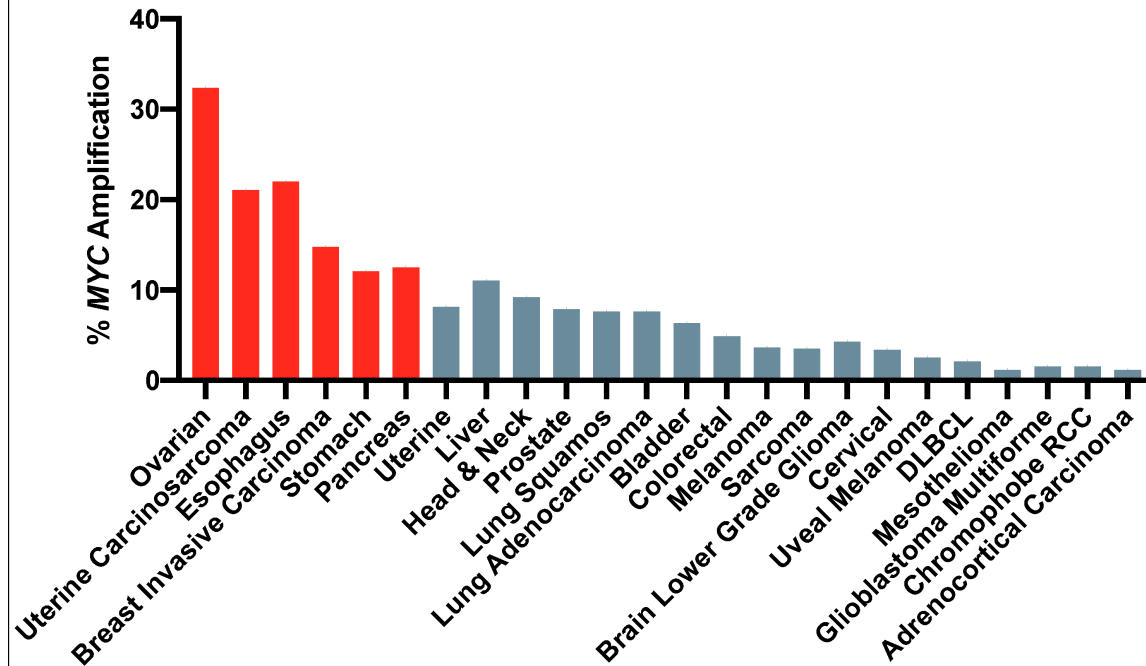
Alterazioni dei fattori di trascrizione della famiglia MYC nei tumori umani



Alterazioni dei proto-oncogeni MYC sono riscontrate nel 28% dei tumori umani. Le alterazioni geniche includono l'amplificazione del gene, traslocazioni e mutazioni che determinano un aumento della espressione di MYC.

Fig. 1 | Major genetic alterations involving MYC and its paralogues in human cancers. Prevalence of gene amplification of the three MYC paralogues MYC, MYCL and MYCN across 16 major human cancer types in The Cancer Genome Atlas.

MYC Amplification Across Cancers



L'espressione di c-MYC è deregolata in un ampio numero di tumori umani.

Mutazioni puntiformi, traslocazioni cromosomiche, amplificazione genica che attivano la trascrizione o stabilizzano MYC sono state osservate in numerosi tumori umani.

Meccanismi di attivazione di MYC nei tumori

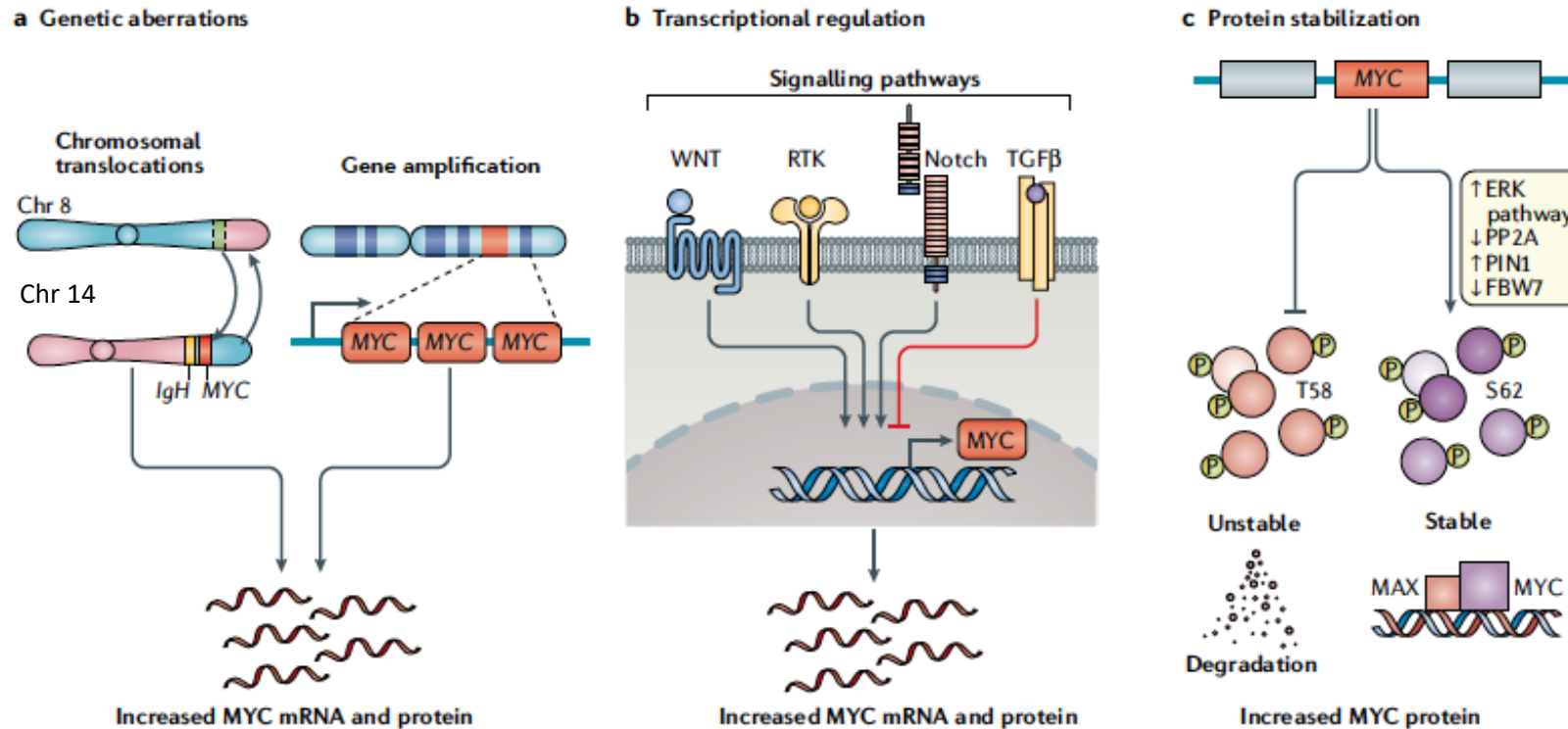
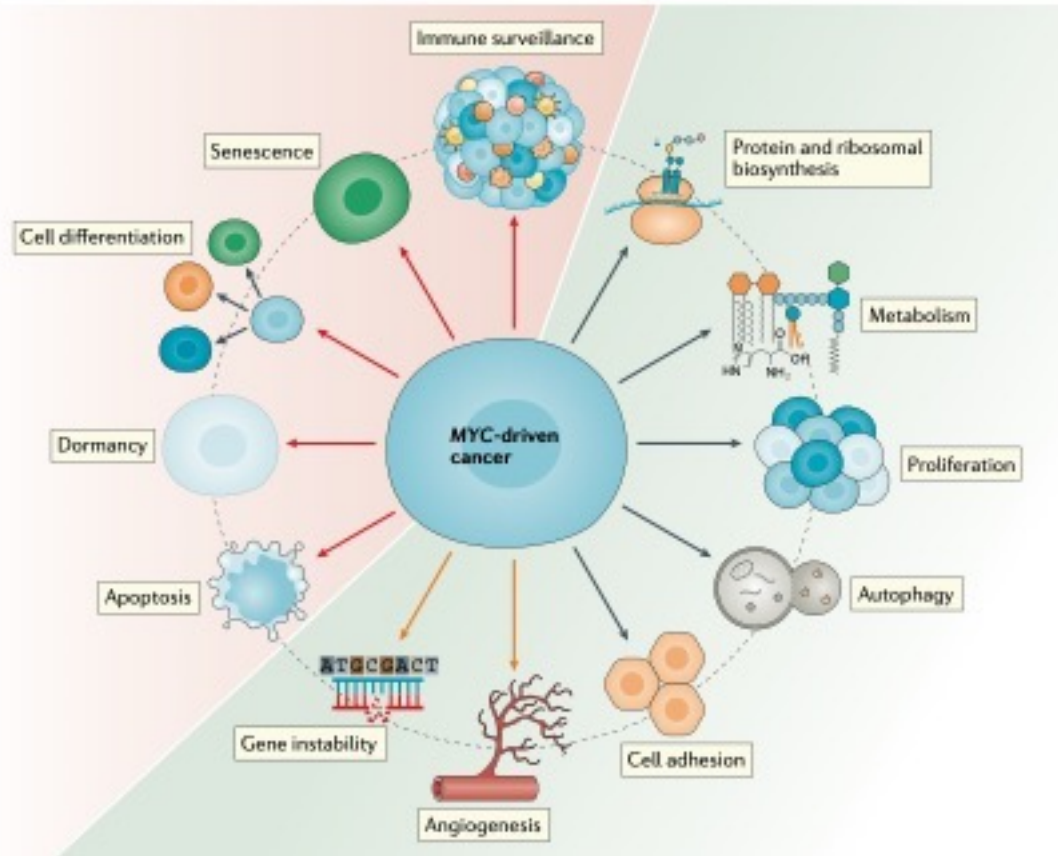


Fig. 2 | **Mechanisms leading to MYC activation in human cancers.** a | Genetic aberrations, such as chromosomal translocations and genomic amplifications, lead to increased MYC mRNA expression. b | Alteration of upstream regulatory pathways can lead to increased or decreased transcription of the MYC oncogene. c | Post-translational modifications of the MYC protein, such as preferential phosphorylation of the serine 62 (S62) residue versus threonine 58 (T58), can block degradation and promote stabilization of MYC, thereby enhancing activation of the MYC pathway.

MYC è amplificato in tumori solidi umani come il tumore della mammella e del fegato. Nelle leucemie T e B e nei linfomi l'attivazione di MYC è conseguente a traslocazione cromosomica. Inoltre l'espressione di MYC può essere aumentata dall'attivazione anomala delle vie di segnalazione oncogeniche come quelle mediate dai recettori ad attività tirosin chinasi (RTK), WNT, Notch o attraverso la perdita di oncosoppressori come il TGF-beta. MYC può essere attivata da modificazioni della stabilità della proteina attraverso l'aumento della forma fosforilata in serina 62 rispetto a quella fosforilata in treonina 58. La via di segnalazione RAS-MEK (MAPKK)-ERK (MAPK) aumenta i livelli di MYC S62 stabilizzando la proteina.

Effetti dell'attivazione di MYC nelle cellule tumorali

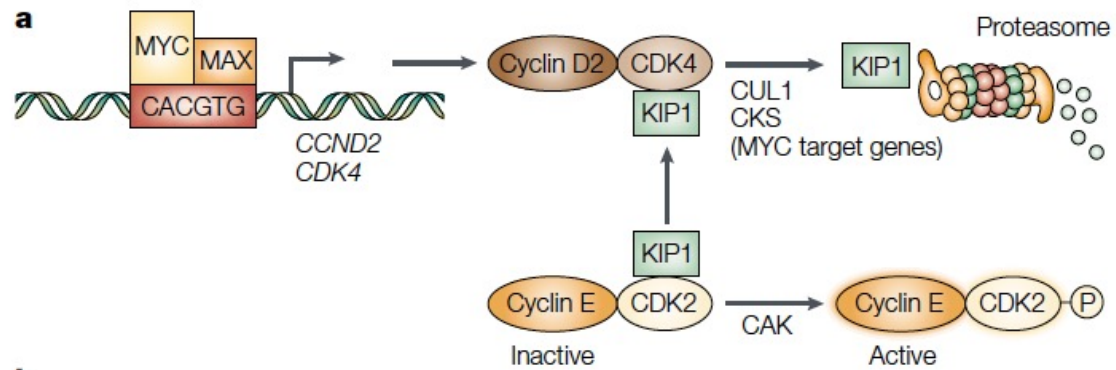


Nelle cellule normali l'espressione di MYC è strettamente controllata. L'overespressione di MYC promuove la crescita e la proliferazione delle cellule tumorali attraverso:

- i) l'aumento della sintesi proteica e dei ribosomi
- ii) modificazioni del metabolismo che facilitano l'assorbimento di nutrienti. Es: l'induzione di trasportatori del glucosio e della glutammina
- iii) lo shift metabolico dalla fosforilazione ossidativa alla glicolisi (effetto Warburg)
- iv) L'aumento di espressione dei geni coinvolti nella progressione del ciclo cellulare come la ciclina D.

L'attivazione di MYC da sola non è sufficiente a indurre la trasformazione neoplastica nelle cellule non maligne. L'over-espressione di MYC nelle cellule normali induce l'arresto del ciclo cellulare, la morte cellulare. Per questo l'inattivazione di geni oncosoppressori o regolatori dell'apoptosi è necessaria per la trasformazione tumorale.

C-MYC e proliferazione cellulare



C-MYC promuove la proliferazione cellulare inducendo:

- l'espressione delle cicline D
- la degradazione dell'inibitore KIP1 (p27) attraverso i suoi geni target CUL1 e CKS.