

Università degli Studi di Napoli Federico II
Biotecnologie Mediche

Corso di Oncologia Sperimentale

Prof.ssa Rosa Marina Melillo e prof. Massimo Santoro
2020/2021

Lezioni Melillo	Argomento	Data
1°Lezione	Introduzione Oncologia Sperimentale	09/03/2021
2°Lezione	Caratteristiche delle cellule trasformate in coltura; cancro malattia dei geni; oncogeni ed oncosoppressori	11/03/2021
3°Lezione	Oncogeni: classi funzionali; Recettori Tirosina-chinasi; famiglia delle EGFR; famiglia delle chinasi Srk	16/03/2021
4°Lezione	Chinasi Srk; Pathway JAK/STAT; Oncogeni: trasduttori del segnale	18/03/2021
5°Lezione	Via di trasduzione del segnale PI3K/AKT; Via di trasduzione del segnale mTOR; RAS; Via di trasduzione delle MAPK; BRAF; Fattori trascrizionali come oncogeni; cMyc, RAR α , geni antiapoptotici.	23/03/2021
6°Lezione	Immunologia ed immunoterapia dei Tumori	26/03/2021
7°Lezione	Regolazione molecolare dell'apoptosi; Geni oncosoppressori	30/03/2021
8°Lezione	Retinoblastoma familiare	08/04/2021
9°Lezione	p53: principale tumor suppressor	13/04/2021
10°Lezione	Gatekeepers	15/04/2021
11°Lezione	Instabilità genomica, riparo del DNA e cancro: i caretakers	20/04/2021
12°Lezione	DDR; ATM; BCRA1 e 2; Alterazioni cromosomiche in cellule cancerose	22/04/2021
13°Lezione	Il metabolismo del cancro	29/04/2021
14°Lezione	Infiammazione e cancro	04/05/2021
15°Lezione	Virus oncogeni	06/05/2021

Lezioni Santoro	Argomento	Data
1°Lezione	Teoria della mutazione somatica del cancro; Geni driver; Leucemia	11/05/2021
2°Lezione	Funzioni proteine PML, RAR α e PML-RAR α ; Lesioni genetiche cooperative ed esclusive; Mutazioni di TET2; Mutazioni di IDH1/IDH2	13/05/2021
3°Lezione	Metastasi	18/05/2021

Introduzione Oncologia Sperimentale

Il tumore, detto anche neoplasia è una *nuova crescita*. A noi sembra abbastanza ovvio che derivi dalla proliferazione incontrollata di una cellula ma questo non era chiarissimo fino al secolo scorso tant'è vero che si pensava che i tumori fossero delle malattie che derivavano da impianti esterni.

Quindi “neoplasia” deriva dal greco e significa “nuova crescita” e l’**oncologia** è proprio lo studio dei meccanismi molecolari e cellulari che sono alla base delle neoplasie, che si dividono in due grosse categorie: i tumori benigni e i tumori maligni. La neoplasia è una crescita incontrollata di cellule che può partire da qualsiasi sito del nostro organismo. Ovviamente ci sono siti in cui è più frequente e siti in cui è meno frequente in cui si originano i tumori ma di fatto quasi tutti i tessuti possono dare origine a tumori.

È cruciale nella comprensione del fenomeno cancro e neoplasia, come vengono regolati i meccanismi della crescita cellulare; le cellule hanno diversi ritmi proliferativi a seconda del momento, a seconda del tessuto, a seconda delle circostanze.

Fisiologicamente noi abbiamo dei:

1. tessuti che si dividono abbastanza rapidamente;
2. tessuti che non si dividono quasi mai a meno che non ci sia uno stimolo (e questo stimolo può essere anche un danno con perdita di tessuto);
3. tessuti che non si dividono mai o quasi mai (che sono cioè differenziati terminalmente per cui le cellule sono uscite in maniera definitiva dal ciclo cellulare e non possono essere più recuperate e messe a proliferare);

I tessuti in rapida divisione sono quei tessuti in cui le cellule vanno sostituite contemporaneamente perché muoio in quanto hanno un'emivita più breve. Esempi:

- **Tessuti emolinfopoietici**, cioè le cellule del sangue. Per es., i globuli bianchi, in particolare granulociti e neutrofili, durano 48 ore (nascono, si sviluppano, si differenziano e poi muoiono per apoptosi) per cui devono essere continuamente sostituiti dalla divisione di cell. Staminali.
- **Epidermide** che è formata da vari strati di cellule che originano da uno strato basale e da cell. Staminali dello strato basale e man mano che migrano verso l'alto vanno incontro a differenziazione progressiva e poi diventano cheratinociti e dopo un po' muoiono formando lo strato corneo e poi vengono desquamate dall'epidermide. Quindi queste cellule che muoiono devono essere rimpiazzate da cellule nuove.
- **Tessuto gastroenterico**: è un epitelio monostratificato che essendo in contatto con il cibo e con tutto ciò che ingeriamo e quindi può essere danneggiato e le cellule che coprono con un monostrato la cavità intestinale sono cellule che hanno un'emivita definita e che devono essere necessariamente sostituite da nuove cellule.
- **Sangue**: tutte le cellule del sangue hanno origine nel midollo osseo da cellule staminali le quali si devono dividere abbastanza costantemente perché l'emivita di queste cellule è breve (andiamo dalle 48 ore di un globulo bianco ai 120 gg di un globulo rosso), queste cellule quindi devono essere continuamente rimpiazzate altrimenti noi non possiamo sopravvivere;

Quindi ci sono dei tessuti che normalmente proliferano ma chi è che prolifera? Questi tessuti originano da delle cellule staminali che sono in grado di originare poi tutte le cellule di quel tessuto; parliamo ovviamente di cellule staminali dell'adulto e non di quelle embrionali che sono totipotenti cioè possono effettivamente differenziare in qualsiasi tipo di tessuto; quelle che noi ritroviamo nei tessuti adulti sono pluripotenti, possono cioè dare origine ad una serie di progenitori che poi differenziano a livello terminale nelle varie cellule del sangue (se parliamo della staminale ematopoietica), dell'intestino (se parliamo della staminale presente nell'intestino), anche il tessuto cerebrale possiede delle cellule staminali e ha una certa capacità rigenerativa.

Le cellule staminali si dividono solo in maniera regolata con un ritmo piuttosto rapido per sopperire alla perdita delle cellule differenziate, in altri tessuti si dividono molto meno spesso come succede nei tessuti di "seconda classe", cioè quelli che si dividono sotto stimolo come il fegato, altre ghiandole, in cui le cell. Staminali danno origine a cellule differenziate e queste cellule generalmente hanno un'emivita piuttosto lunga quindi il turnover è più lento e le cell. Staminali si dividono molto più lentamente o pochissimo a meno che non ci sia un danno e in questo caso possono dividersi più velocemente. È quello che si è visto nel famoso esperimento nel topo di "epatectomia parziale" in cui si è visto che se rimossa una porzione del fegato in un animale da esperimento le cellule iniziano a proliferare e riproducono quella parte di organo che era andata perduta.

Questo ci dice che la divisione cellulare è un processo altamente controllato perché se è in eccesso, si ha un eccesso di cellule che può determinare un tumore, se invece c'è una riduzione cellulare in alcuni tessuti si possono avere delle caratteristiche di atrofia, cioè mancata divisione cellulare con mancata sostituzione di cellule perse e perdita di fatto di tessuto.

Quindi ci sono alcuni tessuti che sono in rapida divisione e alcuni che si dividono solo in casi particolari e altri ancora che non si dividono mai, anche se, quest'ultimo concetto è superato perché si è visto che anche tessuti molto differenziati che hanno un rate proliferativo molto basso in cui le cellule non si dividono quasi mai, di fatti anche lì ci può essere un po' di proliferazione. Si sa che i danni a carico del Sistema Nervoso sia Centrale che Periferico sono difficilmente riparabili perché i neuroni hanno una scarsa capacità rigenerativa e le cell. Staminali neuronali non hanno la capacità rigenerativa di altri tessuti. Tutto questo, naturalmente, ha un interesse enorme nella medicina rigenerativa per esempio, che studia le possibilità delle cellule staminali dell'adulto di rigenerare tessuti: se uno riuscisse a trovare le condizioni per fare neuroni piuttosto che cellule mesenchimali avrebbe risolto molti problemi, ma tutto questo è molto difficile.

I tessuti (dell'adulto) sono caratterizzati da un numero costante di cellule. Non si ha un fegato che s'ingrossa o una ghiandola che s'ingrossa, ghiandole e tessuti crescono fino a raggiungere l'età adulta e poi ci manteniamo uguali noi, quindi i nostri organi e anche il numero delle nostre cellule.

Come si fa a mantenere costante il numero di cellule in un tessuto?

1. Crescita cellulare (ovvero la divisione cellulare)
2. Morte cellulare

Lì dove c'è un tessuto con un'apoptosi spiccata come per i globuli bianchi c'è bisogno di un ritmo proliferativo piuttosto elevato. Lì dove la perdita cellulare fisiologica è piuttosto bassa anche il

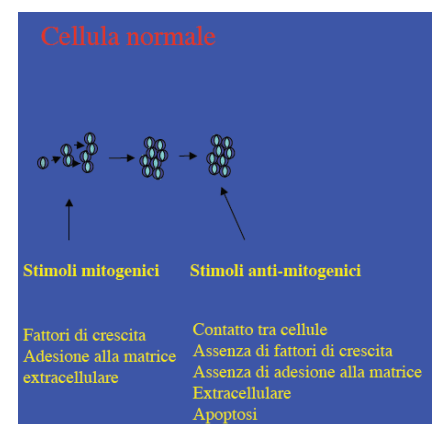
ritmo proliferativo sarà basso. Quindi possiamo avere un accumulo aberrante del numero di cellule in un tessuto sia per un aumento del ritmo proliferativo sia per un difetto di morte cellulare. Infatti, come vedremo, uno dei difetti primari non è legato all'aumento del ritmo proliferativo ma a una perdita della morte fisiologica di cellule in un determinato tessuto. Questo succede per esempio nelle leucemie, molto spesso nelle malattie neoplastiche del sistema emolinfopoietico più che un problema di aumento della proliferazione c'è un problema di mancata morte perché le cellule non vanno incontro a differenziazione terminale e quindi c'è un accumulo di queste cellule poche differenziate che prendono il sopravvento rispetto alle cellule normali e danno una patologia di tipo neoplastico a carico del sangue o dei linfociti o dei globuli bianche.

Quindi il numero di cellule in un tessuto nell'adulto deve essere mantenuto costante e questa omeostasi tissutale viene regolata sia a livello di crescita, numero di mitosi che le cellule possono fare e anche a livello di morte cellulare: ad un certo punto le cellule devono morire altrimenti creano problemi.

Cosa regola la morte e cosa la divisione cellulare?

La divisione cellulare generalmente dipende da:

- **stimoli mitogenici**, dove per stimoli (che provengono dall'esterno ma talvolta anche dall'interno) mitogenici che stimolano la cellula a fare la mitosi. Possono essere di varia natura, i più importanti sono:
 - *fattori di crescita* che sono perlopiù glicoproteine rilasciate da altre cellule o dalle stesse cellule che devono andare incontro a proliferazione che attraverso il riconoscimento di recettori e segnali cellulari che dicono alla cellula di dividersi.
 - *Adesione alla matrice extracellulare*: le cellule epiteliali che sono abituate a crescere in aderenza ad una matrice extracellulare, hanno la capacità di proliferare in seguito a stimoli che derivano dalla matrice e proteine e sostanze adesive come le integrine e i ligandi delle integrine sono dei segnali di proliferazione per alcune cellule epiteliali.
 - *Ormoni e piccoli peptidi*
- **stimoli anti-mitogenici** bloccano la proliferazione e dicono alla cellula di non proliferare più e comprendono proprio dei fattori di blocco della crescita. Sono stati studiati sia in vivo che in vitro e questi 2 contesti sono molto differenti.
 - *Contatto tra cellule*. Quando mettiamo delle cellule in una piastra da coltura (ricca di nutrienti e fattori di crescita) queste cellule possono proliferare formando un monostrato ma proliferano fino a un certo punto perché quando riempiono lo spazio vitale (cioè la piastra di coltura) avviene il fenomeno dell' **"Inibizione da contatto"** in cui le cellule non hanno più spazio vitale e non hanno dove "attaccarsi" e questo rappresenta uno stimolo anti-mitogenico che ha delle basi molecolari.
 - *Assenza di fattori di crescita*: molte cellule se non ricevono segnali non proliferano
 - *Assenza di adesione alla matrice extracellulare*: le cellule che sono abituate di stare attaccate alla lamina basale (come le cell. Epiteliali) non riescono a proliferare se



non vi aderiscono perché ci sono dei segnali che provengono dalle molecole di adesione che sono importanti per la proliferazione cellulare.

- L'*apoptosi* è un stimolo anti-mitogenico, cioè a volte la cellula decide di andare in apoptosi in maniera attiva producendo dei fattori pro-apoptotici endogeni o esogeni cioè dei ligandi, delle molecole solubili, che dicono alla cellula che deve morire.

Invece, le cellule tumorali non sono altro che un accumulo di cellule che crescono in maniera indefinita. La prima caratteristica delle cellule tumorali è la:

- **proliferazione indipendente da stimoli esterni:** indipendentemente dalla presenza di stimoli mitogenici o antimitogenici vanno incontro a proliferazione;
- **aumento di sopravvivenza:** non vanno in apoptosi quando dovrebbero farlo.



Neoplasia: accumulo di cellule aberrante dovuto ad un'alterata regolazione di meccanismi di crescita e morte cellulare. Le cellule tumorali possono avere differenti caratteristiche fenotipiche e così i tumori che originano da queste cellule. Una prima grossa divisione che viene fatta e che ha un'importanza sia biologica che clinica:

- *Neoplasie benigne*
- *Neoplasie maligne: Cancro*

La neoplasia benigna viene così definita perché difficilmente rappresenta un problema medico, nel senso che non sono in grado di portare alla morte il paziente a meno che non si localizzino in zone piuttosto difficili da raggiungere. Sono masse tumorali che non hanno la capacità d'invadere i tessuti circostanti quindi rimangono delimitate e spesso si forma una capsula connettivale reattiva, quindi possono essere facilmente eliminate con la chirurgia e una volta rimosse non recidivano.

Di contro, le neoplasie maligne hanno la capacità d'infiltrare i tessuti circostanti e di andare in giro per il corpo a formare altri tumori dando origine al fenomeno delle *metastasi*. Le neoplasie maligne sono difficili da curare, difficili da eradicare e possono recidivare e anche se rimosse chirurgicamente può aver mandato precedentemente in circolo delle cellule maligne, metastatiche, e quindi quando poi si formano le metastasi si abbassa di molto la sopravvivenza del paziente e risulta molto difficile a quel punto ottenere la guarigione.

Domanda di uno studente: cosa fa sì che un tumore resti benigno o diventi maligno?

Prof: in genere i tumori sono dovuti all'accumulazione di alterazioni genetiche ed epigenetiche a livello dei nostri geni. Generalmente quando ci sono mutazioni che convertono una cellula normale in una neoplastica c'è bisogno di mutazioni e più se ne accumulano e più c'è la cellula acquisisce caratteristiche fenotipiche che la fanno convertire da cellula che dà un tumore benigno a una che dà un tumore maligno. Quindi la cellula che dà un tumore benigno è una cellula che ha accumulato un certo numero di mutazioni che le fa avere un certo rate proliferativo un po' elevato e fanno sì che si formi una massa tumorale ma queste mutazioni non sono sufficienti a farle acquisire altre caratteristiche fenotipiche tipiche delle cellule maligne che sono essenziali per la progressione tumorale, ovvero, si passa da un tumore benigno ad uno maligno. La cellula dopo aver acquistato