

ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA
DIPARTIMENTO DI
INGEGNERIA DELL'ENERGIA ELETTRICA E DELL'INFORMAZIONE
“GUGLIELMO MARCONI”

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

LA BIOLOGIA DELLA CELLULA TUMORALE

Elaborato in Biologia Applicata

Relatore

Prof.ssa Silvia Canaider

Presentata da

Giulia Piccioli

Anno Accademico 2021/2022

Sommario

Ringraziamenti	3
Introduzione	4
Capitolo 1 – Il cancro	5
1.1 Le cellule tumorali.....	5
1.2 Proprietà biologiche della cellula cancerosa.....	6
1.3 Le cause del cancro.....	10
1.4 La genetica del cancro.....	13
1.5 Gli onco-soppressori e gli oncogeni.....	16
1.5.1 Gli onco-soppressori.....	18
1.5.2 Gli oncogeni.....	20
1.6 Il genoma del cancro.....	24
1.7 Terapie per combattere il cancro.....	26
Capitolo 2 – Il cancro al seno	32
2.1 La diagnosi.....	33
2.2 La classificazione e le terapie.....	34
2.3 Il tasso di mortalità dl cancro al seno.....	37
Conclusione	39
Bibliografia	40

Ringraziamenti

Prima di procedere con la trattazione, vorrei ringraziare la mia relatrice Silvia Canaider per la sua infinita disponibilità e per avermi guidato e supportato costantemente nella fase più importante del mio percorso accademico. Grazie per avermi fornito ogni materiale utile alla stesura del mio elaborato.

Ringrazio l'ateneo di Bologna e la commissione che mi ha permesso di presentare il mio lavoro.

Un sentito grazie alla mia famiglia che c'è sempre stata soprattutto nei momenti di sconforto.

Introduzione

Con il termine cancro si raggruppano una serie di patologie ognuna avente cause diverse, tessuti ed organi bersagli differenti e richiedenti esami diagnostici specifici e varie soluzioni terapeutiche. Tuttavia la caratteristica che accomuna queste malattie è la presenza di cellule tumorali che differiscono da quelle sane a causa della loro proliferazione non controllata. Si possono classificare i tumori in base all'organo nel quale si sviluppano, allo stadio in cui si trova la malattia nel momento della diagnosi, all'aggressività e alla possibilità dello sviluppo di metastasi. Esistono molteplici trattamenti oncologici che possono essere utilizzati singolarmente o in maniera combinata per combattere la malattia.

Il tumore al seno è una malattia in costante aumento tra la popolazione femminile, tanto da essere uno dei tumori più comuni. Il tumore della mammella è causato dalla proliferazione incontrollata di alcune cellule, principalmente quelle della ghiandola mammaria che si trasformano in cellule maligne. La miglior cura per il tumore al seno è la prevenzione da effettuarsi mediante visite (autopalpazione e visite specialistiche) ed esami diagnostici quali la mammografia e l'ecografia mammaria.

Il seno è da sempre il simbolo di femminilità e di maternità e si sviluppa nelle donne attorno ai 12-13 anni. Il seno è sottoposto a cambiamenti strutturali lungo il corso della vita di una donna e quelli più evidenti avvengono durante la gravidanza quando si prepara per le proprie funzioni quali l'allattamento del neonato. Gli uomini e le donne hanno entrambi un tessuto del seno ma il seno è normalmente ben sviluppato solo nelle donne. I due seni femminili sono all'incirca emisferici e sono composti da tessuto adiposo e ghiandolare che riveste lo strato muscolare della parte frontale del torace. La ghiandola mammaria è costituita da 15-20 lobuli e secerne latte che viene poi trasportato nel capezzolo per mezzo dei dotti lattiferi. Le dimensioni del seno variano a seconda della quantità di tessuto adiposo presente. Infatti la quantità di tessuto ghiandolare è la medesima in ogni seno.

Inizierò studiando la biologia della cellula cancerosa, le cause del cancro e le terapie per combatterlo focalizzandomi sugli aspetti legati al tumore al seno. Infine analizzerò nello specifico il cancro al seno evidenziando l'importanza della prevenzione sottoponendosi ad esami diagnostici specifici per la patologia, esponendo le varie terapie e la riduzione del tasso di mortalità dovuta anche al continuo studio di nuovi approcci terapeutici.

Il cancro, e in particolare quello al seno, è un argomento che ho voluto studiare ed approfondire avendo in famiglia persone che sono state malate di tumore al seno.

Capitolo 1 - Il cancro

1.1 Le cellule tumorali

Affinché si mantenga un ordine durante l'accrescimento e il ricambio dei tessuti del corpo ogni singola cellula deve svolgere delle funzioni secondo le necessità dell'organismo. Essa deve dividersi solamente quando sono necessarie nuove cellule dello stesso tipo al quale essa appartiene e restare in vita per il tempo necessario conservando le proprie caratteristiche di cellula specializzata.

In ogni organismo il comportamento anomalo di una cellula non causa un grave danno. Tuttavia, se una singola cellula subisce un'alterazione genetica che le consente non solo di sopravvivere ma bensì di moltiplicarsi quando non dovrebbe farlo, dando vita a nuove cellule che manifestano lo stesso comportamento difforme, si ha un danneggiamento, in primis, dell'organizzazione del tessuto e, infine, dell'intero organismo. A partire da questi cloni di cellule devianti si manifesta il cancro.

Le cellule tumorali e la loro progenie si distinguono per due proprietà ereditabili:

1. riprodursi illimitatamente;
2. invadere e colonizzare territori normalmente riservati ad altri tipi di cellule.

La combinazione di tali proprietà determina il rischio di un esito letale.

Possiamo ora distinguere il tumore in due varietà. Si parla di tumore benigno quando le cellule possiedono solamente la prima caratteristica. Tali cellule possiedono un'eccessiva proliferazione ma rimangono aggregate in un'unica massa formando per l'appunto un tumore. Solitamente questo tipo di tumore viene completamente rimosso per via chirurgica. Viceversa, se le cellule tumorali sono in grado di invadere i tessuti circostanti, si ha un tumore maligno.

Il cancro è dunque una malattia in cui le cellule aggirano i meccanismi di controllo della crescita normale e proliferano in modo non regolato. Se le cellule maligne rimangono compatte in una singola massa tumorale, quindi finché la crescita del tumore rimane localizzata, il cancro può essere trattato e curato attraverso la rimozione chirurgica del tessuto malato. Tuttavia, la maggior parte dei tumori maligni, produce cellule che riescono a lasciare la massa tumorale primaria per poi entrare nel circolo sanguigno o linfatico iniziando la crescita di tumori secondari, denominati metastasi, in altre parti del corpo. È proprio questa capacità di diffusione del tumore nell'organismo che rende il cancro, una malattia devastante.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

1.2 Proprietà biologiche della cellula cancerosa

Esistono molte differenze tra le proprietà di una cellula cancerosa in base al tipo di cellula a cui essa appartiene. Ciò nonostante, queste cellule hanno in comune un certo numero di proprietà di base che sono indipendenti dal tessuto dal quale originano. In primis, a livello cellulare, esse presentano la perdita del controllo della crescita e di divisione. Quando le cellule sane vengono fatte crescere in coltura in condizioni che promuovono la proliferazione, esse si sviluppano e si dividono con un ritmo simile a quello delle cellule tumorali e crescono sulla piastra di coltura fino a quando non coprono la superficie come un mono strato. Poi si osserva un calo del tasso di crescita quando le cellule rispondono ai segnali inibitori del loro ambiente che si originano in seguito all'esaurimento dei fattori di crescita nel mezzo di coltura o del contatto con le cellule circostanti sulla piastra. Viceversa, analizzando cellule maligne in medesime condizioni, possiamo notare come queste continuino a crescere impilandosi l'una sull'altra formando delle masse cellulari. Dunque è evidente che le cellule maligne non rispondono ai segnali regolatori che interrompono la crescita e la divisione cellulare nelle cellule sane. Inoltre le cellule maligne, a differenza di quelle normali, possono crescere in assenza di fattori di crescita, solitamente aggiunti al terreno di coltura, come il siero che contiene i fattori di crescita come EGF o IGF, grazie proprio alla caratteristica del loro ciclo cellulare, che non dipende dall'interazione tra i fattori di crescita e i loro recettori, presenti sulla superficie cellulare. Infine le cellule normali in coltura presentano una limitata capacità di dividersi in quanto, dopo circa 50-80 divisioni mitotiche, esse entrano in uno stato chiamato senescenza replicativa: invecchiano e smettono di crescere e di dividersi. Ciò accade poiché, a ogni divisione cellulare, i telomeri dei cromosomi si accorciano fino ad arrivare ad un punto critico nel quale le cellule attivano una risposta fisiologica che causa l'arresto della loro crescita e divisione. Invece le cellule cancerose sono in grado di dividersi all'infinito senza andare in contro alla morte cellulare, e sono considerate per questo immortali. Questa differenza nel potenziale di crescita è spesso attribuita alla telomerasi presente nelle cellule cancerose e non in quelle sane. Il 90% dei tumori umani è costituito da cellule che contengono una telomerasi attiva, enzima che consente il mantenimento dei telomeri alle estremità cromosomiche, permettendo così alle cellule di continuare a dividersi; mentre il rimanente 10% ha un meccanismo alternativo fondato sulla ricombinazione genetica che mantiene la lunghezza dei telomeri inalterata in assenza di telomerasi.

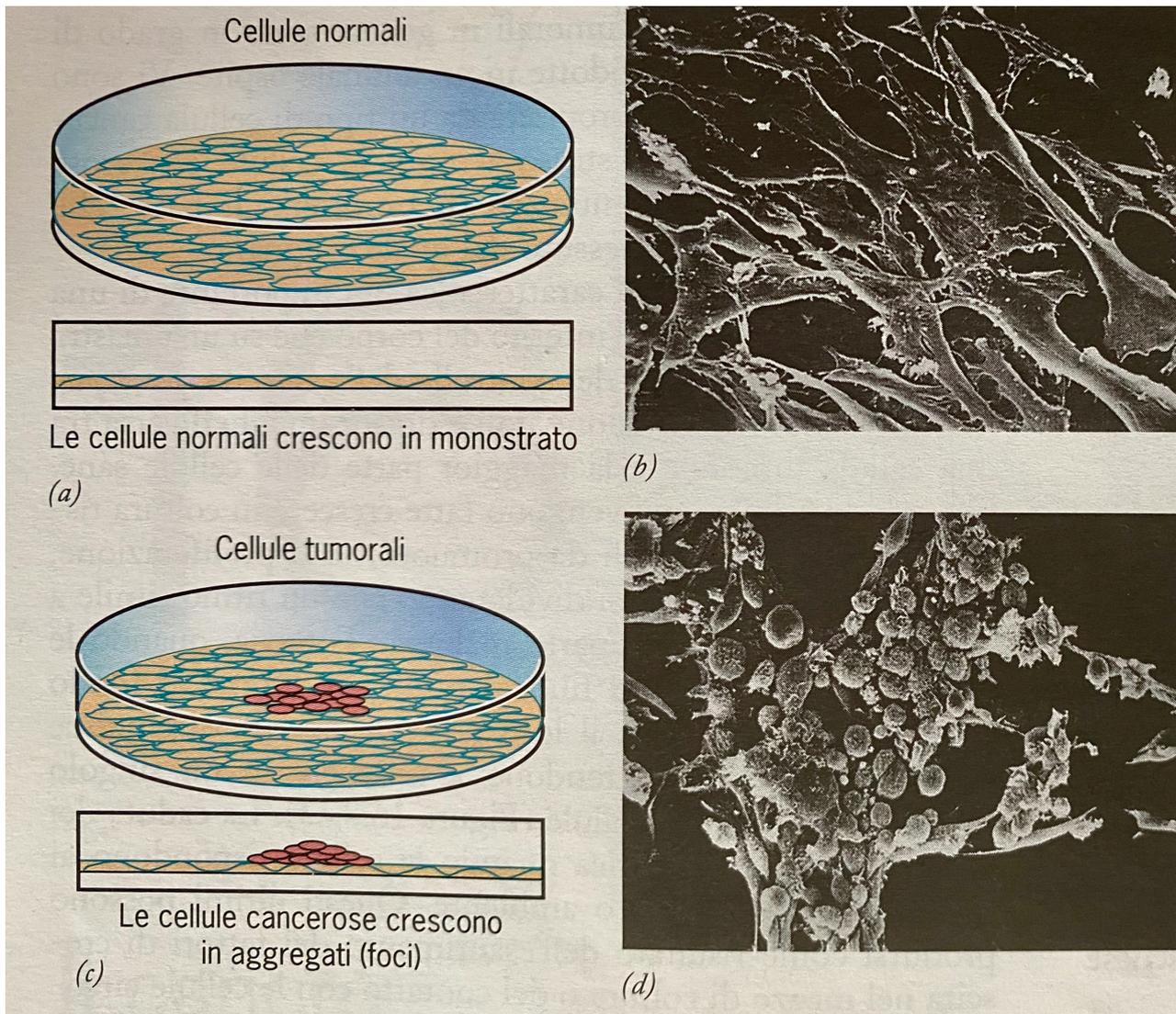


Figura 1: Proprietà di crescita delle cellule sane (a e b) e tumorali (c e d).

Se da un lato le cellule sane tendono a conservare, mentre crescono e si dividono, il loro normale assetto cromosomico diploide, dall'altro le cellule tumorali sono geneticamente instabili ed hanno spesso gli assetti cromosomici alterati, causati dai difetti nei punti di controllo mitotici o da un numero anormale di centrosomi, presentando un'aneuploidia ovvero una variazione nel numero dei cromosomi rispetto a quella che normalmente caratterizza le cellule di un individuo della stessa specie. Quando l'assetto cromosomico di una cellula sana viene alterato, generalmente si attiva una via di segnalazione che conduce all'apoptosi cellulare. Al contrario le cellule tumorali, anche se il loro assetto cromosomico viene fortemente modificato, non attivano la risposta che porta all'autodistruzione. Nell'essere umano, il numero euploide, cioè normale, di cromosomi è l'assetto diploide $2n=46$. Una cellula diploide normale ha 22 paia di autosomi e due cromosomi sessuali. I due membri dello stesso paio dovrebbero essere riconoscibili per uguali dimensioni e forma e ciascun cromosoma dovrebbe presentare un unico colore uniforme a seguito di colorazioni

specifiche (figura 3). Il cariotipo di una cellula prelevata da un tumore della mammella (figura 2) mostra cromosomi disorganizzati a causa della presenza di cromosomi in eccesso e di cromosomi mancanti. Inoltre vi sono cromosomi di vari colori generati dalle numerose traslocazioni che sono avvenute nelle precedenti generazioni cellulari. Tali anomalie di numero e struttura dei cromosomi, sono 51 nella cellula di carcinoma mammario e possono portare ad errori di segmentazione dei cromosomi durante la divisione cellulare provocando un ulteriore peggioramento nel tempo del grado di alterazione genetica.



Figura 2: Cariotipo di una cellula di un tumore della mammella mostra un assetto cromosomico anomalo.



a)



b)

Figura 3: Cromosomi mitotici e cariotipo. (a) Fotografia di un gruppo di cromosomi ottenuti dal nucleo di una singola cellula umana in divisione. (b) I cromosomi colorati di un uomo di sesso maschile organizzati in un cariotipo.

Le mutazioni che portano al cancro avvantaggiano le cellule mutanti nella competizione con le cellule vicine: inizialmente una popolazione di cellule mutanti cresce e contemporaneamente si evolve. Successivamente le cellule subiscono nuove mutazioni casuali alcune delle quali favoriscono la proliferazione e la sopravvivenza cellulare e questo comporta la nascita di cellule tumorali che crescono all'interno della popolazione di cellule che forma il corpo.

Infine le cellule tumorali dipendono spesso dalla glicolisi, processo metabolico attraverso il quale, in condizioni di anaerobiosi, una molecola di glucosio viene scissa in due molecole di acido piruvico al fine di generare molecole a più alta energia ovvero due molecole di ATP e due molecole di NADH. Tale proprietà dovrebbe essere dovuta alle loro grandi richieste metaboliche ed all'insufficiente apporto sanguigno alla massa tumorale. In condizioni di ipossia, le cellule tumorali attivano un fattore di trascrizione HIF che induce la formazione di nuovi vasi sanguigni e promuove le proprietà migratorie delle cellule. Tuttavia, anche quando vi è un eccesso di ossigeno le cellule tumorali continuano a generare la maggior parte dell'ATP tramite la glicolisi. L'idrogeno in eccesso, legandosi all'acido piruvico, genera acido lattico che viene secreto nel microambiente della massa tumorale dove può promuovere la crescita del tumore.

Le cellule tumorali che sono in grado di indurre la formazione di un tumore secondario, hanno specifiche proprietà della superficie cellulare che non sono presenti nella maggior parte delle altre cellule del tumore. In particolare le cellule delle metastasi devono essere meno adesive rispetto alle altre cellule per potersi staccare dalla massa tumorale. Inoltre esse devono avere la capacità di penetrare numerose barriere, tra cui le matrici extracellulari del tessuto connettivo circostante e la membrana basale che riveste i vasi sanguigni. Infine devono invadere i tessuti normali per formare tumori secondari.

Anche i cambiamenti nel numero e nel tipo delle varie molecole di adesione cellulare, e dunque la capacità delle cellule di aderire ad altre cellule o alle matrici extracellulari, sono stati coinvolti nel promuovere le metastasi. La caderina E è la principale molecola di adesione cellulare delle cellule epiteliali e unisce tra loro cellule dello stesso tipo attraverso il legame tra caderine uguali presenti sulla superficie di cellule adiacenti.

La perdita di caderina da cellule epiteliali normali, fenomeno che si verifica durante lo sviluppo embrionale, è associata alla conversione delle cellule in un fenotipo mesenchimale più mobile. La transizione epitelio-mesenchimale avviene anche durante la crescita e lo sviluppo del tumore ovvero quando una cellula tumorale abbandona lo strato epiteliale e, dopo aver superato la membrana basale, entra nel tessuto connettivo interagendo con le cellule connettivali circostanti in modo più conveniente piuttosto di essere riconosciuta come estranea. Indagini svolte su tumori di cellule epiteliali, come il cancro della mammella, mostrano livelli fortemente ridotti di caderina E in

tali cellule. Di fatti, tanto è maggiore il livello di espressione della caderina E, tanto minore è il potenziale metastatico delle cellule. Dunque la presenza della caderina E favorisce l'adesione fra le cellule e impedisce la dispersione delle cellule tumorali in siti differenti.

La figura 4 ci mostra non solo la capacità di una frazione di cellule del tumore primario di perdere la propria adesività con le altre cellule tumorali, ma anche quella di penetrare nella membrana basale che si trova al di sotto del tessuto epiteliale. Le cellule sono poi trasportate dal circolo sanguigno o linfatico ad altri tessuti dove, riattraversando la membrana basale del vaso, entrano nel tessuto dove possono dare origine ad un tumore secondario.

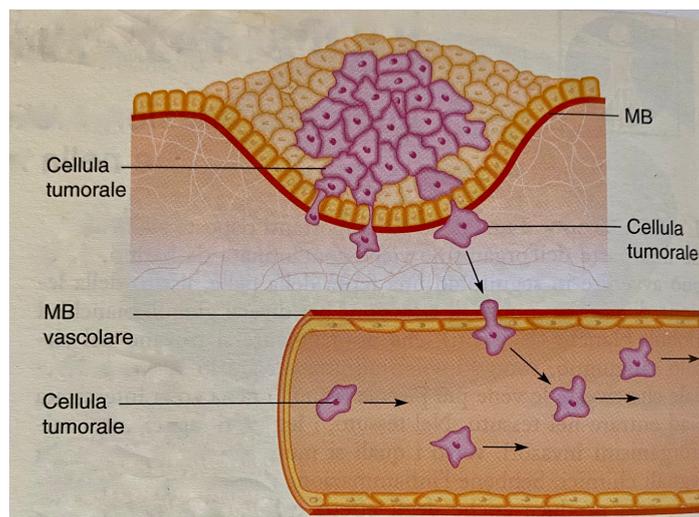


Figura 4: I passaggi che portano alla metastasi di un tumore epiteliale (carcinoma).

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

1.3 Le cause del cancro

Una delle domande più frequenti sul cancro riguarda proprio le cause che portano alla sua insorgenza. Purtroppo non esiste quasi mai, ad eccezione di qualche rara forma ereditaria, un'unica causa che possa spiegare l'insorgenza di un tumore. Al suo sviluppo contribuiscono diversi fattori, alcuni dei quali non sono modificabili, come l'età, mentre su altri si può agire per ridurre il rischio di contrarre la malattia. L'invecchiamento è il fattore di rischio più rilevante per lo sviluppo del cancro in quanto la maggior parte dei tumori si sviluppa in tarda età. Un altro fattore non modificabile riguarda la familiarità, ovvero la predisposizione a sviluppare la malattia trasmessa dai geni ereditati. La presenza di casi tumorali in famiglia non comporta la matematica certezza di contrarre la malattia ma occorre prestare attenzione nel seguire stili di vita sani, oltre a sottoporsi a prevenzione periodica. Tra i fattori chimici troviamo le polveri ambientali, il fumo, il cibo e

l'alcool. Il primo di questi contribuisce alla maggior parte dei tipi di cancro, affermazione dimostrata dal fatto che i tipi di cancro più frequenti differiscono da un Paese all'altro. Inoltre, alcune categorie di lavoratori, sono esposte ad un rischio più elevato perché a stretto contatto con prodotti chimici. Attraverso studi epidemiologici, effettuati in base alla frequenza sulla comparsa di certe forme tumorali in determinate categorie di lavoratori, è stato possibile individuare una serie di sostanze chimiche cancerose. Di conseguenza, è stato proibito l'utilizzo di alcune di queste, mentre per altre sono state stabilite delle norme per tutelare le persone che ne sono a diretto contatto. Le diossine, per esempio, sono sostanze che si producono nel corso di diversi processi e tendono ad accumularsi nell'ambiente e negli alimenti. Altre sostanze pericolose sono contenute in pesticidi utilizzati in agricoltura. Infine gli idrocarburi aromatici policiclici, che possiamo trovare nel fumo di sigaretta, nelle pietanze cotte alla griglia, nel gas di scarico delle automobili, favoriscono lo sviluppo di vari tipi di tumore. L'inquinamento atmosferico può quindi essere anche tra le mura domestiche. Altri fattori chimici che aumentano il rischio del cancro sono il cibo e il fumo: per esempio il fumo di tabacco non incide solamente sulla manifestazione dei tumori del polmone ma anche in svariati altri tipi tra cui il tumore alla vescica. Infatti, si stima che, abolendo il consumo di tabacco, si eviterebbe il 30% di morte legata al cancro. È determinante, non solo il numero di sigarette che si fumano, ma soprattutto l'arco di tempo nel quale si protrae l'abitudine. Le abitudini alimentari non salutari possono favorire la comparsa della malattia ma la qualità non è l'unico aspetto che va preso in considerazione. Anche la quantità di cibo ingerito gioca un ruolo fondamentale. Le sostanze nutrienti in eccesso presenti nel circolo sanguigno possono favorire la sopravvivenza, la crescita e la proliferazione di cellule portatrici di mutazioni potenzialmente in grado di dare origine al cancro. All'obesità contribuisce anche la sedentarietà, soprattutto per determinati tipi di tumore tra i quali è presente quello al seno. Molti studi hanno dimostrato che aumentando la frequenza, l'intensità o la durata dell'attività fisica è possibile ridurre il rischio di tumore. Anche le bevande alcoliche, se consumate in eccesso, possono provocare il cancro e tra questi, troviamo anche il tumore al seno. Il fattore determinante non è il tipo di bevanda ma la quantità di alcool in essa contenuta. Molti epidemiologi concordano sul fatto che alcuni ingredienti della dieta, tra cui i grassi animali e gli alcolici, possano aumentare il rischio di sviluppare il cancro mentre certi composti presenti in frutta e verdura possano ridurre questo rischio.

È bene sottolineare che, nonostante i fattori chimici influenzino l'incidenza dei tumori e siano determinanti per specifiche forme di malattia, non sono la causa principale poiché, per quanto si cerchi di prevenire il cancro svolgendo uno stile di vita sano, non siamo in grado di debellarlo completamente.

Nel corso degli anni, oltre a numerose sostanze chimiche cancerogene presenti nel fumo e sostanze presenti nella fuliggine, sono stati individuati parecchi altri tipi di agenti cancerogeni, incluse le radiazioni ionizzanti, di natura fisica.

Così come le sostanze chimiche cancerogene possono essere mutagene oppure essere convertite in sostanze mutagene da enzimi cellulari, anche gli agenti fisici sono mutagene. Siamo tutti esposti ad una piccola dose di radiazioni ionizzanti proveniente da raggi cosmici. Tuttavia, un notevole incremento del rischio di indurre mutazioni del DNA e di ammalarsi di cancro, si riscontra nelle persone esposte a dosi elevate di radiazioni ionizzanti, tra cui l'esposizione a raggi X in ambito medico. A tal proposito è bene valutare rischi e benefici di ogni metodo diagnostico e terapeutico che ne richieda l'utilizzo.

Infine esistono dei virus in grado di infettare le cellule dei mammiferi cresciute in coltura trasformandole in cellule tumorali. In base al tipo di acido nucleico ritrovato nella particella virale matura, possiamo distinguere questi virus in due categorie: virus tumorali a DNA e virus tumorali a RNA, anche chiamati retrovirus. I virus tumorali riescono a trasformare le cellule normali in tumorali grazie ai propri geni, i cui prodotti interferiscono con le normali attività di regolazione della crescita. Tuttavia, è bene sottolineare che questi virus non sono l'unica causa responsabile del cancro, in quanto non essendo una malattia contagiosa non è direttamente generata né da virus né da batteri. Alcune infezioni però giocano un ruolo fondamentale nell'aumento del rischio di un individuo di sviluppare la malattia. Tale informazione è emersa da studi che dimostrano come molti tipi di cancro legati ad infezioni, siano in realtà generati dall'infiammazione cronica scatenata dalla presenza del patogeno. Per alcune infezioni esistono vaccinazioni in grado di ridurre la frequenza di specifici tumori.

Le cause di alcuni tumori sono intuitive: il fumo causa il tumore del polmone, l'esposizione a radiazioni ultraviolette genera il tumore della pelle e l'inalazione delle fibre di amianto dà origine al mesotelioma. Nonostante i molteplici studi c'è ancora tanta incertezza sulle cause della maggior parte dei tipi di tumori umani ma è anche vero che molti fattori che concorrono nell'insorgenza del cancro sono modificabili.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

1.4 La genetica del cancro

Il cancro è una delle principali cause di morte e, nei Paesi occidentali, colpisce circa un individuo su tre. Esistono diversi tipi di cancro, ognuno avente delle caratteristiche che lo distinguono. È una malattia genetica perché può essere associata ad alterazioni di geni specifici, si manifesta a causa di cambiamenti patologici dell'informazione portata dal DNA, ma, nella maggior parte dei casi, non è una malattia ereditaria. Infatti, nella malattia ereditaria, il difetto genetico è presente nei cromosomi di un genitore ed è trasmesso allo zigote mentre le alterazioni genetiche che portano alla maggior parte dei tumori insorgono nel DNA di una cellula somatica durante la vita dell'individuo affetto. Potrebbe dunque sembrare una malattia molto comune ma, a livello cellulare, lo sviluppo di un tumore è un evento raro. Il cancro è una malattia monoclonale in quanto esso origina dalla proliferazione incontrollata di un'unica cellula ribelle. Gli agenti che sono responsabili della comparsa del cancro sono dei mutageni che cambiano la sequenza nucleotidica del DNA. Ciò nonostante è bene sottolineare come le mutazioni possano verificarsi in modo spontaneo a causa dei limiti di accuratezza propri dei processi di replicazione e di riparazione del DNA. Infatti quasi ognuna delle cellule del corpo umano in divisione possiede il potenziale di cambiare la propria composizione genetica e degenerare in tumore maligno. Tuttavia la trasformazione maligna richiede più di un'alterazione genica e questa è una delle ragioni principali per cui un maggior numero di cellule non genera tumori. Inoltre le mutazioni che si verificano con maggior frequenza sono mutazioni passeggera che non promuovono la trasformazione di una cellula normale in cellula tumorale. Anche per le mutazioni driver ovvero quelle che causano la trasformazione di una cellula normale in cellula tumorale, una singola mutazione è insufficiente. A tal proposito si stanno svolgendo degli studi per capire quale sia il numero di mutazioni driver minime per causare il cancro che al momento corrisponde ad un numero maggiore o uguale a 10 mutazioni riguardanti un tipo specifico di geni. Inoltre tali mutazioni non avvengono tutte nello stesso momento ma in un ampio arco di tempo. Possiamo dunque affermare che l'incidenza dei tumori aumenta con l'avanzare dell'età in quanto la maggior parte dei tumori umani sono causati dall'accumulo di mutazioni multiple e, poiché le cellule sono esposte a continue modifiche accidentali del loro DNA che si accumulano nonché trasmettono alle progenie quando tali cellule mutate si dividono, la probabilità che una cellula diventi cancerogena cresce con l'età. Tale osservazione può essere esplicitata attraverso il grafico sotto riportato nel quale appare sull'asse delle ordinate il numero di casi di cancro diagnosticati per 100.000 soggetti all'anno e sull'asse delle ascisse varie fasce di età. Esso raffigura due curve: quella grigia riguardante il sesso maschile e quella verde quello femminile. È evidente che l'invecchiamento sia un fattore determinante nello sviluppo del cancro.

Infatti, con l'avanzare del tempo, si accumulano gli effetti dei fattori cancerogeni e diminuisce sempre di più la capacità di riparazione cellulare dell'organismo. Per questo, come ci mostra il grafico, l'incidenza dei tumori aumenta con l'età.

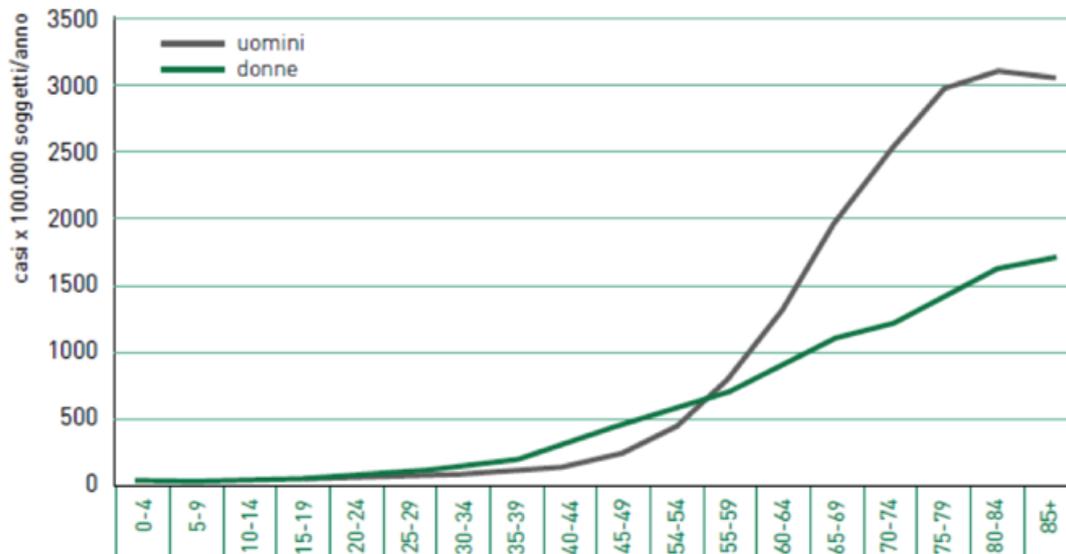


Figura 5: Incidenza di tutti i tumori, esclusi carcinomi della cute, per fasce d'età e sesso. (AIRTUM 2010-2014, *I numeri del cancro in Italia 2018*)

Inoltre si possono distinguere le alterazioni genetiche in due categorie: le mutazioni della linea germinale che sono quelle che noi ereditiamo da uno dei nostri genitori e le mutazioni somatiche ovvero quelle che avvengono nel corso della nostra vita. Esistono dunque delle rare mutazioni che possiamo ereditare e che ci rendono più esposti allo sviluppo di un tumore. Ciò nonostante, nella maggior parte dei casi, le mutazioni ereditarie non sono il fattore principale responsabile dello sviluppo del cancro. È evidente che i geni che noi ereditiamo hanno un'influenza significativa sul nostro rischio di sviluppare il cancro, ma l'effetto maggiore deriva dall'alterazione dei geni che avviene nel corso della nostra vita. La tumorigenesi, ovvero lo sviluppo di un tumore maligno, è un processo a più stadi caratterizzato da una progressione di alterazioni genetiche di una singola linea cellulare e, affinché essa possa avere luogo, ha bisogno che la cellula responsabile dello sviluppo del cancro sia in grado di svolgere numerose divisioni cellulari. Man mano che si verificano i cambiamenti genetici, le cellule sono meno disposte a rispondere ai normali meccanismi di regolazione del corpo. Viceversa, esse tendono sempre più ad acquisire la capacità di invadere i tessuti normali. I tumori solidi più comuni si manifestano in tessuti epiteliali che sono normalmente caratterizzati da un livello relativamente alto di divisioni cellulari. Le cellule dei tessuti in rapida divisione possono essere raggruppate in: cellule staminali, aventi la capacità di proliferare in modo

illimitato, autoriprodursi e dare origine a tutte le cellule del tessuto; cellule progenitrici, derivanti dalle cellule staminali e aventi una capacità di proliferare limitata; prodotti finali differenziati del tessuto, che di norma non hanno la capacità di dividersi. Possiamo ora identificare due diverse alternative per l'origine dei tumori. Secondo la prima scelta, il cancro si origina da una piccola popolazione di cellule staminali che sono presenti in ciascun tessuto adulto. Le cellule staminali, proprio grazie alla loro lunga vita e al loro potenziale di divisione illimitato, hanno la possibilità di accumulare le mutazioni richieste per la trasformazione maligna. Infatti, come evidenziato da vari studi, le cellule staminali sono all'origine di una varietà di differenti tipi di tumori. Stando alla seconda opzione, le cellule progenitrici destinate ad un particolare tipo cellulare possono innescare un tumore maligno grazie all'ottenimento di specifiche proprietà quali la capacità di proliferare in modo illimitato. Quando un tumore cresce, le cellule nella massa tumorale sono soggette ad una selezione naturale che porta all'accumulo di cellule con proprietà più favorevoli per la crescita tumorale. Infatti le cellule che esprimono la telomerasi hanno un vantaggio di crescita nel tumore rispetto alle cellule che non la esprimono in quanto le prime nel tempo prolifereranno mentre le seconde moriranno. Un'importante caratteristica della progressione tumorale è proprio l'attivazione dell'espressione della telomerasi che può essere considerata una variazione epigenetica che risulta dall'attivazione di un gene normalmente represso. Probabilmente questo tipo di attivazione coinvolge un cambiamento nella struttura della cromatina del gene e/o un cambiamento nello stato di metilazione del DNA. Una volta avvenuto il cambiamento epigenetico, esso viene trasmesso a tutta la progenie cellulare e dunque rappresenta un'alterazione permanente ed ereditabile. Inoltre, anche in seguito alla trasformazione da sane a maligne, le cellule continuano ad accumulare mutazioni e cambiamenti epigenetici che conferiscono nuove proprietà rendendo le cellule cancerose ancora più pericolose. È proprio l'instabilità genetica che rende le cellule tumorali più difficili da trattare mediante la chemioterapia convenzionale in quanto, le cellule frequentemente sorgono all'interno della massa tumorale che è resistente al farmaco. I cambiamenti iniziali spesso producono cellule definite precancerose, ovvero cellule aventi le proprietà di una cellula tumorale ad eccezione della capacità di invadere tessuti normali o metastatizzare in siti lontani. Esistono dei test atti ad individuare cellule precancerose e, quando queste cellule aventi un aspetto anomalo vengono individuate, si può localizzare il sito precanceroso e distruggerlo tramite laser, congelamento o asportazione chirurgica. Tuttavia alcuni tessuti generano tumori benigni contenenti cellule che hanno proliferato e formato una massa con una certa possibilità di trasformarsi in maligna.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

1.5 Gli onco-soppressori e gli oncogeni

I geni coinvolti nella cancerogenesi si dividono in due gruppi: i geni onco-soppressori e gli oncogeni. I primi agiscono da freni cellulari in quanto codificano per proteine, che limitano la crescita cellulare e impediscono alle cellule di diventare maligne. Dall'altra parte gli oncogeni codificano per proteine, che agevolano la perdita di controllo della crescita e la conversione di una cellula allo stato maligno. Molti oncogeni agiscono da acceleratori della proliferazione cellulare ma svolgono anche altre funzioni; possono portare ad un'instabilità genetica, impedire l'apoptosi o promuovere metastasi. Le cellule possiedono una varietà di geni, i proto-oncogeni, aventi la capacità di destabilizzare le attività proprie della cellula e spingerla verso lo stato maligno. Infatti i proto-oncogeni, codificano per proteine che svolgono diverse funzioni nelle attività normali di una cellula. L'attivazione di un proto-oncogene in un oncogene può essere compiuta attraverso diverse vie, alcune delle quali vengono illustrate nella figura 6. Nella via *a*, una mutazione o delezione nel gene altera la struttura e la proprietà del prodotto genico che non è più in grado di svolgere una normale attività. Nella via *b*, la duplicazione genetica provoca un aumento di sintesi della proteina codificata portando ad una sua produzione eccessiva. Infine, nella via *c*, un riarrangiamento del DNA porta un nuovo segmento di DNA nelle vicinanze o sul gene, alterando la sua espressione o la struttura della proteina codificata.

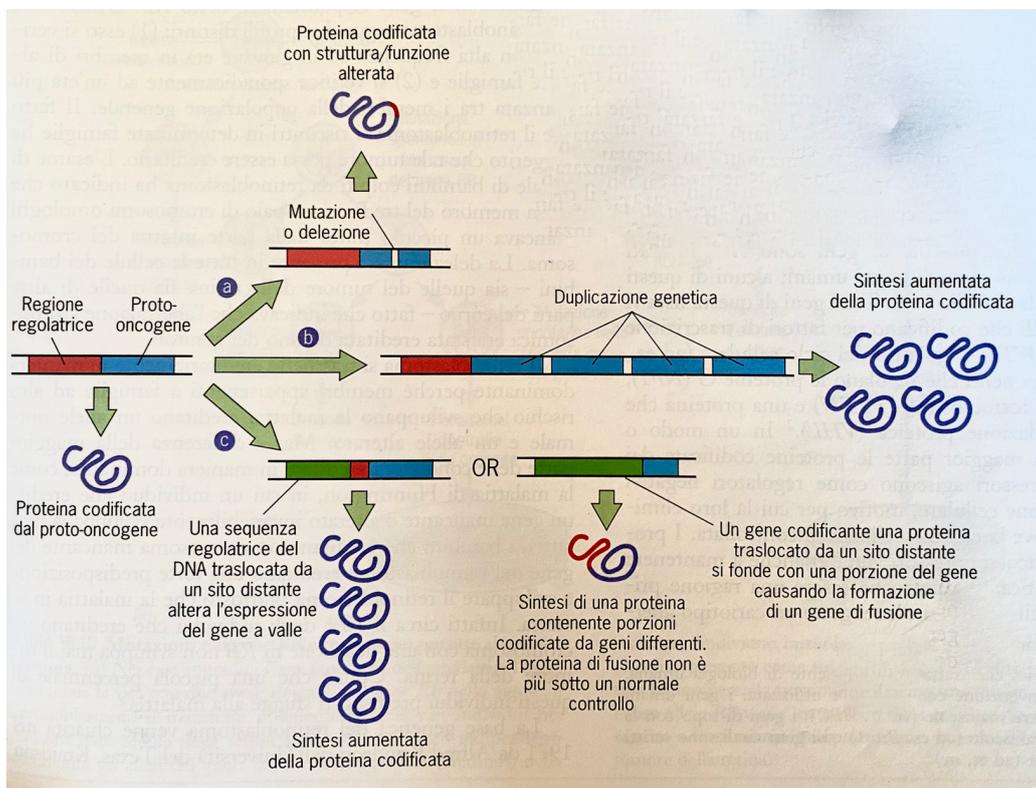


Figura 6: Attivazione di un proto-oncogene in un oncogene.

Ognuna di queste alterazioni può rendere una cellula meno rispondente ai normali controlli di crescita, determinandone il comportamento tipico di una cellula maligna. Come possiamo osservare (figura 7) abbiamo effetti contrastanti di mutazioni in geni onco-soppressori (a) e in oncogeni (b). Mentre una mutazione in una delle due copie di un oncogene può bastare per indurre la cellula a perdere il controllo sulla crescita, entrambe le copie di un gene onco-soppressore devono essere inattivate per ottenere lo stesso effetto.

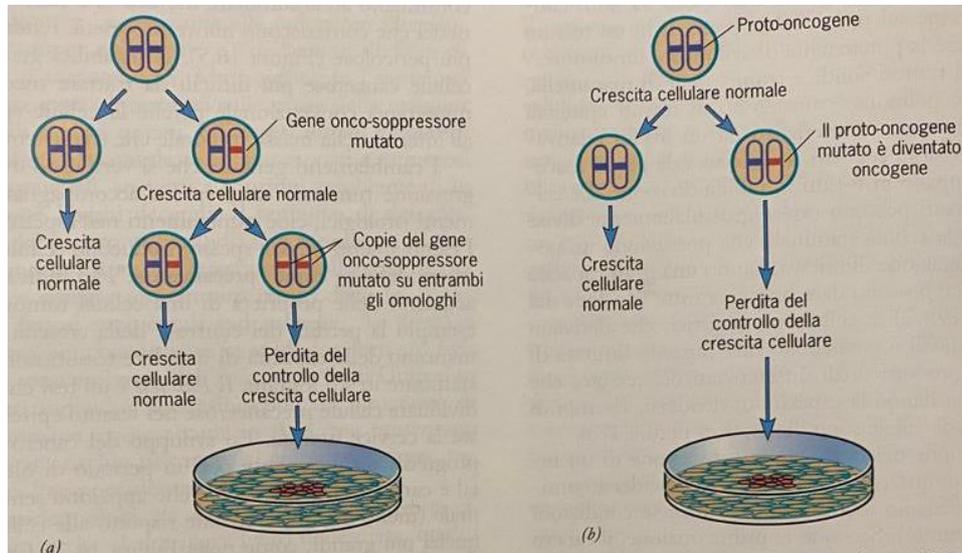


Figura 7: Effetti contrastanti di mutazioni in geni onco-soppressori (a) e in oncogeni (b).

Gli oncogeni derivano dai proto-oncogeni come risultato di mutazioni con guadagno di funzione, cioè mutazioni che inducono il prodotto genico ad esibire delle nuove funzioni che conferiscono alla cellula un comportamento maligno. Al contrario i geni onco-soppressori subiscono delle mutazioni con perdita di funzione e/o inattivazione epigenetica che li rendono inabili di frenare la crescita cellulare.

Come abbiamo appena visto, gli oncogeni si comportano in maniera dominante ovvero, una sola copia dell'oncogene può fare esprimere alla cellula il fenotipo alterato, indipendentemente dalla presenza o meno sul cromosoma omologo della copia normale o inattivata del gene. Tuttavia lo sviluppo della condizione di malignità per l'uomo richiede più di una sola alterazione genica. Infatti, ci sono due tipi di geni responsabili della formazione di un tumore: fintantoché una cellula possiede il corredo dei geni onco-soppressori al completo, risulta salvaguardata dagli effetti di un oncogene. La maggior parte dei tumori contiene alterazioni sia nei geni onco-soppressori che negli oncogeni. Tuttavia possono essere necessarie delle mutazioni in ulteriori geni, come quelli che codificano per molecole di adesione cellulare, prima che queste cellule concretizzino un fenotipo maligno.

Ora, considerando che il cancro è una malattia che deriva da alterazioni nel DNA delle cellule somatiche, possiamo affermare che qualsiasi attività che aumenti la frequenza di mutazioni genetiche potrebbe far accrescere anche il rischio di sviluppare il cancro. Le proteine, agendo insieme, si occupano dei processi di riparazione del DNA danneggiato. Se una di queste proteine risultasse difettosa, la cellula interessata potrebbe manifestare un tasso di mutazione elevato. In tal caso si parla di fenotipo mutatore e le cellule che presentano questo fenotipo sono probabilmente soggette a mutazioni che interessano sia i geni onco-soppressori che gli oncogeni. Tale aspetto aumenta, di conseguenza, il rischio di trasformazione neoplastica.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

1.5.1 Gli onco-soppressori

La trasformazione di una cellula da normale a cancerosa è accompagnata dalla perdita di funzione di uno o più geni onco-soppressori. Tra questi geni troviamo per esempio quelli che codificano per i fattori di trascrizione e i regolatori del ciclo cellulare. Dunque, per la maggior parte, le proteine codificate dai geni onco-soppressori agiscono come regolatori negativi della proliferazione cellulare e quindi la loro eliminazione permette una crescita cellulare incontrollata. Attraverso lo studio di sindromi tumorali ereditarie, nonostante siano rare, si possono identificare i geni onco-soppressori che, quando mancano, contribuiscono allo sviluppo di forme sia ereditarie che non di cancro.

Il 5-10% dei tumori della mammella si manifestano in donne che possono essere definite come “geneticamente predisposte” in quanto hanno in famiglia casi di tumore al seno o all’ovaio. Il rischio di contrarre questo tipo di cancro aumenta in modo significativo se le neoplasie presenti nella famiglia si sono sviluppate prima della menopausa o se hanno interessato entrambi i seni. In questi casi ereditari può essere presente un’alterazione genetica che determina un maggior rischio di malattia. La predisposizione genetica è stabilita dalla mutazione di specifiche sequenze del DNA a carico di alcuni geni e, per quanto riguarda il tumore al seno, i due geni responsabili sono BRCA1 e BRCA2. Inoltre le mutazioni di BRCA1 predispongono la donna allo sviluppo del tumore alle ovaie. Nello specifico, i geni BRCA1 e BRCA2 sono geni situati rispettivamente sui cromosomi 17 e 13 del nostro patrimonio ereditario (figura 8).

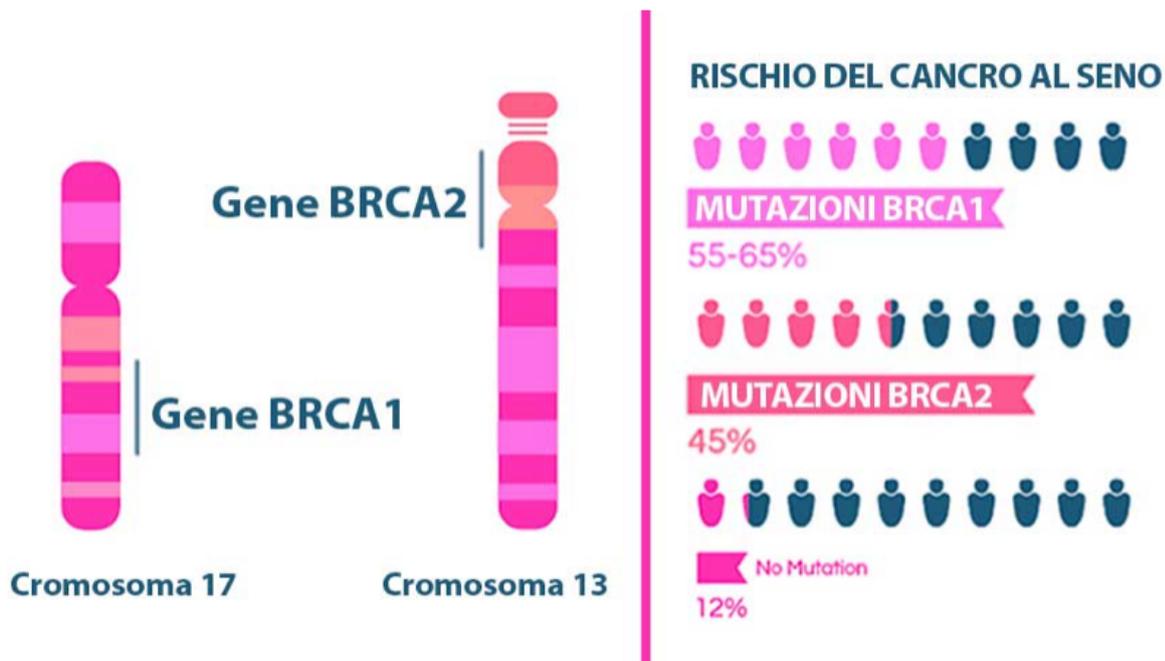


Figura 8: geni BRCA1 e BRCA2 e percentuale di rischio di insorgenza del cancro al seno dovuto alle mutazioni del gene BRCA1, alle mutazioni del gene BRCA2 e in assenza di mutazioni.

Sono definiti geni onco-soppressori in quanto sono deputati a regolare i meccanismi di riparo del DNA qualora in quest'ultimo, nel corso delle replicazioni cellulari, si accumulino danni o errori nel corso della replicazione cellulare. Queste due proteine sono parte di uno o più grandi complessi proteici che rispondono al danno al DNA ed attivano la sua riparazione attraverso la ricombinazione omologa. Nel caso in cui nei geni BRCA1 e BRCA2 si trovino delle varianti patogenetiche questi stessi geni possono perdere la loro funzione di controllo rendendosi così direttamente responsabili della predisposizione ereditaria del soggetto allo sviluppo di determinati tipi di tumore. Dunque le cellule con proteine BRCA mutate contengono DNA non riparato e mostrano un cariotipo aneuploide. Se la donna eredita questa mutazione è esposta ad un rischio maggiore di sviluppare il tumore della mammella o dell'ovaio nell'arco della sua vita. Esistono test genetici di approfondimento, svolti attraverso un prelievo sanguigno, che vengono effettuati sulle pazienti malate. Tali test predittivi consentono di verificare la presenza delle alterazioni a carico dei due geni BRCA1 e BRCA2. L'esito del test può essere positivo, negativo, non informativo o variante a significato sconosciuto. L'esito positivo identifica la presenza di una variante patogenetica mentre l'esito negativo rivela l'assenza di una determinata variante patogenetica già rilevata in altri membri della famiglia. L'esito non informativo indica l'assenza di varianti patogenetiche in un contesto familiare dove non sono mai state identificate varianti patogenetiche. Infine l'esito variante a significato sconosciuto segnala l'identificazione di una variante genetica non classificata che non può essere associata con certezza a un rischio aumentato di insorgenza di tumori. Ciò nonostante, è

bene sottolineare che una variante patogenetica dei geni BRCA1 e BRCA2 non va necessariamente associata alla futura insorgenza di un tumore ma bensì indica una predisposizione ereditaria e dunque un fattore di rischio in più di sviluppo di malattia. D'altra parte, l'assenza di variante patogenetica, indica un'assenza di rischio correlato ai geni BRCA1 e BRCA2 ma l'individuo potrebbe ugualmente recare varianti patogenetiche in altri geni o essere esposto ad altri fattori di rischio che potrebbero portare all'insorgenza di un tumore. Tuttavia, è opportuno segnalare che i test genetici BRCA non sono adatti in tutti i casi perché solo nel 5% delle famiglie è possibile identificare una mutazione genetica. Inoltre i geni BRCA non sono gli unici responsabili delle forme ereditarie di tumore alla mammella.

L'apoptosi è uno dei meccanismi principali del corpo utilizzato per eliminare le cellule potenzialmente tumorali mediante una morte cellulare programmata delle stesse. Tra le vie di sopravvivenza cellulare abbiamo quella che coinvolge l'attivazione della chinasi PKB ad opera del fosfoinositide PIP₃, formato dall'attività catalitica della chinasi lipidica PI3K. L'attivazione della via PI3K/PKB aumenta la probabilità di sopravvivenza di una cellula a seguito di uno stimolo che normalmente porterebbe alla sua distruzione. La vita o la morte di una cellula, conseguentemente alla manifestazione di un particolare evento, dipende prevalentemente dall'equilibrio tra i segnali preapoptotici e antiapoptotici. Le mutazioni che alterano tale equilibrio, come la sovraespressione di PKB possono far tendere l'equilibrio verso la sopravvivenza cellulare, avvantaggiando una potenziale cellula cancerosa. Anche la proteina PTEN, la fosfatasi lipidica, agisce sull'equilibrio tra vita e morte. Essa si occupa della rimozione del gruppo fosfato dalla posizione 3 del PIP₃ rendendo così la molecola incapace di attivare PKB. Le cellule nelle quali entrambe le copie del gene PTEN sono inattivate, tendono ad avere un livello eccessivamente alto di PIP₃ che porta ad una popolazione molto attiva di molecole PKB. Le mutazioni in PTEN causano una rara malattia ereditaria caratterizzata da un aumentato rischio di tumore. Inoltre i geni PTEN sono resi non funzionali da meccanismi epigenetici come la metilazione del DNA che silenzia la trascrizione del gene.

(Gerard Karp, 2012)

1.5.2 Gli oncogeni

Gli oncogeni sono derivati da pro-oncogeni che sono dei geni codificanti per proteine aventi una funzione nelle cellule normali e la maggior parte di essi ha un ruolo fondamentale nel controllo della crescita cellulare. Oncogeni differenti vengono attivati in diversi tipi di tumore e tale aspetto

evidenzia variazioni nelle vie di segnalazione che operano nei diversi tipi cellulari. La mutazione di un oncogene cambia la sequenza di amminoacidi e quindi modifica la funzione della proteina codificata in modo tale che essa possa assumere proprietà pericolose che vengono sfruttate dal cancro per crescere e diffondersi. L'oncogene maggiormente mutato nei tumori umani è RAS che codifica per una proteina legante GTP che agisce come un interruttore di spegnimento-accensione in diverse vie chiave di segnalazione che controllano la proliferazione cellulare. Circa il 30% dei tumori maligni umani contiene mutazioni attivanti dei geni Ras e molti tumori maligni che non producono proteine Ras mutanti presentano altre mutazioni riguardanti prodotti genici che partecipano alle stesse vie di segnalazione nelle quali è coinvolta la Ras. La proteina Ras è affiancata da molte altre proteine e si trova nel mezzo di una complessa rete di segnalazione che trasmette messaggi di crescita. Le proteine GEF hanno il compito di attivare Ras: forzando l'apertura del sito di legame della proteina Ras, consentono a GDP di uscire. Nel sito di legame vuoto entra quindi GTP che rende la proteina Ras attiva facendola interagire con effettori come PI3K γ , proteina chinasi che fosforila altre proteine della rete di segnalazione. La mutazione della proteina Ras le impone di rimanere sempre nella forma attiva e dunque può produrre il cancro in quanto la proteina Ras mutata, manda segnali continui di proliferazione lungo la via di segnalazione, stimolando così la crescita delle cellule del cancro e aggirando i normali freni che controllano la crescita cellulare. Viceversa le proteine GAP disattivano la proteina Ras attraverso l'inserimento di un amminoacido di arginina nel sito di legame di Ras che, insieme alla glutammina 61 di Ras, favorisce il trasferimento di un fosfato dal GTP che si trasforma in GDP. Inoltre la proteina Ras può inattivarsi autonomamente, anche se in maniera molto più lenta, grazie alla rottura del legame fosfato del GTP con la sola glutammina 61 (figura 9).

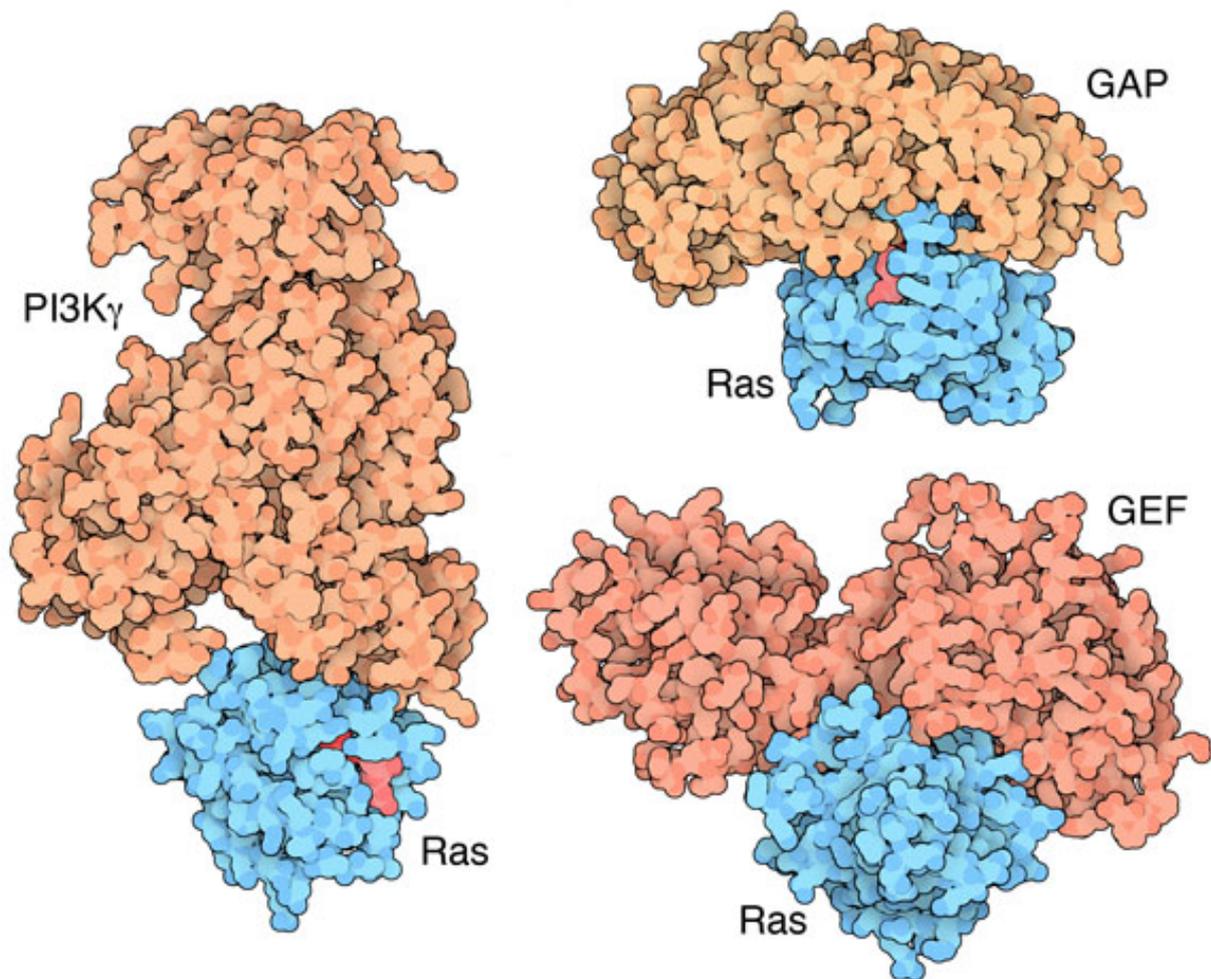


Figura 9: proteina Ras affiancata da varie proteine.

La proteina Ras è dunque coinvolta nei segnali tra le cellule che controllano la crescita e la moltiplicazione cellulare. Sono state individuate varie strutture della proteina Ras che hanno permesso di identificare le diverse conformazione che la proteina assume nelle diverse fasi del suo ciclo di segnalazione. La figura 10 mostra Ras con GTP, ovvero la proteina Ras attiva, mentre la figura 11 mostra Ras con GDP, che corrisponde allo stato inattivo della proteina. In particolare in bianco abbiamo la guanosina e il ribosio, le sfere verdi rappresentano la glutammina 61 e i tre gruppi fosfato assumono la colorazione rosa, arancione e rossa. Dal confronto tra le due strutture possiamo notare che i due tratti verdi della proteina che circondano il nucleotide cambiano conformazione. È proprio questo il segnale che viene riconosciuto dagli effettori e che innesca così la cascata di fosforilazioni.

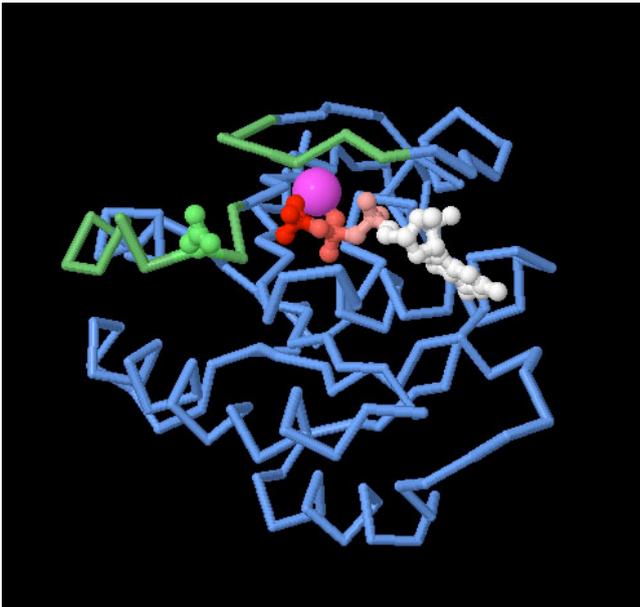


Figura 10: Ras con GTP, proteina Ras attiva.

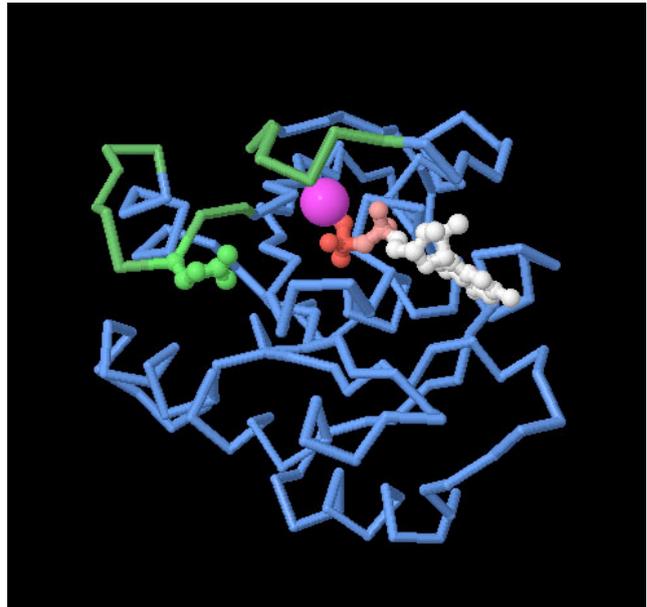


Figura 11: Ras con GDP, proteina Ras inattiva.

Esistono oncogeni che codificano per i recettori dei fattori di crescita: tra questi troviamo l'oncogene che codifica un recettore dell'EGF, ovvero del fattore di crescita dell'epidermide, che ha perso una parte del dominio extracellulare della proteina che lega il fattore di crescita. Tale versione alterata del recettore stimola la cellula sia in presenza che in assenza del fattore di crescita nel mezzo causando una proliferazione incontrollata. Le cellule maligne, nella loro membrana plasmatica, contengono un maggior numero di recettori rispetto a quelli presenti nelle cellule sane. La presenza di un eccesso di recettori rende le cellule sensibili a concentrazioni del fattore di crescita molto minori e dunque possono essere stimolate a dividersi in circostanze in cui le cellule sane non si dividerebbero. Inoltre ci sono oncogeni che codificano per protein-chinasi citoplasmatiche. Le protein-chinasi superattive funzionano come oncogeni generando segnali che portano ad un'inappropriata proliferazione o sopravvivenza cellulare. Raf è una serinatreonina protein-chinasi che fa parte della cascata delle MAP chinasi, principale via di segnalazione che controlla la crescita nelle cellule. Le mutazioni che convertono Raf in un enzima che rimane sempre attivato sono in grado di convertire un proto-oncogene in oncogene e quindi di contribuire alla perdita di controllo della crescita cellulare. Ancora possiamo trovare oncogeni che codificano per proteine che si comportano come fattori di trascrizione nucleari. L'avanzamento delle cellule attraverso il ciclo cellulare richiede la tempestiva attivazione-repressione di una grande varietà di geni i cui prodotti contribuiscono in molteplici modalità alla crescita e alla divisione cellulare. Infatti le alterazioni nelle proteine che controllano l'espressione di questi geni possono compromettere i normali processi di crescita cellulare. Tra questa categoria di oncogeni troviamo il gene MYC. Le cellule che non crescono attivamente e non si dividono tendono a ritirarsi dal ciclo

cellulare e ad entrare in G0, stato di quiescenza o stato prolungato di non divisione, dal quale possono essere recuperate. La proteina Myc, normalmente, è una delle prime proteine ad apparire quando una cellula che si trova in stato G0 viene stimolata da fattori di crescita a rientrare nel ciclo cellulare e a dividersi. Quando l'espressione del gene MYC è selettivamente bloccata, la progressione della cellula attraverso G1 è bloccata. Tale gene è uno dei proto-oncogeni alterati, spesso amplificato nel genoma o riarrangiato come risultato di un'inversione o di una traslocazione cromosomica. Tali cambiamenti cromosomici alterano le funzioni regolatorie del gene MYC e ne aumentano il livello di espressione nella cellula producendo un eccesso di proteina Myc. Infine abbiamo oncogeni che codificano per prodotti che regolano l'apoptosi, uno dei meccanismi chiave attraverso il quale il corpo elimina le cellule tumorali in uno stadio precoce della loro progressione verso la malignità. Tutte le alterazioni della cellula che ne diminuiscono la capacità di autodistruzione sono in grado di aumentare la probabilità che la cellula dia origine ad un tumore. L'oncogene maggiormente legato all'apoptosi è BCL-2, responsabile della codifica per una proteina di membrana che inibisce l'apoptosi. Come per il gene MYC, il prodotto del gene BCL-2 diventa oncogeno quando viene espresso a livelli superiori rispetto a quelli normali, come quando il gene è traslocato in un sito anomalo sul cromosoma. Un'eccessiva espressione del gene BCL-2 porta alla soppressione dell'apoptosi nei tessuti linfoidei, permettendo così alle cellule anomale di proliferare fino a formare tumori linfoidei. Inoltre il gene BCL-2 può ridurre l'efficacia della chemioterapia mantenendo le cellule tumorali vive e capaci di proliferare.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012; Y. Pylyayeva-Gupta et al., 2011; I. R. Vetter et al., 2001)

1.6 Il genoma del cancro

I geni coinvolti nella tumorigenesi sono circa 350 e costituiscono una sottoclasse specifica del genoma i cui prodotti sono coinvolti in varie attività cellulari tra cui la progressione di una cellula nel ciclo cellulare, l'adesione di una cellula a quelle vicine, l'apoptosi e la riparazione del DNA danneggiato. Questi geni tumorali sono considerati responsabili di qualche ruolo causativo nello sviluppo di almeno un tipo di cancro. Ovviamente si sperava che molti tipi di tumore potessero essere caratterizzati da alterazioni in un numero relativamente basso di geni. Tuttavia, i risultati dei primi studi sul genoma del cancro, illustrano che lo stesso tipo di tumore preso da individui diversi possiede un'elevata combinazione discordante di geni alterati. Possiamo quindi affermare che esistono diverse vie attraverso le quali un tumore può sfuggire alla normale protezione antitumorale

delle cellule. Infatti, attraverso numerosi studi, è emerso che esiste un numero limitato di geni mutati presenti in un'elevata percentuale di tumori. I geni mutati identificati in un gran numero di tumori correlati appaiono come picchi o "montagne" in un panorama mutazionale bidimensionale mentre i geni mutati con bassa frequenza, inferiore al 5% dei casi, sono circa 50 e sono rappresentati da "colline". Infine i punti bianchi rappresentano i geni che sono mutati con una frequenza bassissima nella popolazione tumorale (figura 12). In media, un singolo tumore contiene circa 80 mutazioni differenti quindi solo un piccolissimo numero di geni mutati in questi tumori è comune nei due pazienti. Dunque ogni persona è colpita da un suo particolare tipo di malattia.

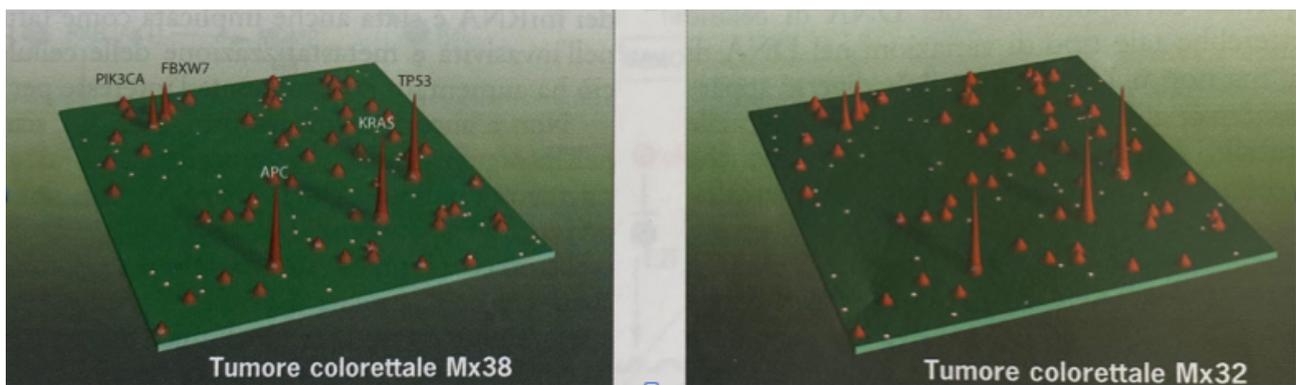


Figura 12: panorama mutazionale di tumori coloretali di due pazienti diversi (Mx38 e Mx32). Ogni proiezione rappresenta un gene diverso: i cinque geni mutati in un'ampia percentuale di tumori sono rappresentati da proiezioni più alte mentre gli altri geni mutati con una frequenza molto minore rappresentano le colline. In bianco troviamo i geni mutati in ognuno di questi singoli tumori.

Se da un lato possiamo supporre che i geni che sono mutati a frequenza elevata sono fattori importanti per indurre le cellule verso la tumorigenesi, dall'altro lato non è ancora certo la funzione dei geni mutati a bassa frequenza. Molti di quest'ultimi hanno certamente un ruolo causativo nel determinare le proprietà del fenotipo tumorali mentre altri geni mutati a bassa frequenza possono essere soggetti a mutazioni che non hanno effetti sul fenotipo della cellula tumorale. Il panorama mutazionale del genoma del cancro, come abbiamo appena visto, è estremamente complesso. Tuttavia, attraverso numerosi studi sulle mutazioni che colpiscono i geni, è emerso che la maggior parte di questi geni codifica per proteine che sono componenti di un numero relativamente basso di vie regolatorie. Quindi, il tumore può essere visto, non semplicemente come una malattia di geni alterati, ma come una malattia di vie regolative cellulari alterate. Mutazioni in uno dei tanti geni di una singola via regolatoria può portare alla distruzione della via stessa. Sfortunatamente è praticamente impossibile identificare i tumori quando sono composti da una piccola quantità di cellule. Infatti, nel momento in cui il tumore viene individuato, le cellule mostrano già un elevato

numero di alterazioni genetiche rendendo difficile stabilire se queste sono la causa o l'effetto della crescita tumorale.

(Gerard Karp, 2012)

1.7 Terapie per combattere il cancro

Le cellule tumorali sono estremamente soggette a mutazioni e sviluppano velocemente una resistenza ai trattamenti utilizzati per sterminarle. Inoltre, siccome le mutazioni insorgono casualmente, ogni paziente possiede probabilmente una propria combinazione di geni mutati e, anche nella stessa persona, non tutte le cellule tumorali contengono le stesse lesioni genetiche. Pertanto è improbabile che un unico trattamento sia efficace per tutti i pazienti o per tutte le cellule tumorali di un individuo. A rendere la terapia ancora più difficile si aggiunge che, generalmente, al momento della diagnosi il tumore primario è ormai formato da centinaia di milioni di cellule geneticamente diversificate che spesso hanno già cominciato a metastatizzare. Riportiamo un grafico in scala logaritmica che ci mostra la crescita di un tipico tumore e presenta sull'asse delle ascisse i raddoppiamenti della popolazione di cellule tumorali e su quella delle ordinate il diametro del tumore espresso in mm (figura 13). In particolare sottolineiamo che un tumore inizia ad essere visibile ai raggi X quando è composto da 10×10^8 cellule; comincia ad essere palpabile da 10×10^9 cellule ed infine la morte del paziente avviene in presenza di 10×10^{12} cellule. Possono trascorrere anni prima che un tumore venga rilevato e il tempo di raddoppiamento di cellule tumorali è variabile: in un tipico carcinoma mammario, per esempio, il tempo di raddoppiamento è di circa 100 giorni.

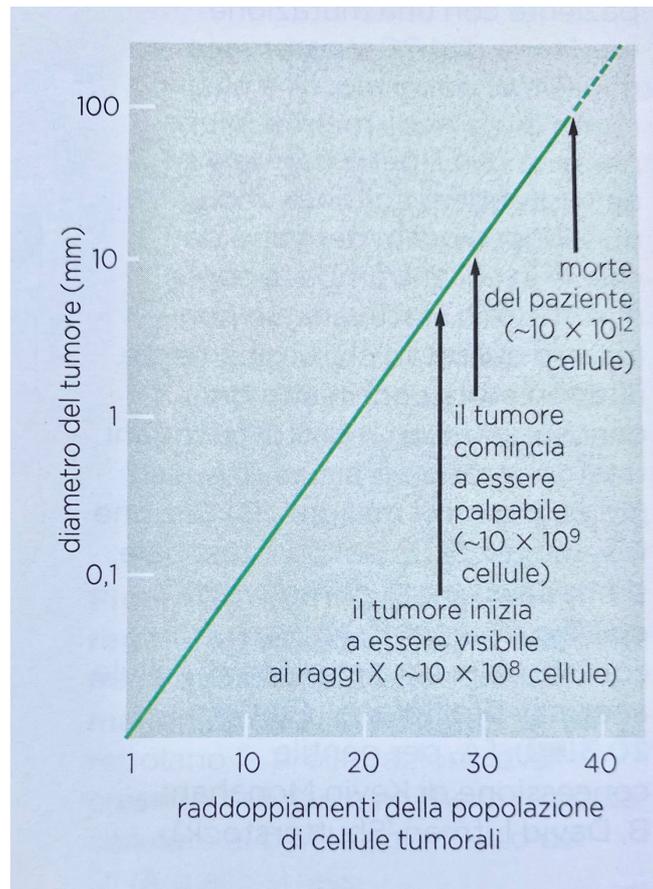


Figura 13: crescita di un tumore in scala logaritmica.

La chirurgia continua ad essere la soluzione più efficace per sconfiggere un tumore non solo perché le tecniche chirurgiche sono in continua evoluzione e miglioramento ma anche perché, se il tumore non è troppo diffuso nel tessuto, l'asportazione di esso è risolutiva. D'altro canto, dove la chirurgia fallisce, si possono usare terapie basate sulle specificità delle cellule tumorali.

Mentre una cellula normale arresterebbe la proliferazione fino alla completa riparazione del danno del DNA, una cellula tumorale è in grado di forzare il processo di divisione oltre il punto di controllo dando origine a cellule figlie che possono morire per aver ereditato troppe lesioni non riparate nei loro cromosomi. In alcuni casi, come nella perdita della consueta risposta al danneggiamento del DNA, la caratteristica principale che rende pericolose le cellule tumorali è anche quella che le rende vulnerabili permettendoci di ucciderle attraverso un trattamento mirato. Probabilmente questo è il motivo per cui le cellule tumorali possono essere uccise da radiazioni, attraverso una cura che prende il nome di radioterapia, o da farmaci che agiscono danneggiando il DNA, e in questo caso parliamo di chemioterapia, in dosi che non compromettono le circostanti cellule normali. Radioterapia, chemioterapia e chirurgia sono trattamenti affermati da tempo ai quali si aggiungono nuovi metodi. Infatti, gli approcci convenzionali utilizzati per combattere il cancro spesso non permettono un pieno successo nella cura di pazienti con cancro metastatico.

Inoltre la chemioterapia e la radioterapia, oltre ad avere un valore curativo limitato in caso di cancro ad uno stadio più avanzato, tendono a causare seri effetti collaterali in quanto eliminano non solo le cellule cancerose ma anche moltissime cellule sane. Per questo motivo i pazienti non possono, di norma, essere sottoposti a dosi sufficientemente elevate di queste cure da uccidere tutte le cellule tumorali presenti nel loro corpo. Da tempo si cerca dunque di sostituire queste terapie pesanti ed invasive con terapie mirate, trattamenti per il cancro che siano più efficaci e meno debilitanti. Con il termine mirata, intendiamo una terapia che sia in grado di attaccare solo le cellule cancerose o che attacchi una particolare proteina, la cui inattivazione rende le cellule cancerose incapaci di crescere e sopravvivere. Inoltre essa può essere mirata alle cellule cancerose di un determinato individuo sulla base del loro caratteristico profilo di mutazioni somatiche.

Possiamo ora distinguere le terapie antitumorali in tre gruppi:

1. Terapie che dipendono dagli anticorpi o dalle cellule immunitarie per attaccare le cellule tumorali;
2. Terapie che inibiscono l'attività delle proteine che promuovono il cancro;
3. Terapie che impediscono la crescita dei vasi sanguigni che nutrono il tumore.

1. Immunoterapia

Possiamo identificare due tipi di trattamento che coinvolgono il sistema immunitario: l'immunoterapia passiva e l'immunoterapia attiva. In caso di immunoterapia passiva parliamo di un approccio che tratta i pazienti malati di cancro attraverso la somministrazione di anticorpi come agenti terapeutici. La funzione di questi anticorpi consiste, in primis, nel riconoscimento di proteine specifiche presenti sulla superficie delle cellule tumorali bersaglio e, in seguito, nel legame con esse. A seguito del legame instauratosi tra anticorpi e proteine, entrano in gioco altri elementi del sistema immunitario che distruggono le cellule tumorali. Negli ultimi anni i ricercatori hanno prodotto anticorpi aventi una sequenza amminoacidica completamente umana. L'Erceptina è un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro un recettore della superficie cellulare, her2, che lega un fattore di crescita che stimola la proliferazione delle cellule cancerose della mammella. L'Erceptina quindi ha il compito di inibire l'attivazione del recettore. Infatti circa il 25% dei cancri della mammella sono composti da cellule che sovra esprimono il gene HER2. La prognosi dei pazienti i cui tumori sovra esprimono tale gene è notevolmente migliorata grazie all'utilizzo dell'Erceptina in quanto è emerso, attraverso uno studio effettuato su 3000 donne con tumore della mammella ad uno stadio precoce, che è stata ridotta la probabilità di recidiva della malattia del 50% circa in un periodo di quattro anni. Viceversa l'immunoterapia attiva o adattativa consiste in un approccio che coinvolge maggiormente il sistema immunitario nella lotta contro le cellule maligne.

Nonostante i tumori contengano proteine mutate diverse da quelle presenti nelle cellule sane, come la Ras, o proteine che non possono essere espresse normalmente dalla loro controparte sana, esse si possono considerare come proteine ospiti in cellule ospiti. Il sistema immunitario dunque fallisce nel riconoscere queste proteine come inappropriate e, anche quando alcune cellule immunitarie riconoscono alcuni agenti associati ai tumori, i tumori azionano una serie di meccanismi in grado di evitare la distruzione da parte del sistema immunitario. Affinché si superi questo ostacolo e si stimoli il sistema immunitario ad elaborare una risposta immunitaria forte contro le cellule tumorali, sono state isolate dal paziente le cellule immunitarie per poi essere stimolate in vitro, fatte proliferare in coltura e poi reintrodotte nel paziente. In alcuni studi le cellule immunitarie isolate vengono modificate geneticamente prima della proliferazione rendendole ancora più efficaci nell'attacco contro il tumore. Tuttavia questi tipi di trattamento, dovendo essere personalizzati per un singolo paziente, richiedono tempi lunghi per la preparazione e sono molto costosi. Lo scopo finale dell'immunoterapia del tumore è quello di vaccinare la popolazione con antigeni che potrebbero prevenire lo sviluppo del tumore nel corso di tutta la vita.

2. Inibizione dell'attività delle proteine che promuovono il cancro

La crescita e/o la sopravvivenza delle cellule tumorali dipende dall'attività di una o più proteine che sono presenti ad una concentrazione anomala o mostrano un'attività deviante. L'obiettivo dei ricercatori è quello di arrestare selettivamente l'attività di queste proteine per riuscire ad uccidere l'intera popolazione di cellule maligne. Dunque sono stati progettati alcuni farmaci capaci di inibire l'attività delle proteine che promuovono il cancro. Sebbene un certo numero di inibitori di questo tipo abbia mostrato un successo modesto, attualmente nessuno di essi si è rivelato capace di bloccare completamente la crescita di alcuni tumori solidi come quello alla mammella. Fino ad ora abbiamo preso in considerazione terapie mirate all'inibizione di proteine anomale o espresse in modo anomalo nelle cellule tumorali ma potrebbero esistere anche proteine aventi una struttura o un livello di espressione normale che, ciò nonostante, contribuiscono alla salvaguardia della vita delle cellule tumorali. Per questo motivo, gli inibitori che hanno come bersaglio tali proteine potrebbero essere efficaci nel trattamento del cancro. PARP-1 è un enzima coinvolto in diversi processi che interessano il metabolismo del DNA, compresa la sua riparazione. Gli inibitori di PARP-1 si sono rivelati promettenti nel trattamento del tumore mammario ed ovarico che hanno un difetto in BRCA1 o BRCA2. Questi due geni sono i principali responsabili della predisposizione genetica a sviluppare il tumore e sono deputati a regolare la riparazione del DNA, qualora in quest'ultimo si accumulino danni o errori nel corso della replicazione cellulare. Le cellule tumorali sopravvivono grazie a meccanismi di riparazione alternativi e, per questo motivo, i farmaci che inibiscono uno di

questi meccanismi alternativi di riparazione del DNA uccidono le cellule tumorali aumentando la loro instabilità genetica fino a farle morire per la frammentazione dei cromosomi nel momento in cui esse cercano di dividersi. Quando si inibisce PARP-1 in cellule tumorali che non hanno BRCA, non si possono riparare alcuni tipi di danni del DNA e questo porta alla morte programmata della cellula. Dunque la mutazione o inibizione di una singola proteina, come BRCA o PARP, non ha effetto sulla vitalità cellulare mentre le mutazioni e/o l'inibizione di due proteine diverse impedisce alla cellula di portare avanti una delle sue funzioni essenziali.

3. Inibizione della formazione di nuovi vasi sanguigni

Crescendo di dimensioni, un tumore stimola la formazione di nuovi vasi sanguigni e tale processo prende il nome di angiogenesi. I vasi sanguigni giocano un ruolo fondamentale nella distribuzione di sostanze nutritive e di ossigeno alle cellule tumorali in crescita e nella rimozione dei loro prodotti di scarto (figura 14).

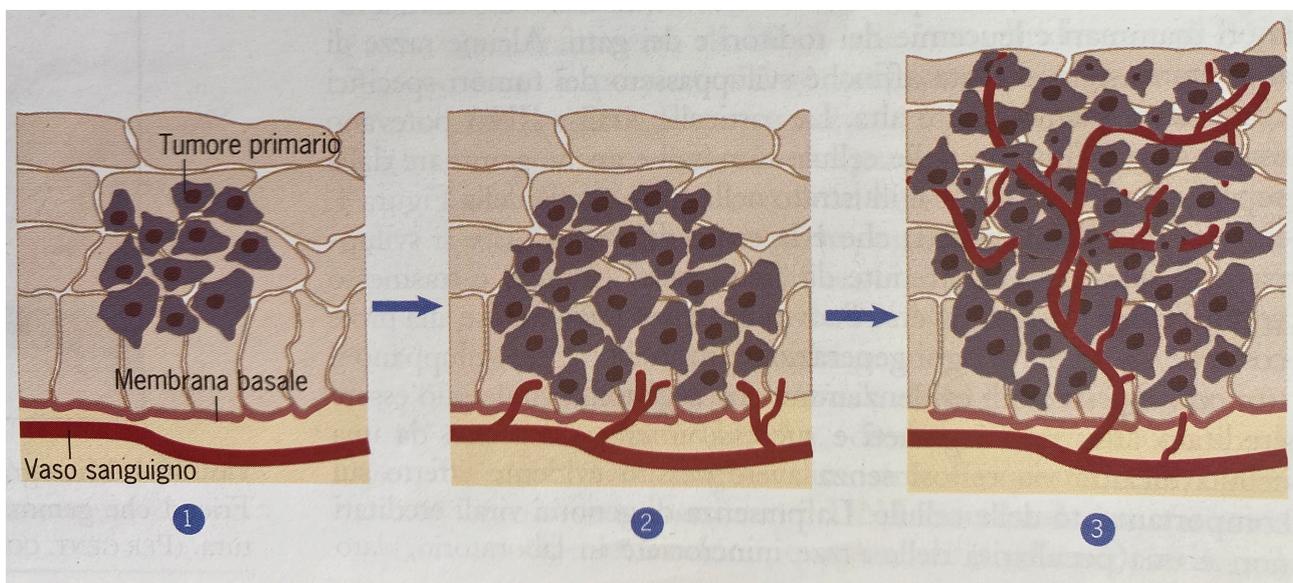


Figura 14: Angiogenesi e crescita tumorale. Nel primo stadio il tumore prolifera formando una piccola massa di cellule e, finché non viene vascolarizzato, rimane molto piccolo (1-2mm). Nel secondo stadio la massa tumorale ha prodotto i fattori angiogenici che stimolano le cellule endoteliali dei vasi vicini a crescere verso le cellule tumorali. Infine, nel terzo stadio, il tumore è stato vascolarizzato ed è quindi capace di crescere illimitatamente.

Inoltre i vasi sanguigni forniscono alle cellule tumorali le vie per raggiungere altre parti del corpo. Le cellule tumorali favoriscono l'angiogenesi grazie alla secrezione di fattori di crescita che agiscono sulle cellule endoteliali dei vasi sanguigni vicini stimolandoli a proliferare e a svilupparsi in nuovi vasi. D'altro canto esistono degli inibitori naturali dei fattori di crescita tra cui l'endostatina e la trombospondina e altri inibitori dell'angiogenesi sviluppati dalle industrie

biotecnologiche. Inoltre è bene sottolineare che i tumori trattati con tali inibitori non diventano resistenti a ripetute somministrazioni del farmaco. Contrariamente le cellule tumorali diventano resistenti ai normali agenti chemioterapici in quanto, le cellule sono geneticamente instabili e possono evolvere in forme resistenti. Gli inibitori dell'angiogenesi bersagliano le cellule endoteliali normali, geneticamente stabili, che continuano a rispondere alla presenza di questi inibitori. Inoltre questi agenti non vanno a interferire con le normali attività fisiologiche e sono largamente efficaci contro molti differenti tipi di tumore che utilizzano lo stesso meccanismo di angiogenesi. Infine, agendo su cellule di rivestimento del circolo sanguigno ed essendo il farmaco veicolato dal sangue, raggiungono facilmente le cellule bersaglio. Tuttavia l'inibizione dell'angiogenesi nei tumori umani non è facilmente realizzabile e, ad oggi, i risultati più promettenti sono stati ottenuti con un anticorpo umanizzato, l'Avastin, diretto contro VEGF, il fattore di crescita endoteliale che è sovra espresso nella maggioranza dei tumori solidi. L'Avastin impedisce a VEGF di legarsi ed attivare VEGFR, il suo recettore.

È prevedibile che in futuro la migliore strategia contro il cancro sia l'identificazione precoce perché, quanto prima un cancro è scoperto, tanto maggiore sarà la possibilità di sopravvivenza.

(Bruce Alberts et al.,2020; Gerard Karp, 2012)

Capitolo 2 - Il cancro al seno

Il tumore della mammella è la neoplasia più frequente tra le donne ed è in costante aumento. È uno dei tumori più comuni il cui rischio aumenta progressivamente con l'età. Esistono diversi tipi di tumori della mammella: carcinoma duttale, carcinoma intraduttale *in situ*, carcinoma lobulare, carcinoma tubulare, carcinoma papillare, carcinoma mucinoso e carcinoma cribriforme. Il carcinoma duttale è il tipo più comune di cancro al seno, che si verifica sia nelle donne che negli uomini, sebbene la sua prevalenza negli uomini sia rara. Nello specifico il carcinoma mammario si differenzia in forme non invasive, che non si estendono oltre la membrana basale dei dotti mammari, e in forme invasive quando sono capaci di ingrandirsi fino a raggiungere i linfonodi o altre parti del corpo.

In condizioni fisiologiche normali, l'epitelio è una struttura ben definita, in cui le cellule epiteliali formano uno strato uniforme e, nel caso particolare della mammella, esse costituiscono il rivestimento dei dotti responsabili del trasporto del latte durante l'allattamento. In contrasto con i tessuti sani, le cellule all'interno dei tumori acquisiscono diverse caratteristiche fisiopatologiche che conferiscono loro capacità di sopravvivenza, proliferazione e migrazione. La progressione del tumore è caratterizzata da una massa formata da più popolazioni di cellule con meccanismi in grado di inibire l'apoptosi, favorendo al contempo le vie di sopravvivenza e l'invasione dei tessuti sani attraverso la circolazione sanguigna e linfatica. In realtà, le alterazioni morfologiche e funzionali delle cellule epiteliali, così come le alterazioni dell'espressione di importanti molecole di superficie, sono cruciali per l'inizio e lo sviluppo del tumore.

La figura 15 rappresenta le alterazioni chiave che si verificano nel cancro al seno: a sinistra abbiamo le cellule epiteliali mammarie polarizzate che rivestono un dotto in una matrice extracellulare conforme in seno normale (A1); mentre a destra troviamo un dotto nel carcinoma mammario in cui le cellule epiteliali mammarie proliferano, migrano e perdono la struttura polarizzata promossa da una matrice densa di collagene nel carcinoma mammario (B1). Da un lato vediamo l'instaurazione di normali giunzioni intercellulari, giunzioni strette e aderenti, tra le cellule vicine e l'attaccamento alla membrana basale da parte delle integrine che promuovono l'inibizione del contatto, limitano la proliferazione delle cellule epiteliali e assicurano la polarità nella mammella normale (A2) mentre, dall'altro lato, il microambiente tumorale è un'impalcatura complessa di una matrice extracellulare in cui sono presenti cellule tumorali e vari altri tipi cellulari, come fibroblasti associati al cancro e cellule immunitarie, che promuove l'autosufficienza nei segnali di crescita, nonché un ambiente pro-infiammatorio e pro-ossidante. Inoltre l'aumentata angiogenesi, caratterizzata da vasi sanguigni iperpermeabili che sono scarsamente rivestiti da una

membrana basale e periciti, è cruciale per lo sviluppo del tumore: all'aumentare della distanza dai vasi sanguigni, l'ambiente diventa sempre più ipossico (B2).

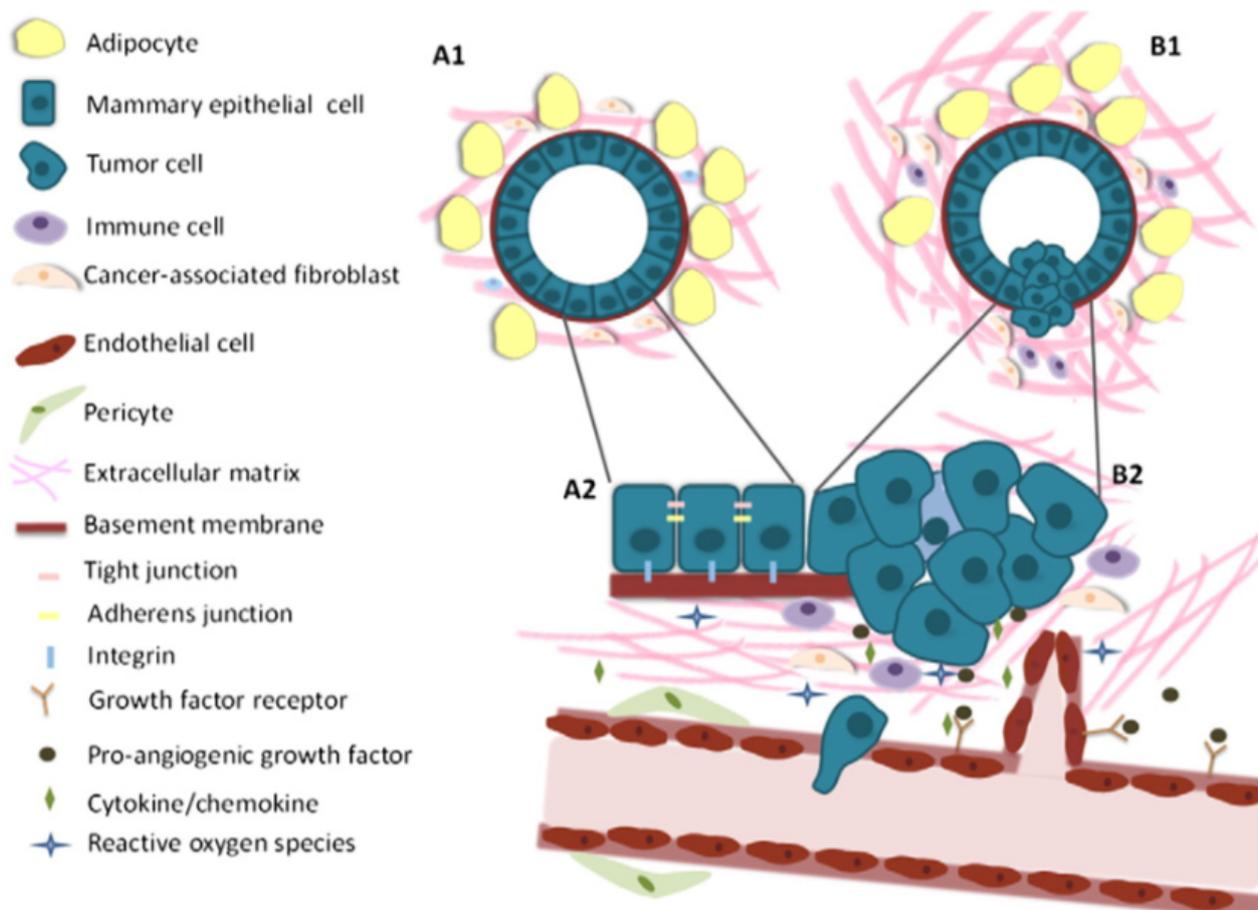


Figura 15: Le alterazioni chiave del cancro al seno.

(M. Videira et al., 2014)

2.1. La diagnosi

La prevenzione è la prima arma per attaccare il tumore alla mammella. Individuarlo precocemente può aumentare la possibilità di guarigione oltre ad ampliare le opzioni terapeutiche a disposizione per il paziente.

I due esami che si effettuano per diagnosticare il tumore alla mammella sono la mammografia e l'ecografia mammaria e si può svolgere uno dei due controlli oppure entrambi, a seconda di diversi fattori, tra cui l'età, la familiarità per il tumore al seno e la densità del seno. L'ecografia mammaria differisce dalla mammografia per il modello d'indagine: mentre l'ecografia sfrutta le onde sonore per l'elaborazione delle immagini diagnostiche, la mammografia è un esame radiografico che

utilizza i raggi x. Il primo esame spesso non riesce a mettere a fuoco, quindi, risulta più impreciso rispetto alla mammografia che individua lesioni tumorali anche millimetriche.

Innanzitutto, è essenziale l'autopalpazione tramite la quale è possibile percepire la presenza di un nodulo a causa della sua diversa consistenza rispetto al tessuto mammario sano circostante. Altri sintomi visibili possono essere la retroazione del capezzolo, le secrezioni sierose-ematiche del capezzolo, l'aumento del volume della mammella e la presenza di linfonodi ascellari o del collo ingranditi e duri. Inoltre, solitamente tra i 30 e i 40 anni, è importante iniziare a sottoporsi a controlli periodici tramite l'ecografia mammaria associata ad una consulenza senologica che tenga conto anche dei fattori di rischio individuali. Infatti, proprio a causa dei fattori di rischio individuali come la familiarità del cancro al seno, l'età a cui si iniziano a svolgere tali esami può abbassarsi notevolmente. Infine, superati i 40 anni, studi scientifici dimostrano che sottoporsi ad una mammografia con regolarità riduce la percentuale di mortalità per tumore alla mammella e in generale tale esame andrebbe svolto ogni anno tra i 40 e i 50 anni e ogni due anni tra i 50 e i 70 anni. Anche in questo caso le fasce d'età variano secondo determinati fattori, tra cui la recidività del tumore al seno. In caso di seni densi o di alterazioni dubbie si abbinano i due esami.

Esistono varie procedure di screening, tra cui la mammografia per il cancro della mammella, che potrebbero avere un notevole impatto nel diminuire i tassi di mortalità per cancro. La mammografia è un esame fondamentale per la prevenzione del tumore della mammella in quanto, consente lo studio morfologico della mammella mediante l'impiego di radiazioni ionizzanti. È una radiografia eseguita mentre il seno è compresso tra due lastre e viene effettuata al fine di identificare la presenza di formazioni potenzialmente tumorali. All'interno dei programmi di screening, si eseguono due proiezioni radiografiche, una dall'alto e l'altra lateralmente, e i risultati vengono valutati separatamente per garantire una maggiore affidabilità della diagnosi. Si spera che i progressi nell'identificazione di proteine e nella loro caratterizzazione rispetto a struttura, funzione, attività e interazioni molecolari, portino allo sviluppo di nuovi test basati sui livelli relativi di varie proteine presenti nel sangue. Inoltre nel sangue sono presenti i biomarker, degli indicatori biologici, che potrebbero rivelare la presenza del cancro, compresi DNA mutante originato da cellule tumorali, carboidrati anomali e la presenza delle stesse cellule tumorali.

2.2. La classificazione e le terapie

Il miglioramento del tasso di sopravvivenza è strettamente legato allo sviluppo di tecnologie diagnostiche avanzate e di nuove terapie sempre più mirate ed efficaci.

Sebbene la chemioterapia, la chirurgia, la radioterapia e le terapie ormonali abbiano contribuito all'aumento del tasso di sopravvivenza dei pazienti affetti da cancro al seno, nelle fasi più avanzate

queste strategie sono caratterizzate da scarsi risultati, mancanza di specificità e carente prevenzione alle recidive.

Per progettare un approccio terapeutico si analizzano quattro aspetti fondamentali, ovvero l'età, il coinvolgimento dei linfonodi, il grado e le dimensioni del tumore. Distinguiamo ora il tumore in base alla sua stadiazione. La stadiazione consiste nel classificare le patologie tumorali attraverso parametri che ne descrivono l'estensione. Lo stadio I corrisponde ad una massa tumorale ben definita e localizzata, caratterizzata da scarse proprietà invasive. Gli stadi II e III presentano un aumento del volume del tumore e un fenotipo invasivo. Inoltre, il coinvolgimento dei linfonodi dà origine a una sottoclassificazione in A, B e C. I tumori avanzati invece sono classificati nel IV stadio. L'enorme dimensione del tumore e la disseminazione delle metastasi negli organi principali, come i polmoni e le ossa, sono correlate a questo fenotipo invasivo. Proprio a causa della diffusione delle metastasi si ha uno scarso successo terapeutico nell'eradicazione del tumore. La progressione della malattia si verifica a causa di diverse mutazioni acquisite coinvolte nella chemio-resistenza e nell'attivazione della crescita e sopravvivenza del tumore. Per questo motivo i meccanismi molecolari cellulari alla base dell'eterogeneità tumorale e della resistenza multifarmaco sono stati al centro di numerosi studi a fine di ottenere delle strategie più efficaci e orientate alla malattia. Un importante traguardo riguarda la classificazione della malattia basata sull'espressione del recettore del fattore di crescita epidermico umano 2 (HER2), del recettore del progesterone (PR) e del recettore degli estrogeni (ER). A tal proposito, grazie alle espressioni dei marcatori cellulari, è stato possibile classificare la malattia in quattro sottotipi. Infatti, tale classificazione spiega le differenze nella capacità proliferativa del tumore o nella resistenza alla terapia. Nonostante lo stadio del tumore e l'approccio della terapia combinatoria, la sopravvivenza del paziente dipende fortemente dalla precedente chemioterapia e questo è mitigato dalla fuga precoce del farmaco adattivo. La sovraespressione dei trasportatori di efflusso della cassetta di legame dell'ATP nelle cellule tumorali maligne pompa le molecole di farmaco, diminuendo la loro concentrazione intracellulare e quindi il loro effetto farmacologico, aumentando contemporaneamente l'esposizione delle cellule sane al farmaco. Questo meccanismo regola la sopravvivenza e la progressione del cancro, direttamente o indirettamente attraverso un percorso non mediato dal genoma. Probabilmente, altre vie molecolari implicate nella resistenza ai farmaci, come l'inibizione della riparazione del DNA e la deregolazione della sopravvivenza/percorso apoptotico, sono strettamente correlate all'attivazione del segnale di resistenza multifarmaco.

Pertanto, migliori opzioni per il trattamento del cancro possono essere guidate dalle nuove conoscenze sulla biologia del cancro e sui principali meccanismi coinvolti nella progressione e

resistenza del tumore, incluso il ruolo delle cassette di legame dell'ATP più rilevanti: glicoproteina P, proteina associata alla resistenza multifarmaco e proteina di resistenza al cancro al seno.

Esistono diverse possibilità terapeutiche che possono essere utilizzate singolarmente o in combinazione secondo diversi fattori: l'età del paziente, lo stadio della malattia, la presenza di altre patologie associate e il desiderio del paziente di potere eventuale avere dei figli a seguito delle cure. Infatti, alcune terapie possono indurre alla menopausa precoce quindi alle pazienti in età fertile vengono proposte, se è possibile, procedure finalizzate alla preservazione della fertilità e della funzione ovarica come la crioconservazione degli ovociti prelevati prima dell'inizio delle cure. Grazie a queste opzioni di conservazione della fertilità le donne, al termine delle cure, potranno prendere in considerazione una gravidanza.

La chirurgia nel tumore al seno ha compiuto negli anni grandi progressi: si è passati dai primi interventi mutilanti ad una strategia chirurgica conservativa avente come obiettivo la conservazione della mammella e dei linfonodi ascellari, assicurando così l'integrità femminile. In questi interventi conservativi si asporta la sola massa tumorale salvaguardando il più possibile la ghiandola residua e il muscolo sottostante con rilevanti vantaggi anche di tipo estetici. Questa nuova tecnica, che prende il nome di quadrantectomia, è associata ad un trattamento radioterapico finalizzato a proteggere la restante ghiandola mammaria da future recidive di malattia. Nel caso in cui il chirurgo debba eseguire una mastectomia, ovvero un intervento demolitivo, è possibile la contemporanea ricostruzione chirurgica attraverso l'impianto il posizionamento di un espansore che creerà i tessuti di rivestimento per contenere la protesi evitando lo stress di un nuovo intervento e garantendo un miglior recupero. In altri casi la ricostruzione può avvalersi di tessuti autologhi attraverso l'utilizzo di porzioni di muscolo addominale o del gran dorsale della paziente. Infine, durante l'intervento, il chirurgo asporta uno o più linfonodi dell'ascella e, per sapere se questi sono coinvolti, viene utilizzata la tecnica del linfonodo sentinella che identifica il primo linfonodo che drena la linfa dell'area tumorale. Se il linfonodo sentinella contiene cellule tumorali si possono asportare altri linfonodi ascellari. Dopo la chirurgia possono essere doverosi ulteriori trattamenti medici per incrementare il tasso di guarigione dei pazienti.

Nei pazienti affetti da neoplasie mammarie, la radioterapia viene usufruita a seguito della chirurgia. Utilizza un fascio di radiazioni ionizzanti per eliminare eventuali cellule tumorali residue e, di conseguenza, ridurre il rischio di una recidiva. Si distingue in radioterapia a fasci esterni e radioterapia intraoperatoria.

La chemioterapia consiste nella somministrazione, per via endovenosa o per via orale, di farmaci che attraverso il circolo sanguigno possono raggiungere le cellule tumorali e distruggerle. Si divide in adiuvante, quando viene effettuata a seguito della chirurgia per ridurre il rischio di recidiva di

malattia a livello locale e sistemico, e neoadiuvante, se viene eseguita prima dell'intervento chirurgico per ridurre le dimensioni del tumore. Non tutte le pazienti con malattia in fase iniziale necessitano di chemioterapia. Tale scelta dipende dalle caratteristiche biologiche della neoplasia che vengono evidenziate dall'esame istologico e dalla valutazione del rapporto rischio-beneficio. Viceversa, nella malattia avanzata o metastatica, risulta la cura più efficace.

La terapia endocrina, conosciuta anche come ormonoterapia, consiste nella somministrazione di farmaci che interferiscono con l'attività e la produzione di ormoni femminili ritenuti responsabili della progressione del tumore mammario. Tale terapia è adeguata nelle pazienti con tumori ormonosensibili, che esprimono i recettori per l'estrogeno e/o il progesterone sulla superficie delle cellule tumorali. Vengono utilizzati dei farmaci, come il tamoxifene e gli inibitori dell'aromatasi, che agendo sui recettori ormonali per gli estrogeni e il progesterone bloccano l'azione e riduce la crescita delle cellule tumorali. Nelle donne in età fertile, la terapia endocrina può prevedere anche la somministrazione di un farmaco che induca in menopausa temporanea.

Negli ultimi anni sono stati sviluppati degli anticorpi monoclonali, farmaci capaci di colpire solo le cellule tumorali agendo su un bersaglio espresso selettivamente su di esse.

(M. Videira et al., 2014 ; E. Blanco et al., 2014 ; W. D. Foulkes et al., 2010 ; K.A. Cadoo et al., 2013 ; K. Bauer et al., 2010 ; S. J. Dawson et al. 2013)

2.3. Il tasso di mortalità del cancro al seno

Entriamo ora nello specifico del tasso di mortalità del tumore al seno analizzando un articolo di Umberto Veronesi (2005), oncologo e fondatore dell'omonima fondazione. La prevenzione e la cura del carcinoma mammario sono state al centro dei suoi studi e, a tal proposito, è stato il primo sostenitore della quadrantectomia associata alla radioterapia in alternativa alla mastectomia utilizzata unicamente fino a quel momento. Ha dimostrato che questa nuova tecnica, a parità di sopravvivenza, è altrettanto efficace con un impatto estetico e psichico nettamente migliore. Veronesi afferma che "il cancro al seno rimane un problema di salute pubblica su scala globale". L'epidemiologia del cancro in Europa classifica il carcinoma mammario come la seconda principale causa di morte, con un'incidenza di 464.000 nuovi casi nel 2012. La chemioterapia, la chirurgia, la radioterapia, la terapia ormonale e gli anticorpi mirati hanno contribuito a un enorme aumento del tasso di sopravvivenza dei pazienti nell'ultimo decennio. In particolare: l'età precoce al primo parto e la somministrazione del tamoxifene sono connessi alla riduzione, a lungo termine, del cancro al seno. Sebbene il tamoxifene possa essere utilizzato per curare le malattie endocrine che si

manifestano con una secrezione eccessiva o insufficiente di un ormone da parte di una ghiandola endocrina specifica, gli inibitori dell'aromatasi, enzima chiave nella biosintesi degli estrogeni, sono sempre più impiegati. Infine, la valutazione dei bersagli molecolari ha un ruolo fondamentale nella diagnosi primaria.

Il calo del tasso di mortalità è legato allo screening mammografico, alla diagnosi precisa e all'aumento del numero di donne che ricevono il miglior trattamento per le loro condizioni, tra cui l'utilizzo del tamoxifene. Infatti, è stato dimostrato che l'intervento ormonale con tamoxifene riduce il rischio di cancro al seno nel caso in cui sia positivo ai recettori degli estrogeni. Ciò nonostante, tale farmaco presenta molteplici effetti collaterali, tra cui alcuni clinicamente gravi, e per questo motivo lo si esclude per impiego generale. Inoltre, la lunga durata dell'allattamento ha un'incidenza sulla riduzione del rischio del tasso di morte, insieme all'età a cui si ha avuto la gravidanza e il numero di gravidanze portate a termine. Infatti, l'assenza o la breve durata dell'allattamento al seno, tipica dei paesi sviluppati, contribuisce in modo sostanziale all'elevata incidenza del cancro al seno.

Viceversa, il consumo di alcool è correlato all'incidenza del cancro al seno e la diminuzione del consumo potrebbe ridurre il rischio di tale patologia. Inoltre, anche l'esposizione a radiazioni ionizzanti, aumenta la probabilità dell'insorgenza del tumore al seno.

Nonostante si siano identificati numerosi fattori di rischio per l'insorgenza del cancro al seno, l'individuazione di strategie ed interventi efficaci per prevenirlo è ancora difficile.

(Veronesi et al., 2005; M. Videira et al., 2014; J. Ferlay et al., 2013; Peto et al., 2000; Cuzick et al., 2003; Boice et al., 1978; Smith-Warner et al., 1998)

Conclusione

Nelle cellule sane si ha un equilibrio tra la proliferazione e l'apoptosi e tra la sopravvivenza e la morte cellulare che invece viene a mancare nel fenomeno di tumorigenesi. Infatti le cellule tumorali sono in grado di sopravvivere ad eventi come la morte cellulare programmata favorendo così il processo di metastatizzazione.

Il tumore primario genera un comportamento staminale di riserva che mantiene protette le cellule staminali da trattamenti farmacologici. Infatti, nonostante si elimini il tumore primario, la cellula staminale tumorale, essendo resistente alle terapie, rimane all'interno del corpo anche per anni. Queste cellule sono difficili da trovare per poi estrarle e sono la causa delle recidive che possono presentarsi anche a distanza di anni e in distretti differenti.

Proprio a causa della farmaco resistenza è difficile sconfiggere il tumore ed essere certi che questo non si ripresenti. A tal proposito la prevenzione attraverso esami diagnostici risulta fondamentale. Man mano che la stadiazione del tumore avanza, ovvero all'incremento delle dimensioni e della propagazione delle metastasi, si riduce la probabilità di sopravvivenza del malato a causa della diminuzione dell'efficacia delle cure. Esistono svariati trattamenti terapeutici che possono anche essere abbinati. La scelta della terapia più adeguata per il paziente dipende da diversi fattori tra cui l'età del paziente e lo stadio della malattia. Al giorno d'oggi si continua a lavorare sulla ricerca di nuove tecniche sempre più all'avanguardia.

Bibliografia

Bruce Alberts, Karen Hopkin, Alexander Johnson, David Morgan, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter, *L'essenziale di biologia molecolare della cellula*, Biologia Zanichelli, 2020 Quinta edizione a cura di Aldo Pagano.

Gerard Karp, *Biologia Cellulare e Molecolare*, EdiSES, 2012 Quarta edizione.

Peter Abrahams, *ATLANTE del CORPO UMANO*, una guida completa per comprendere il corpo umano, RL Gruppo Editoriale Srl, 2010, 104-105.

Y. Pylayeva-Gupta, E. Grabocka and D. Bar Sagi (2011) Ras oncogenes: weaving a tumorigenic web. *Nature Reviews Cancer* **11**, 761-774.

I. R. Vetter, A. Wittinghofer (2001) The guanine nucleotide-binding switch in three dimensions. *Science* **294**, 1299-1304.

M. Videira, R. L. Reis, M. A. Brito, *Deconstructing breast cancer cell biology and mechanisms of multidrug resistance*, Biochimica et biophysica Acta 1846, 2014, 312-325.

Umberto Veronesi, Peter Boyle, Aron Goldhirsch, Roberto Orecchia, Giuseppe Viale, *Breast cancer*, Lancet, 2005, Volume 365: 1727-41.

J. Ferlay, E. Steliarova-Foucher, J. Lortet-Tieulent, S. Rosso, J.W. Coebergh, H. Comber, D. Forman, F. Bray, *Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012*, Eur. J. Cancer 49, 2013, 1374-1403.

Peto R, Boreham J, Clarke M, Davies C, Beral V, *UK and USA breast cancer deaths down 25% in year 2000 at ages 20-69 years*, Lancet, 2000, Volume 355: 1822.

Cuzick J, Powles T, Veronesi U, et al., *Overview of main outcomes in breast cancer prevention trials*, Lancet, 2003, Volume 361: 296-300.

Boice JD, Stone BJ, *Interaction between radiation and other breast cancer risk factors*, In: Late biological effects of ionising radiation, Volume 1, Vienna: IAEA, 1978, 231-49.

Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. *Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies*, JAMA, 1998, 279: 535-40.

E. Blanco, M. Ferrari, *Emerging nanotherapeutic strategies in breast cancer*, Breast (Edinburgh, Scotland) 23, 2014, 10-18.

W.D. Foulkes, I. E. Smith, J.S. Reis-Filho, *Triple-negative breast cancer*, N. Engl. J. Med. 363, 2010, 1938-1948.

K.A. Cadoo, M.N. Fornier, P.G. Morris, *Biological subtypes of breast cancer: current concepts and implications for recurrence patterns*, Q. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 57, 2013, 312-321.

K. Bauer, C. Parise, V. Caggiano, *Use of ER/PR/HER2 subtypes in conjunction with the 2007 St Gallen Consensus Statement for early breast cancer*, BMC Cancer 10, 2010, 228.

S. J. Dawson, O. M. Rueda, S. Aparicio, C. Caldas, *A new genome-driven integrated classification of breast cancer and its implications*, EMBO J. 32, 2013, 617-628.