



Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"
Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e
Biofarmaceutica

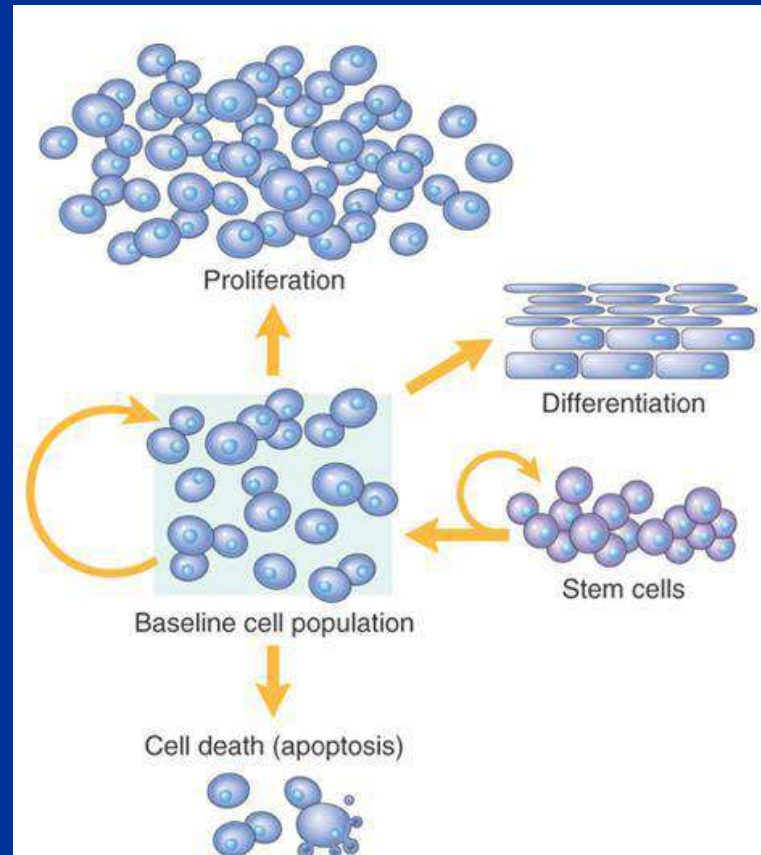
Biomarkers per la diagnosi precoce dei tumori

Dott.ssa Maria Luana Poeta



Omeostasi Tissutale

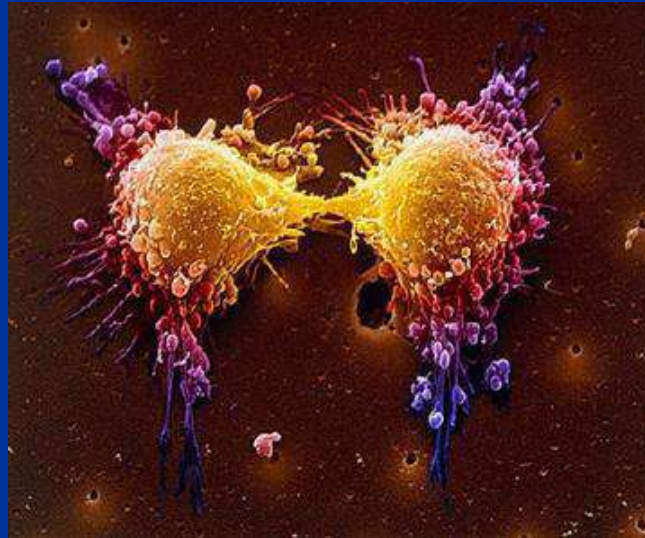
- Normalmente le cellule dei tessuti si riproducono dividendosi, in modo da sopperire alle varie necessità dell'organismo: per mantenerlo in equilibrio, es: sostituire le cellule morte o danneggiate.





Tumore: perdita dell'omeostasi

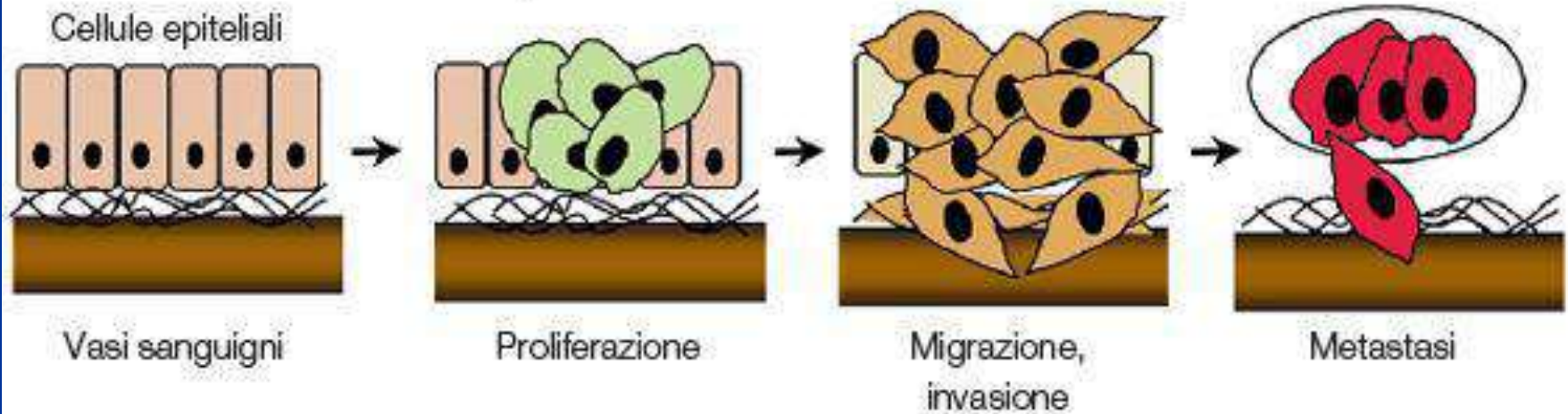
- Nei tumori questo delicato equilibrio, che dipende dai messaggi chimici inviati da una cellula all'altra e dai geni che si trovano nel loro DNA, è compromesso. La cellula continua a dividersi senza controllo e le cellule danneggiate non vanno incontro a una morte programmata, detta apoptosi.





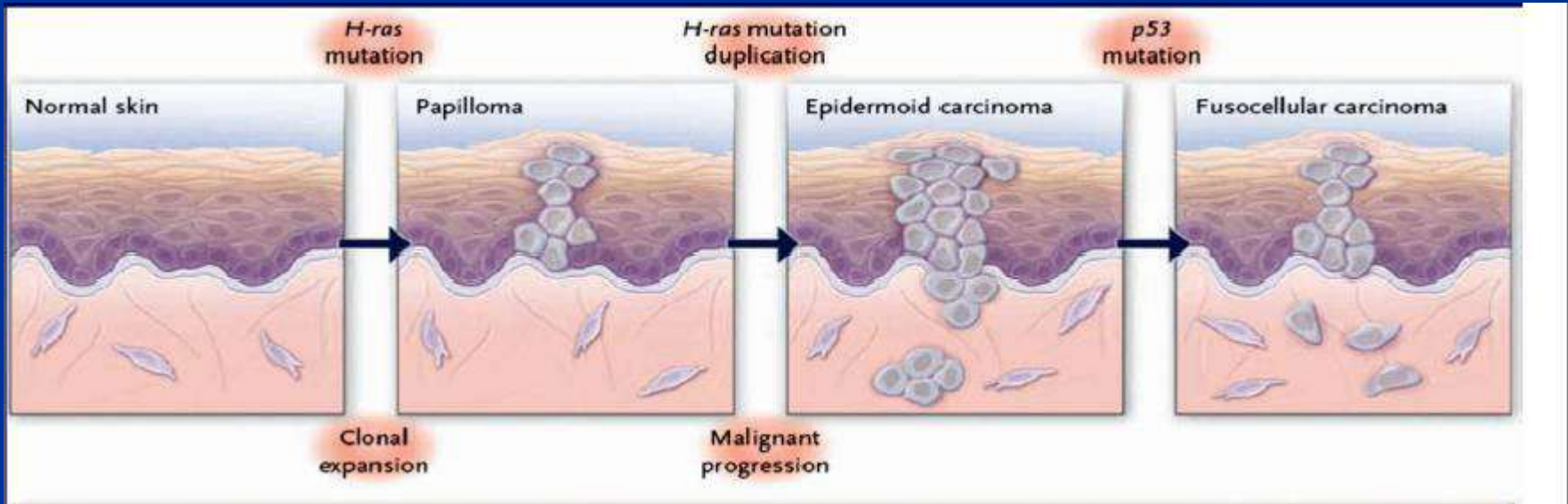
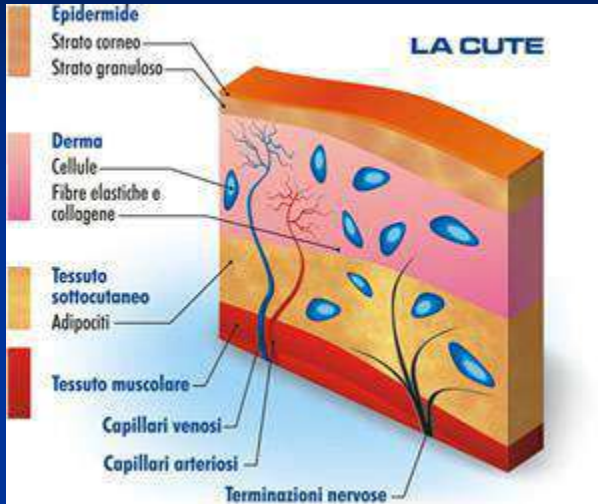
Cos'è un Tumore

Crescita invasiva delle cellule neoplastiche: infiltrazione del tumore e metastasi



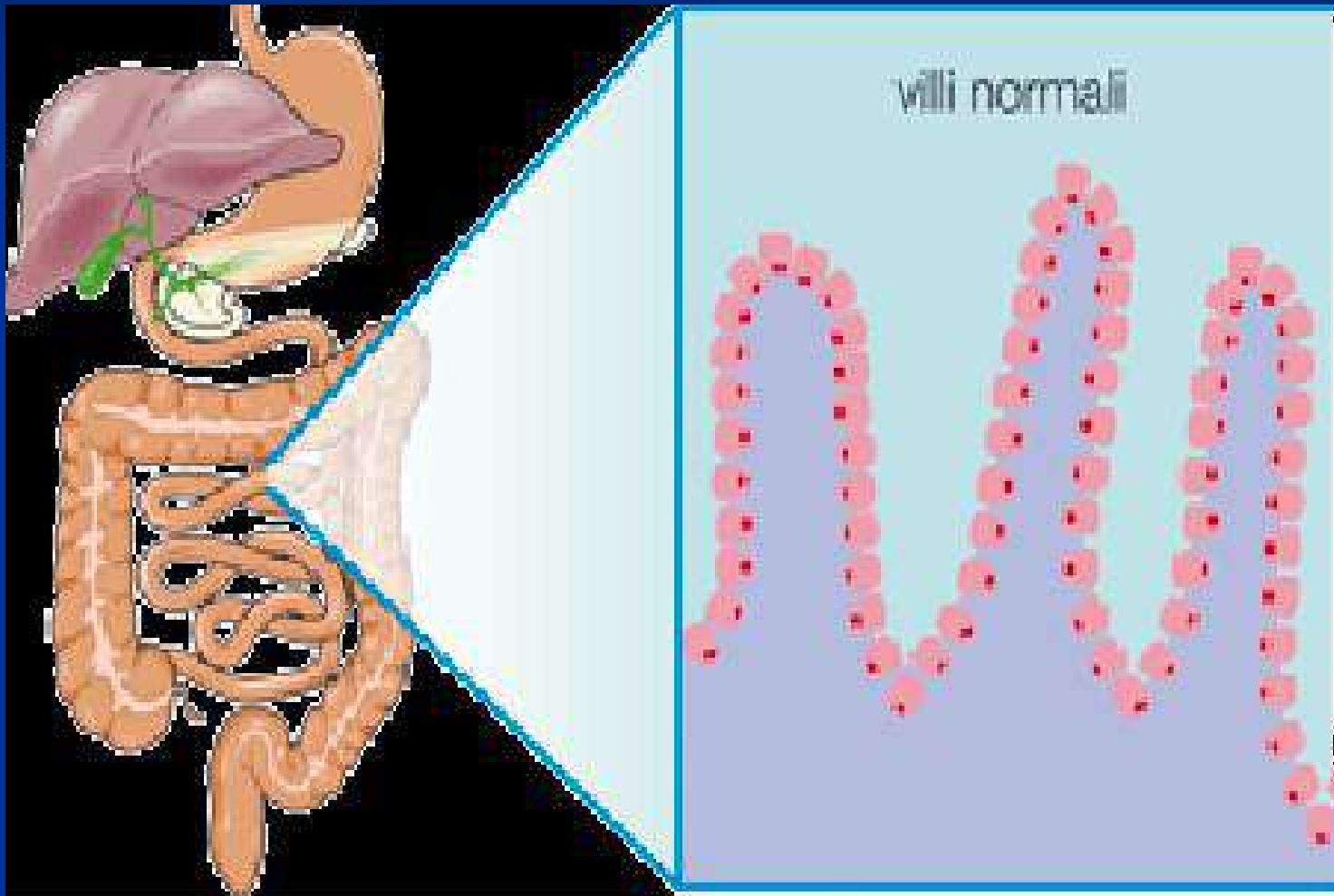


Omeostasi Tissutale: Cute



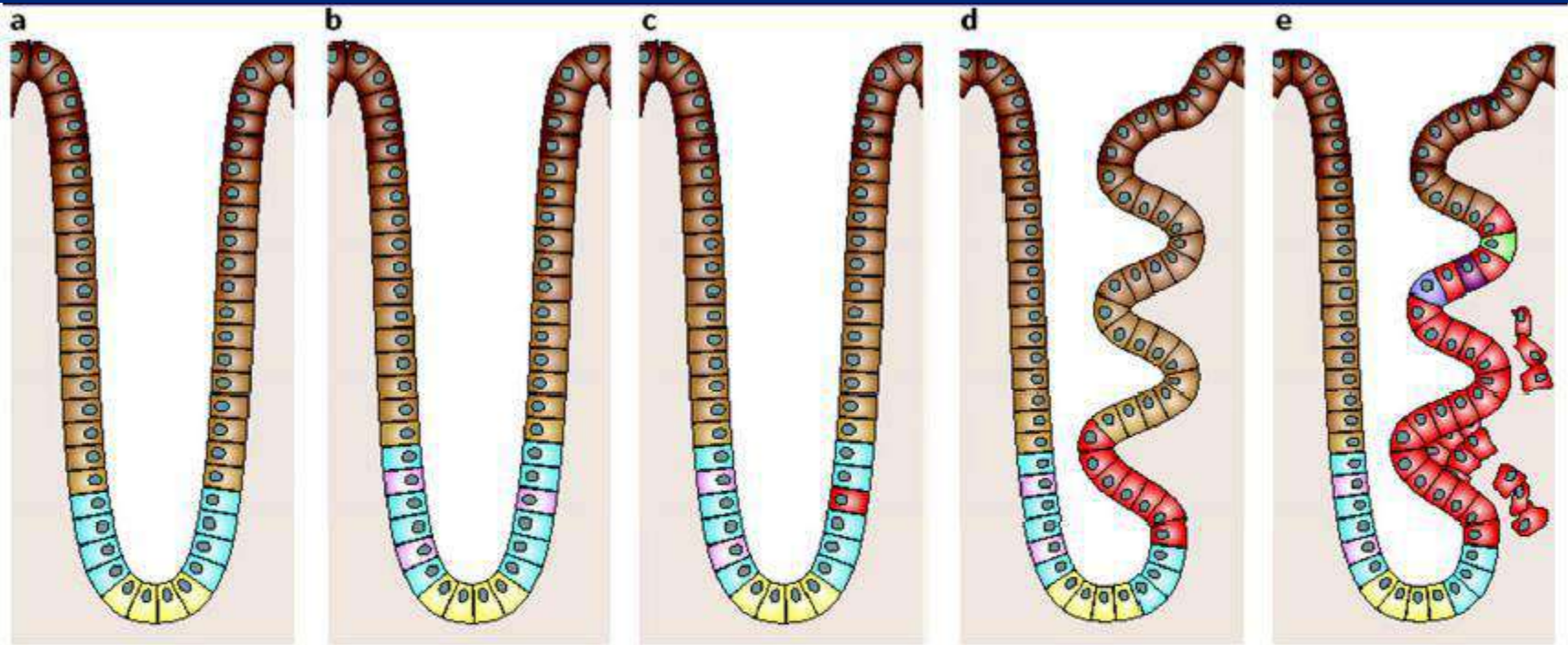


Omeostasi Tissutale: Intestino





Omeostasi Tissutale: Intestino



Normal colonic epithelium

epigenetic alteration of stem/progenitor cells

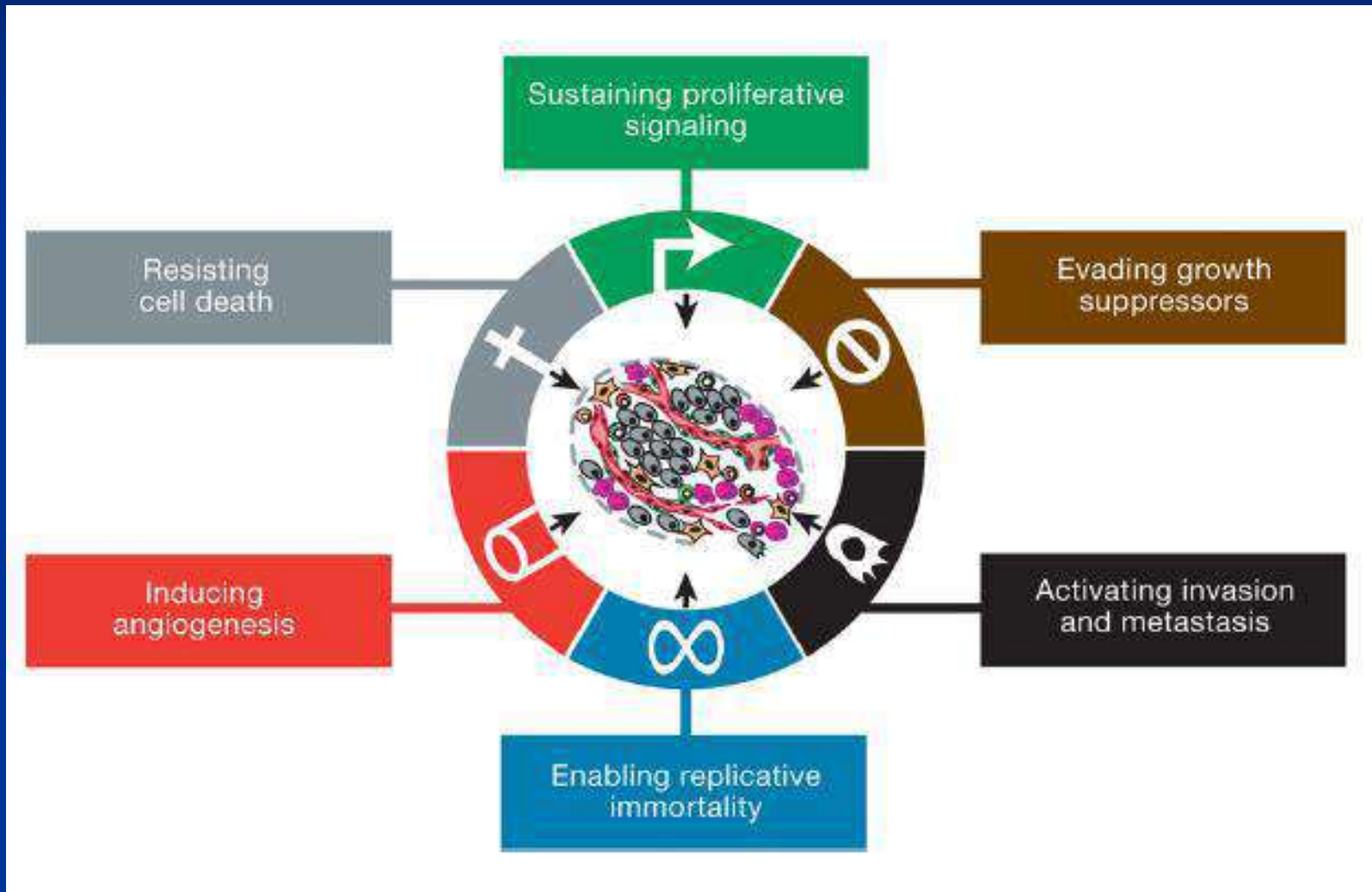
initiating mutation

genetic and epigenetic instability

expression of phenotypic features (invasion, metastasis and drug resistance) that are inherent properties of the stem cell progenitor

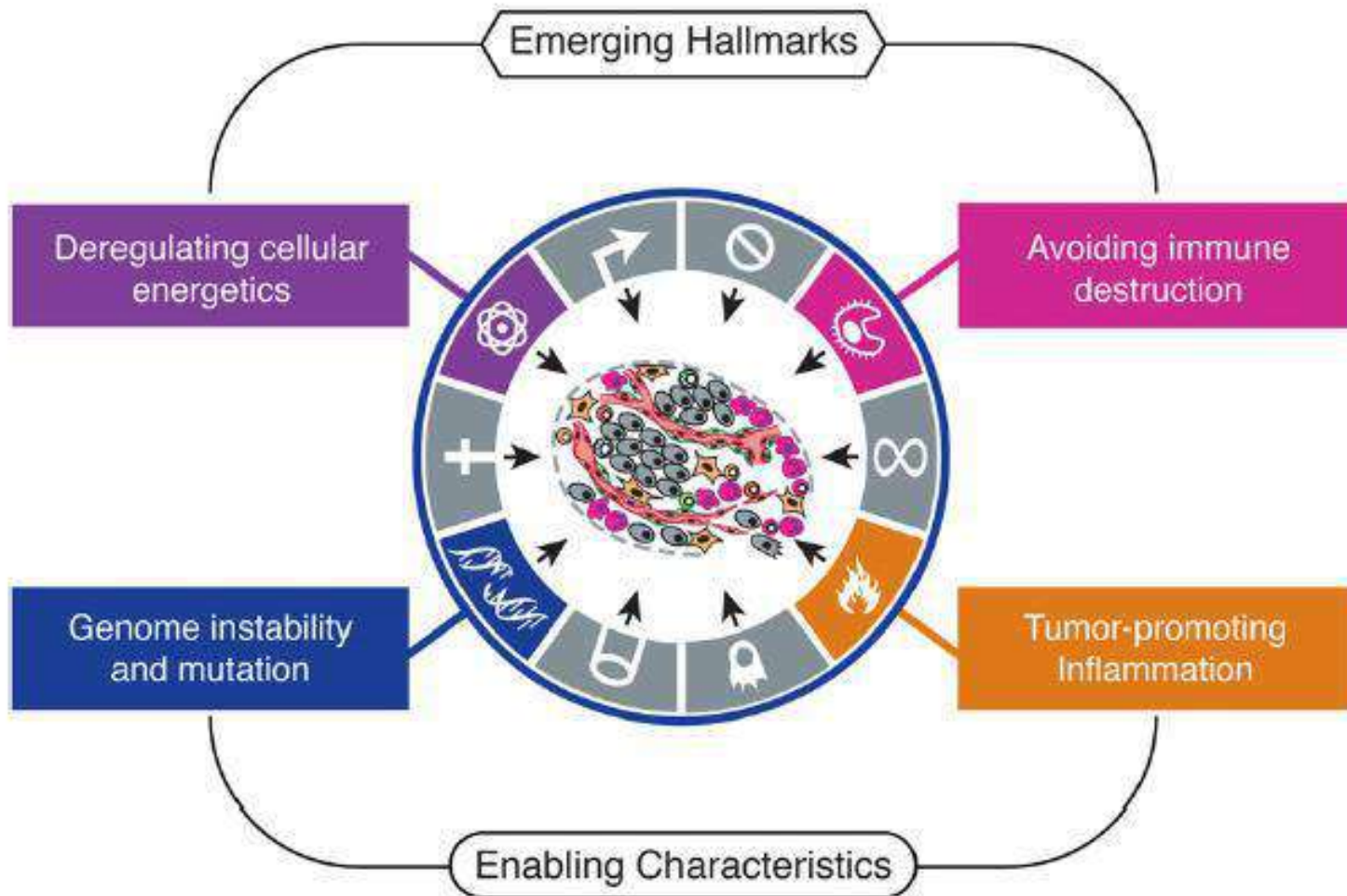


Omeostasi e Hallmarks tumorali



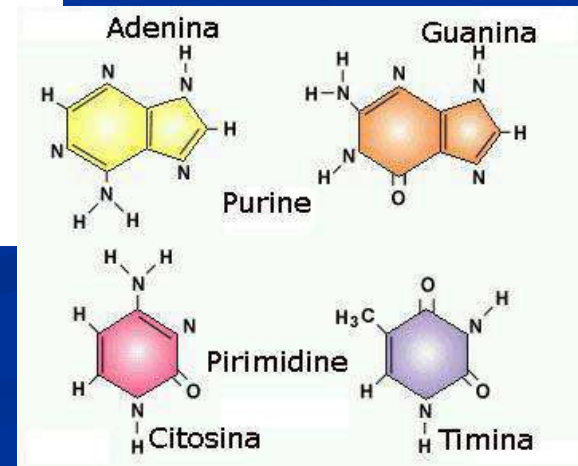
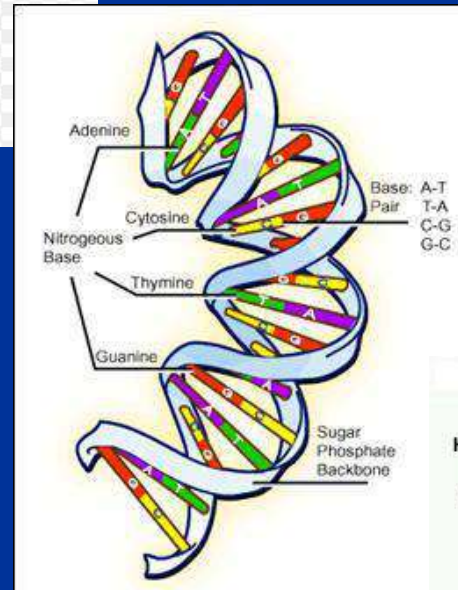
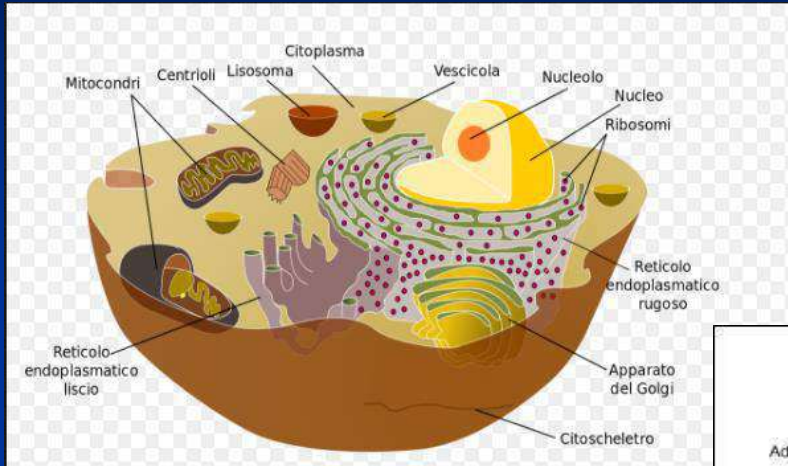


Omeostasi e Hallmarks tumorali



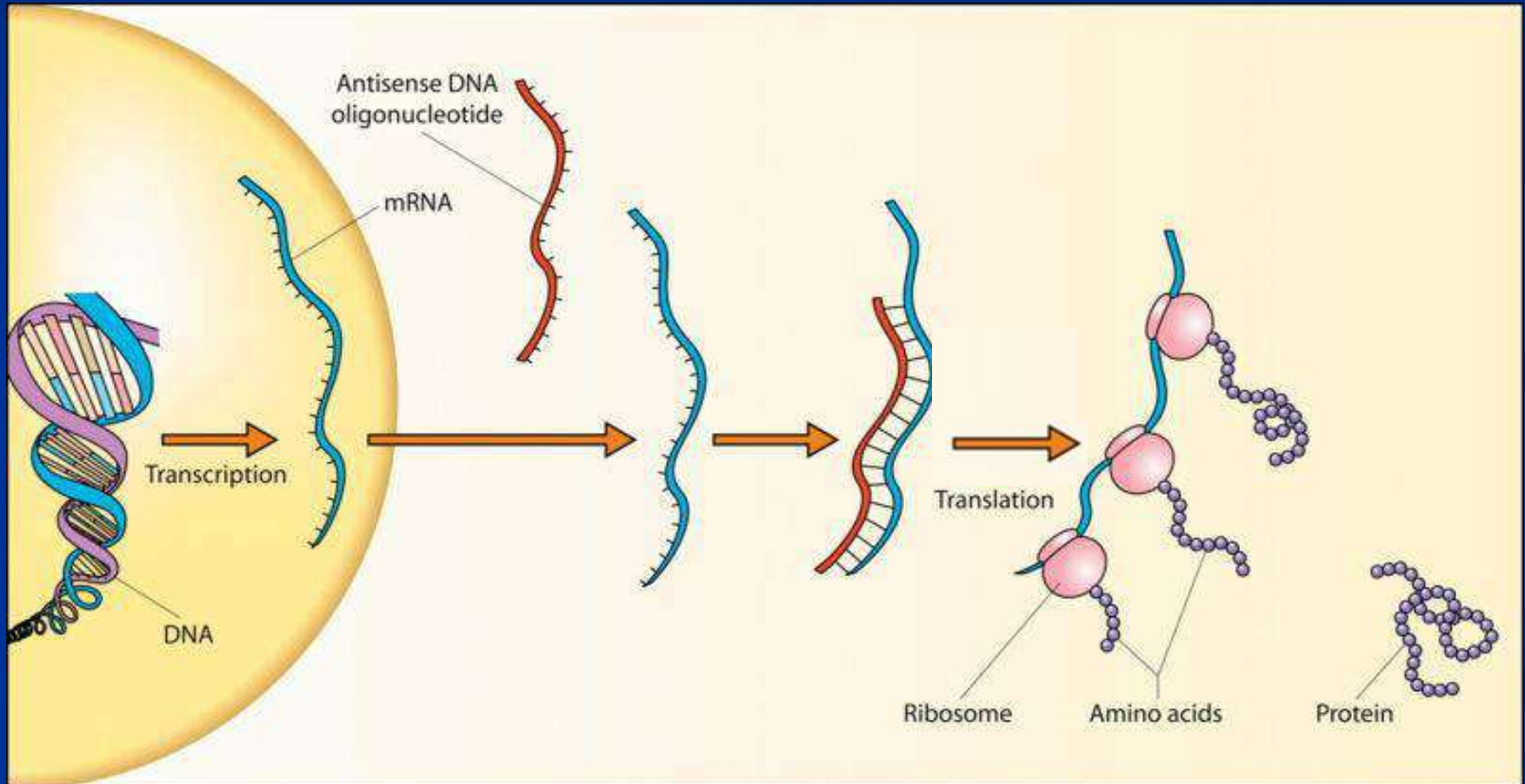


Hallmarks e geni





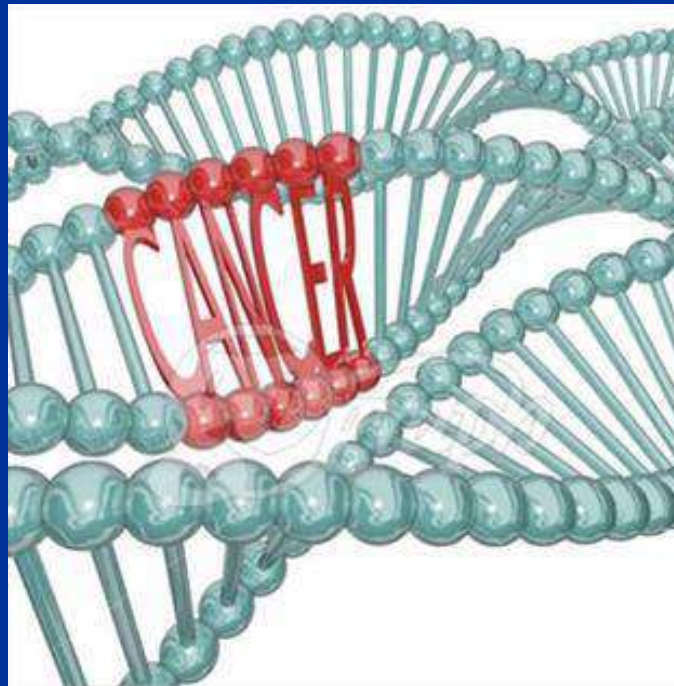
Dal DNA alle proteine





Alterazioni al DNA e Tumori

- Il tumore è caratterizzato dalla presenza di alterazioni **genetiche** ed **epigenetiche** che, sommandosi l'una all'altra, compromettono l'omeostasi della cellula e quindi di tutto il tessuto.



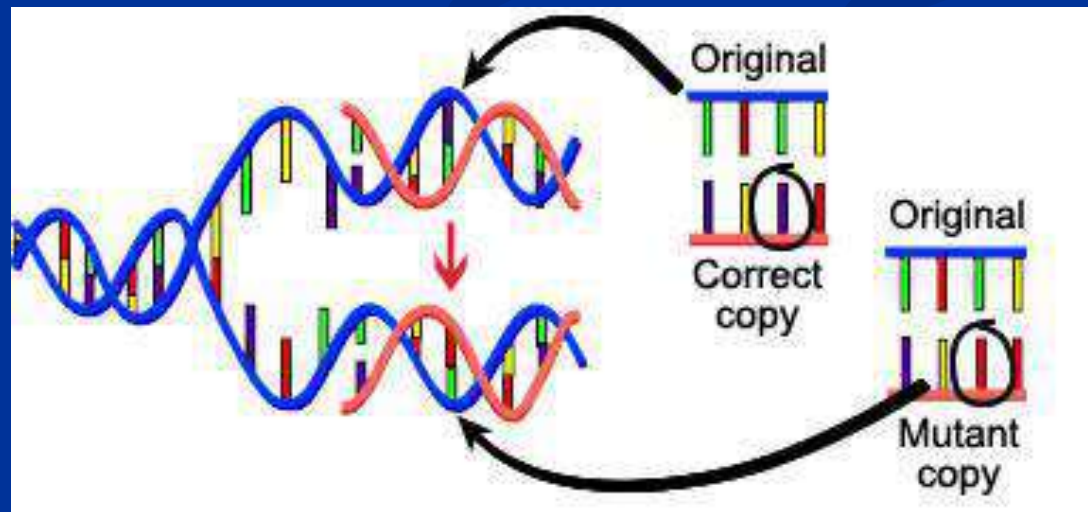
Tipi di alterazioni genetiche ed dei tumori

- Comportano un cambiamento nella sequenza del DNA
- **Geniche** che coinvolgono uno o più nucleotidi:
 - Mutazioni puntiformi
 - Inserzioni
 - Delezioni
- **Cromosomiche:**
 - Strutturali
 - Traslocazioni (es T (9;22) generazione di una protein chinasi BCR-ABL)
 - Inversioni
 - Delezioni (Rb, TP53)
 - Duplicazioni
 - Numeriche
 - Aneuploidia



Mutazioni Geniche

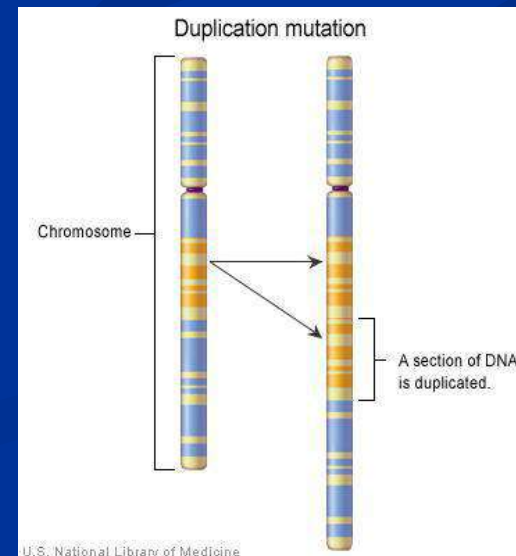
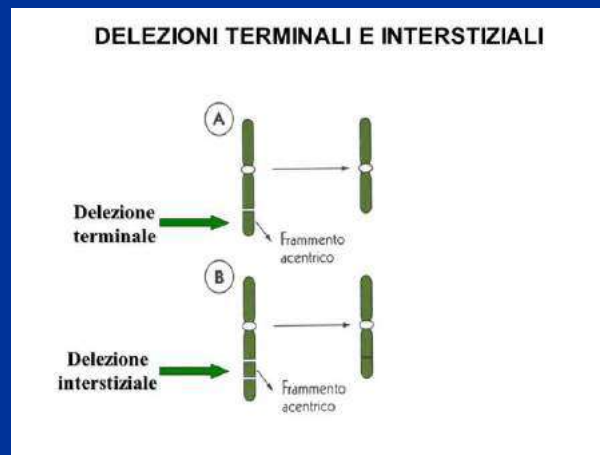
- si verificano quando una base azotata viene sostituita con un'altra, oppure quando si ha la perdita o aggiunta di una base alla sequenza originaria.
 - Mutazioni puntiformi
 - Delezioni
 - Inserzioni
 - Duplicazioni





Mutazioni Cromosomiche

- Le Delezioni: provocano la perdita di un breve tratto di cromosoma.
- Le Duplicazioni: Consistono in un raddoppiamento di un pezzo di cromosoma.
- Le Inversioni Avvengono per rottura di un tratto di cromosoma, che si riposiziona ruotato di 180°.
- Le Traslocazioni: sono responsabili dello scambio di pezzi tra cromosomi.





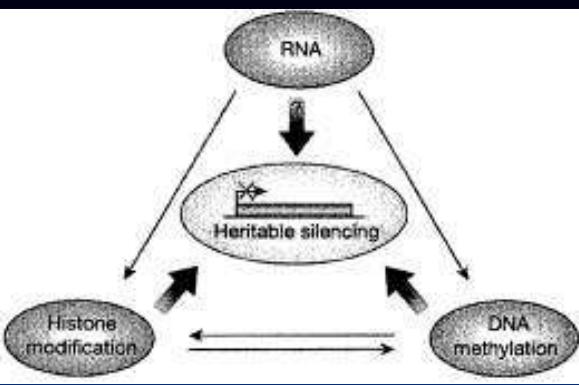
Mutazioni Genetiche e Tumori

- Non basta una singola mutazione ma occorre infatti, che gli **errori** si accumulino **su diversi fronti (Hallmarks)** perché il tumore possa cominciare a svilupparsi. Alcuni di queste mutazioni sono ereditarie, mentre altre sono provocate da fattori esterni.



Alterazioni epigenetiche dei tumori

- Meccanismi che comportano un'alterazione ereditabile del profilo dell'espressione genica, che non si accompagnano a modifiche nella sequenza primaria del DNA.



SISTEMI EPIGENETICI :

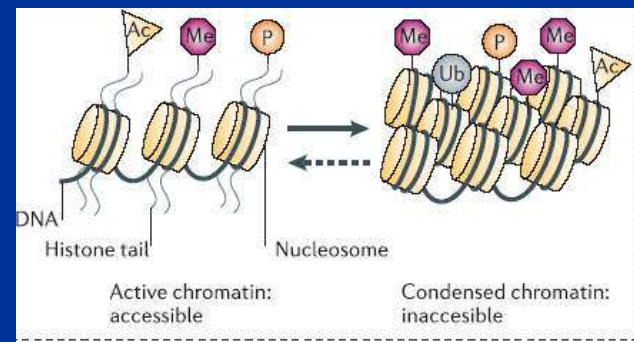
CpG ISLAND METHYLATION: attacco di un gruppo metilico sulla citosina di dinucleotidi CpG e conseguente silenziamento genico; in associazione con deacetilazione istonica;

3 DNMTs studiate: DNMT1 mantiene un pre-esistente pattern di metilazione; DNMT3a e DNMT3b determinano la metilazione “ex novo” del DNA durante lo sviluppo embrionale.

RNA-ASSOCIATED SILENCING (microRNA nei mammiferi = noncoding RNA): microRNA si legano all'mRNA.

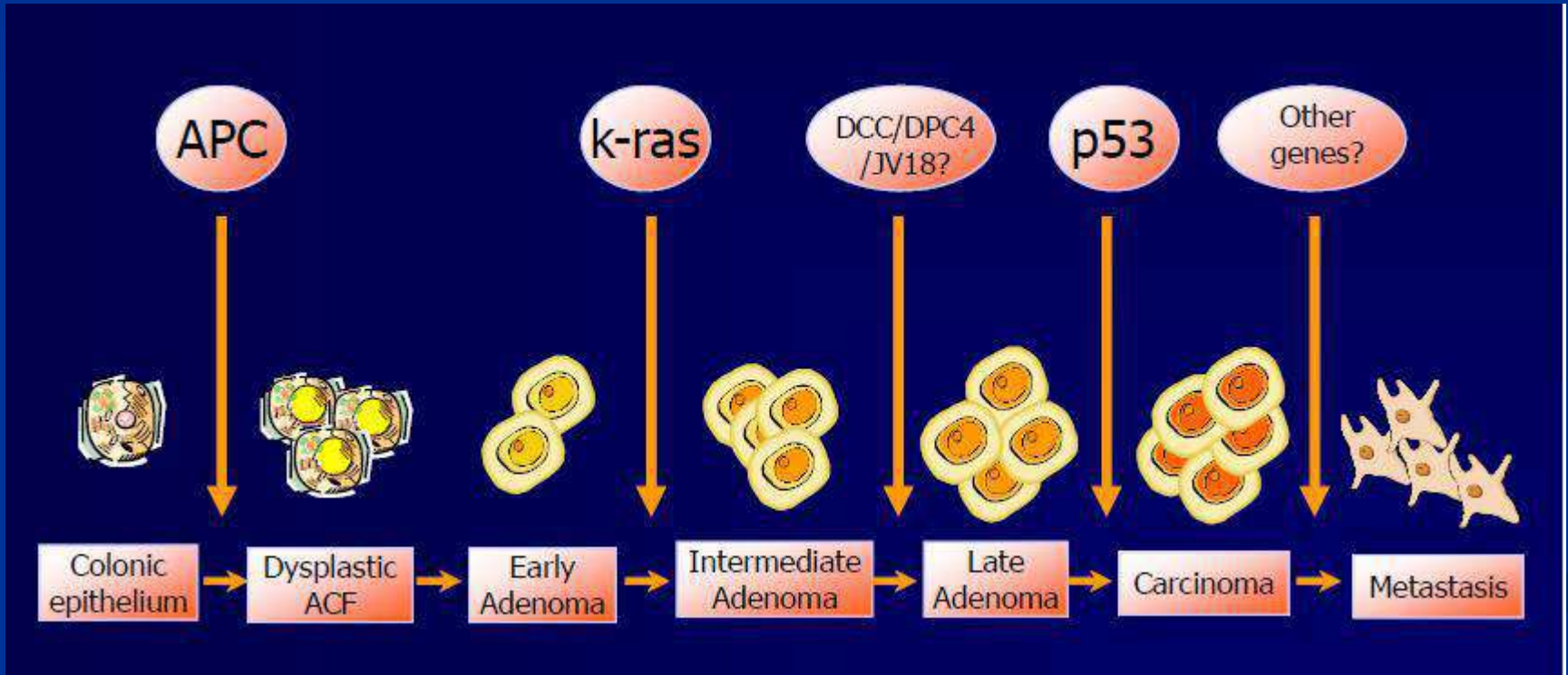
2 meccanismi possibili: mRNA degradato o ostacolo all'attacco del macchinario di trascrizione.

CHROMATIN REMODELLING/HISTONE MODIFICATIONS (PcG complexes): modificazioni post-trascrizionali degli istoni, che comportano una modifica nella struttura della cromatina e, conseguentemente, nell'espressione genica (CODICE ISTONICO).





Tumori: Ruolo delle alterazioni genetiche ed epigenetiche





Danno al DNA



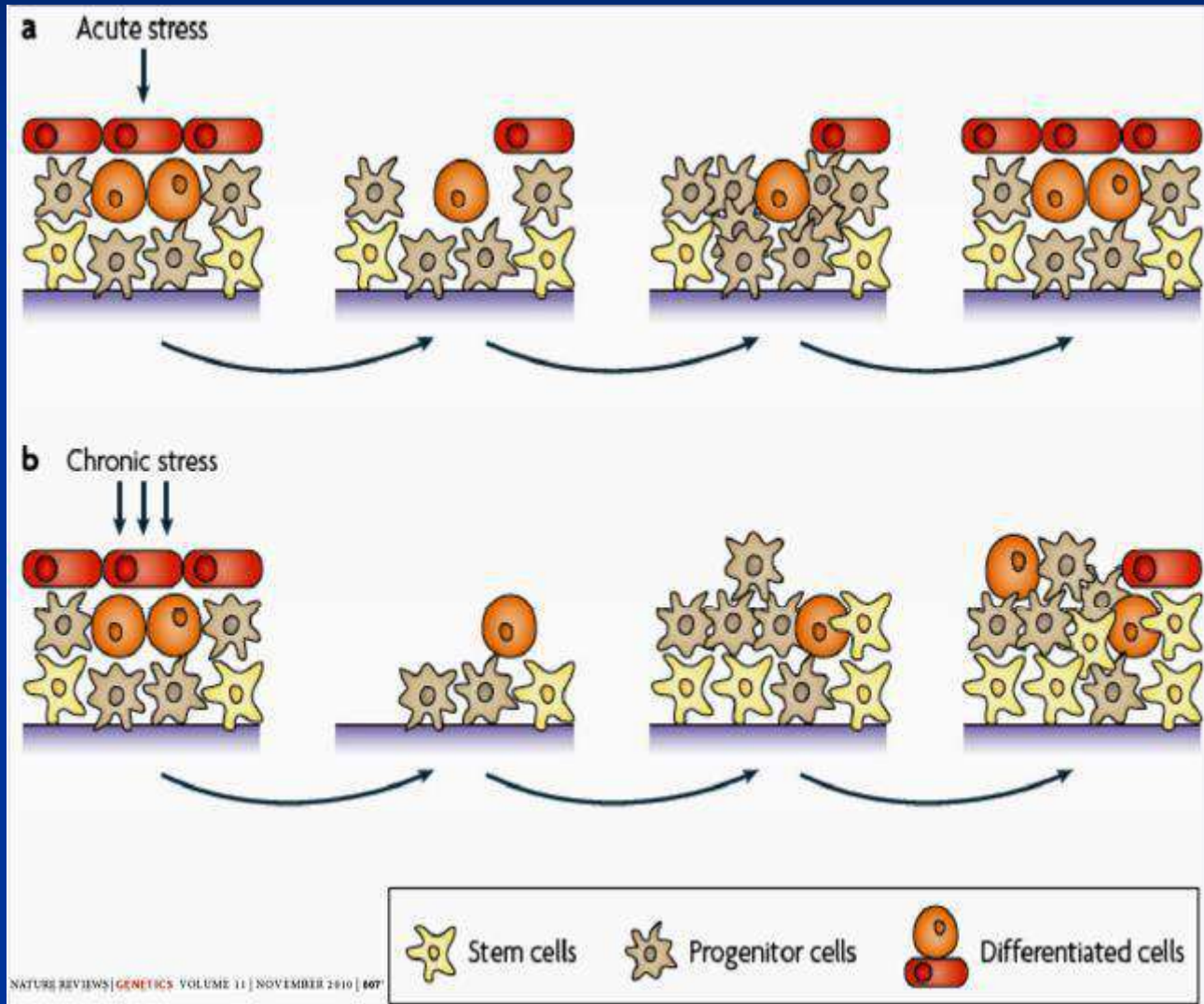


Perché insorgono le mutazioni

- Età
- Predisposizione Genetica
- Agenti chimici (amianto, asbesto, fumo di sigaretta)
- Agenti fisici (radiazioni)
- Agenti infettivi (virus HPV, H. Piloni)
- Stile di vita (alimentazione, sedentarietà, fumo, abuso di alcool)



Le mutazioni compromettono l'omeostasi del tessuto





**E' possibile una
diagnosi precoce di
tumore?**





Cos'è un Biomarker

- Sostanza prodotta e rilasciata dalle cellule tumorali che può essere misurata nei tessuti e/o nei liquidi corporei permettendo di individuare la presenza di una neoplasia e possibilmente l'organo in cui si è sviluppata.



A cose serve un biomarker

- I biomarkers tumorali sono in grado di **segnalare la presenza di un tumore** (tumore primitivo, recidiva o metastasi) più precocemente dei sistemi tradizionali (ad es. esami radiologici)



Requisiti per un biomarker ideale

- Deve essere presente nei soggetti affetti da tumore e assente nei soggetti normali.
- Deve essere prodotto preferibilmente solo dalle cellule tumorali e non da quelle normali.
- Deve essere facilmente identificabile (es: sangue)



Dove cercare un Biomarker



- Tumore primitivo
- Sangue
- Saliva
- Urine
- Feci etc



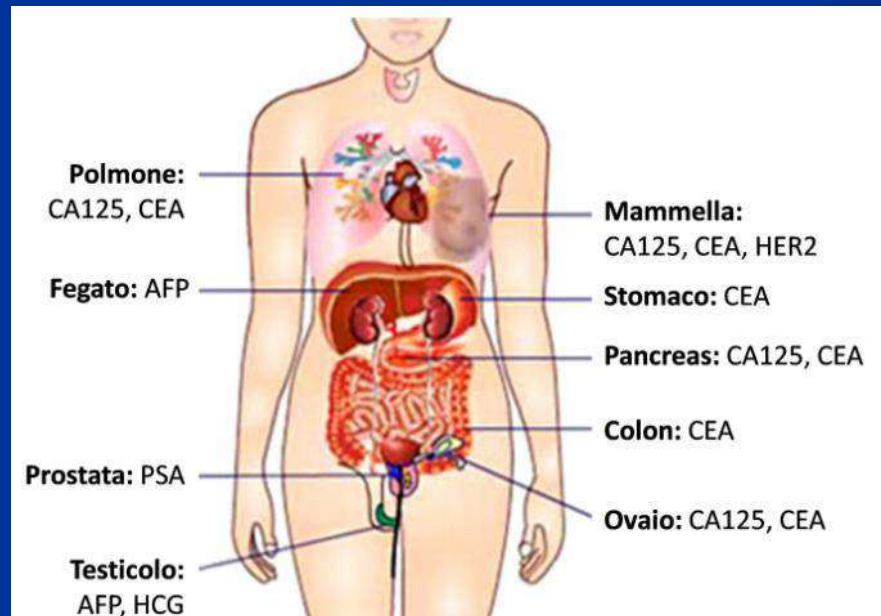
Quali molecole/cellule possiamo usare come biomarkers?

- Glicoproteine: CA125, CEA, AFP
- Acidi nucleici come DNA ed RNA.
- Cellule Tumoriali Circolanti



Biomarkers glicoproteici ematici usati più comunemente nei tumori

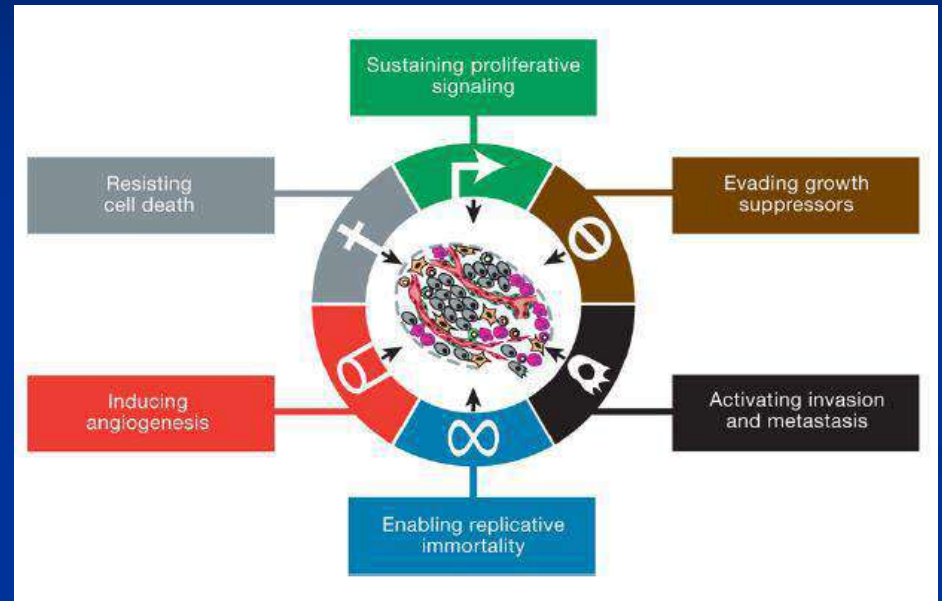
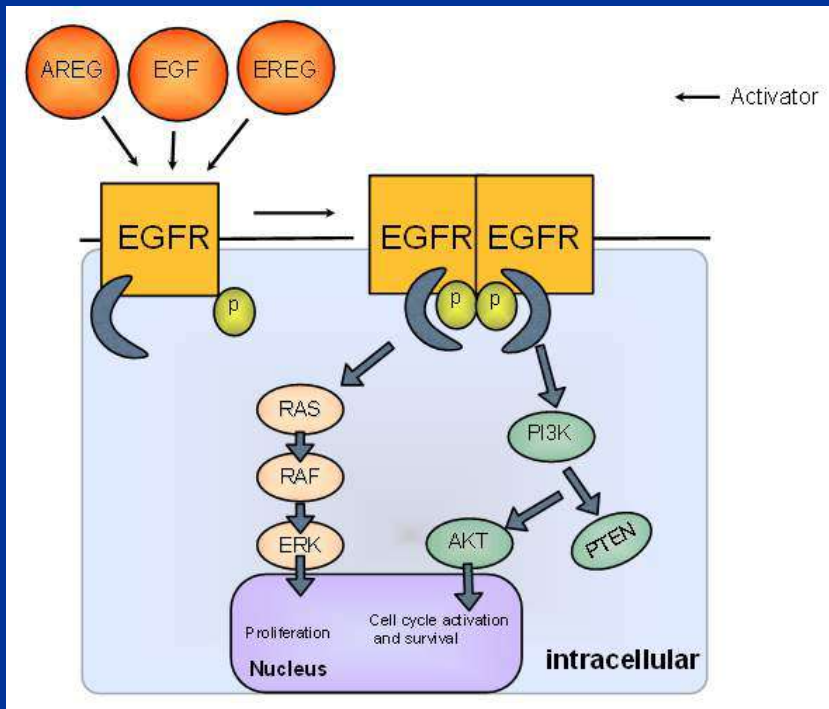
- Tumori del Colon: CEA, C19.9
- Tumori della Mammella: CEA, CA 15.3
- Tumori della Prostata: PSA
- Tumori dell'ovaio: CA 125
- Tumori del Pancreas: CA 19.9





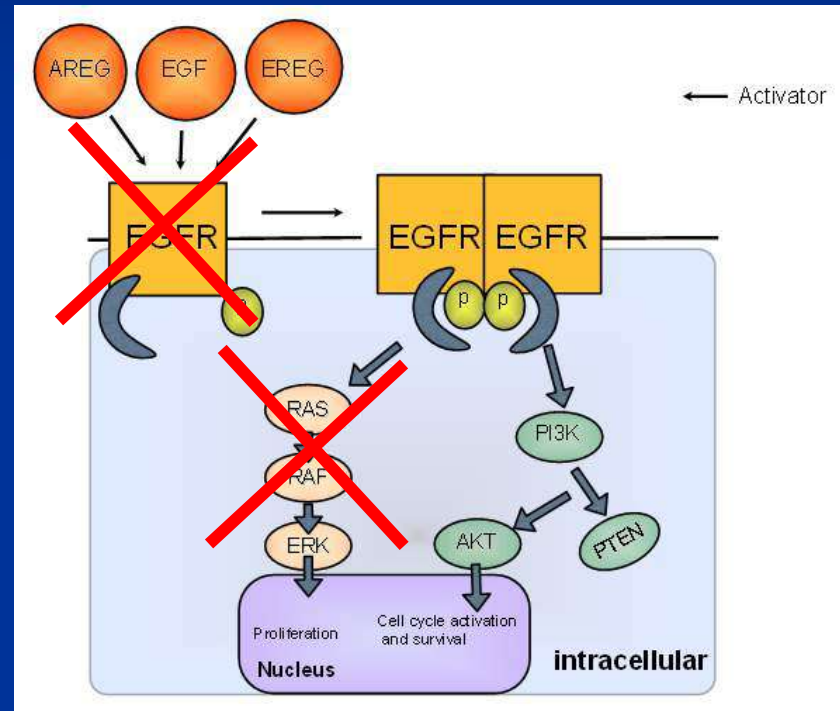
Marcatori genetici del Cancro del Colon

- EGFR
- K-RAS
- BRAF (V600E)





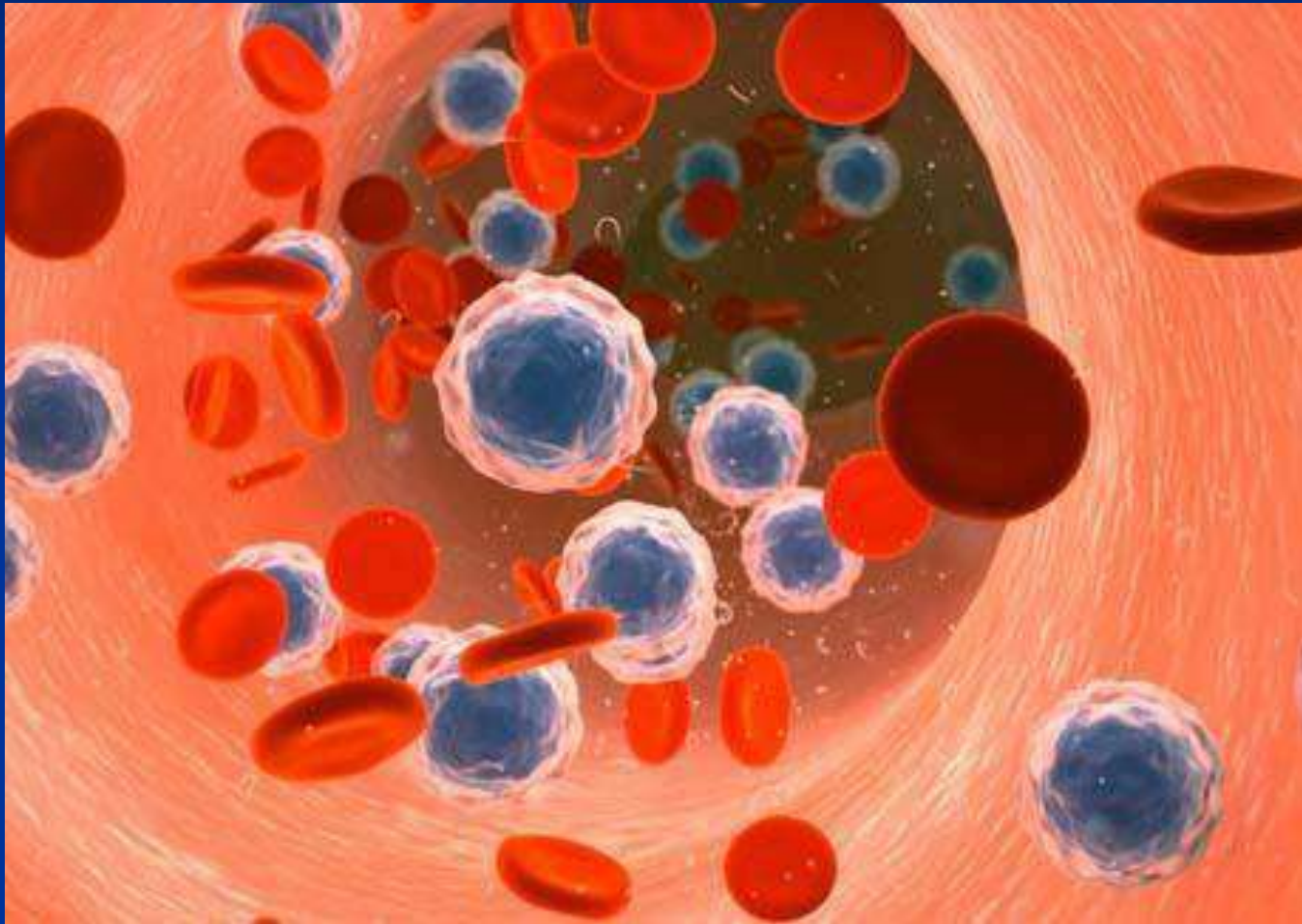
Marcatori genetici del Cancro del Colon



Mutazione K-RAS > scarsa risposta ai farmaci anti EGFR

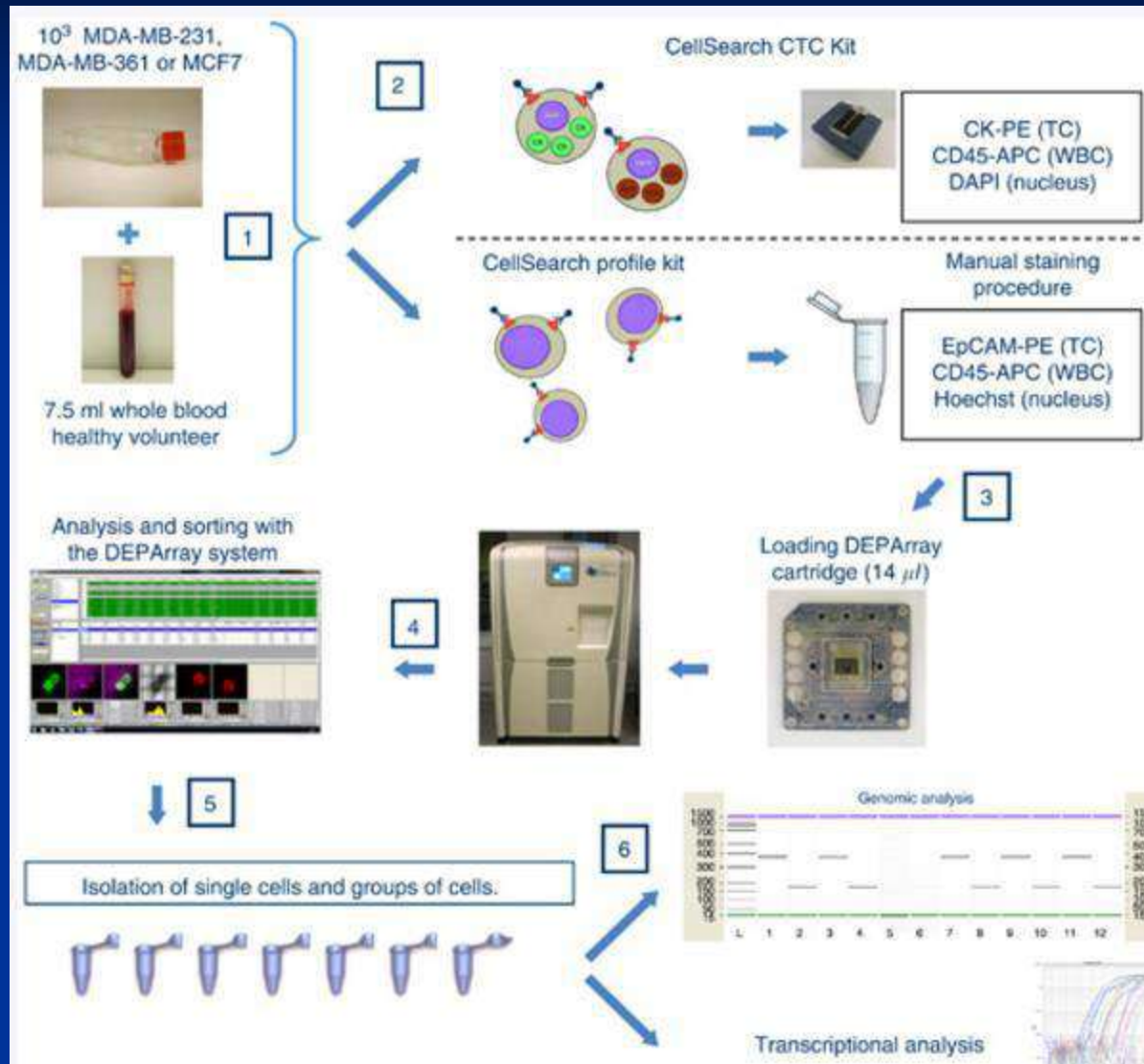


Cellule Tumoriali Circolanti





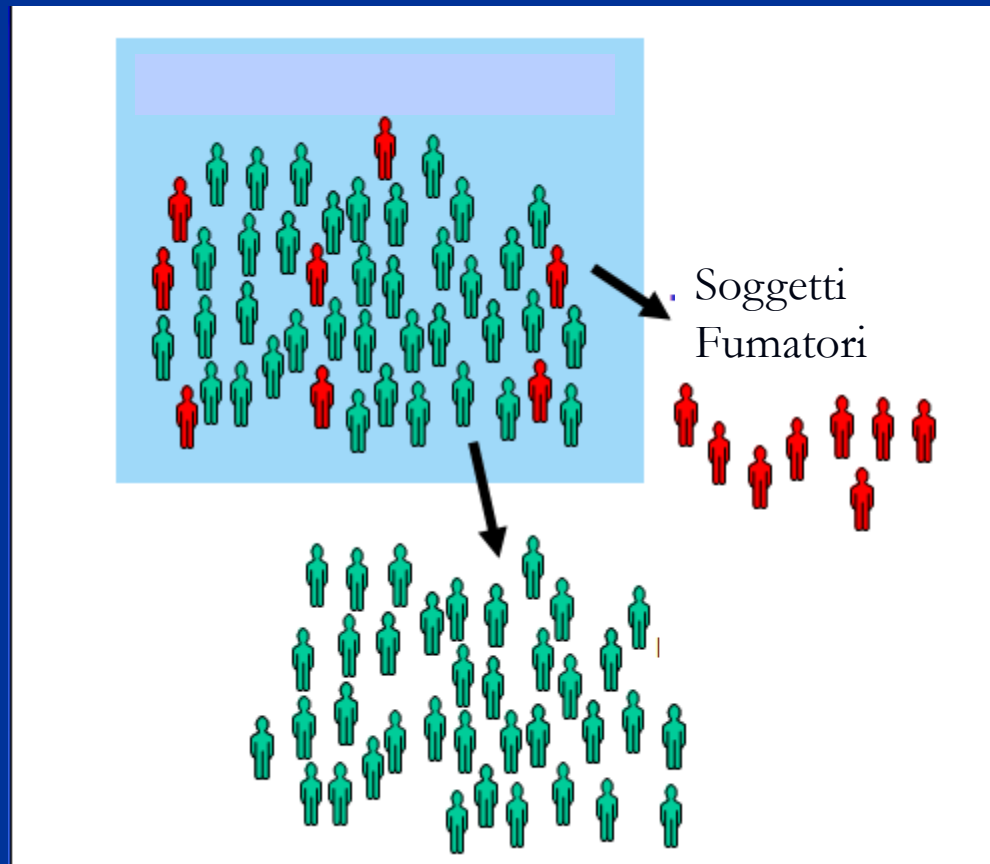
Cellule Tumoriali Circolanti





In quali circostanze è utile usare un Biomarker Tumoriale

- Screening: Studio dei soggetti a rischio (es: soggetti fumatori a rischio per tumori del polmone)





In quali circostanze è utile usare un Biomarker Tumorale

- Diagnosi: verificare la presenza, l'organo di origine, l'estensione di un tumore (CEA nel tumore del Colon)
- Prognosi: valutare la aggressività biologica del tumore.
- Follow up: Controllo dopo la rimozione chirurgica del tumore.





In quali circostanze è utile usare un Biomarker Tumoriale

- Risposta alla terapia: Valutare la probabilità di risposta del tumore a determinati tipi di trattamento





Marcatori predittivi di risposta alla terapia

Table 5
Molecular nature of biological alterations for selected cancer predictive biomarkers.

Level	Molecular alteration	Example	Diagnostic test	Tumor type	Treatment	Validated	Approved for clinical use
Genetic	Gene mutations and deletions	<u>EGFR mutations</u> [52,53]	PCR, sequencing	<u>NSCLC</u>	<u>EGFR TKI</u>	Yes	Yes
		<u>c-KIT mutations</u> [37]	PCR, sequencing	GIST	Imatinib, sunitinib	Yes	Yes
		<u>KRAS/ NRAS mutations</u> [78,85]	PCR, sequencing	<u>Colorectal cancer</u>	Cetuximab, panitumumab	Yes	Yes
	Gene amplification	<u>HER2 overexpression</u> [26]	IHC, FISH	<u>Breast cancer</u> Gastric cancer	<u>HER2 targeted therapy</u>	Yes	Yes
	Translocations Polymorphisms Messenger RNA	<u>ALK translocation</u> [61] <u>VEGFR3 SNPs</u> [213] <u>ARV7</u> [140]	FISH PCR PCR	NSCLC RCC Prostate Cancer	ALK inhibitors Sunitinib Abiraterone, enzalutamide	Yes No No	Yes No No
Epigenetic	miRNA	miR-942 [214]	Micro RNA array	RCC	Sunitinib	No	No
	DNA methylation	<u>MGMT methylation</u> [215]	PCR	<u>Glioblastoma</u>	<u>Alkylating agents</u>	No	No
Protein	Protein overexpression	<u>HER2</u> [26]	IHC	Breast cancer Gastric cancer	<u>HER2 targeted therapy</u>	Yes	Yes
		<u>Hormone receptors</u> [20]	IHC	<u>Breast cancer</u>	<u>Hormonal therapy</u>	Yes	Yes
Phenotype	Cellular subpopulations	CD8+ tumor infiltrating lymphocytes [157]	IHC	Melanoma	PD-1/ PD-L1 axis blocking therapy	No	No



Marcatori predittivi di risposta alla terapia

Table 1

Methodological characteristics of studies that identified predictive biomarkers that are routinely used in clinical practice for solid tumors.

Biomarker	Single agent	Disease setting	Study endpoint	Molecular nature of the biomarker	Biomarker expression in peripheral blood	Interval between target description and discovery of biomarker (years) ^a
Hormone receptors	Yes	Advanced	Response rate	Overexpression of tumor receptor	Yes [181]	75
Her-2	Yes	Advanced	Response rate	Overexpression of tumor receptor	Yes [182,183]	15
C-KIT	Yes	Advanced	Response rate	Mutation in tumor receptor kinase domain	Yes [184]	15
EGFR	Yes	Advanced	Response rate	Mutations in tumor receptor kinase domain	Yes [185]	24
ALK	Yes	Advanced	Response rate	Translocation in tumor receptor gene	Yes [186]	2
KRAS	No	Advanced	Response rate, OS	Mutation in tumor protein	Yes [187]	26
BRAF	Yes	Advanced	Response rate	Mutation in tumor receptor kinase domain	Yes [188]	22
BRCA	Yes	Advanced	Response rate	Germline mutation	Yes (germline)	25

^a From description of target relevance in cancer to identification of the biomarker.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

