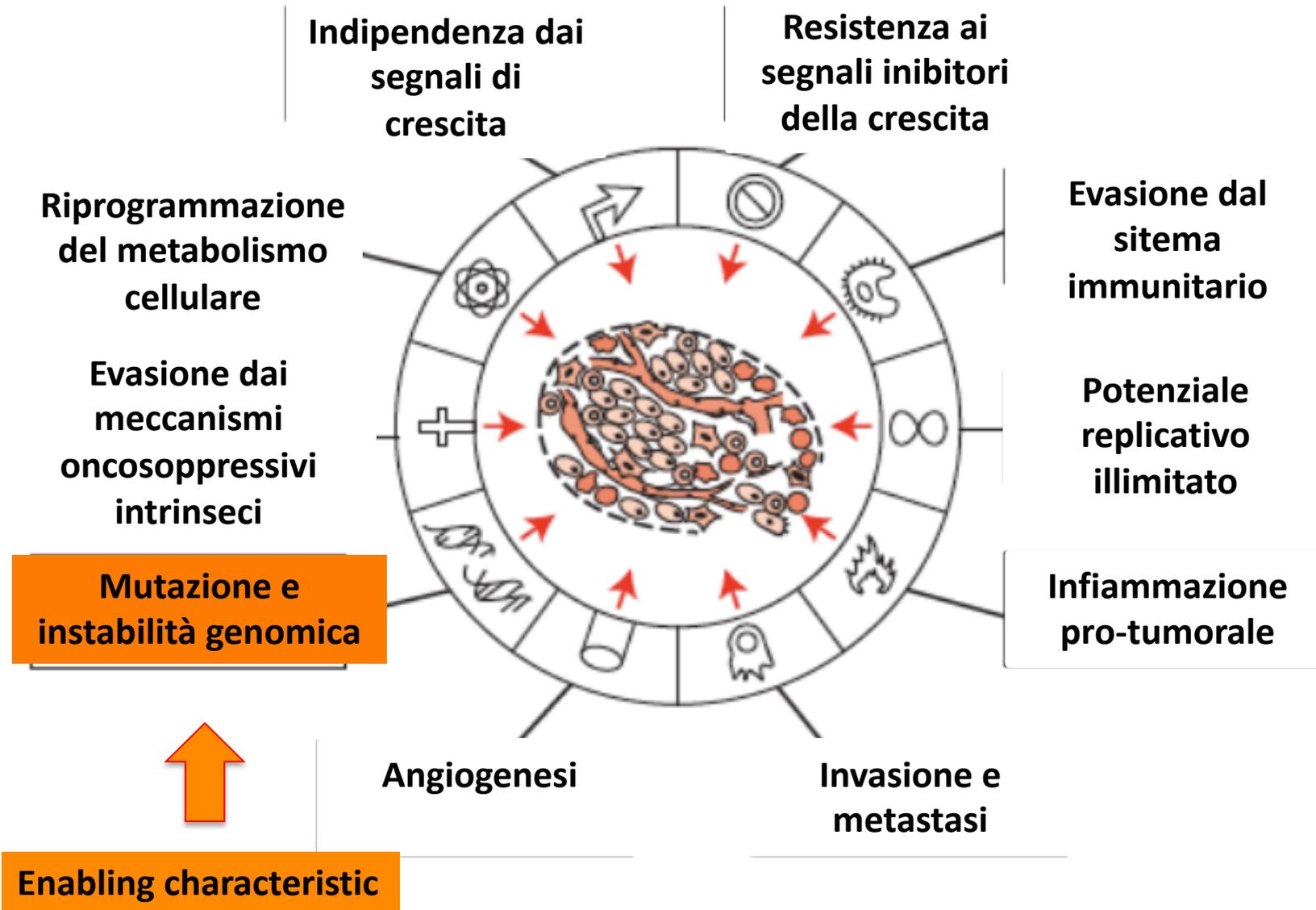
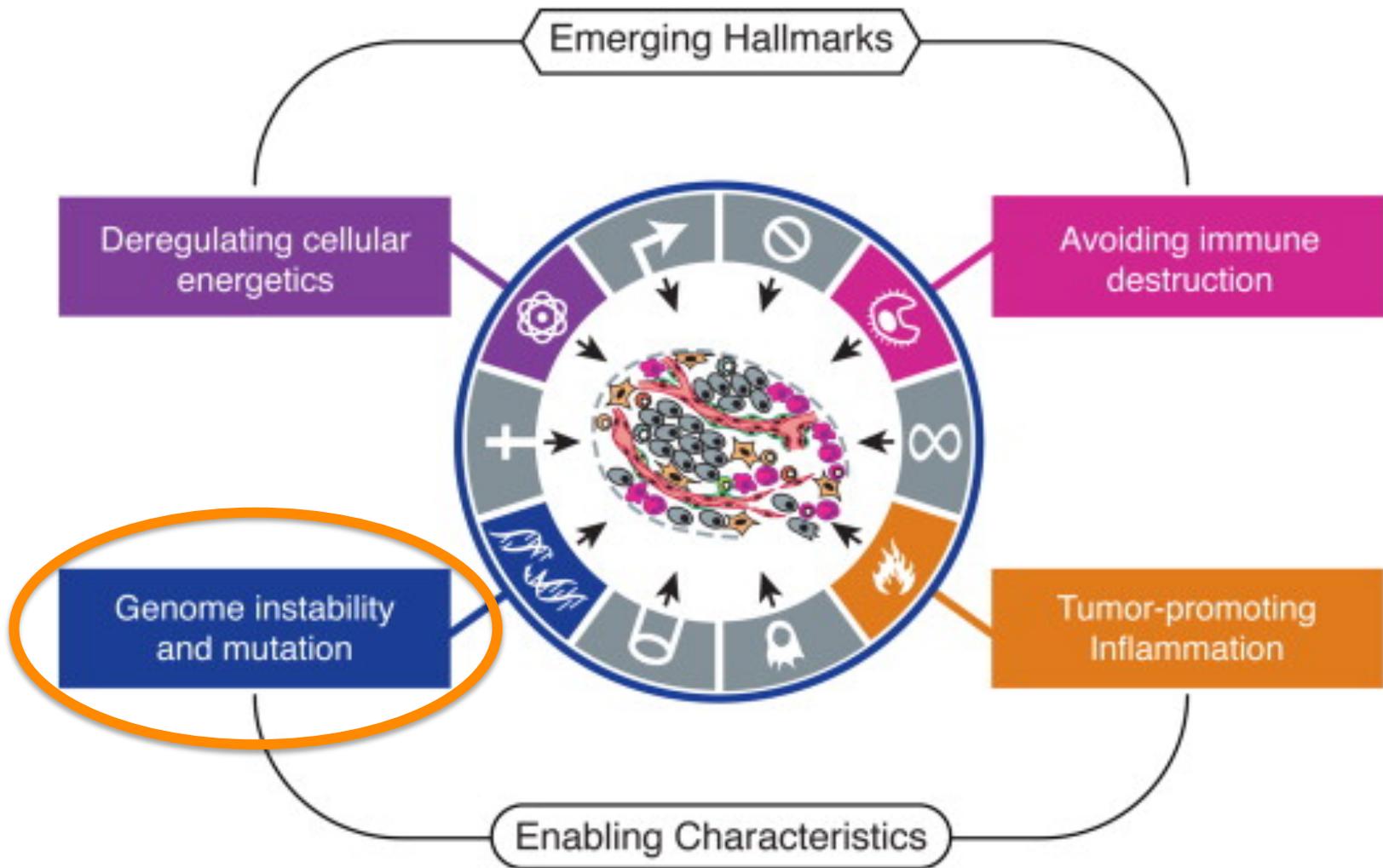


**HALLMARK del cancro #3
(enabling characteristic):**

MUTAZIONE E INSTABILITÀ GENOMICA



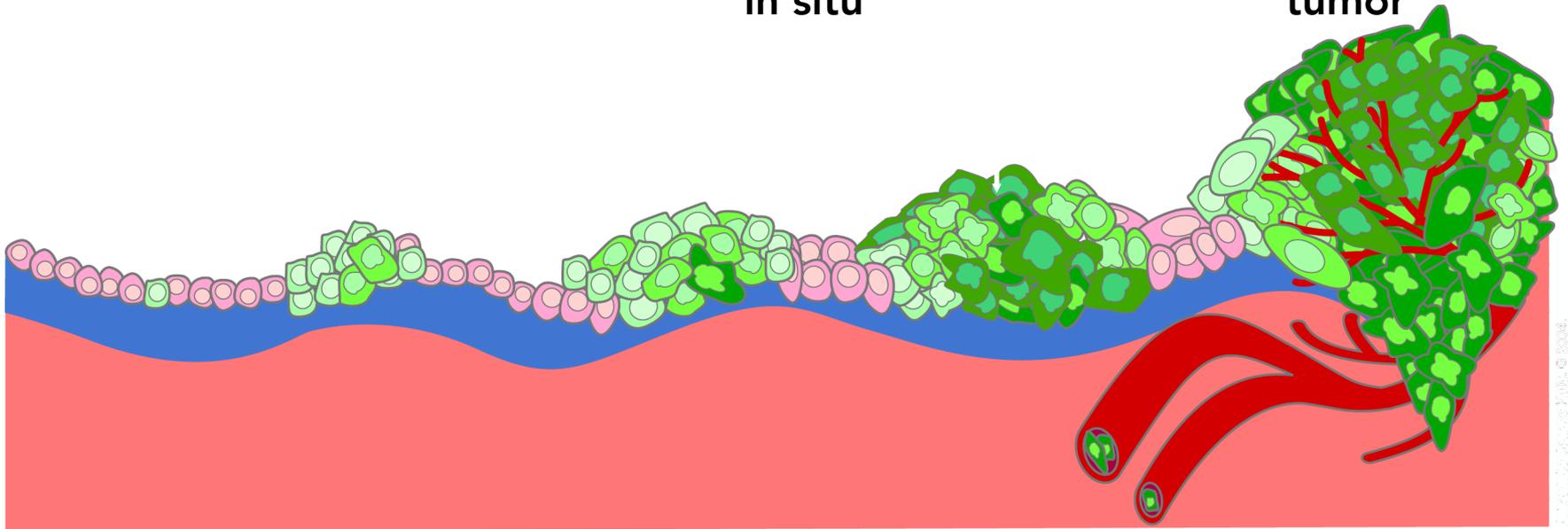


Il cancro è un processo evolutivo guidato dalla selezione clonale di cellule portatrici di alterazioni geniche che conferiscono caratteristiche fenotipiche vantaggiose

Hyperplasia

Carcinoma
in situ

Invasive/metastatic
tumor

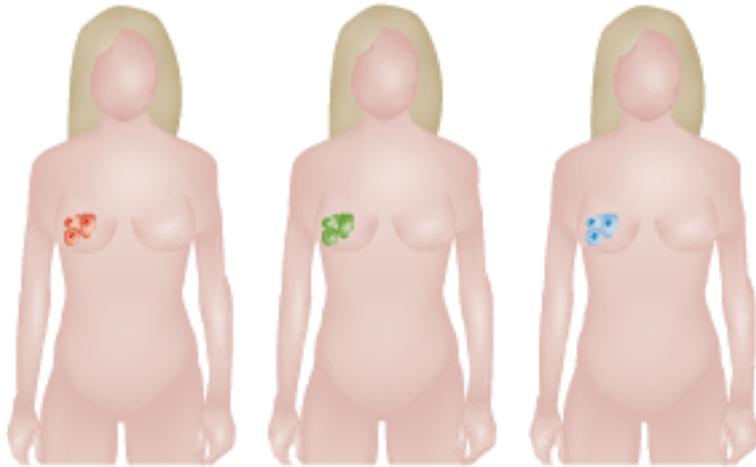


Time

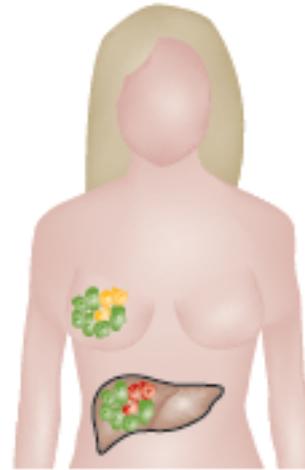
L'instabilità genomica favorisce l'acquisizione di mutazioni driver e accelera la progressione tumorale

L'instabilità genomica favorisce l'eterogeneità tumorale

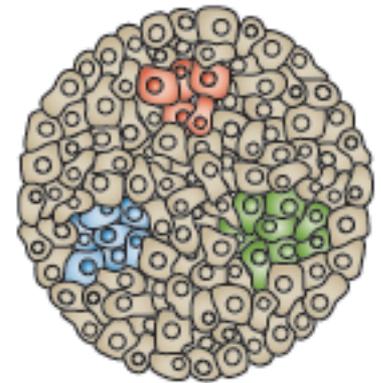
a Intertumoural heterogeneity between patients



b Intratumoural heterogeneity between primary and metastatic sites

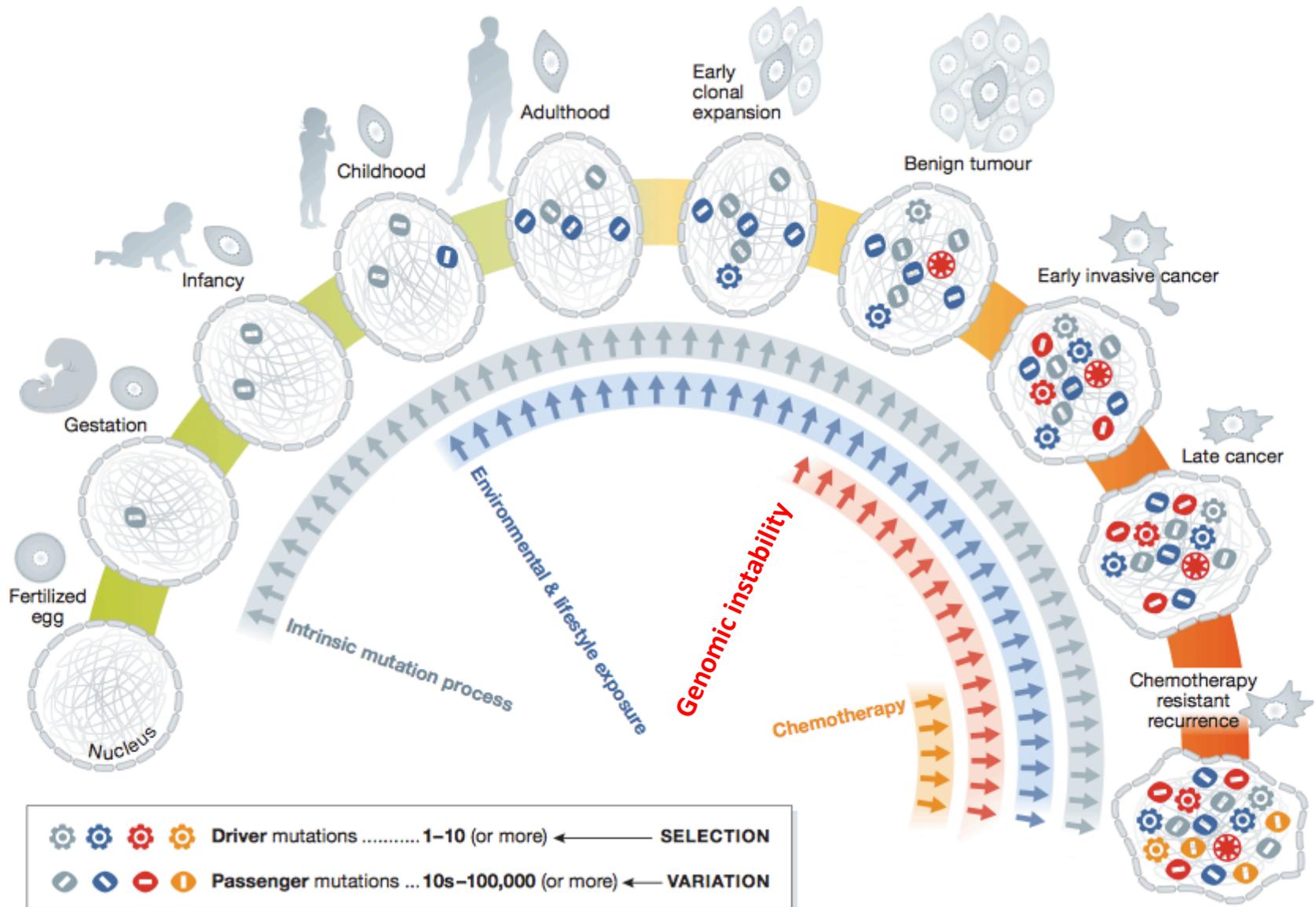


c Intratumoural spatial heterogeneity



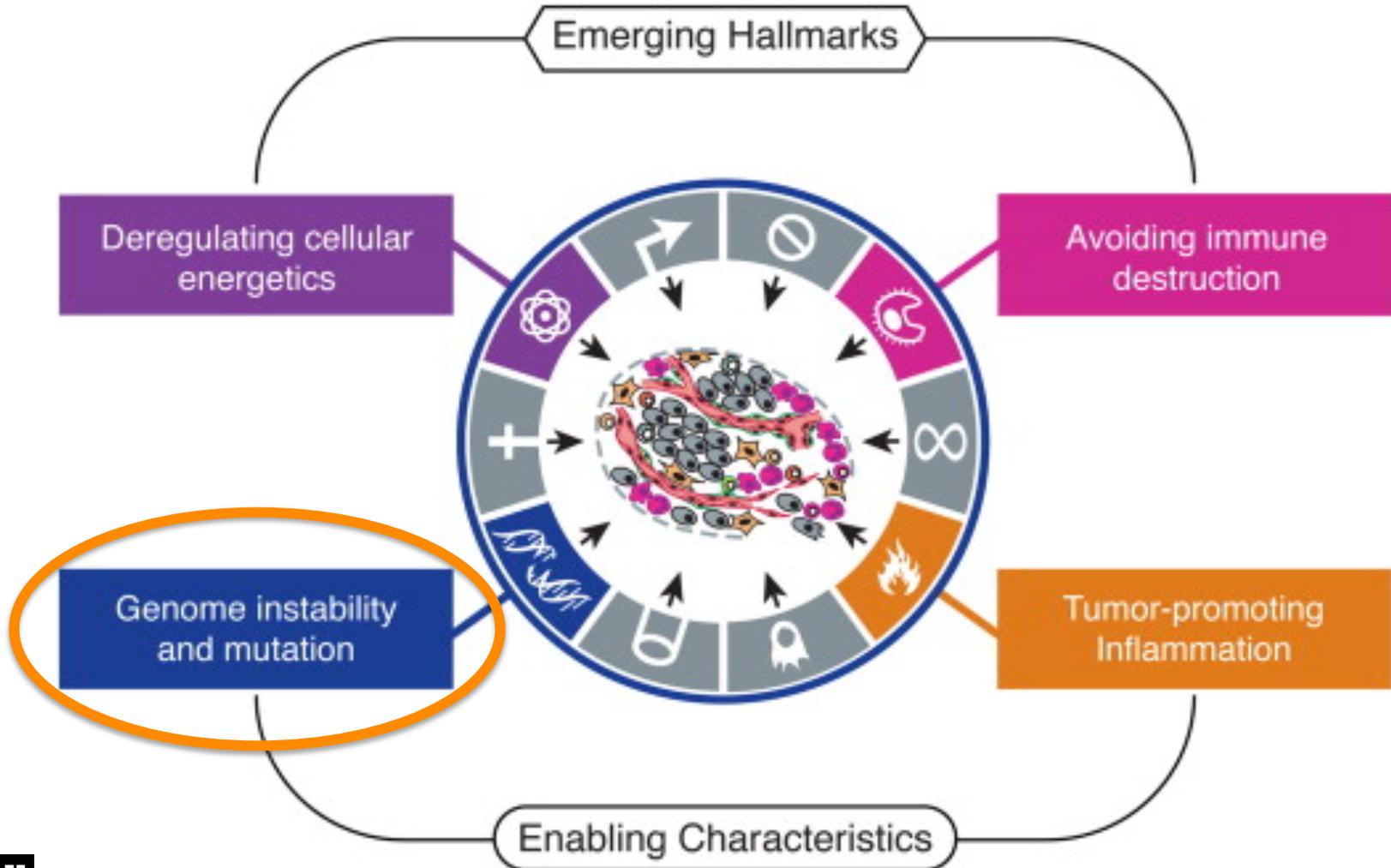
Meric-Berstam and Mills Nat Rev Clin Oncol, 2012

L'instabilità genomica aumenta il tasso di mutazione

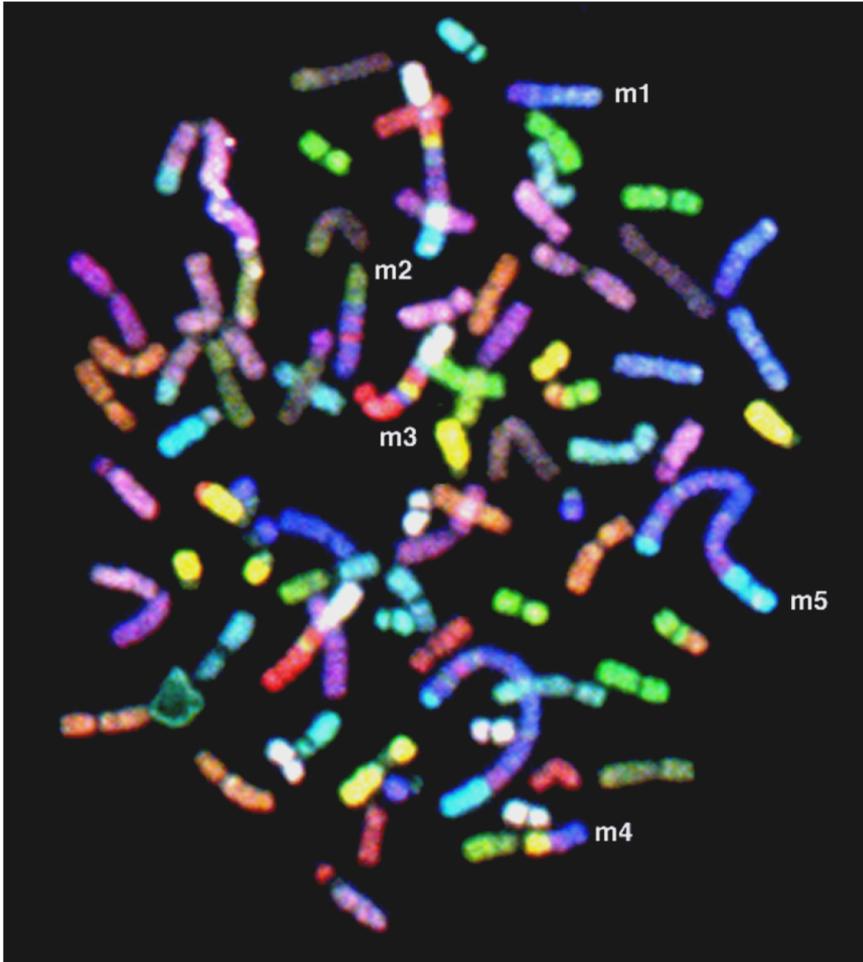


Mutazione e instabilità genomica

Le cellule normali possiedono meccanismi che ne assicurano la stabilità genomica
Le cellule tumorali presentano frequentemente alterazioni in questi meccanismi e possiedono quindi un genoma instabile



TIPI DI INSTABILITÀ GENOMICA riscontrati nei tumori



Adapted by Jenny Mello © 2004.

SKY / chromosome painting of BC cells

Aneuploidie

Alterazioni nel numero di cromosomi
Causate da difetti nella segregazione

Poliploidie

CIN = chromosomal instability

Alterazioni strutturali

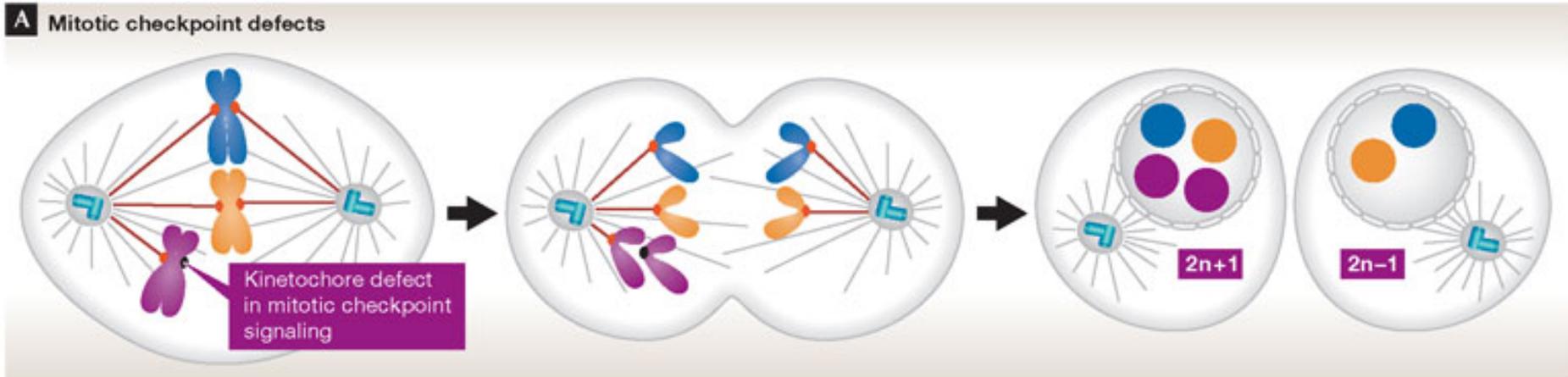
Causate da DSBs e NHEJ e errori della ricombinazione

MIN = microsatellite instability

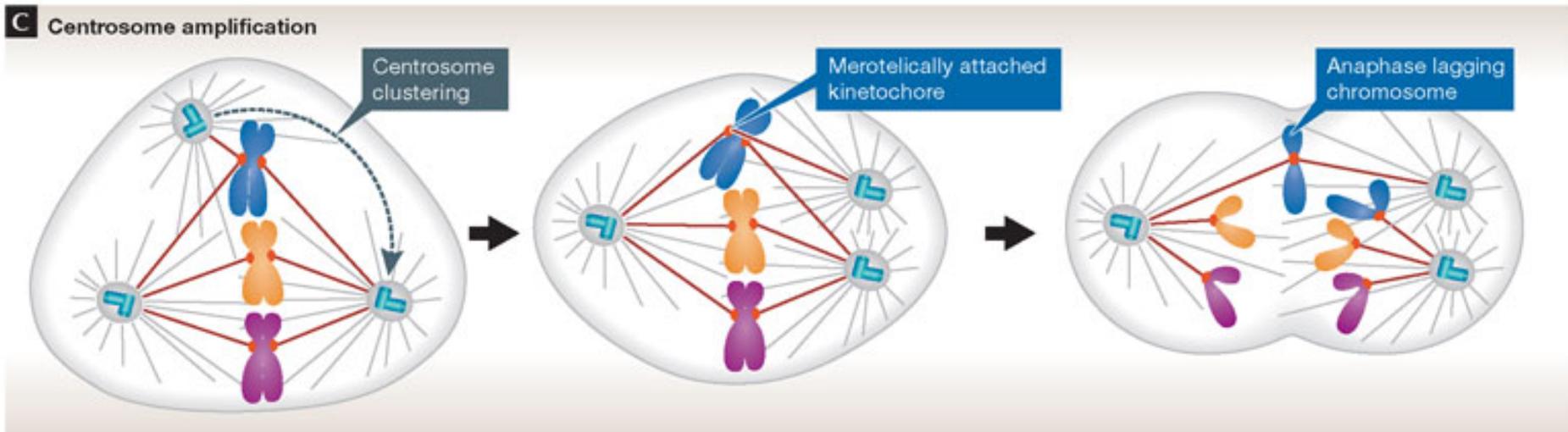
Causata da difetti nel mismatch repair

Possibili cause di aneuploidia

Sono comuni difetti del checkpoint del fuso mitotico e amplificazione dei centrosomi

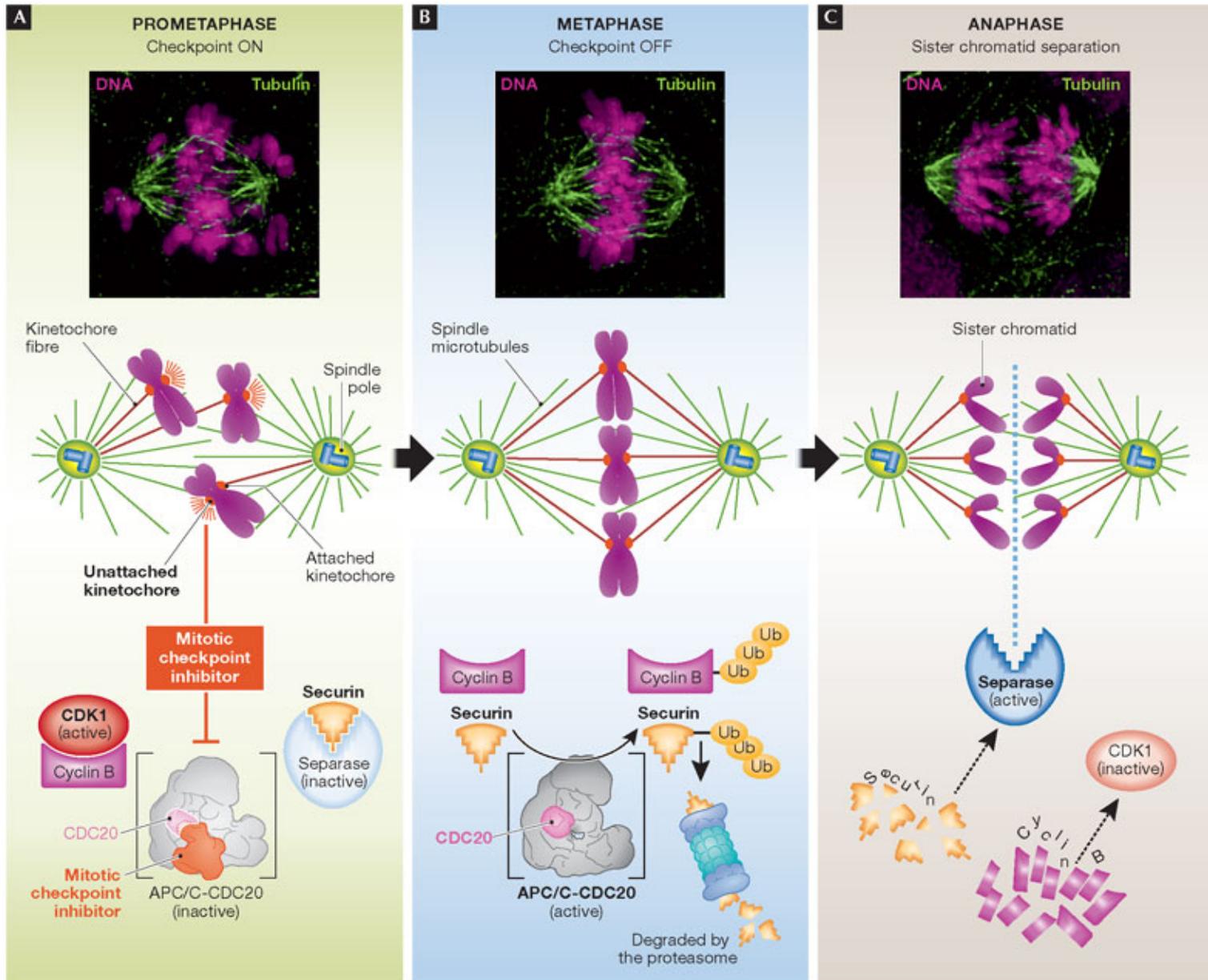


Ruolo delle Aurora chinasi (A e B)



Aurora A attiva POLO-like Kinase: duplicazione dei centrosomi (si trova spesso amplificata nei tumori)

Il checkpoint del fuso mitotico



CIN: causata da difetti nella riparazione di DNA DSBs mediante NHEJ (error prone)

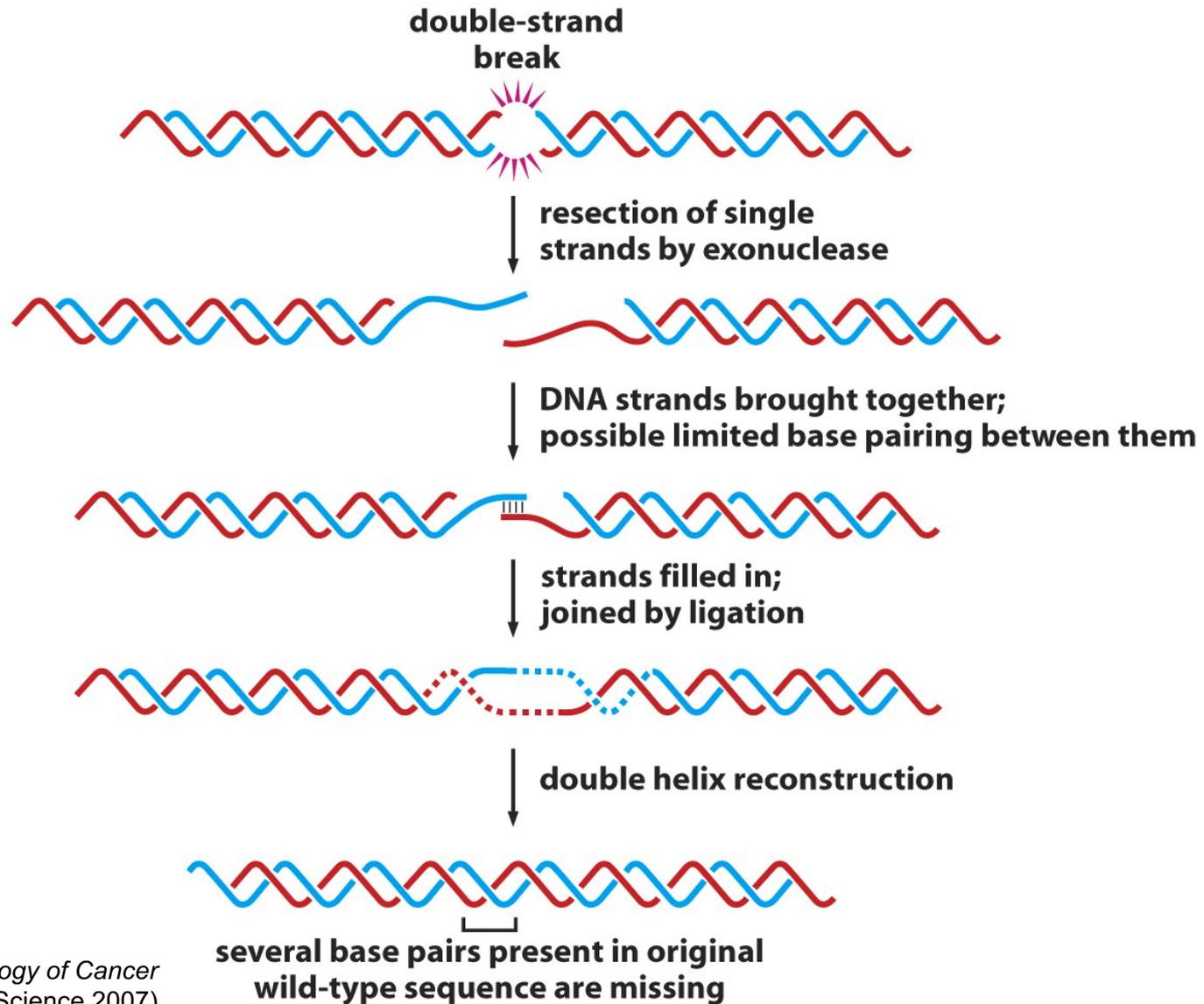
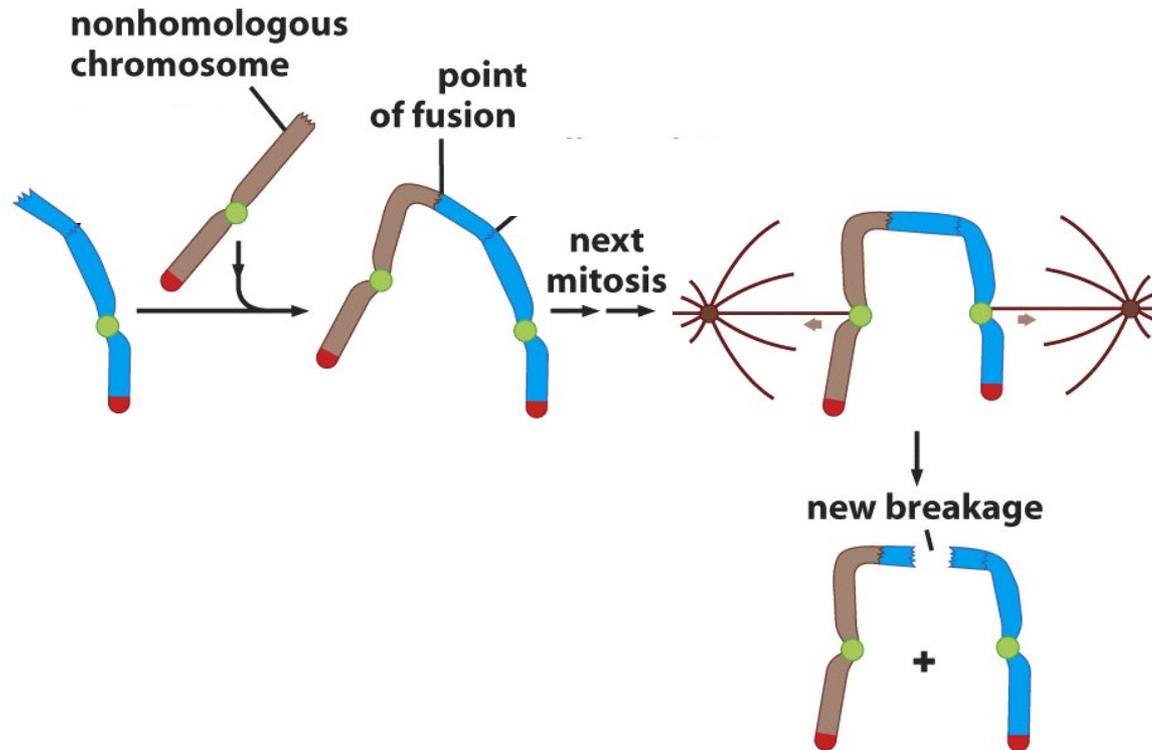


Figure 12.33 *The Biology of Cancer*
(© Garland Science 2007)

CIN: causata da difetti nella riparazione di DNA DSBs mediante NHEJ



La riparazione dei DSBs mediante ricombinazione omologa (HR) è fedele (error free) ma non può avvenire in tutte le fasi del ciclo cellulare

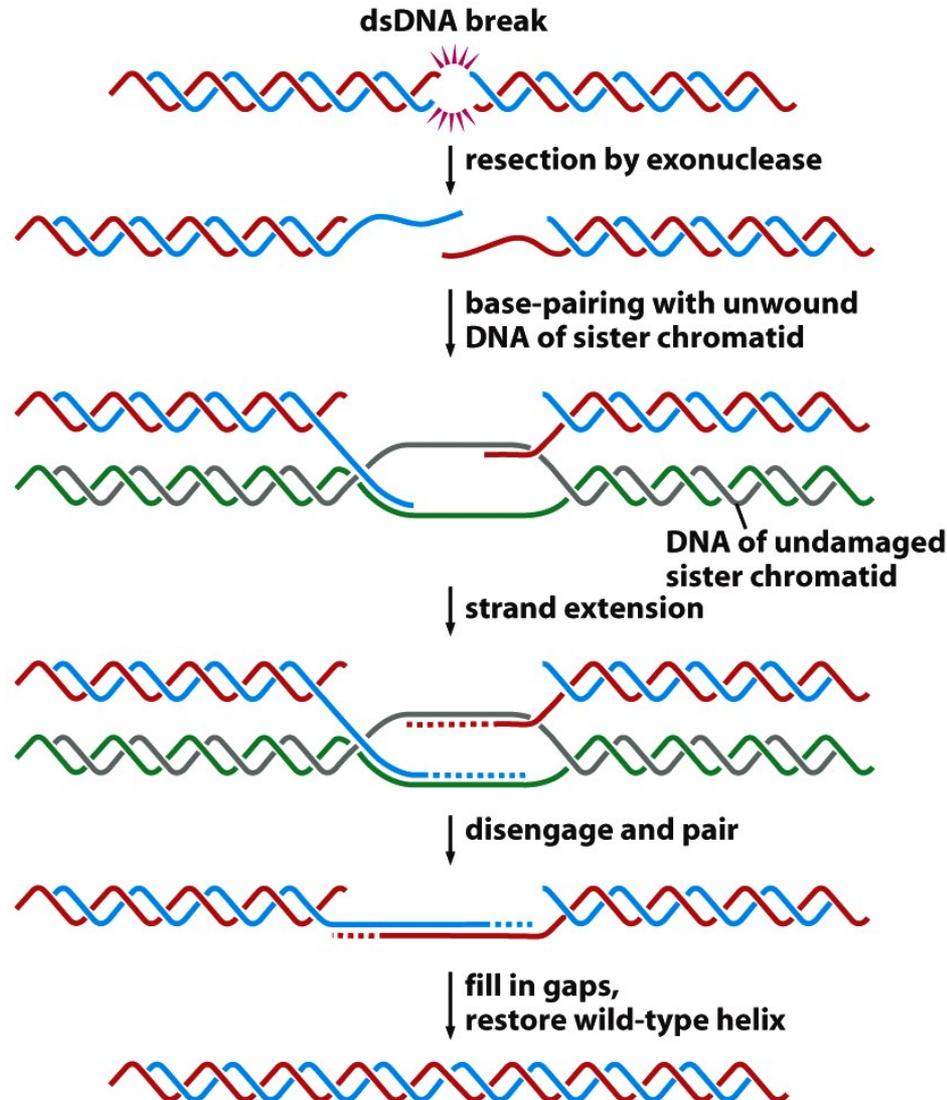
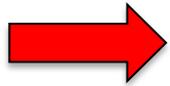


Figure 12.32 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Generazione di DNA DSBs durante la tumorigenesi



- **accorciamento dei telomeri**
- **danni al DNA da agenti estrinseci e intrinseci**
- **iperproliferazione**

L'accorciamento dei telomeri è una fonte di DNA DSBs che causa instabilità cromosomica.

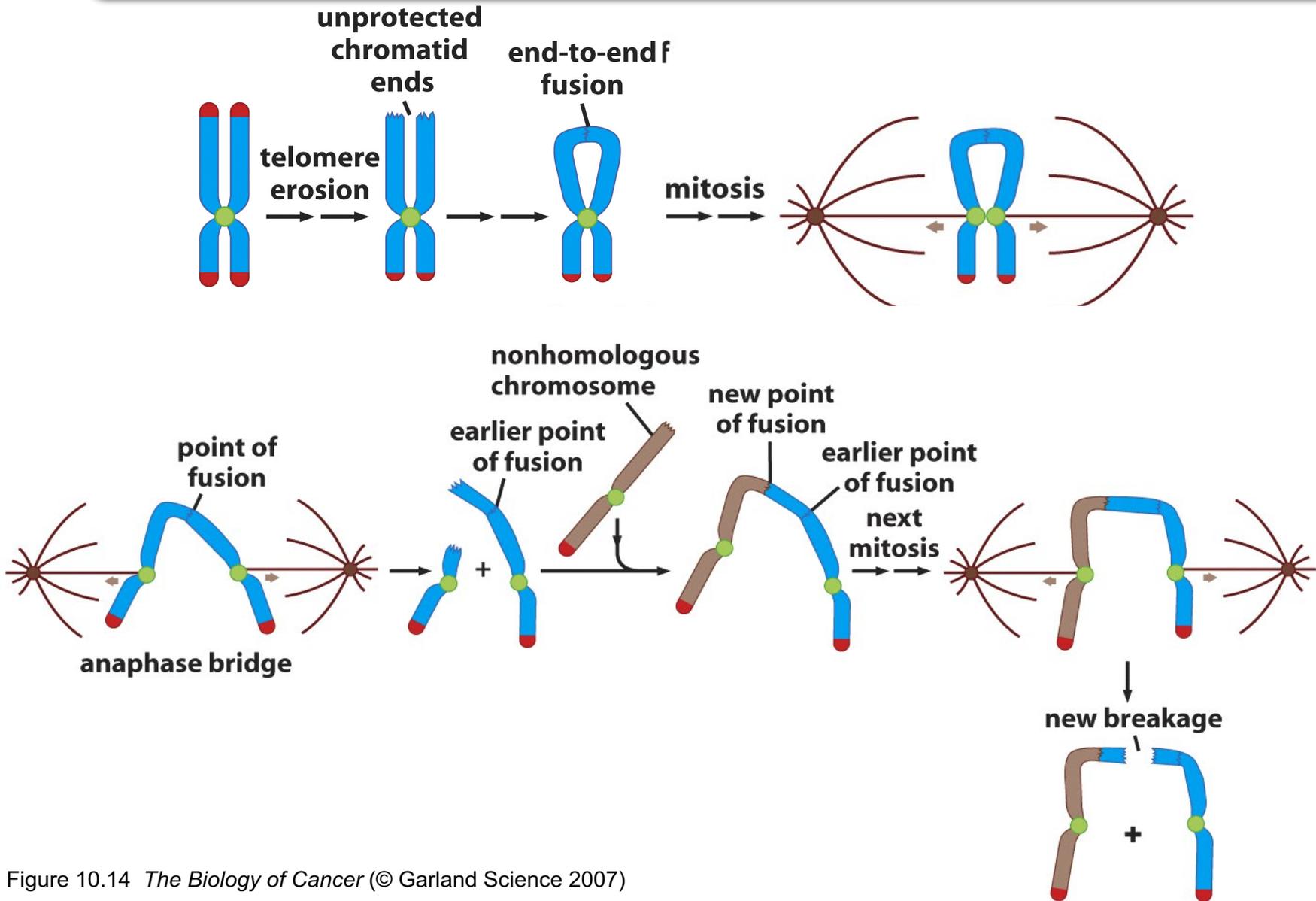
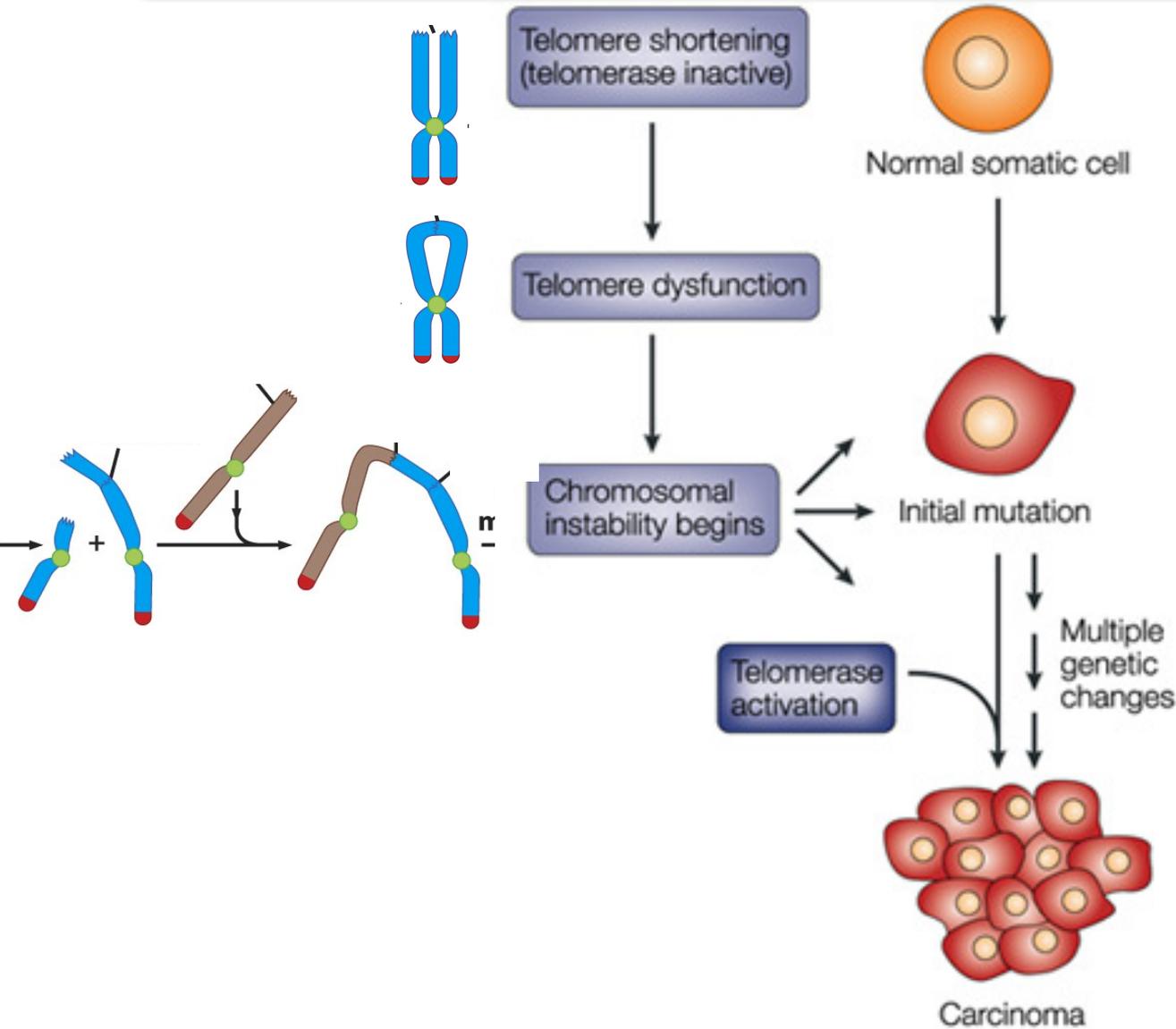


Figure 10.14 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

L'accorciamento dei telomeri è una fonte di DNA DSBs che causa instabilità cromosomica.



Generazione di DNA DSBs durante la tumorigenesi

- 
- **accorciamento dei telomeri**
 - **danni al DNA da agenti estrinseci e intrinseci**
 - **iperproliferazione**

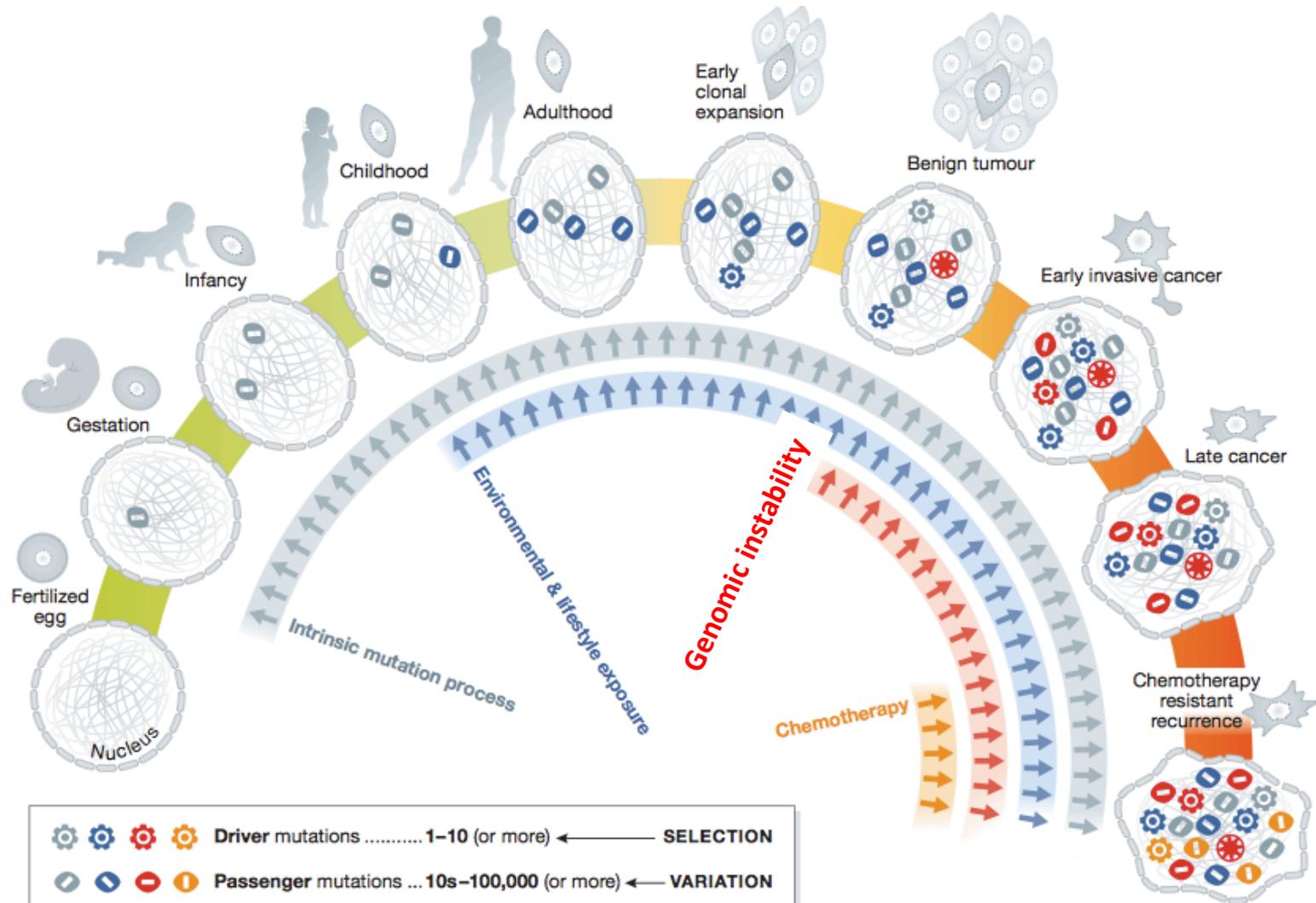
Implicazioni terapeutiche (I): la chemioterapia convenzionale e la radioterapia causano danni al DNA e mutazioni secondarie

Table 3 | Examples of DNA-damaging drugs used to treat cancer

Cancer treatment	Types of DNA lesions induced
Radiotherapy and radiomimetics Ionizing radiation Bleomycin	SSBs, DSB, base damage
Monofunctional alkylators Alkylsulphonates Nitrosourea compounds Temozolomide	Base damage, replication lesions, bulky DNA adducts
Bifunctional alkylators Nitrogen mustard Mitomycin C Cisplatin	DSBs, DNA crosslinks, replication lesions, bulky DNA adducts
Antimetabolites 5-Fluorouracil Thiopurines Folate analogues	Cytotoxic metabolite, inhibits base pairing leading to base damage and replication lesions
Topoisomerase inhibitors Camptothecins (Topo I) Etoposide (Topo II) Anthracyclines (doxorubicin, epirubicin, daunorubicin) (Topo II)	DSBs, SSBs, replication lesions; anthracyclines also generate free radicals
Replication inhibitors Aphidicolin Hydroxyurea	DSBs, replication lesions

Implicazioni terapeutiche (I):

le terapie convenzionali inducono GI e selezione di mutazioni che causano fenotipi di resistenza alle terapie

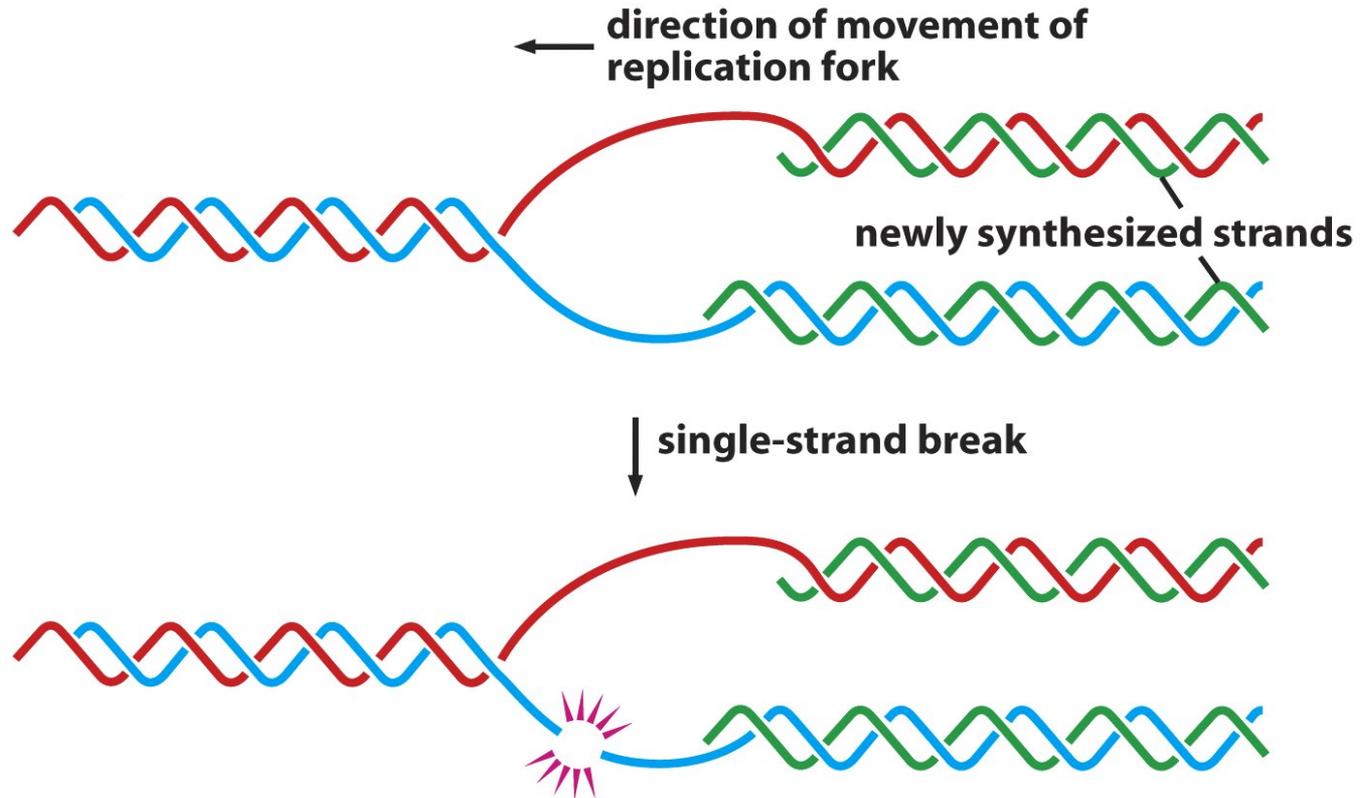


Generazione di DNA DSBs durante la tumorigenesi

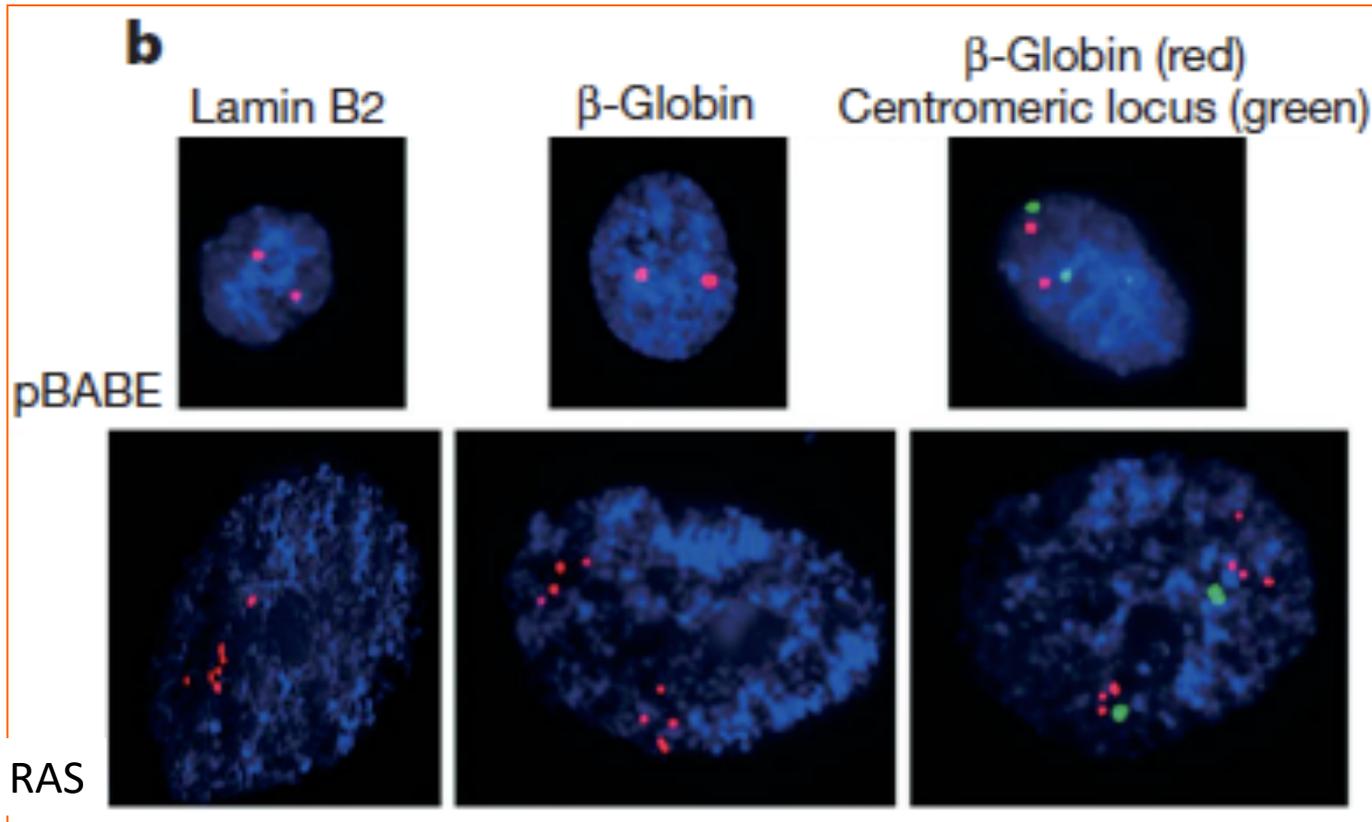


- **accorciamento dei telomeri**
- **danni al DNA da agenti estrinseci e intrinseci**
- **iperproliferazione = iper-replicazione del DNA**

Generazione di DNA DSBs durante lo stallo delle forcelle replicative

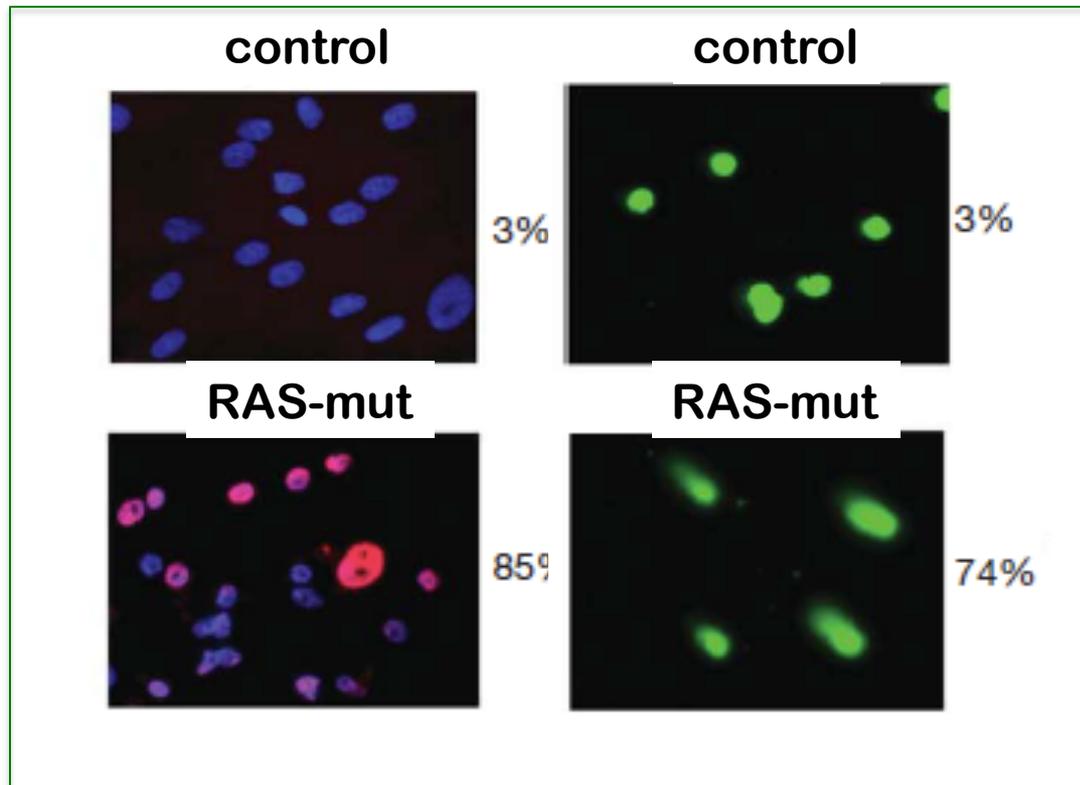


L'attivazione di oncogeni induce iper-replicazione del DNA



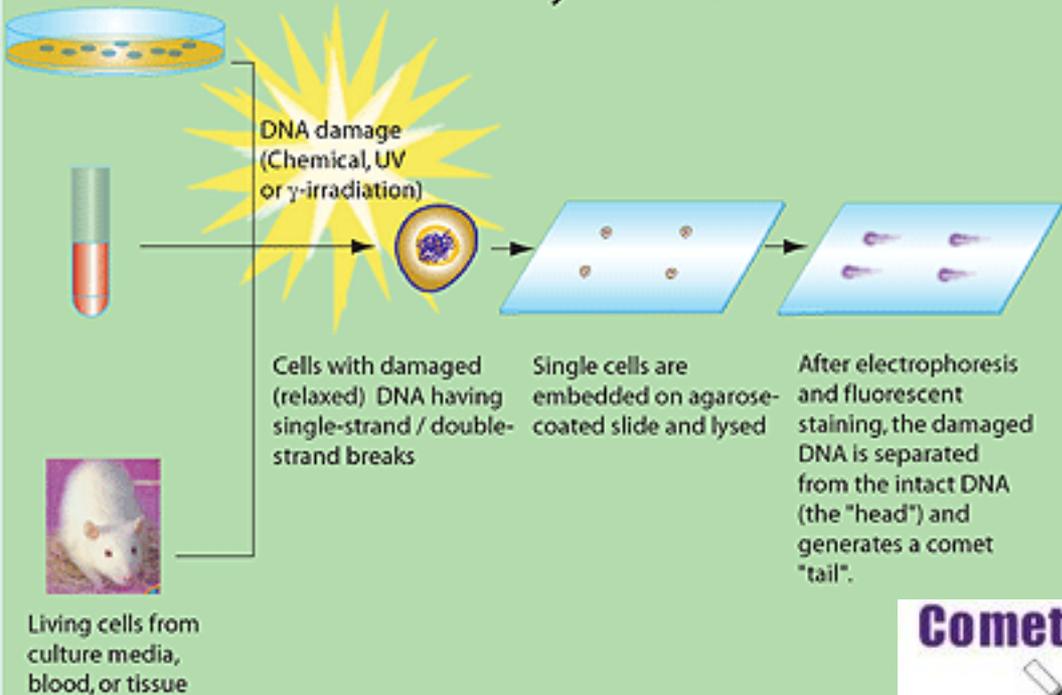
Di Micco, Nature 2006

Oncogeni che inducono iper-replicazione causano danni al DNA

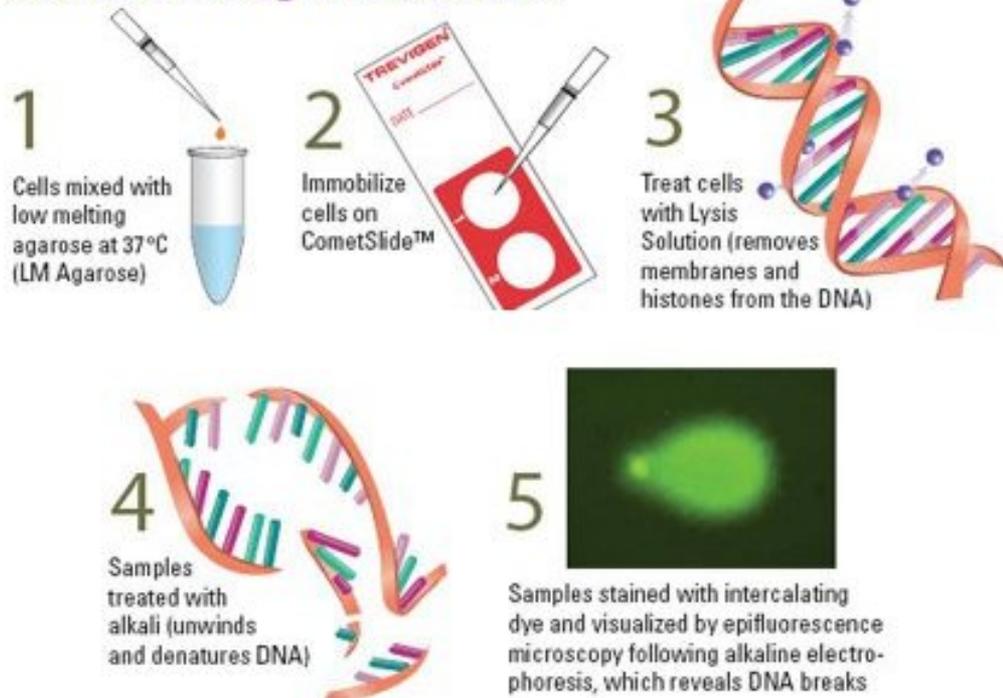


Di Micco et al., Nature 2006

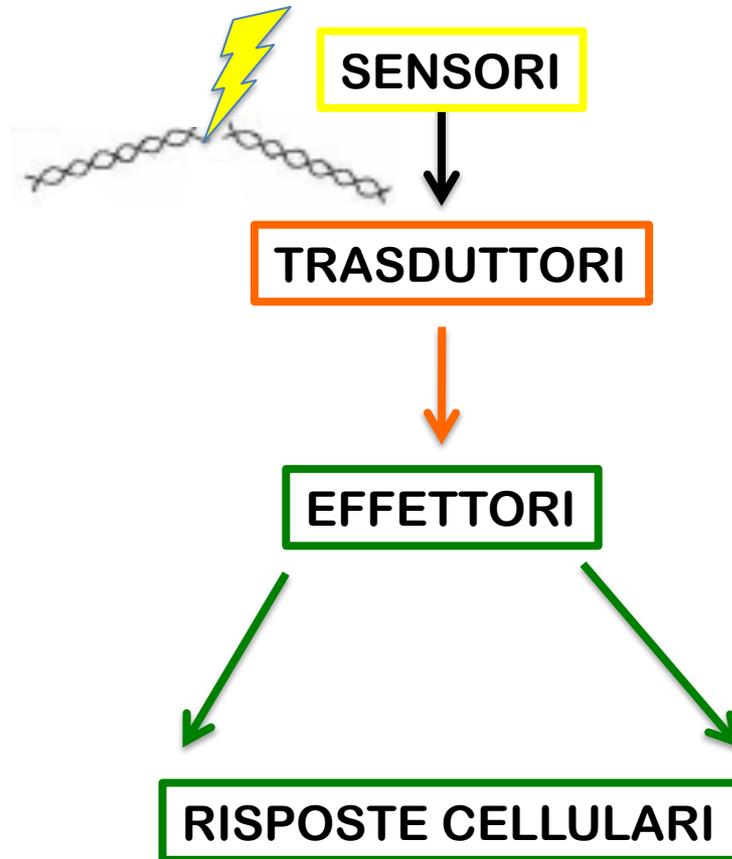
Comet Assay Overview



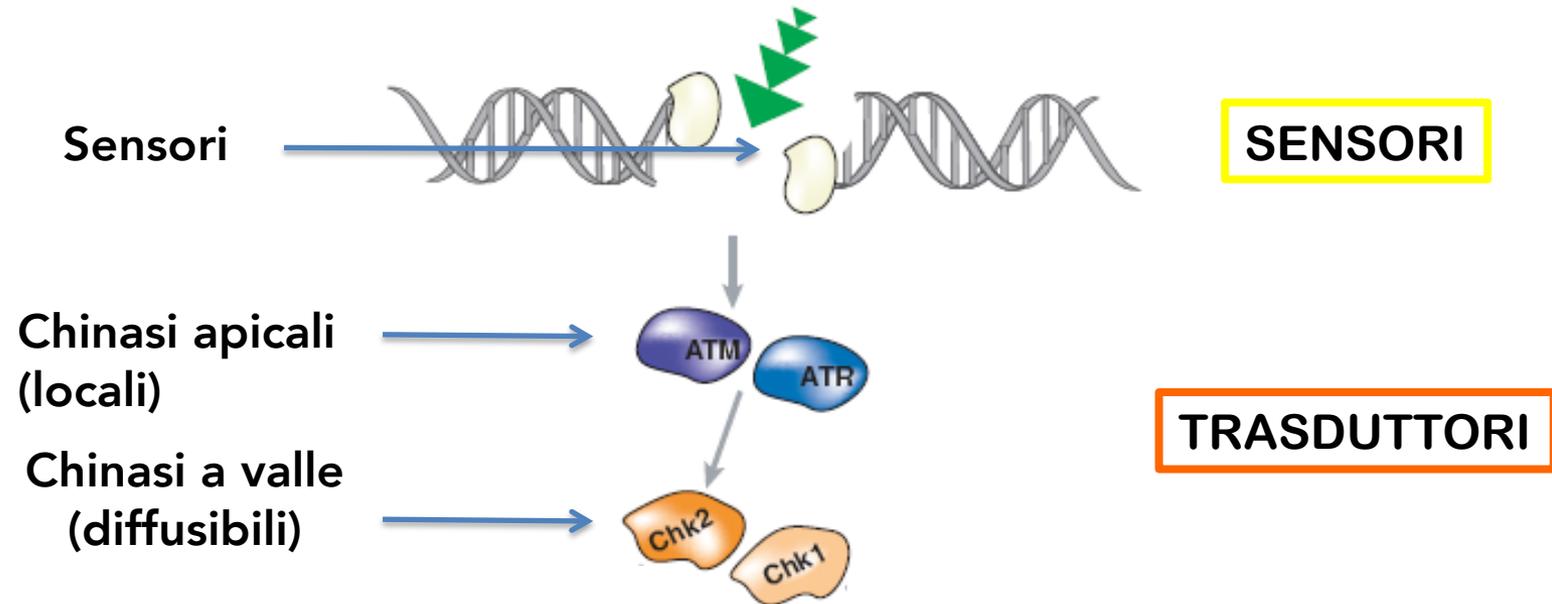
Comet Assay Procedure

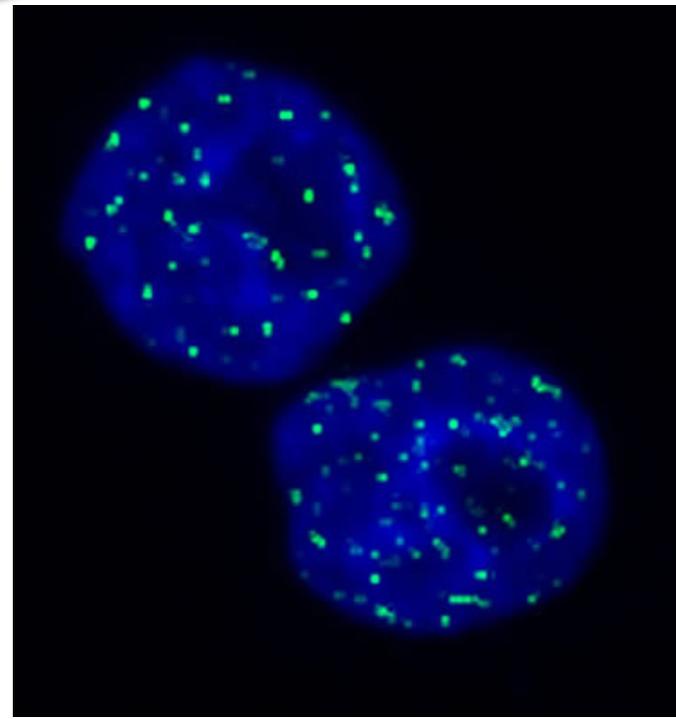
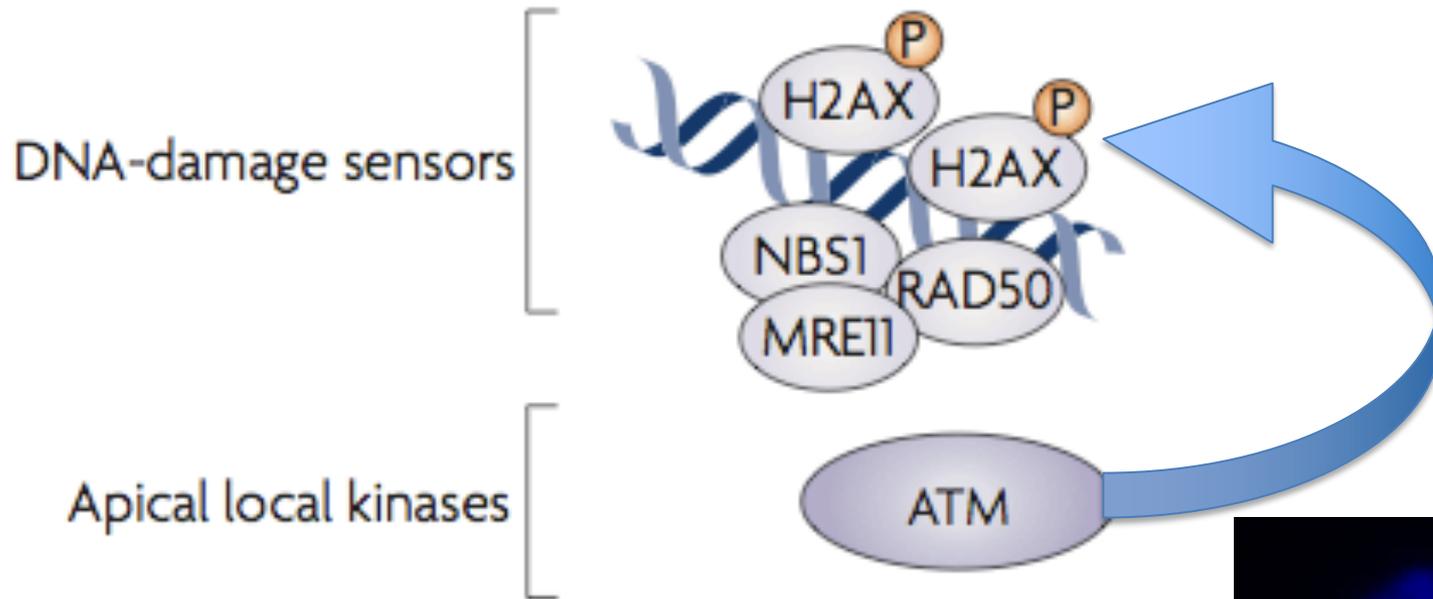


La risposta ai danni al DNA (DDR, DNA Damage Response)

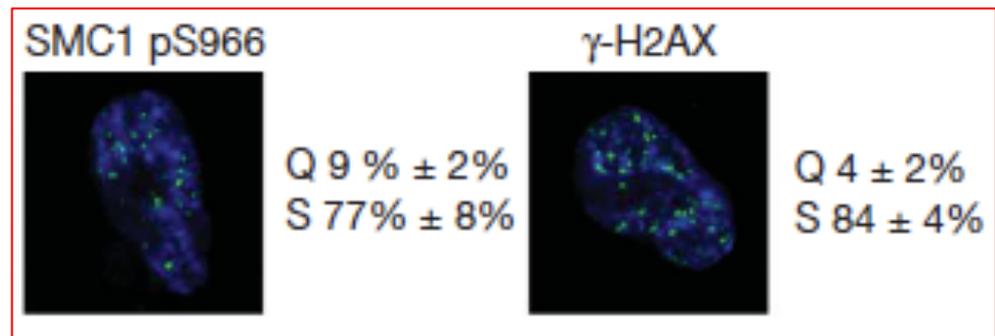
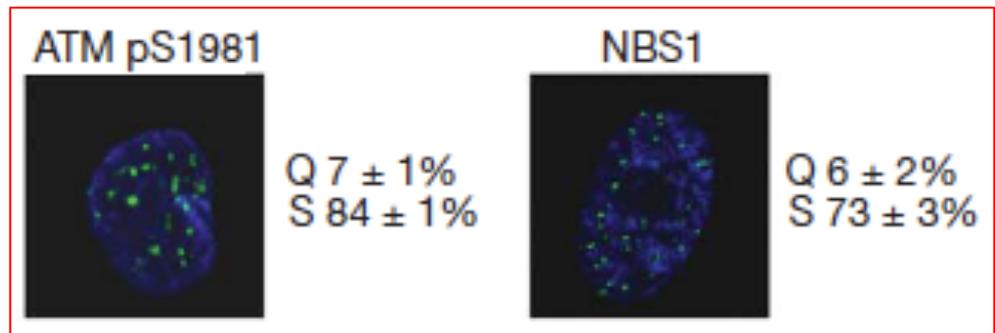
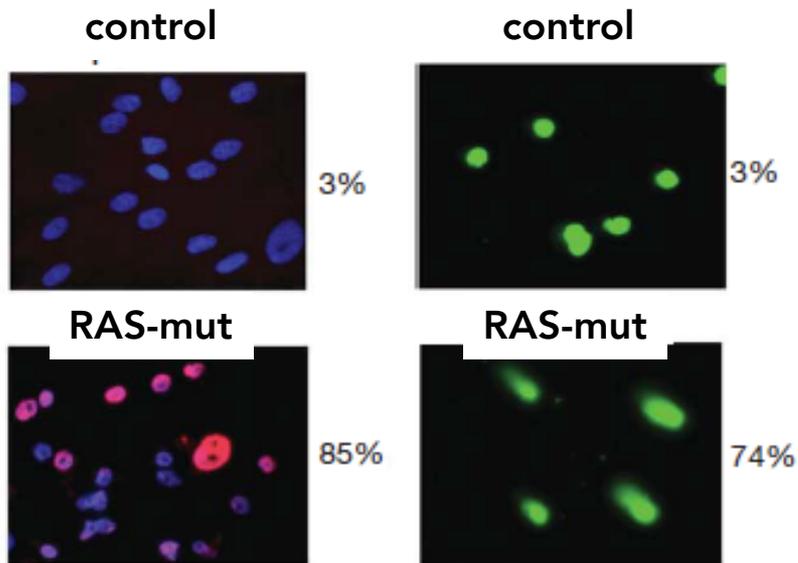


La risposta ai danni al DNA (DDR, DNA Damage Response)





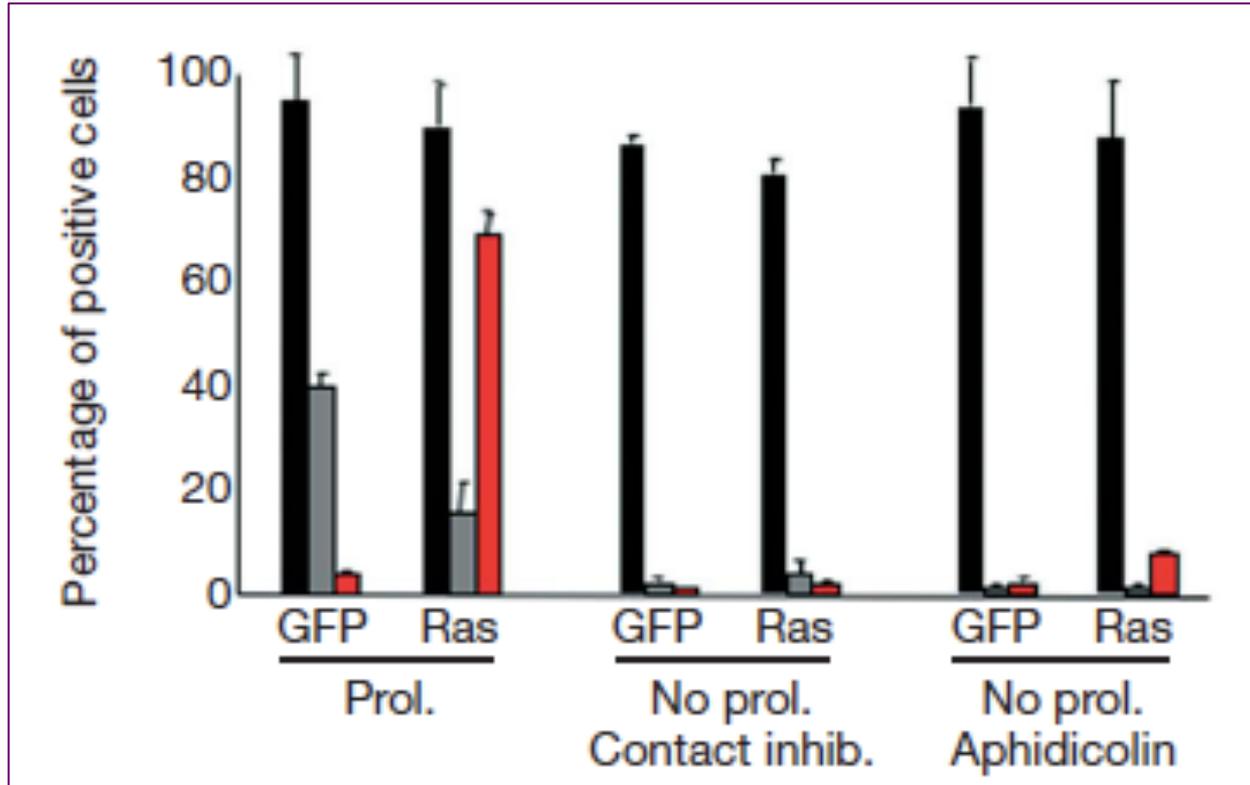
L'iper-replicazione indotta da oncogeni attiva la DDR



Di Micco et al., Nature 2006

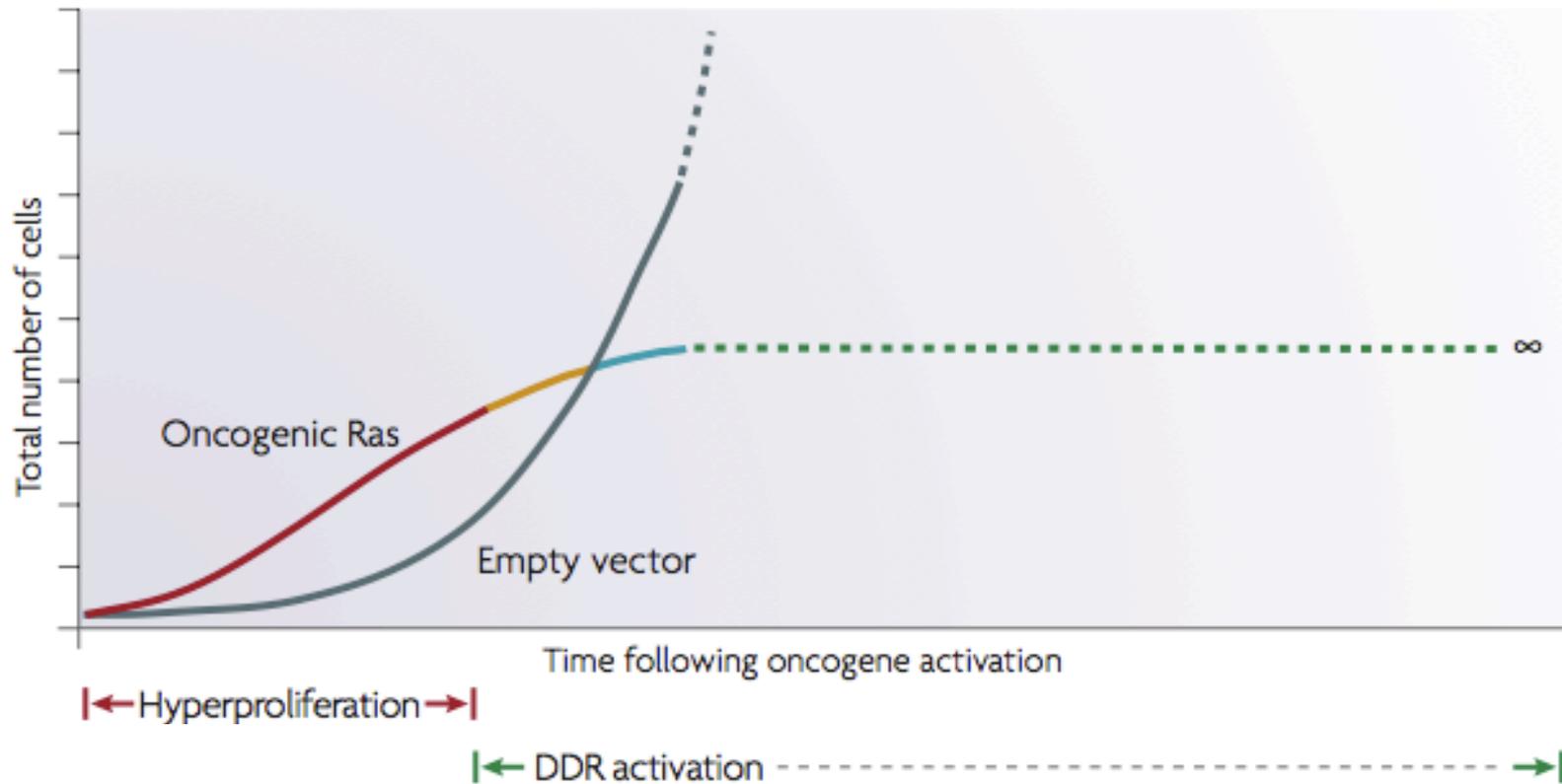
L'iper-replicazione indotta da oncogeni causa danni al DNA

ATM activation



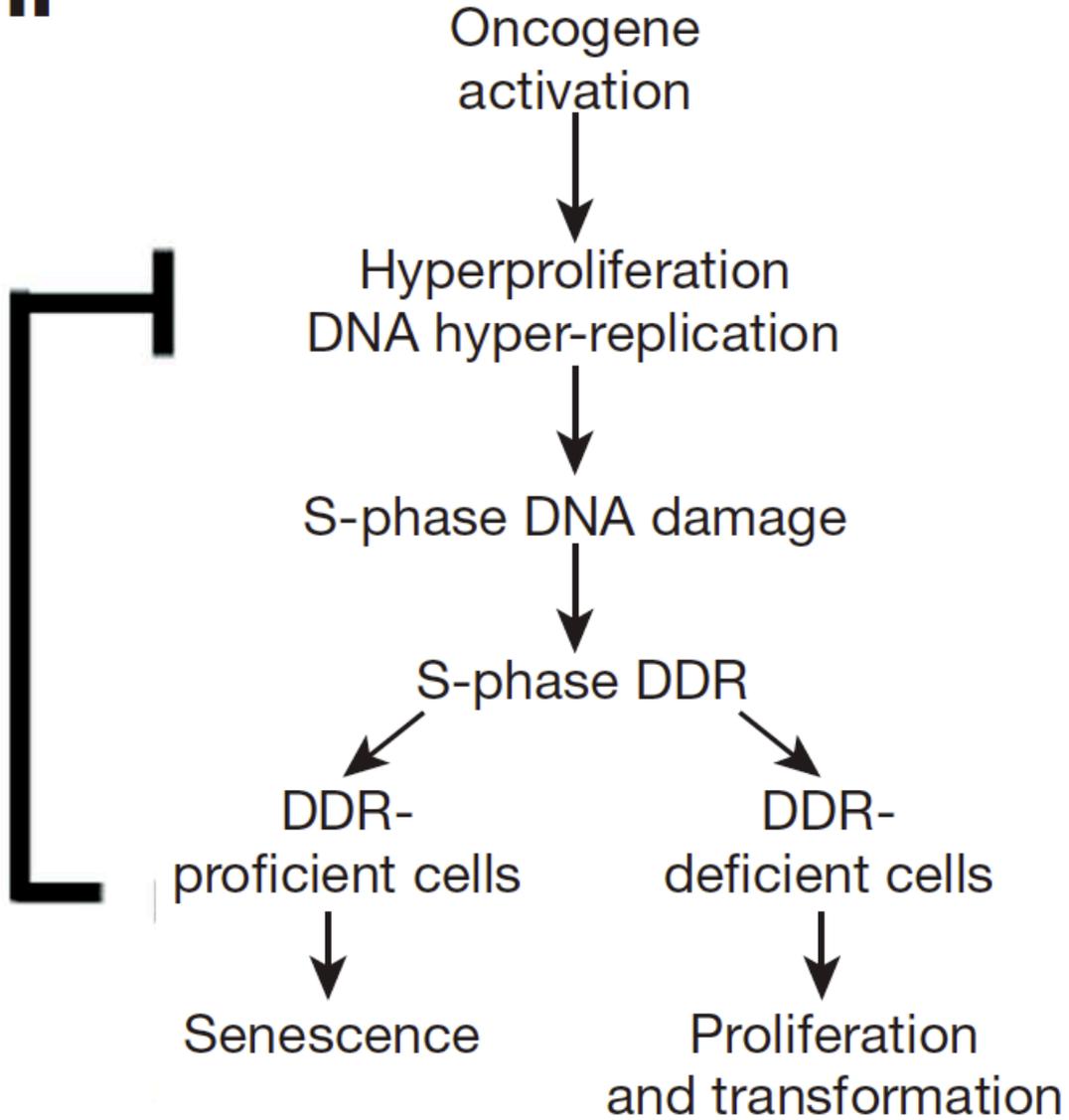
Di Micco, Nature 2006

L'iper-replicazione indotta da oncogeni attiva la DDR



Di Micco, Trends Cell Biol 2007

h

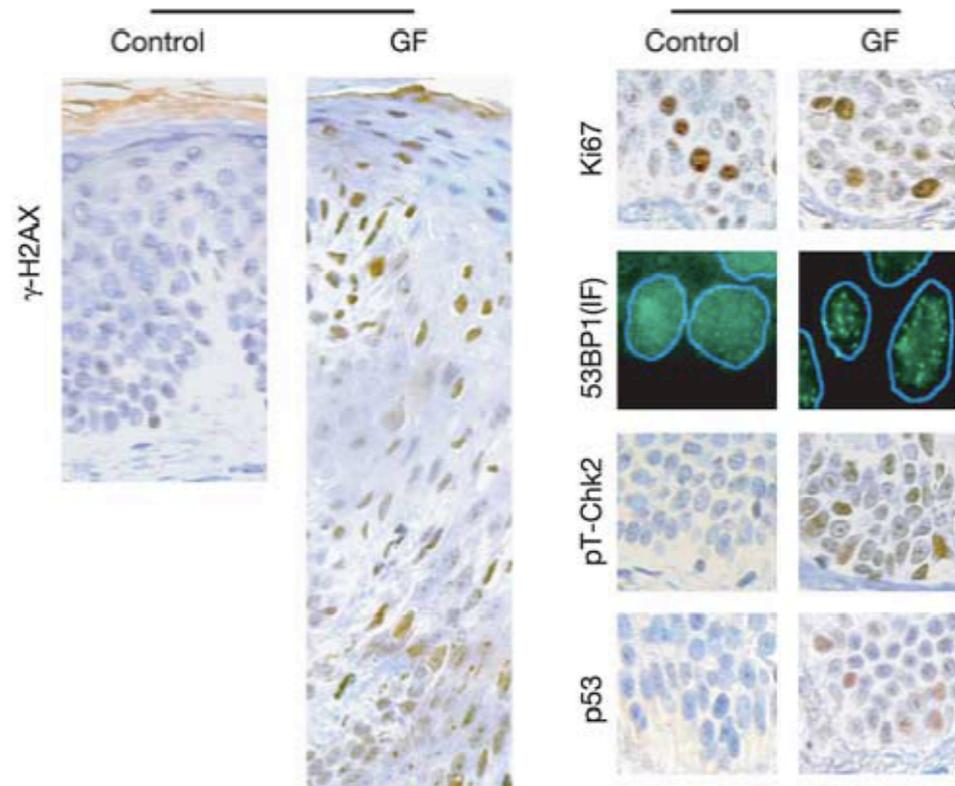


letters to nature

Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions

Vassilis G. Gorgoulis^{1*}, Leandros-Vassilios F. Vassiliou^{1*}, Panagiotis Karakaidos¹, Panayotis Zacharatos¹, Athanassios Kotsinas¹, Triantafillos Liloglou², Monica Venere^{3,4}, Richard A. DiTullio Jr^{3,4}, Nikolaos G. Kastrinakis¹, Brynn Levy⁶, Dimitris Kletsas⁷, Akihiro Yoneta³, Meenhard Herlyn³, Christos Kittas¹ & Thanos D. Halazonetis^{3,5}

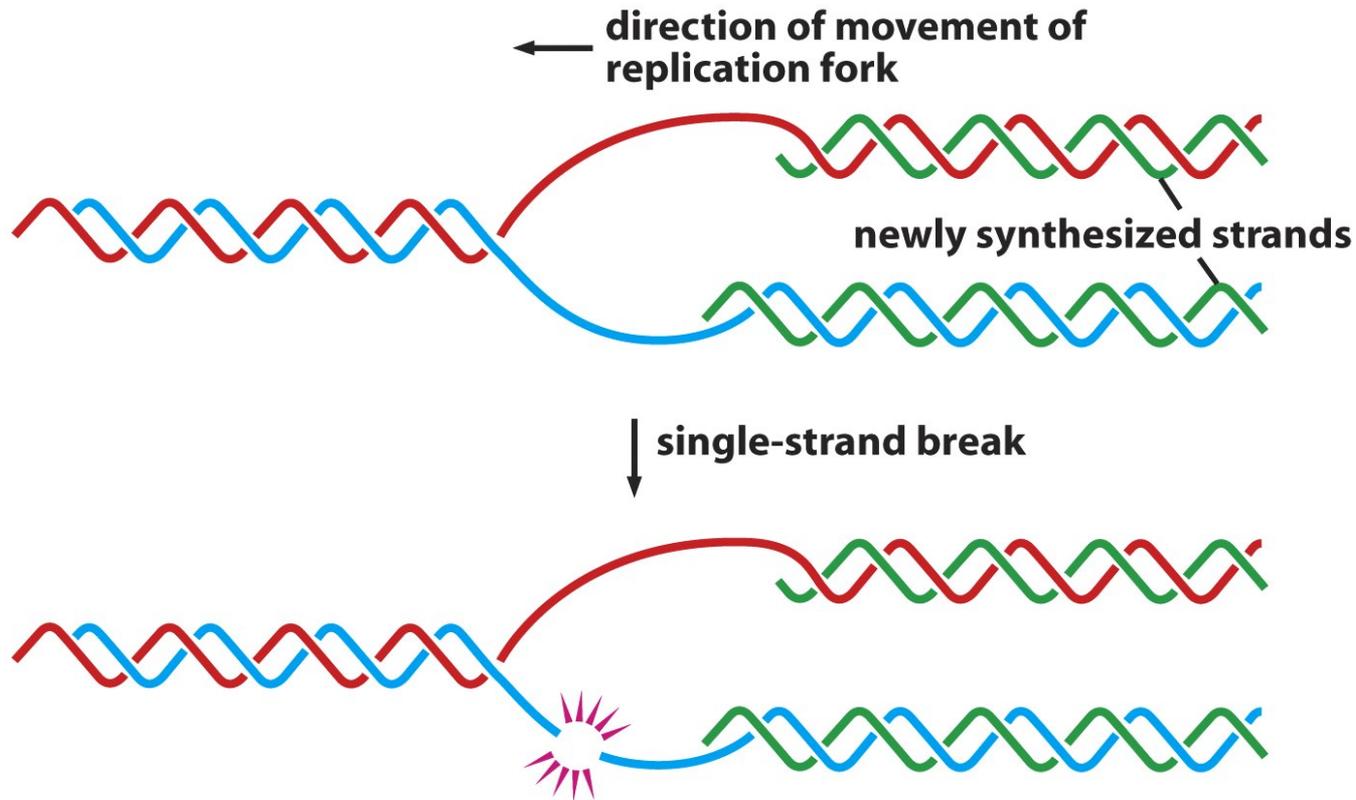
DDR found also in skin hyperplasia induced by Growth Factor stimulation



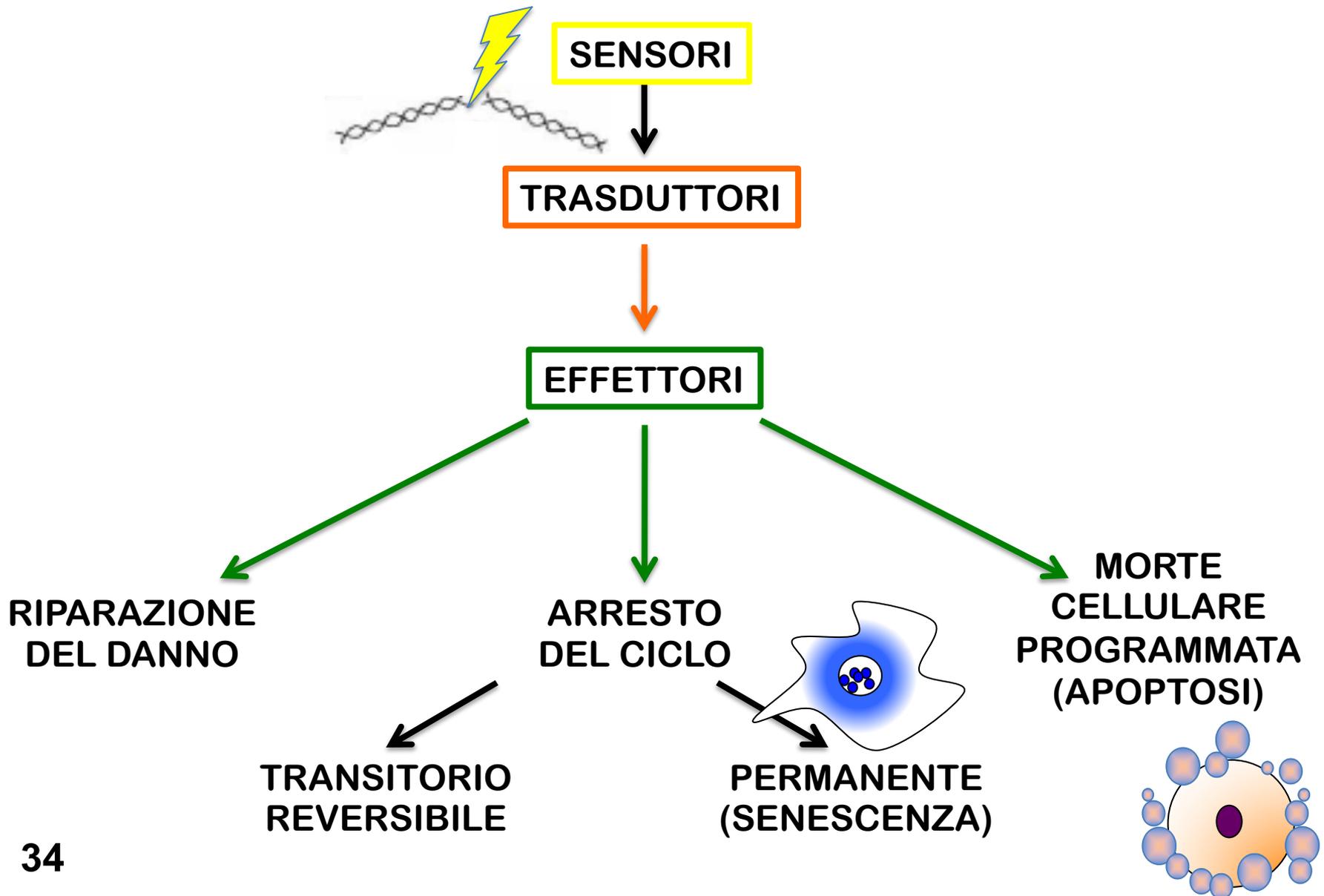
**Attivazione di pathways
oncogeniche e iper-
proliferazione**

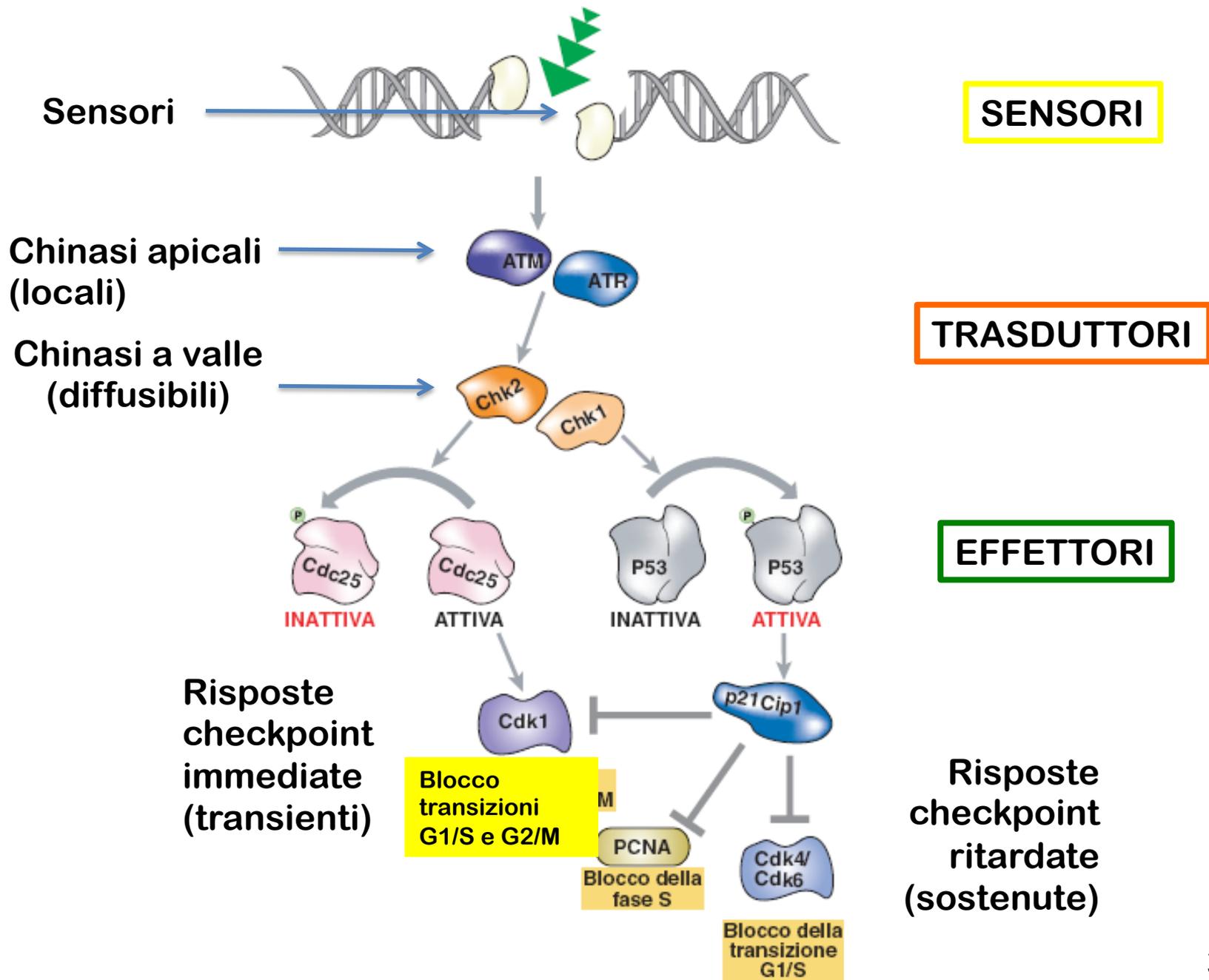


**Iper-replicazione del DNA
Danni al DNA
Attivazione della DDR**



La risposta ai DANNI AL DNA e l'attivazione dei sistemi checkpoint

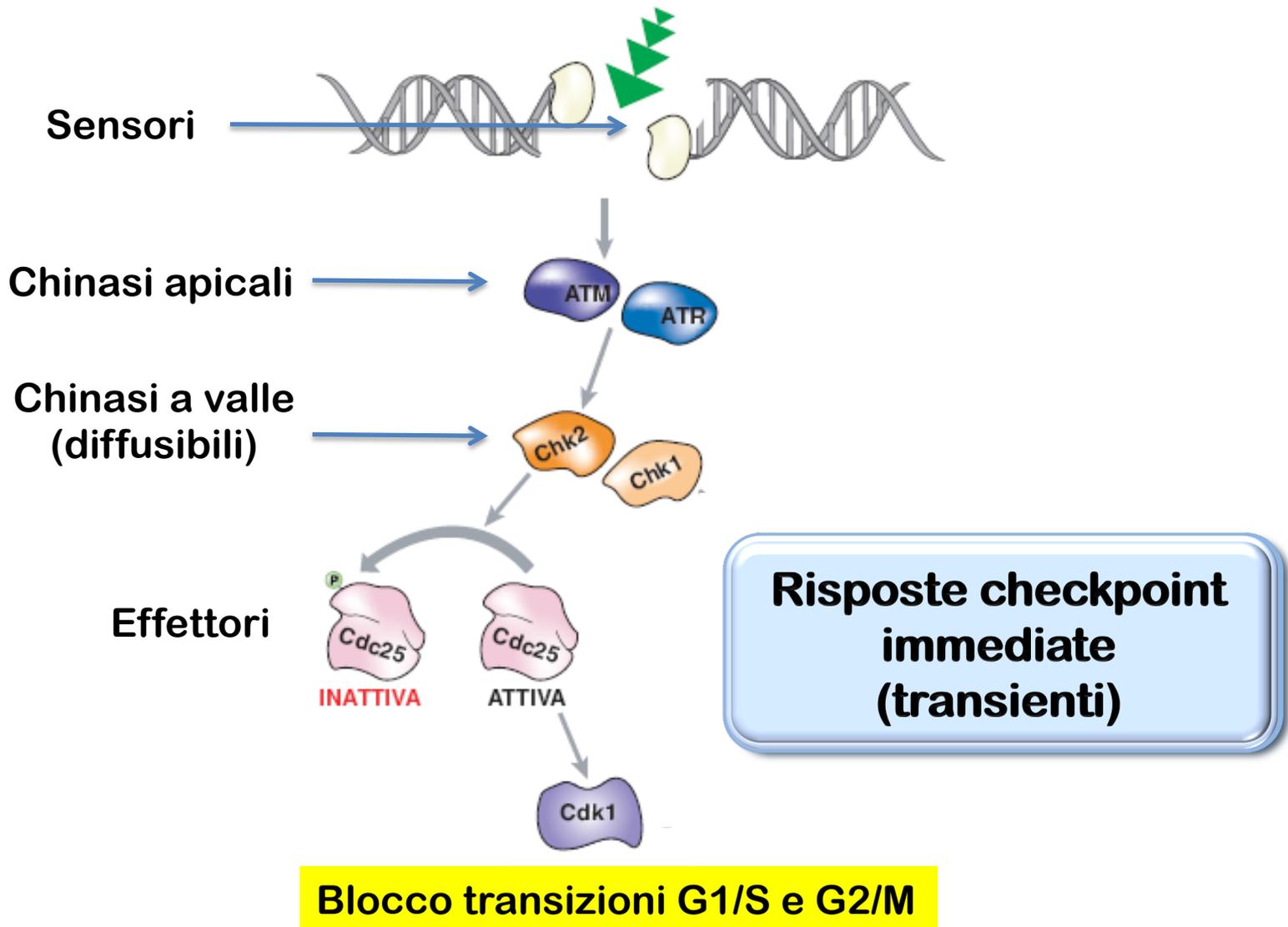




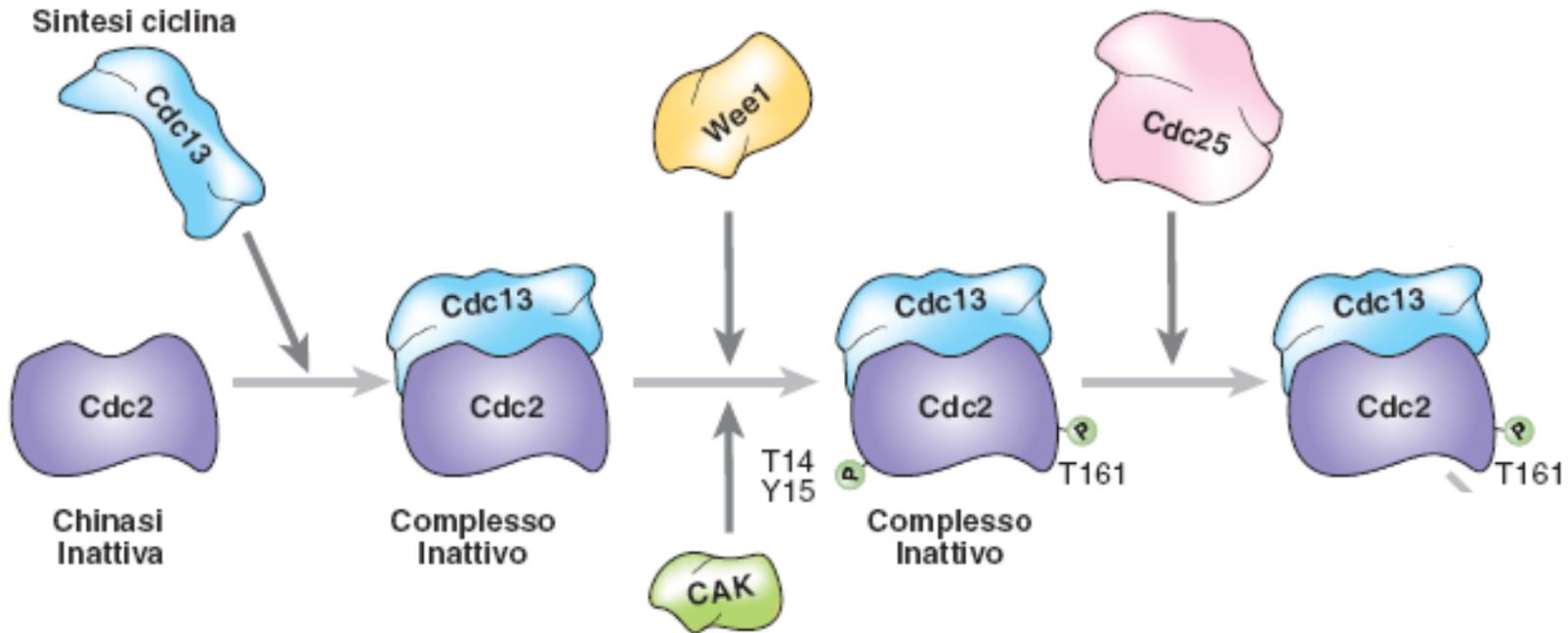
SENSORI

TRASDUTTORI

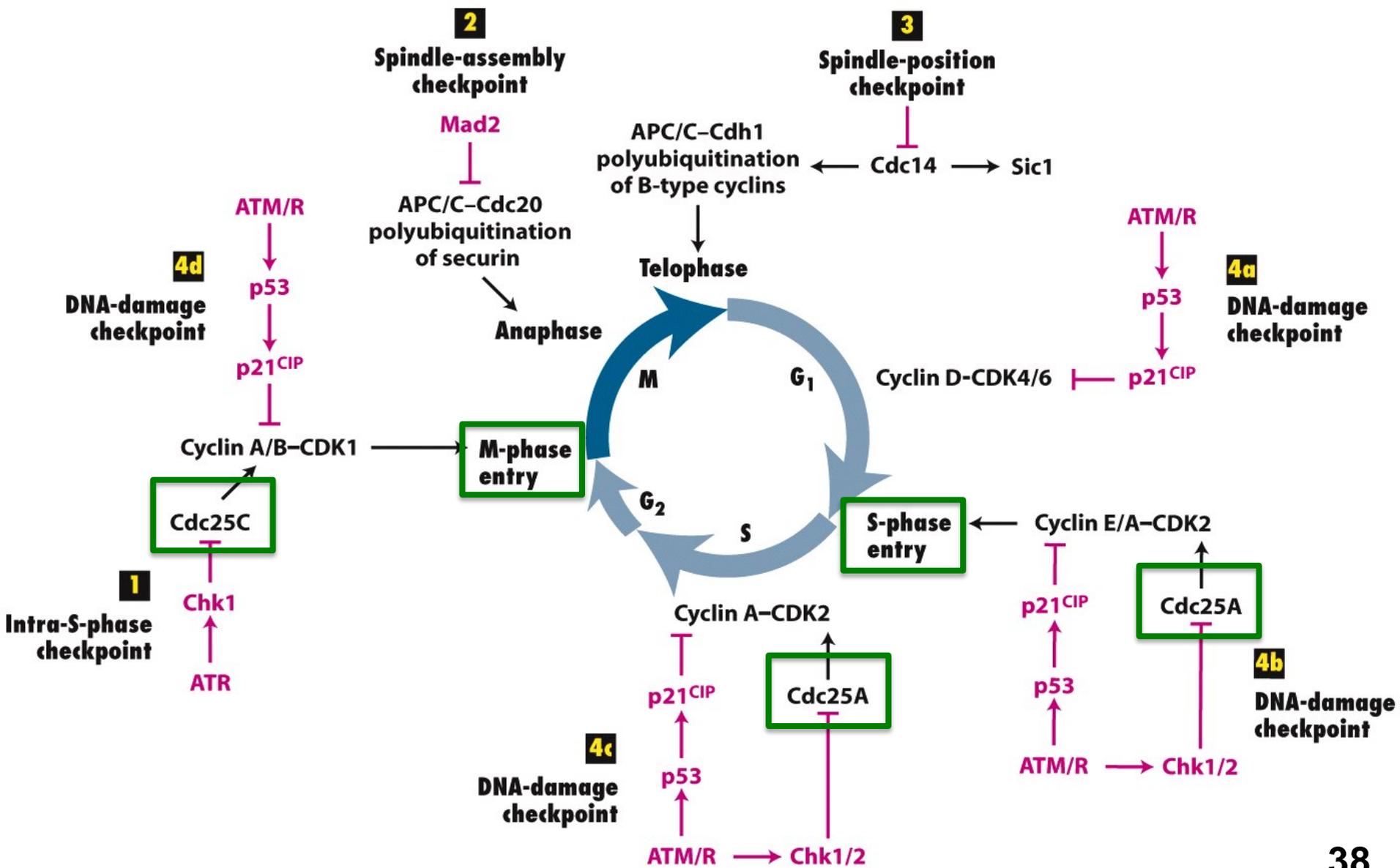
EFFETTORI



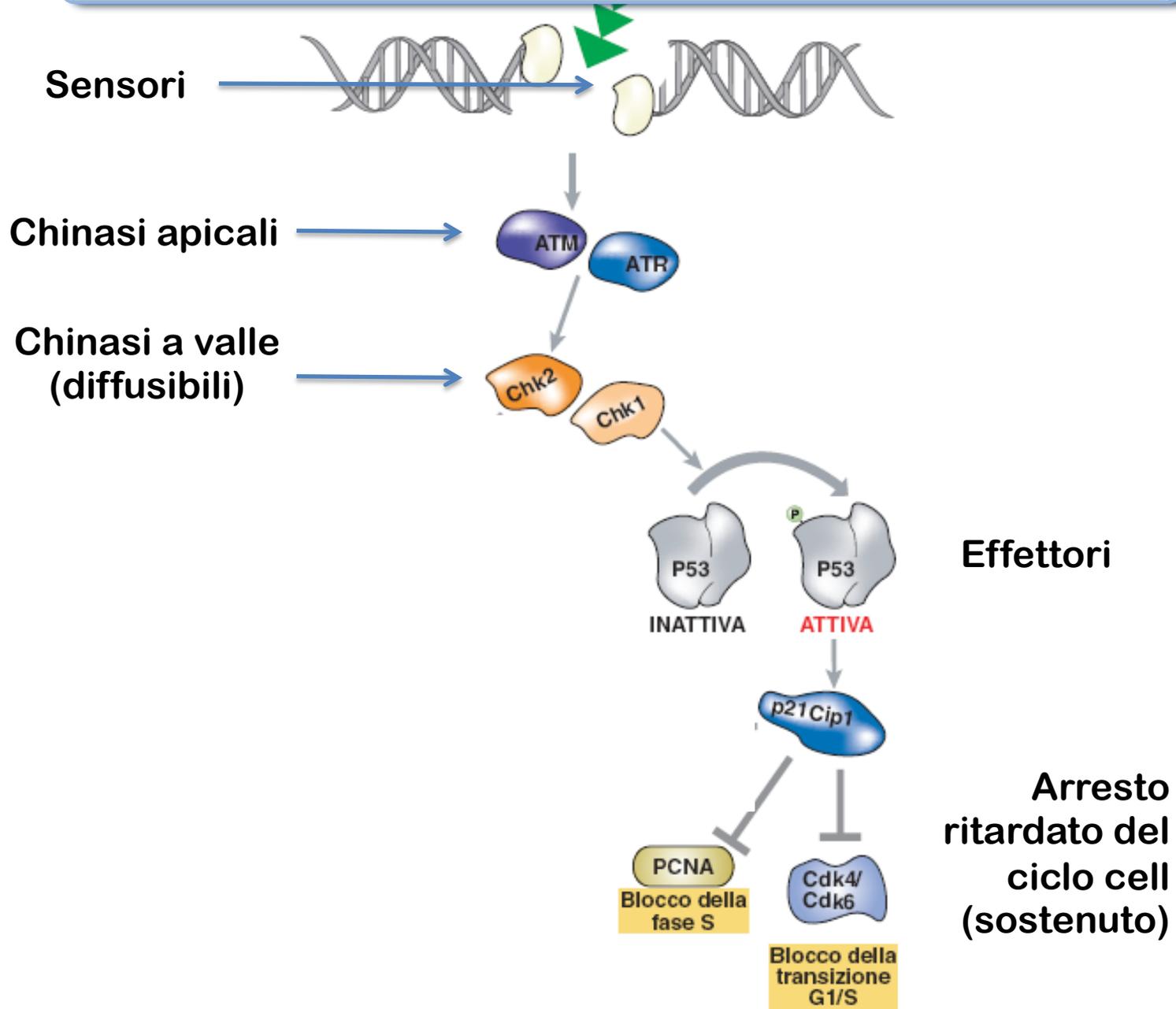
Le fosfatasi Cdc25 sono necessarie per l'attivazione delle Cdk



I checkpoint del ciclo cellulare



Risposte checkpoint ritardate



Mutazioni driver nei geni per il mantenimento del genoma



Mutazioni driver nei geni per il mantenimento del genoma

Oncogeni: l'aumento di funzione/espressione comporta vantaggi selettivi inducono proliferazione, sopravvivenza, staminalità, fenotipi aggressivi (migrazione, invasione...) etc. (e.g. RAS, Myc, CycD, PI3K, beta-catenina)

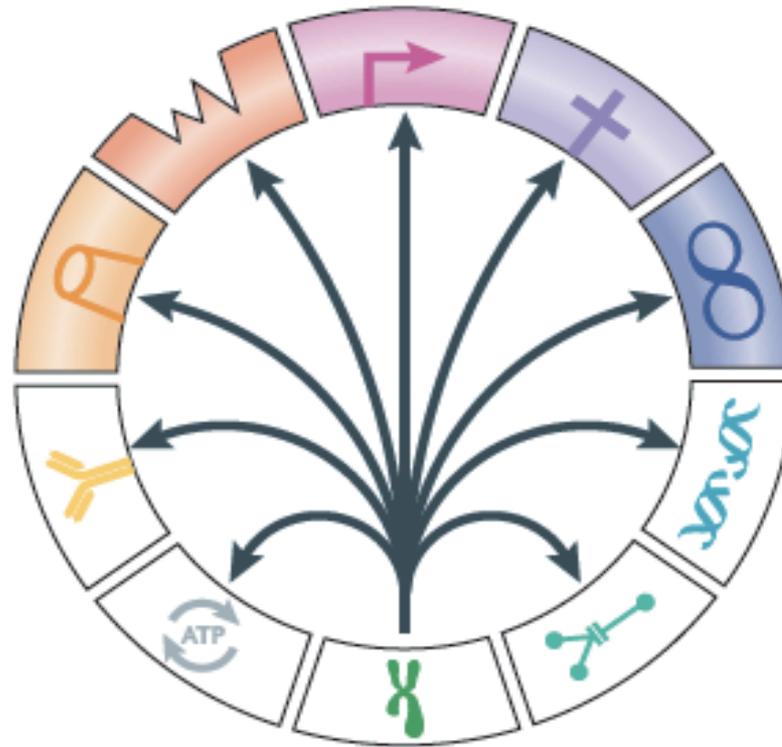
Oncosoppressori: la perdita di funzione/espressione comporta vantaggi selettivi

Anti-oncogeni (gatekeepers): inibiscono proliferazione, inducono differenziamento etc. (e.g. pRB, APC, PTEN)

DNA-damage checkpoint genes: controllano le risposte oncosoppressive intrinseche (trasduttori ed effettori della DNA-damage response (e.g. ATM, chk2, p53))

Geni caretaker: coinvolti nella riparazione del DNA (e.g. XPA, BRCA1,2) e nel mantenimento della stabilità genomica

**Geni del DNA damage checkpoint e geni caretaker
sono ONCOSOPPRESSORI:
evidenze dalle sindromi familiari
di predisposizione tumorale**



**Mutazioni loss-of function
GERMLINE
in caretaker genes – checkpoint genes**

Sindromi familiari tumorali causate da difetti ereditari nella DDR e nella riparazione del DNA

Name of syndrome	Name of gene	Cancer phenotype	Enzyme or process affected
HNPCC	(4–5 genes) ^a	colonic polyposis	mismatch repair enzymes
XP ^b	(8 genes) ^b	UV-induced skin cancers	nucleotide-excision repair
AT ^c	<i>ATM</i>	leukemia, lymphoma	response to dsDNA breaks
AT-like disorder ^c	<i>MRE11</i>	not yet determined	dsDNA repair by NHEJ
Familial breast, ovarian cancer	<i>BRCA1, BRCA2</i> ^d	breast and ovarian carcinomas	homology-directed repair of dsDNA breaks
Werner	<i>WRN</i>	several cancers	exonuclease and DNA helicase ^e , replication
Bloom	<i>BLM</i>	solid tumors	DNA helicase, replication
Fanconi anemia	(9 genes) ^f	AML, HNSCC	repair of DNA cross-links and ds breaks
Nijmegen break ^g	<i>NBS</i>	mostly lymphomas	processing of dsDNA breaks, NHEJ
Li–Fraumeni	<i>TP53</i>	multiple cancers	DNA damage alarm protein
Li–Fraumeni	<i>CHK2</i>	colon, breast	kinase signaling DNA damage

Table 12.1 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

**I geni della DDR e riparazione del DNA
sono ONCOSOPPRESSORI**

MIN nella sindrome ereditaria HNPCC hereditary non-polyposis colon cancer

- Autosomica dominante
- Costituisce 5-7% dei tumori al colon

Microsatellite instability (**MIN**)

Si osserva anche in diversi tumori **sporadici** (colon, endometrio, stomaco)

E in tali casi è causata da silenziamento **epigenetico** (metilazione) del gene **MLH1 (MMR)**

La MIN causa mutazione del gene per il recettore II del TGF- β

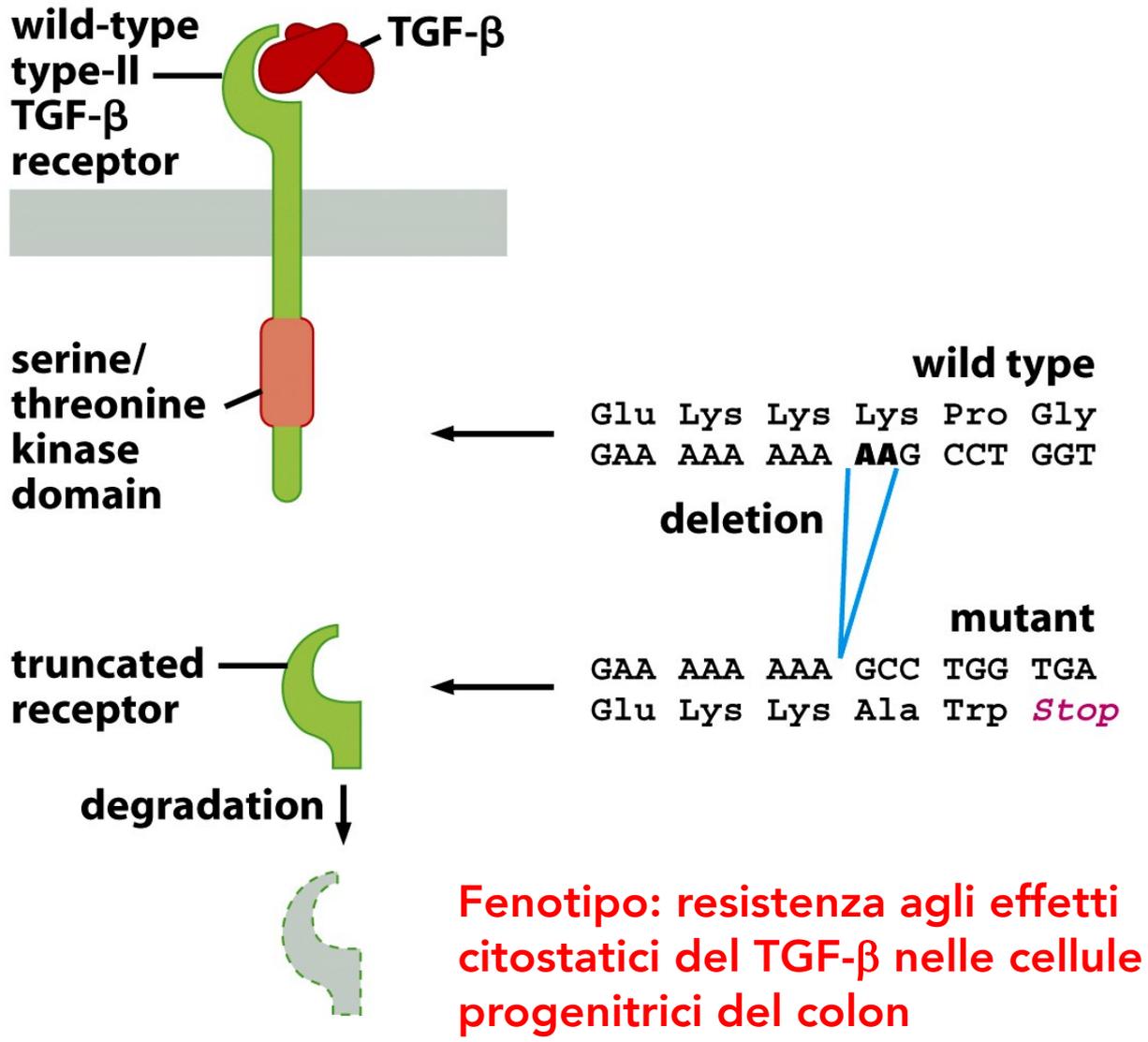


Figure 12.28 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

XP Xeroderma Pigmentosum



- autosomico recessivo
- Causato da mutazioni in uno di **7** geni **XPA-XPG** (riparazione **NER** e **TCR**)
- sintomi: Neurodegenerazione, ritardo della crescita
- ipersensibilità epidermica alle radiazioni UV
- elevata incidenza di carcinomi della pelle indotti da esposizione agli UV (**basal squamous cell carcinomas and melanomas**)

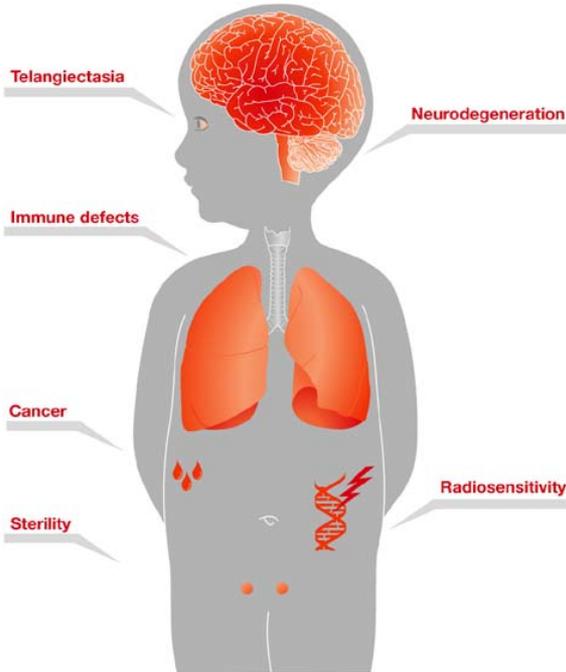
Ataxia Telangiectasia

Rara sindrome familiare autosomica recessiva

Sintomi:

- Atassia cerebellare
- Teleangectasie oculo-cutanee
- immunodeficienza
- Manifestazioni di invecchiamento precoce
- Predisposizione allo sviluppo di tumori a carico di diversi tessuti
(lymphoma/leukemia, breast...)
- Ipersensibilità a trattamenti che causano danni al DNA

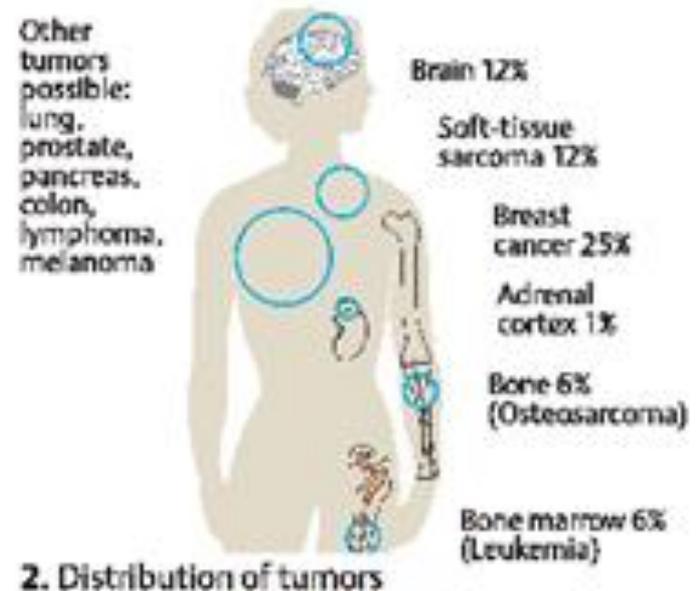
**Causata da mutazione della chinasi apicale ATM
= difetti della DDR**



Li-Fraumeni Syndrome

- Prevalence: Up to 1 in 20,000
- Inheritance: Autosomal dominant
- Gene: *TP53*

- Lifetime risk of cancer:
 - 50% by age 30-35y
 - 90% by 60y
 - Female lifetime risk is 90%
 - Male lifetime risk is 70%
 - 57% risk of a second primary



The IRS Mess / Syria's YouTube War / The End of Alimony

TIME



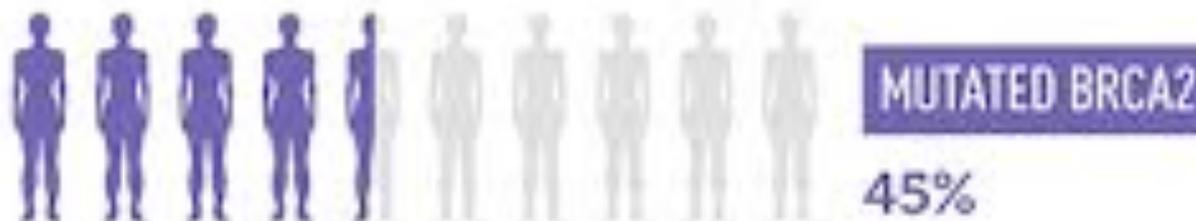
THE
ANGELINA
EFFECT

Angelina Jolie's double mastectomy puts genetic testing in the spotlight. What her choice reveals about calculating risk, cost and peace of mind

BY JEFFREY KLUGER & ALICE PARK

Mutazioni nei geni BRCA1/2 aumentano il rischio di tumore al seno e all'ovario

Età: 70



www.cancer.gov/bca-fact-sheet