

Prof. P. Bellavite, Verona
 Associato di Patologia Generale, Università di Verona

Patologia molecolare e cellulare del cancro

*So di non sapere
 (Socrate)*

Riassunto

La nozione che il cancro sia essenzialmente una patologia del controllo genetico della differenziazione e della proliferazione cellulare non è nuova, ma nell'ultimo decennio enormi progressi sono stati compiuti nella comprensione dei meccanismi molecolari attraverso cui ciò avviene. Si è cominciato a capire che gli agenti cancerogeni quali agenti chimici (fumo, inquinamento, processi ossidativi endogeni, ecc.), fisici (radiazioni e campi elettromagnetici), biologici (virus oncogeni, ma anche eventi "casuali" di errata ricombinazione genica) esercitano il loro specifico danno a livello di particolari sequenze del DNA cellulare dette proto-oncogeni, che una volta alterate qualitativamente e/o quantitativamente – diventando quindi veri e propri oncogeni attivi – innescano la comparsa del caratteristico fenotipo neoplastico. Attualmente si conoscono alcune decine di questi oncogeni, responsabili della trasformazione neoplastica, benigna e maligna, di cellule di svariati tessuti. Una delle più importanti, e in un certo senso inattese, scoperte, in gran parte dovute alla introduzione delle tecniche del DNA ricombinante, fu quella che evidenziò come i proto-oncogeni funzionano anche nelle cellule non neoplastiche, dove hanno fondamentale importanza nella produzione di proteine che controllano la normale attività proliferativa e in generale, i sistemi di accoppiamento tra i segnali extracellulari e i meccanismi effettori. Il fenotipo della cellula cancerosa, nelle sue atipie biochimiche,

morfologiche, immunologiche e, soprattutto, "comportamentali" (capacità di dare metastasi) è quindi dovuto in gran parte all'errata messa in funzione di sistemi biologici che oggi cominciano ad essere ben compresi e che forse si può cominciare a sperare di poter modulare. Tali sistemi consistono nei segnali che si scambiano cellule vicine e lontane, nei recettori che tali segnali captano, nei meccanismi di trasduzione intracellulare del segnale (G-proteine, protein-chinasi, canali e pompe ioniche), nelle proteine nucleari che controllano l'espressione genica.

Di solito l'insorgenza della neoplasia è conseguenza della alterazione di svariati proto-oncogeni, e non di uno solo. La teoria degli oncogeni però non è in contrasto con il ruolo di fenomeni epigenetici e con il ruolo dei fattori legati all'"ospite" nella patogenesi del cancro. Vi sono infatti moltissime dimostrazioni che il cancro non è solo un problema genetico, ma è una malattia complessa, che di solito procede in molti stadi (trasformazione, promozione, progressione), in cui fattori di crescita, ormoni, inibitori tessuto-specifici, citochine, interferoni, reazioni citotossiche cellulo-mediate e probabilmente anche fattori neuro-psicologici hanno un ruolo fondamentale nel determinarne la evoluzione o la regressione.

Introduzione

Il cancro consiste nella crescita più o meno incontrollata di cellule, a causa di gravi disordini della informazioni contenute dentro la cellula e delle informazioni che le cellule si scambiano tra loro e con l'ambiente. Esso è perciò un fenomeno patologico complesso, come complesse sono le cellule e i loro meccanismi di regolazione, come complesso è l'organismo umano nella sua interezza e nei suoi rapporti con l'ambiente.

Questa relazione non può e non vuole essere una rassegna completa su un problema di così vasta portata, ma solo offrire una panoramica dei più recenti avanzamenti in questo campo e delle principali linee di ricerca, insieme ad alcune riflessioni sui rapporti tra fenomeni a livello molecolare e fenomeni riguardanti l'organismo nel suo insieme.

Il problema fondamentale della crescita neoplastica è il seguente: essa è dovuta alla perdita del normale controllo della proliferazione e della differenziazione delle cellule. Ogni cellula nel corso della sua vita, che può essere più o meno lunga a seconda del tipo, svolge molte attività, utili sia a sé

va di quello specifico tessuto.

In un tessuto troveremo quindi cellule in replicazione e cellule che via via maturano, poi gradualmente invecchiano e muoiono. Come è noto, le cellule mature di alcuni tessuti (es. muscolo striato, sistema nervoso) hanno una attività proliferativa pratica-

mente nulla e irrecuperabile, mentre altre cellule la mantengono più o meno attiva a seconda delle esigenze funzionali e degli stimoli ambientali. Le regolazioni della attività proliferativa sono particolarmente evidenti nelle ghiandole e nei tessuti regolati per via endocrina. Alcuni cloni cellulari nei tessuti a rapida proliferazione (midollo emopoietico, mucose) conservano un'altissima attività proliferativa e scarsa differenziazione, rappresentando il pool germinativo che rifornisce costantemente grandi quantità di cellule al pool maturativo.

Ad esempio, in una popolazione di cellule mieloidi come quelle del midollo osseo normale (fig. 2a), troveremo cellule (blasti) in una fase proliferativa, troveremo anche cellule in una fase differenziativa, verso i vari tipi di leucociti.

Anche le cellule molto immature e in rapida proliferazione però sono sotto stretta sorveglianza affinché la loro attività sia sempre in equilibrio con la velocità di scomparsa delle cellule mature e in generale con le necessità dell'organismo. Il controllo è operato soprattutto da parte di altre cellule vicine o lontane (per via endocrina) mediante fattori di crescita e fattori di differenziazione, oltre che da contatti cellula-cellula e cellula-matrice. Tali

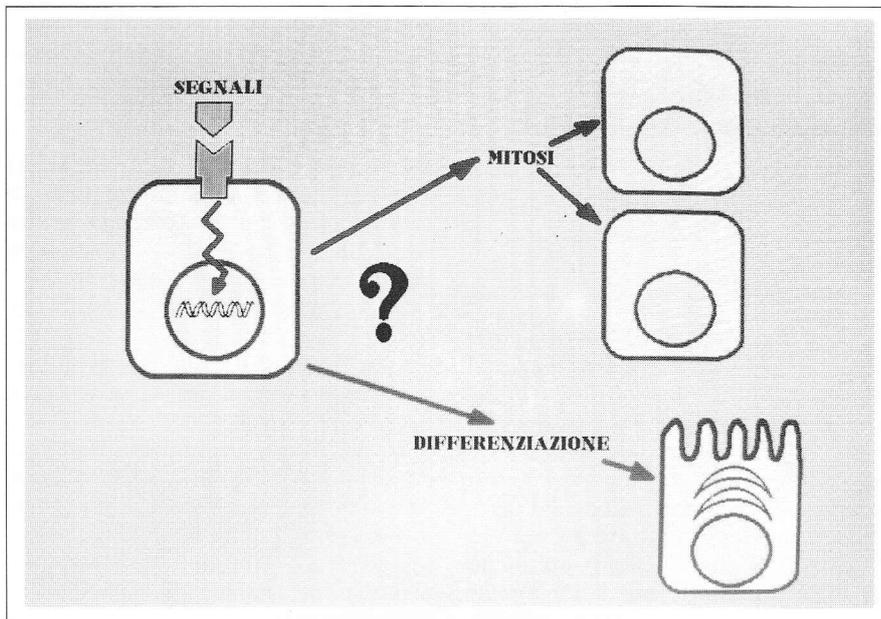


Fig. 1: La scelta di comportamento fondamentale per una cellula.

stessa che all'organismo, ma essenzialmente si trova di fronte a una scelta fondamentale di comportamento: entrare in mitosi o differenziarsi, detto in altri termini, replicarsi o maturare (fig. 1). Schematicamente, si può accettare la semplificazione che le due possibilità siano in alternativa, cioè si escludano vicendevolmente. Tale scelta di comportamento va spesso ripetuta più volte nel corso della vita della cellula e del clone che da essa deriva. La scelta di replicarsi, di proliferare, è tipica delle cellule meno specializzate nella linea evolutiva sia dell'individuo (embrione), che del tessuto (es. cellule basali dell'epidermide, blasti del midollo osseo, ecc.). Quando il risultato della scelta è la divisione, avremo di conseguenza due cellule figlie uguali a quella progenitrice, cioè piuttosto immature. Quando la scelta è quella di differenziarsi, avremo come risultato che la stessa cellula assume progressivamente morfologia e proprietà di maggiore maturità nella linea evoluti-

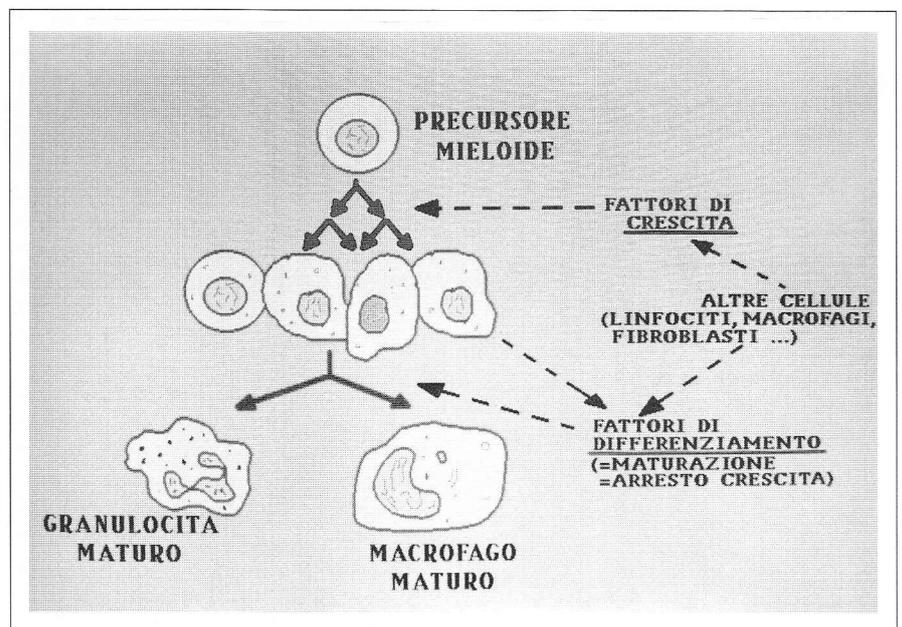


Fig. 2a: Sistemi di controllo della proliferazione e della differenziazione in cellule mieloidi normali.

fattori sono abbastanza specifici per ogni tessuto, e spesso sono anche prodotti dalle cellule stesse del tessuto man mano che maturano.

Nella neoplasia va perduto questo fine controllo, ed è quindi a questo livello che i biologi cellulari e i biologi molecolari hanno iniziato a capire quali meccanismi di controllo sono saltati. Sia lo studio del ciclo cellulare normale, che lo studio, più recente, della genetica delle cellule neoplastiche stanno rapidamente delineando un quadro di come l'attività proliferativa è regolata e di quali sono le differenze fondamentali tra cellule normali e cellule cancerose.

Ad esempio, in una popolazione di cellule leucemiche (fig. 2b), troveremo molte più cellule in fase proliferativa e meno cellule (o niente affatto) differenziate, mature.

Come è noto, in linea generale, tanto più le cellule sono immature, tanto

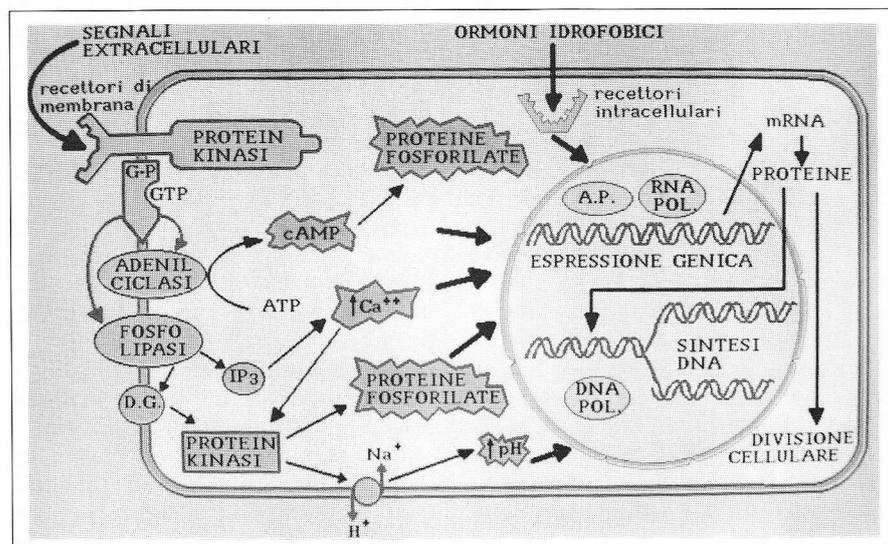


Fig. 3: Alcuni eventi biologici coinvolti nel controllo della proliferazione cellulare. Abbreviazioni: G-P, Gtp-binding protein; D.G., diacilglicerolo; IP3, Inositolo 3-fosfato; A.P., attivator protein; Pol., polimerasi.

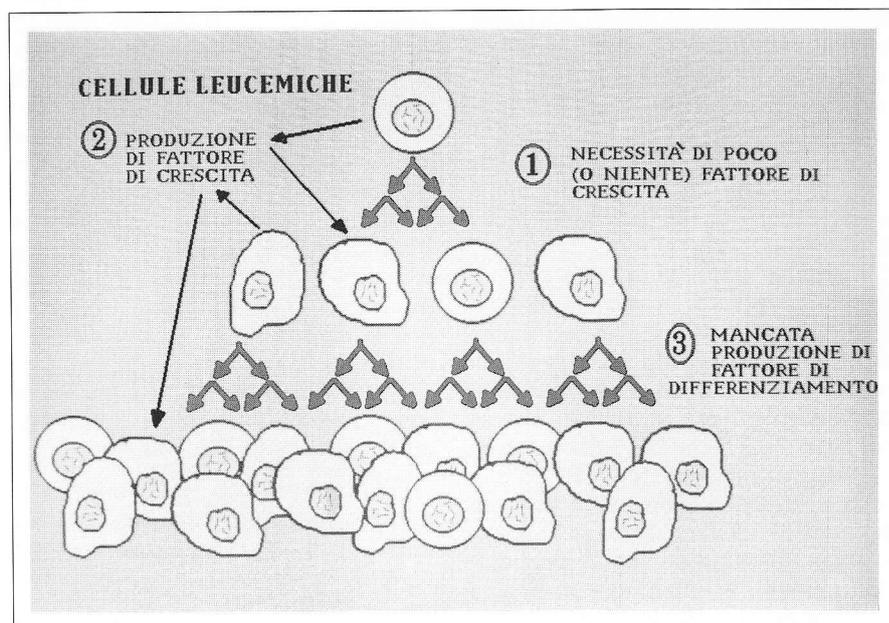


Fig. 2b: Alcune anomalie nei sistemi di controllo in una popolazione di cellule leucemiche.

più la neoplasia è maligna.

Alcune possibili ragioni di questo sbilanciamento sono legate al fatto che le cellule leucemiche hanno scarsa dipendenza dai fattori di crescita, oppure ne producono esse stesse in quantità superiore al necessario, oppure non producono fattori di differenziazione. Simili comportamenti hanno le cellule di quasi tutti i tumori.

Controllo biochimico della proliferazione cellulare

Quali sono le lesioni, i difetti biochimici che portano le cellule cancerose a questi comportamenti anomali? Le lesioni evidentemente riguardano un disordine nei meccanismi della divisione cellulare e nei segnali extra-

cellulari e intracellulari competenti al suo controllo. È utile quindi analizzare brevemente le caratteristiche molecolari e funzionali di tali meccanismi, prima nella cellula normale, poi nella cellula neoplastica, per poter cogliere le sostanziali differenze.

Nella fig. 3 sono riportati alcuni eventi biochimici cellulari, riassunti molto schematicamente per necessità di brevità e di chiarezza. L'analisi può iniziare dal prendere in considerazione i segnali extracellulari che innescano la proliferazione. Innanzitutto si conoscono molti fattori di crescita, per lo più di natura proteica, con specificità di tessuto più o meno marcate. Sono i cosiddetti growth factors, molti dei quali sono stati clonati e oggi sono anche prodotti mediante l'ingegneria genetica, essi sono andati ad aggiungersi alla serie di tradizionali ormoni con effetti stimolanti la crescita dei tessuti, quali quelli ipofisari, tiroidei e gonadici.

Un altro filone importante di studi ha messo in luce i fenomeni di membrana e intracellulari attivati da ormoni e fattori di crescita. Molti recettori per fattori di crescita hanno la parte carbossi-terminale della catena proteica intracitoplasmatica, dotata di attività protein-chinasica. Ciò significa che uno dei primi eventi che si verificano nella cellula che sta iniziando la divisione è la fosforilazione di proteine,

cioè l'incorporazione di gruppi fosforici su particolari aminoacidi (di solito, ma non esclusivamente, è coinvolto l'aminoacido tirosina negli eventi correlati alla proliferazione e alla cancerogenesi).

Che significato assume la fosforilazione di proteine? Il fatto è che l'incorporazione di fosfato in siti specifici cambia le cariche elettriche, la struttura e quindi l'attività della proteina bersaglio, nel senso che la rende capace di attivare qualche meccanismo replicativo a livello citoplasmatico (es. movimento del citoscheletro, sintesi proteiche) o nucleare (es. espressione di geni). Per altre vie biochimiche, la fosforilazione può interessare anche particolari fosfolipidi della membrana cellulare, quali il fosfatidil-inositolo, che hanno un importante ruolo nel processo di accoppiamento tra stimolo e risposta. Data la loro importanza, sui processi di fosforilazione si è concentrata molta attenzione negli ultimi anni, soprattutto dopo che è stato dimostrato che le cellule tumorali contengono grandi quantità di tirosina fosforilata. Vi sono molti tipi di protein-chinasi, associate direttamente al recettore o attivate indirettamente tramite una serie di reazioni a cascata che sono qui schematicamente rappresentate: G-proteine, attivazione di enzimi, quali adenilato ciclasi e fosfolipasi, e generazione di secondi messaggeri intracellulari.

Tra i secondi messaggeri gioca un ruolo di primaria importanza l'AMP ciclico (cAMP), sia perché è un attivatore di protein-chinasi (di tipo A), sia perché di per sé costituisce un segnale recepito da una proteina del nucleo strettamente collegata con la sintesi del DNA (cAMP-responsive element). Altri importanti eventi collegati alla attivazione della replicazione sono l'aumento di Ca^{++} , la depolarizzazione della membrana e la attivazione dell'antipolo Na^+/H^+ , con conseguente aumento di Na^+ intracellulare, alcalinizzazione del citoplasma e acidificazione del mezzo esterno. Una piccola minoranza di recettori, quelli per le piccole molecole idrofobiche quali gli ormoni steroidei o tiroidei, non necessitano di questi meccanismi di trasduzione, in quanto si trovano già nell'interno della cellula o addirittura già nel nucleo cellulare.

Vi sono svariate altre modificazioni biochimiche in relazione con l'attivazione cellulare, tra cui traslocazione di

proteine da un compartimento a un altro, acetilazioni o ADP-ribosilazioni di proteine, formazione di un'ampio spettro di derivati lipidici, parziale scissione di macromolecole, variazioni metaboliche del ciclo di Krebs, ecc... Alcune modificazioni sono transitorie e facilmente reversibili, altre sono di più lunga durata, o addirittura permanenti, costituendo quindi una sorta di "memoria" della storia biologica della cellula. Pare che molti fenomeni siano di natura oscillatoria, cioè presentino picchi di aumento e diminuzione a determinate frequenze (1). Lo spazio a disposizione non consente di analizzare ciascuna di queste modificazioni.

Recentemente si è cominciato a indagare anche i segnali di tipo non molecolare, ma elettromagnetico. Molti enzimi e molti recettori paiono sensibili a stimolazioni di tipo fisico, più che chimico (2-4). La membrana cellulare, grazie alle sue proprietà bioelettriche, è il sito dove più probabilmente si possono esercitare influenze di tale tipo (5), anche se possibili candidati sono anche le grandi macromolecole organizzate in unità ripetitive, come gli acidi nucleici (6), o le proteine del citoscheletro, in particolare i microtubuli (7). Vi sono evidenze che anche l'attività proliferativa cellulare sia influenzata da campi elettromagnetici, anche di intensità molto deboli (8-10).

Restando nell'ambito delle caratteristiche generali dei fenomeni illustrati in fig. 3, si può dire che essi hanno lo scopo di costituire un sistema di trasmissione, più precisamente detto di trasduzione, rete di segnali che va dai fattori di crescita esterni verso l'interno della cellula, cioè all'interno della centrale di comando, costituita dal nucleo cellulare. Non tutti i recettori attivano tutti i segnali intracellulari, essendovi "percorsi preferenziali" a seconda del tipo di recettore coinvolto. La rete di modificazioni biochimiche di membrana e del citoplasma, che risponde essenzialmente alle leggi della cibernetica, accoglie inputs attivatori, ma anche inibitori, serve a amplificare il segnale o a modularlo. La modificazione di un elemento del sistema ha ampie ripercussioni sugli altri elementi. A questo livello i sinergismi e gli antagonismi tra più fattori fanno sì che la trasmissione del segnale non sia mai un on/off drastico, un tutto o nulla, ma la instaurazione di modi di essere dinamici, di condizioni più o me-

no favorevoli alla crescita, che evolvono continuamente man mano che la stimolazione procede e interagisce con le condizioni genetiche e metaboliche della cellula. Tale interpretazione rende conto sia della molteplicità e varietà dei meccanismi biochimici descritti, che dei sinergismi tra le risposte proliferative innescate dai classici fattori di crescita e altri mediatori attivi in altri sistemi quali l'infiammazione e il metabolismo (bradichinina, trombina, insulina, ecc) (11).

La rete informativa di membrana e citoplasmatica, che come vedremo è sconvolta nel caso della neoplasia, porta segnali a livello del nucleo, dove i principali eventi molecolari sono quelli rappresentati nella fig. 4 (ovviamente, si tratta di una estrema semplificazione). I segnali che passano dal citoplasma al nucleo vanno a interagire con specifici fattori trascrizionali (A.P.: Protein Activator; R.P.: Protein Repressor) che a loro volta si legano a (A.P.) o si distaccano da (R.P.) specifiche sequenze del DNA, in una posizione a monte del promotore, cioè del punto di partenza della RNA polimerasi. La trascrizione dei geni implicati viene quindi attivata, si formano trascritti di RNA, che dopo opportuna maturazione divengono i messaggeri che governano la nuova sintesi di proteine che, a loro volta, in vario modo servono alla divisione cellulare (sintesi di DNA, formazione del fuso mitotico, ecc...). Tra le proteine regolative, hanno recentemente guadagnato un posto di primaria importanza le cicline (12), che sarebbero, come indica lo stesso nome, i fattori-chiave che danno il "ritmo" al ciclo cellulare.

Oncogeni e proto-oncogeni

Come si inserisce il problema della trasformazione neoplastica su questa serie di conoscenze riguardanti la proliferazione cellulare normale? Dai classici studi di epidemiologia e cancerogenesi sperimentale si sapeva da tempo che la cellula neoplastica presenta alterazioni sia a livello genetico (mutazioni) che a livello epigenetico (disordini biochimici e funzionali dei sistemi di controllo del gene). Però solo nell'ultimo decennio si è assistito a un drastico progresso nella interpretazione delle alterazioni genetiche e epigenetiche della cellula cancerosa,

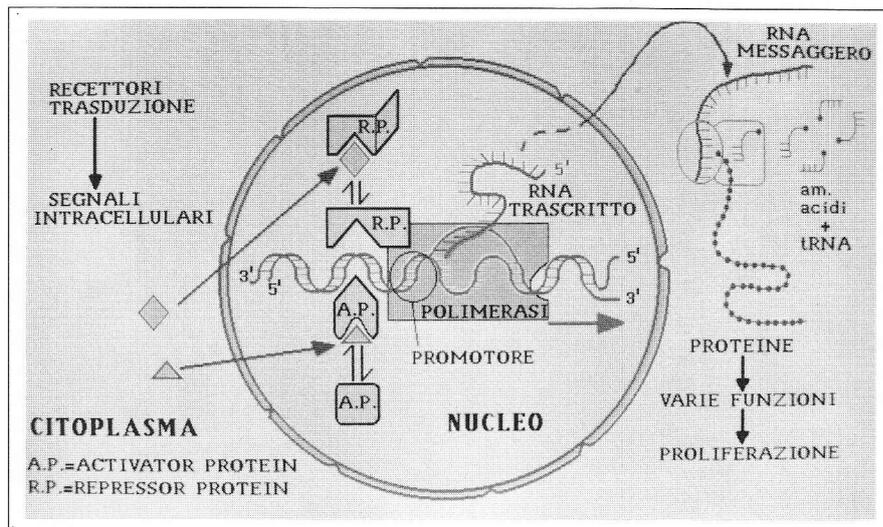


Fig. 4: Alcuni eventi biochimici nel nucleo dipendenti da segnali intracellulari.

dovuto essenzialmente alle tecniche di biologia molecolare, che hanno consentito la scoperta degli oncogeni e dei loro prodotti. Infatti dalla nozione generica che i cancerogeni provocavano danni al DNA si è passati alla identificazione dei bersagli precisi di tali danni e alla loro caratterizzazione, in pratica si sono identificati i geni malati nel tumore. Su circa 30.000 geni presenti nel nostro genoma, solo qualche decina pare possano essere direttamente coinvolti nella cancerogenesi (13, 14). Questi geni sono stati appunto denominati oncogeni. La cellula neoplastica contiene in forma attiva, cioè esprime il suo contenuto informativo, uno o più oncogeni (per rassegne sul tema, v. 13-21). In genere, essi prendono un nome in forma di sigla di tre lettere, derivato dal tumore in cui sono stati inizialmente identificati.

La storia di queste scoperte deve molto anche alla virologia, perché è stato nei virus oncogeni che si è avuta la prima dimostrazione che particolari sequenze di DNA (o di RNA) possono rappresentare l'elemento determinante della trasformazione in senso neoplastico. In realtà, gli oncogeni virali per un lungo periodo sono stati sottovalutati nella loro importanza, soprattutto sulla base della argomentazione che pochissimi tumori umani hanno una origine sicuramente virale.

Un enorme passo avanti anche di tipo concettuale è stata quindi la di-

mostrazione, ottenuta mediante tecniche di ibridazione degli acidi nucleici, che gli oncogeni virali avevano delle sequenze omologhe anche nelle cellule normali. Gli oncogeni virali (v-onc) hanno permesso di "smascherare" gli oncogeni cellulari (c-onc). Ciò significa che gli oncogeni nella maggior parte dei tumori umani non sono dei geni totalmente anomali, non sono geni ad esempio introdotti dai virus nella cellula, che sarebbe la vittima quasi di un parassitismo molecolare, ma sono geni che hanno un corrispettivo normale in tutte le cellule. Gli oncogeni, cioè, derivano dalla trasformazione di geni importanti nella funzione di tutte le cellule. Tali geni normali sono stati quindi chiamati, con un termine non molto felice, proto-oncogeni. Il termine proto-oncogeni non è molto felice perché si è visto che essi sono benefici, essendo attivi in vari momenti della vita della cellula ed essenziali per la sua attività e per la sua replicazione. Si tratta di geni molto conservati nell'evoluzione e presenti praticamente in tutte le cellule degli eucarioti.

Da quanto detto, nascono due domande fondamentali:

- 1) Come un proto-oncogene può diventare oncogene.
- 2) Come l'oncogene provoca la trasformazione in senso neoplastico di una cellula precedentemente normale.

Come un proto-oncogene diventa oncogene? Si tratta dell'evento fondamentale, la "conditio sine qua non" per la insorgenza del cancro. Mentre era noto già dalle evidenze epidemiologiche e sperimentali che tale evento è legato alla mutazione del codice genetico indotta da agenti cancerogeni di vario tipo, la teoria degli oncogeni ha consentito di fare chiarezza su alcuni aspetti di come ciò possa avvenire. Un concetto è molto chiaro: il proto-oncogene diventa oncogene per opera degli agenti cancerogeni. È l'evento della "trasformazione" a livello genetico, che basta avvenga una volta per essere poi trasmessa a tutte le cellule figlie. Per questo è anche detta "iniziazione".

I principali agenti cancerogeni sono riportati nella tab. 1. Ovviamente, qui si sono considerate solo le categorie generali dei cancerogeni, in quanto le molecole con attività cancerogena e/o mutagena sono nell'ordine delle centinaia. L'estrinsecarsi o meno della azione trasformante del cancerogeno dipende sia dalla dose e dalla durata dell'esposizione, sia da fattori legati all'organismo, quali ad esempio le capacità di de-tossificazione e eliminazione del cancerogeno e le capacità dei sistemi cellulari di riparazione del DNA. Non va però dimenticato che

10%: Componenti ereditarie
Mutazioni spontanee
90%: Fumo
Inquinamento atmosferico
Agenti cancerogeni negli alimenti
Dieta ricca di carni e grassi e povera di fibre e fattori anti-ossidanti
Virus oncogeni (DNA e RNA)
Radiazioni eccitanti e ionizzanti
Radioisotopi
Farmaci citostatici
Radicali liberi

Tab. 1: Sorgenti di fattori iniziatori (o cancerogeni)

molte sostanze esogene diventano mutagene e quindi cancerogene a seguito di particolari conversioni metaboliche che si attuano nell'organismo e le rendono attive. La caratteristica comune delle sostanze cancerogene è di avere una regione della molecola fortemente elettrofila (di solito attorno a atomi di

carbonio o azoto), capace quindi di reagire con i centri nucleofili, ricchi di elettroni non condivisi, presenti in varie posizioni del DNA (es. posizione 6 della guanina, gruppo fosforico dei legami zucchero-fosfato-zucchero).

La modifica dell'informazione genetica, connessa al momento della trasformazione del proto-oncogene in oncogene può consistere in diverse eventualità, sul piano molecolare:

a) Classica mutazione puntiforme, con delezione o sostituzione di una o più coppie di basi con altre errate, ottenendosi quindi una proteina con diversa sequenza aminoacidica. Ciò ad es. è stato osservato già a proposito dei primi oncogeni caratterizzati, come il src, e in molti tumori umani con mutazioni del proto-oncogene ras (qualche caso di carcinoma della vescica, 10-20% delle leucemie mieloidi acute, circa il 30% dei carcinomi colon-rettali e addirittura nella maggior parte dei carcinomi del pancreas esocrino).

b) Traslocazione del proto-oncogene in un sito del DNA dove cade sotto il controllo di sequenze enhancers o promotori virali ("mutagenesi inserzionale") o di un promotore cellulare molto attivo e quindi viene esso stesso attivato in modo eccessivo. È il caso dell'oncogene myc nel 90% dei linfomi tipo Burkitt e in alcuni casi di linfoma a cellule T (traslocazione tra cromosoma 8 e 14), nonché dell'oncogene bcl in molti altri linfomi (traslocazione tra cromosoma 14 e 18).

c) Una particolare variante di questo problema legato alla traslocazione si ha quando l'oncogene subisce per traslocazione la fusione con un altro gene strutturale, con formazione quindi di una proteina ibrida, o chimerica, anomala (es. bcr/abl nel classico cromosoma Filadelfia della leucemia mieloide cronica, con traslocazione tra cromosoma 9 e 22, ma si è visto che ciò può avvenire anche in 10-20% dei casi di leucemia linfatica acuta).

d) Aumento delle copie del proto-oncogene per errata duplicazione del DNA (amplificazione) o per inserzione di varie copie di oncogeni retrovirali (retrovirus acutamente trasformanti). La amplificazione dell'oncogene myc è stata osservata in casi sporadici di leucemia promielocitica, di cancro del polmone e dello stomaco,

mentre una variante particolare del myc, detta N-myc si osserva amplificata nella maggior parte dei neuroblastomi. L'amplificazione dell'oncogene erb-B è stata descritta nel 10-30% dei casi di cancro della mammella, e a tale caratteristica si associa una cattiva prognosi.

In sintesi, il proto-oncogene diventa oncogene o quando ne è alterata la sequenza nucleotidica, o quando ne è eccessivamente attivata la trascrizione, o quando ne è aumentata la quantità in termini di materiale genetico. Le varie possibilità non si escludono ma possono coesistere.

I prodotti degli oncogeni

Veniamo quindi alla seconda questione: cosa fanno gli oncogeni? Perché sono così dannosi o pericolosi una volta attivati? Per rispondere a questa domanda è stato fondamentale identificare i prodotti degli oncogeni. Non è sufficiente conoscere l'oncogene e la sua sequenza nucleotidica per sapere che cosa fa, perché il ruolo di un certo gene è strettamente legato alla proteina da esso codificata e alle attività o funzioni della proteina stessa. La decifrazione del significato molecolare degli oncogeni ha riservato grandi sorprese e anche ha sollevato nuovi problemi, come sempre succede.

Nella fig. 5 sono schematicamente rappresentati alcuni tra i principali

prodotti degli oncogeni. Si tratta di proteine che vanno a localizzarsi sulla membrana, o nel citoplasma, o nello stesso nucleo a stretto contatto con il DNA. Ma più che la localizzazione è interessante evidenziare la funzione che i prodotti possono avere nella biochimica della cellula che li produce. Infatti si è visto che alcune proteine sono molto simili a dei recettori per i fattori di crescita (ad es. i prodotti degli oncogeni erb-B e fms hanno omologie rispettivamente con i recettori per il fattore di crescita dell'epidermide, EGF, e con il colony-stimulating factor-1, CSF-1). Questo tipo di recettori sono però "troncati", cioè mancano della parte che si lega al fattore di crescita, e quindi si pensa che siano dis-regolati, in pratica mandino segnali proliferativi anche in assenza del legittimo ligando. I segnali proliferativi sono essenzialmente legati alla attività enzimatica tirosin-chinasica che questi recettori anomali hanno mantenuto e esprimono in maniera inopportuna. Anche altri oncogeni (src, abl, fps, mos) codificano per protein chinasi, che non sono però associate a recettori, ma la cui attività ha conseguenze analoghe alle precedenti. Altri oncogeni producono recettori intracellulari, come ad esempio l'erb-A, il cui prodotto ha omologia con il recettore per gli ormoni tiroidei.

Vi è poi una classe di oncoproteine (correlate ai geni ras) di diverso tipo, e che hanno forte omologia con le G-proteine, che abbiamo prima consi-

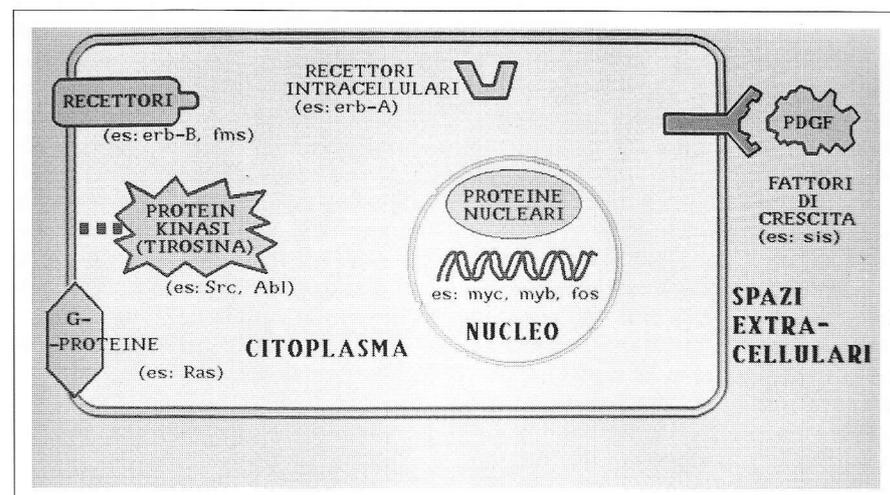


Fig. 5: Principali classi di proteine codificate e prodotte da oncogeni. PDGF: platelet-derived growth factor.

derato come importanti intermedi nella trasmissione del segnale transmembrana. È facile immaginare come la presenza quantitativamente o qualitativamente abnorme di tali proteine incorporate nella membrana di una cellula ne possa alterare il sistema informativo a tal punto da impartire ordini proliferativi totalmente anomali.

Un ulteriore e interessantissimo aspetto della oncogenesi è venuto in luce quando si è visto che alcuni oncogeni producevano proteine omologhe a fattori di crescita (ad es. il sis ha sequenze comuni con il platelet-derived growth factor, PDGF, e il hst con il fibroblast growth factor, FGF): in questo caso il meccanismo della cancerogenesi si spiega, almeno in parte, con il fenomeno della autocrinia: il clone di cellule trasformate si rende indipendente da altri fattori di crescita esogeni e si autosostiene nella crescita, anzi, più le cellule crescono e più fattore di crescita è disponibile.

Infine, un diverso tipo di oncogeni (tipo myc, myb, fos, jun) hanno come prodotti proteine che si localizzano nel nucleo cellulare, dove svolgono un ruolo decisivo nel controllo della mitosi (ad esempio, l'oncogene fos codifica per il fattore trascrizionale A.P.-1). Che ciò sia vero è dimostrato anche dal fatto che i proto-oncogeni correlati (cioè le versioni "benigne" di questi oncogeni nucleari) sono in grande attività nelle cellule in rapida crescita dell'embrione e nelle cellule blastiche del midollo osseo, nonché ogni volta che una qualsiasi cellula normale riceve un trattamento con fattori di crescita.

Dato che le ricerche sono in grande sviluppo, c'è da aspettarsi che altre proprietà delle proteine degli oncogeni vengano rapidamente messe in luce. Ad esempio, una recentissima scoperta (22) indica che un oncogene implicato nei linfomi (bcl-2) codifica per una proteina che inibisce la cosiddetta "morte cellulare programmata" (un sistema ancestrale che limita la durata della vita cellulare): le cellule tumorali con questo oncogene avrebbero quindi vita più lunga delle cellule normali, spiegando anche in tal modo l'aumentato numero e il vantaggio selettivo delle cellule trasformate.

Riassumendo, la cellula neoplastica si caratterizza per avere uno o più dei sistemi di regolazione alterato in senso qualitativo (cioè si tratta di una proteina anomala, pur con somiglian-

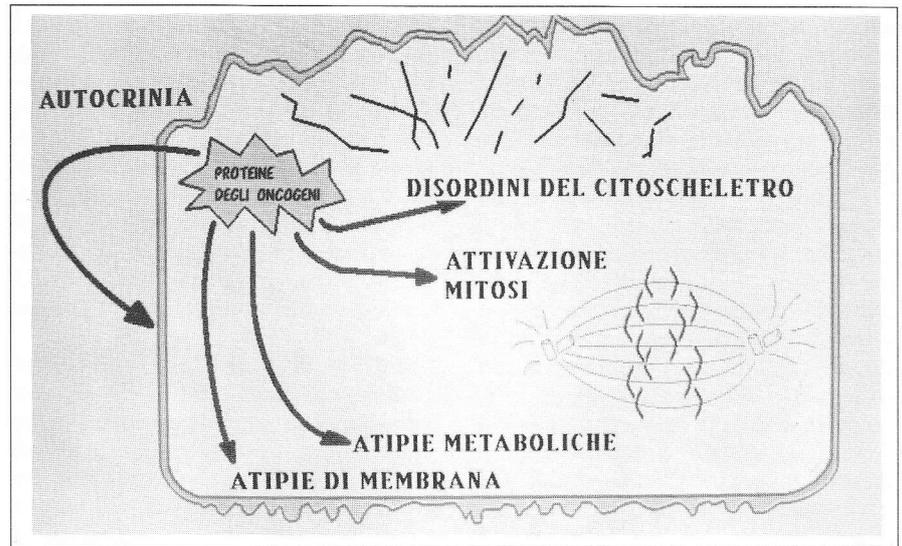


Fig. 6: Alterazioni fenotipiche della cellula neoplastica determinate dalle proteine degli oncogeni.

ze con la controparte normale) e/o quantitativo (cioè si tratta di una proteina rappresentata in quantità esorbitante rispetto al normale). Tutto ciò porta ai caratteristici fenotipi delle cellule cancerose. La fig. 6 mostra una possibile interpretazione delle conseguenze che una simile dis-regolazione può avere sulla cellula e quindi illustra perché la cellula cancerosa è morfologicamente, biochimicamente e funzionalmente diversa da una normale. Si potrebbero quindi avere molte e svariate atipie cellulari, di cui alcuni esempi sono i seguenti:

- Fosforilazione abnorme di proteine del citoscheletro, fatto che produce un collassamento delle strutture che danno alla cellula normale morfologia.
- Alterazioni delle placche di adesione tra cellula e cellula e tra cellula e matrice del connettivo, con possibile distacco e disseminazione metastatica.
- Alterazioni delle caratteristiche di superficie con possibile innesco di una risposta immunitaria contro il tumore.
- Alterazioni di varie vie metaboliche, con aumentato consumo di ossigeno e di sostanze nutritive e diminuita produzione di energia, oppure riduzione dei sistemi normali di difesa dai radicali tossici dell'ossigeno e di riparazione delle lesioni al DNA, con

possibile incremento del rischio di nuove mutazioni;

e) Possibile produzione e rilascio di sostanze con effetti sulla stessa cellula (autocrinia) o a distanza (produzione ectopica di ormoni).

f) Come già detto, uno sconvolgimento del fine sistema di rapporti tra proteine e DNA che nel nucleo regola la divisione cellulare.

Nel quadro della patologia molecolare del cancro non va trascurato di menzionare un altro grosso filone di ricerca che riguarda l'esistenza di geni che contrastano lo sviluppo della neoplasia. Tali geni sono perciò detti anti-oncogeni, o geni soppressori, o oncogeni recessivi (23-26). Essi sono stati scoperti a seguito dell'osservazione che in alcuni tumori (retinoblastoma, tumore di Wilms, neuroblastoma, adenomatosi del colon, ma oggi pare che ciò avvenga in molti altri casi), che fra l'altro si possono presentare già nelle prime età della vita, sono associati alla mancanza di geni, a volte visibile come vere e proprie delezioni di parti di cromosoma. Se la mancanza di particolari geni provoca il cancro, si è dedotto che tali geni sono importanti nell'inibire la neoplasia. La prova diretta è stata che se mediante ingegneria genetica (o formazione di cellule ibride tumore-sane) si re-introduce il

gene difettoso, il fenotipo neoplastico scompare. Nonostante l'importanza di questi geni sia enorme, ancora poco si conosce della loro precisa funzione nel controllo della crescita cellulare. È interessante il fatto che recentemente è stata segnalata la delezione del gene per l'interferone- α in alcune leucemie (27), fatto che suggerisce che tale citochina potrebbe essere il prodotto di un gene soppressore. Sembra logico prevedere che i prodotti degli anti-oncogeni entrino nella stessa rete informativa sopra considerata, contrastando l'effetto dei prodotti degli oncogeni (o dei proto-oncogeni), ad esempio mediante de-fosforilazione di proteine (fosfatasi) o degradazione di secondi messaggeri come cAMP (fosfodiesterasi). Come si osserva in molte altre situazioni fisiopatologiche, il controllo della proliferazione costituisce un equilibrio omeostatico tra due gruppi di fattori opposti che si controllano reciprocamente, e tale equilibrio si sposta in uno dei due sensi sia per l'eccesso di un elemento che per il difetto di quello contrastante.

I fattori promoventi (o co-cancerogeni)

Dopo aver esaminato il meccanismo della trasformazione a livello dell'oncogene ci si può chiedere: è sufficiente la trasformazione di un proto-oncogene in oncogene per provocare il cancro? La risposta è certamente negativa: la trasformazione della cellula normale in cellula neoplastica e la successiva espansione del clone mutato nella forma di una vera e propria neoplasia non sono quasi mai il risultato di un singolo evento molecolare. Le evidenze sperimentali dimostrano chiaramente che non è sufficiente la trasformazione di un proto-oncogene in oncogene perché si determini il cancro. Perché un tumore si sviluppi, a partire dalla cellula trasformata, sono necessari anche altri eventi biologici a livello "epigenetico", eventi legati alla azione dei cosiddetti "tumor promoters" (fattori promoventi), detti anche fattori co-cancerogeni.

Tali fattori non agiscono direttamente a livello del patrimonio genetico, ma a livello di tutta quella serie di reazioni che condizionano l'espressione dei geni implicati nella proliferazione e le attività degli enzimi impli-

cati nel processo di divisione cellulare. Rifacendosi a una immagine automobilistica si potrebbe dire che se il fattore cancerogeno ha acceso il motore (oncogene), e può avere anche ingranato la marcia (proteina anormale), i co-cancerogeni premono sull'acceleratore per partire. In loro assenza, la cellula potrebbe in teoria restare ferma o anche degenerare e quindi scomparire senza aver dato origine a una progenie. La tab. 2 riporta una serie di sostanze con possibile azione promovente.

Gli agenti promoventi classici includono sostanze varie di origine prevalentemente vegetale o di sintesi chimica: esteri di forbolo e diterpeni collegati, alcaloidi indolici come la teleocidina, l'acido iodacetico, il fenolo, l'olio di cedro, alcuni detergenti, il n-dodecano, ecc. Il loro meccanismo d'azione è oggetto di attive ricerche e si è dimostrato, come era prevedibile, molto complesso e variabile da tipo a tipo. Il co-cancerogeno più paradigmatico è il TPA (un principio attivo dell'olio estratto dai semi di *Croton tiglium*), che grazie alla sua idrofobicità e alla sua somiglianza strutturale

con dei mediatori fisiologici, agisce legandosi alla protein-chinasi C, attivandola, e quindi agendo in sinergia con altri eventi attivatori che abbiamo sopra considerato. Il trattamento delle cellule con TPA causa la fosforilazione di molte proteine e l'innescamento di svariate risposte metaboliche. Di per sé ciò non provoca la comparsa del fenotipo neoplastico in una cellula normale, ma se il trattamento è effettuato su cellule (o animali da esperimento) precedentemente trattati con un cancerogeno (ad esempio benzopirene, o radiazioni ionizzanti), si ha la comparsa del tumore con una probabilità significativamente superiore che nelle cellule di controllo. Un'altra sostanza ad azione promovente, l'acido okadaico, probabilmente esercita i suoi effetti mediante inibizione di fosfatasi, enzimi che, come si è visto, costituiscono una specie di equilibrio omeostatico con le chinasi. Anche i campi elettromagnetici a bassa frequenza possono avere effetto promovente, forse per interferenza con l'omeostasi intracellulare del calcio ione (28). Vi sono indicazioni che l'esposizione a campi elettromagnetici di bassa frequenza aumenta il rischio di essere colpiti da leucemia, ma il dato è ancora oggetto di discussioni (29, 30).

Anche se il meccanismo d'azione di vari promoventi è ancora oggetto di studio, pare chiaro che essi non fanno che inserirsi nella rete attivatrice informativa che si è sopra considerata, mimando sostanzialmente alcune azioni di sostanze fisiologiche (a volte con effetti più marcati e duraturi). Per questo, sembra logico includere nella tabella dei composti con attività promovente anche molti altri agenti, come ormoni, fattori di crescita, anche neuropeptidi (31). Vi sono evidenze che persino mediatori con funzioni "tradizionali" completamente diverse (catecolamine, serotonina, angiotensina) possano, in particolari circostanze, fungere da fattori di crescita (20). Anche in questo caso ha grande importanza lo "stato" di sensibilità e di predisposizione di una cellula, a partire dalla presenza degli adatti recettori, fino alla sussistenza di condizioni favorevoli alla espressione di particolari vie di trasduzione, per precedenti o concomitanti condizionamenti da parte di fattori di tipo farmacologico o ormonale. Ad esempio una ampia serie di agenti agonisti e antagonisti che influenzano il livello intracellulare di

Sostanze varie:

lectine
esteri del forbolo
mezereina
acido okadaico
esotossine batteriche
fenolo

Ormoni:

Estrogeni
Tiroidei
Insulina

Fattori di crescita:

PDGF (platelet derived g.f.)
EGF (epidermal g.f.)
IGF (insulin-like g.f.)
FGF (fibroblast g.f.)
TGF (transforming g.f.)
Alcune citochine

Neuropeptidi:

Bombesina
Vasopressina
Bradichina
VIP (vasoactive intestinal peptide)

Prostaglandina E

Campi elettromagnetici di bassa frequenza

Tab. 2: Alcuni agenti che potrebbero agire da promoventi.

cAMP o della attività della protein chinasi C possono comportarsi da promotori della crescita, sia della cellula normale che, tanto più, della cellula trasformata. La crescita del clone cellulare è sempre più o meno condizionata da tali fattori, anche se gli effetti possono essere molto diversi a seconda del tipo di cellule in questione, del tipo di oncogeni coinvolti, del tipo di recettori presenti. Agenti che si comportano da co-cancerogeni su alcune cellule potrebbero comportarsi da fattori inducenti la differenziazione, quindi in pratica degli anti-cancerogeni, in altre cellule.

Va sottolineato il fatto che, se un effetto promovente può essere esercitato da svariate sostanze endogene, è da rivalutare l'importanza del fattore "terreno" su cui si sviluppa la malattia cancerosa. Pare legittimo quindi chiedersi quale "contributo" l'organismo ospite dia alla crescita del tumore, se cioè possa giocare un ruolo permissivo o addirittura, in particolari condizioni, incentivante.

È chiaro che un certo "aiuto" viene al tumore dall'ospite con la fornitura dell'impianto connettivale, della rete vascolare e dei substrati energetici, ma è probabile che l'aiuto possa consistere anche di particolari mediatori biochimici.

La progressione

Fattori cancerogeni e co-cancerogeni (o promoventi) portano a un progressivo complicarsi della situazione biologica del tumore (fig. 7). Si è visto che in realtà nei tumori sono attivati più oncogeni nella stessa cellula, e che vi è una progressione di malignità in relazione al numero di oncogeni che sono attivati. Nuove mutazioni a livello genetico insorgono, magari favorite da una riduzione dei sistemi di difesa e di riparazione, nuove spinte alla disorganizzazione cellulare compaiono, magari a seguito dell'esprimersi in maniera inappropriata anche di geni normali, o per riduzione delle capacità delle cellule immunitarie per effetto di sostanze rilasciate dal tumore stesso. Se si esaminano le cellule di un tumore, si riscontrano molteplici atipie biochimiche e spesso è difficile stabilire se esse siano direttamente legate alla trasformazione o siano alterazioni secondarie ad essa.

Nella progressione neoplastica gioca un ruolo fondamentale il fatto che i successivi errori generano una certa eterogeneità nella popolazione di cellule proliferanti, tale per cui alcuni cloni, con caratteristiche che permettono una migliore resistenza ai sistemi di difesa e ai farmaci, possono prendere via via il sopravvento. La malignità del tumore tende quindi sempre ad aumentare.

La fig. 8 riassume schematicamente la storia naturale di un tumore. La teoria degli oncogeni consente una visione unitaria del processo della cancerogenesi, dove agenti mutageni, virus, agenti promotori e fattori regolatori endogeni interagiscono a livello di recettori, di sistemi di trasduzione e di informazione genetica. In relazione a questo modello, la crescita della neo-

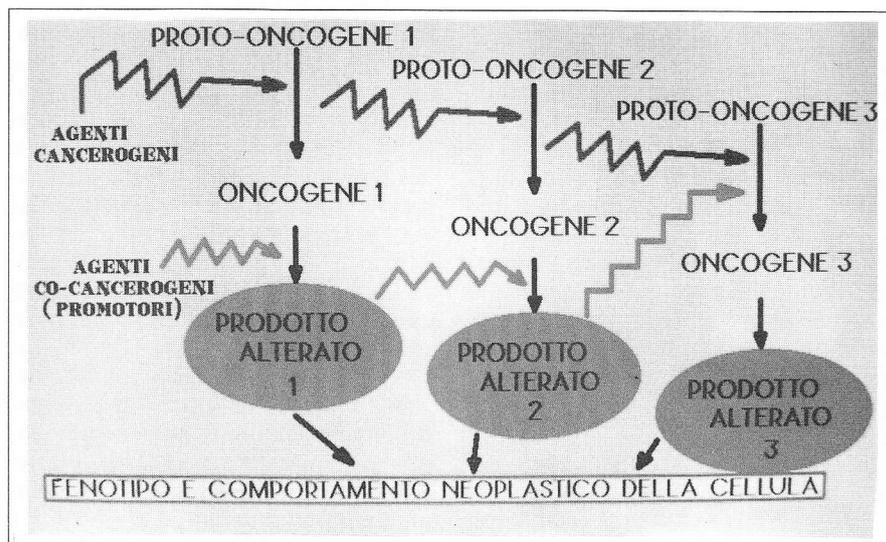


Fig. 7: Cascata di eventi biologici nella cellula neoplastica. Si ipotizza che il fenotipo neoplastico dipenda da varie trasformazioni di proto-oncogeni in oncogeni e che i prodotti degli oncogeni possano a loro volta favorire sia la trasformazione che l'espressione di altri oncogeni.

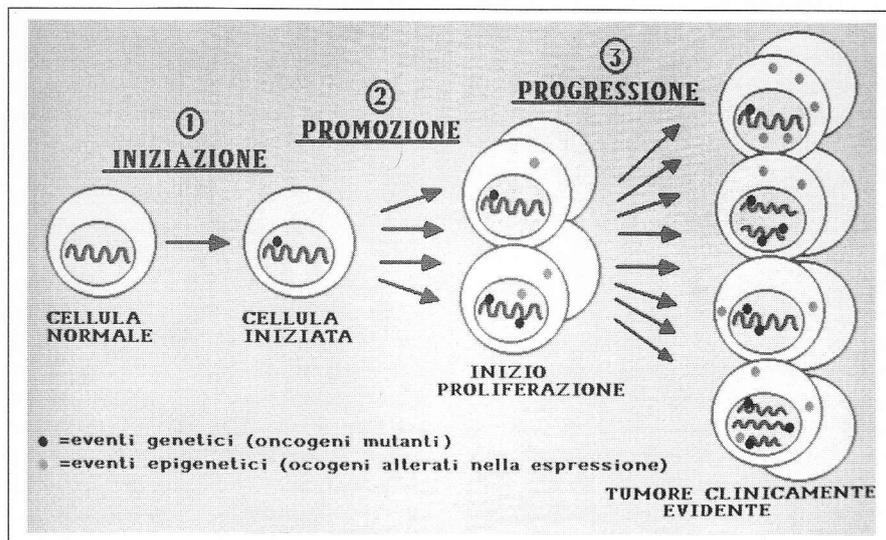


Fig. 8: Modello della cancerogenesi a multistadi.

plasia non appare come un evento del tipo "tutto o nulla", ma come un progressivo accumularsi di errori informativi che portano le cellule a livelli di atipia, quindi di malignità, sempre più accentuati. È vero che clinicamente il tumore può rendersi manifesto anche all'improvviso, ma la sua storia biologica risale a molto tempo prima. Questo concetto è in accordo con la teoria della crescita multi-stadi del tumore, già sviluppata sulla base di solide evidenze sperimentali in era pre-oncogeni, e ora accettata da tutti (33, 34).

"In vivo" la situazione è complicata anche per molti altri motivi: a prescindere da tutto il grosso problema delle reazioni immunitarie – argomento che richiederebbe trattazione a sé per la sua importanza – vi sono molti altri fattori locali (ossigenazione del tessuto, mobilità dell'organo, costituzione biochimica della sostanza fondamentale del connettivo, fattori legati alla compressione o alla erosione di organi vicini) e generali (metabolismo energetico, mediatori bio-umorali, cachessia, ormoni, farmaci, ecc.) che condizionano la progressione del tumore.

Di particolare rilevanza appare essere la problematica dei rapporti tra infiammazione e cancro. L'infiammazione, come molti altri processi fisiopatologici, presenta due facce, due caratteri di segno opposto: da una parte costituisce un fondamentale meccanismo difensivo, che innesca i processi di reazione di leucociti contro il tumore (citotossicità), dall'altra parte può rappresentare un danno per l'ospite, sia per gli eventi distruttivi che possono coinvolgere il tessuto coinvolto e eventualmente tutto l'organismo (vedi il fenomeno della cachessia, dovuto principalmente alla azione di citochine di origine leucocitaria e macrofagica, come IL-1, IL-6 e TNF), sia perché – ed è questo il problema più strettamente legato alla cancerogenesi – potrebbe essere implicata nella trasformazione e nella promozione cellulare. Infatti il focolaio infiammatorio è un buon "terreno di coltura" per cellule quali leucociti, endoteli, fibroblasti ed anche epiteli, grazie alla secrezione di appositi fattori di crescita. Ciò è particolarmente vero nei casi in cui l'infiammazione non procede speditamente verso la guarigione con "restitutio ad integrum", riassorbimento dell'essudato, inattivazione dei mediatori per lisi o ossidazione, cessazione della

chemiotassi leucocitaria. Nella flogosi è facile che si verifichino sinergismi tra sostanze che hanno dimostrato attività mitogenica, come EGF, insulina e IGF, bradichinina, endotelina, persino neuropeptidi, che, come è noto, vengono rilasciati nella sede di una lesione tissutale. Inoltre nella reazione flogistica è innescata la produzione di radicali tossici dell'ossigeno da parte dei fagociti (35, 36): I radicali possono avere vari effetti in dipendenza della dose e dell'attività di specifici enzimi o sostanze "scavenger". A basse dosi i radicali dell'ossigeno non hanno alcun effetto perché sono rapidamente degradati, a alte dosi hanno effetti essenzialmente citotossici (anche nei confronti delle cellule tumorali) e distruttivi sulle macromolecole del connettivo, a dosi intermedie hanno effetti sia genetici (mutazioni) che epigenetici (attivazione di protein chinasi e di altri enzimi tra cui la poli-ADP ribosil-transferasi), potendosi quindi comportare sia da cancerogeni che da promoventi (37). Quindi nel focolaio infiammatorio (particolarmente in quello cronico dove gli eventi istogenetici sono più marcati) potrebbero coesistere in equilibrio instabile fenomeni anti-tumorali e fenomeni cancerogenetici. Di fatto, la comparsa di displasie, metaplasie e neoplasie sovrappontenti a flogosi croniche, particolarmente a livello broncopolmonare, gastrointestinale e epatico, siti dove facilmente si localizzano anche agenti cancerogeni, è un fenomeno ben noto.

D'altra parte, l'infiammazione di tipo acuto, con fenomeni forti ma di breve durata (ipersensibilità immediata, febbre, forte produzione di citochine, reazioni vascolo-essudative) rappresenta un processo dinamico in cui l'equilibrio instabile di cui si è parlato è spostato verso la citotossicità, verso il rigetto del tumore, verso la attivazione delle difese più che verso la proliferazione cellulare. Vi sono evidenze epidemiologiche che gli individui allergici (e l'allergia si manifesta con una tipica forma di infiammazione acuta) siano meno affetti da tumori rispetto ai non allergici (38). Si potrebbe notare anche che, per tornare a una notazione di biologia cellulare, gli agenti farmacologici che causano aumento di cAMP provocano depressione della risposta infiammatoria, mentre malattie infiammatorie come ad esempio l'asma presentano una dimi-

nuita risposta beta-adrenergica e quindi cAMP mediata. Vista l'importanza del cAMP nella proliferazione cellulare e i rapporti tra i nucleotidi ciclici e il sistema neuro-ormonale, queste correlazioni paiono suggestive.

Si deve infine considerare che la progressione del tumore è condizionata dall'interazione tumore-ospite anche nel senso che il tumore stesso, man mano che cresce, influisce in vario modo sull'organismo, sia attraverso la disseminazione metastatica che attraverso il rilascio di prodotti solubili, provocando alterazioni dirette o indirette a organi vicini e lontani, incluso il sistema nervoso.

Si generano quindi situazioni di danno organico e di disorganizzazione bio-umorale di grande complessità e di grande varietà.

Cancro e informazioni

Il problema di fondo, che condiziona la comprensione della patogenesi della malattia neoplastica e soprattutto della sua progressione, è fondamentalmente lo stesso che riguarda tutta la patologia: le anomalie, oggi facilmente oggettivabili, sul piano organico e biochimico (anomalie molecolari, cellulari, enzimatiche, istologiche, anatomiche, ecc.) sono solo un aspetto, pur essenziale, della questione. Quando si tratta di problemi riguardanti la biologia, cioè la scienza della vita, esiste un altro livello da considerare: la proprietà peculiare degli esseri viventi non è né la materia, né l'energia (esse possono appartenere anche in maggior quantità al mondo non vivente), ma è l'organizzazione della informazione in un processo dinamico (39). Le molecole informative per eccellenza sono gli acidi nucleici, con i quali ha avuto appunto inizio la vita sulla terra (40), ma tutte le molecole hanno un contenuto informativo, dipendente non tanto dalla massa, quanto dall'ordine in cui sono disposti i loro elementi costitutivi (nucleotidi, aminoacidi, zuccheri, atomi, ecc.), dalla conformazione spaziale che assumono, dalla disposizione di cariche elettriche e altre forze fisico-chimiche. L'informazione ha "significato" a seconda della possibilità di essere trasportata e trasmessa a uno specifico sistema ricevente, nel quale si provoca un effetto (stimolatorio, inibitorio o regolati-

vo). È noto che diverse conformazioni di una stessa molecola possono avere significati, quindi effetti, diversi. Passando dal piano molecolare a quello dei sistemi più complessi, il concetto non cambia: gli esseri viventi e in salute sono caratterizzati da un alto livello di ordine informazionale, garantito nel tempo dall'esistenza di cicli di retroazione omeostatici e dal flusso della variazione di entropia con l'ambiente (44). Le malattie quindi sono fondamentalmente un aumento del disordine del sistema e/o dei suoi sotto-sistemi particolari, per cui i cicli di retroazione non riescono a riportare il sistema allo stato di partenza. La perturbazione può essere reversibile o irreversibile (morte cellulare o dell'intero organismo (41)).

Stando così le cose, le difficoltà per "capire" le dinamiche di un processo patologico si moltiplicano, in quanto i sistemi coinvolti sono in continuo scambio di informazioni con altri sistemi omeostatici complessi (es. sistema immunitario, emopoietico, endocrino, rete delle citochine, ecc.), che a loro volta, posti in uno stato di disordine da agenti esterni, reagiscono divenendo causa di altre alterazioni più o meno reversibili.

Se il problema del cancro si imposta sul piano della "patologia dell'informazione" emergono alcuni interessanti corollari, che qui sono presentati in forma speculativa e preliminare.

1) La diagnostica tradizionale, intesa come osservazione e definizione dello stato della malattia (sede e stadio del tumore, tipo istologico, ecc.) rischia di non cogliere tutto lo spessore del disordine informazionale che sta "dietro" ad ogni singolo caso. La "raccolta di informazioni" dovrebbe valorizzare maggiormente tutti quegli elementi che possono indirizzare sul livello eziopatogenetico della malattia, dal piano molecolare a quello igienico-ambientale. Potrebbe quindi essere importante, ad esempio, approfondire lo studio di problematiche quali:

- quali e quanti oncogeni sono stati coinvolti, in quanto si potrebbe pensare che l'attivazione di una certa serie di oncogeni comporti la sensibilità a certi particolari fattori di differenziazione (questo potrebbe essere eventualmente provato prima su colture cellulari), mentre gli stessi fattori potrebbero non avere nessun effetto o essere addirittura con-

troproducenti in presenza di attivazione di altri oncogeni;

- quali ormoni o fattori di crescita potrebbero essere dis-regolati, e se esiste uno stato di depressione delle difese immunitarie o deficit di produzione di interferoni;
- a quali agenti cancerogeni o promozionali il paziente è esposto (compreso fumo, dieta, droghe, farmaci, radiazioni a campi elettromagnetici), se esistono fattori di rischio alimentari, inclusi dieta povera di fibre e vitamine A, C, E.;
- se sono presenti stress psicosociali o caratteristiche psicologiche o neuro-endocrine simili alla "personalità di tipo C" (42) (frustrazioni familiari precoci, negazione dei conflitti emotivi, riduzione di comunicazione con l'ambiente, fantasie distruttive, ecc.) o traumatiche esperienze familiari precoci, che si è visto costituire un "fattore di rischio" per il cancro (42).

2) L'informazione si accumula e si comunica per vie "molecolari" (es. ligando-recettore nel modello classico, DNA-RNA, aumento di cAMP, ecc...), ma anche non molecolari, o metamolecolari, vie che col livello molecolare hanno varie interfacce, pur non riducendosi ad esso (es. variazioni di potenziale elettrico di membrana, campi elettromagnetici, incluso luce e onde e.l.f., suoni, incluso la comunicazione verbale e le relazioni interumane, ecc.). Anche la regolazione di varie funzioni cellulari può dipendere da scambi di informazioni e livelli organizzativi biologici ma non puramente molecolari (43). Pur ribadendo che queste considerazioni sono di carattere preliminare e ipotetico, non si può trascurare l'interesse che potrebbero avere gli studi sulle capacità dell'organismo umano di ricevere, modificare e trasmettere onde elettromagnetiche (44-46), e le applicazioni di tecnologie bio-elettroniche (sostanzialmente derivate dalla elettroagopuntura e tecniche correlate), che sfruttano il fatto che tali capacità paiono perturbate dai processi patologici (47-50). Alcune delle tecnologie bio-elettroniche sopra menzionate sono spesso utilizzate nell'area della medicina omeopatica, omotossicologica e agopunturistica (v. relazioni presentate al VI Convegno della Ass. Ital. di Omotossicologia, Milano 18-5-1991). Pare comunque piuttosto singolare il fatto che le ap-

plicazioni pratiche di queste prospettive così interessanti - pur ancora oggetto di discussione quanto alla scientificità e riproducibilità - siano ancora oggi perseguite per lo più dalla medicina non convenzionale e praticamente sconosciute alla maggior parte dei medici.

3) Le informazioni vengono scambiate, comunicate, sia in senso "orizzontale" (es. cellula-cellula, molecola-molecola, ecc.), che "verticale" tra sistemi di grado diverso di complessità (es. molecola-cellula, cellula-organo, piano fisico-piano psichico, uomo-ambiente, ecc.) (51). La patogenesi del progressivo disordine informazionale neoplastico può quindi essere cercata nell'accumularsi e nel sinergismo di fattori di "disinformazione" nei vari livelli o tra i vari livelli considerati. Per questo il cancro è problema molecolare, è problema psicologico, è problema ecologico, coinvolge l'uomo nella sua globalità, e la lotta contro questa malattia dovrebbe essere diretta sia contro la massa tumorale e le cellule metastatiche, sia in favore dell'ospite, mediante una "bonifica" di tutta quella serie di possibili disordini informazionali che stanno probabilmente alla base del suo sviluppo, sia in direzione della eliminazione dei rischi ambientali e occupazionali. Di fronte a tale complessità, si avverte la limitatezza dei modelli riduzionistici basati solo sull'induzione, per cui a partire dalla biologia molecolare sarebbe via via possibile costruire una teoria che spieghi e preveda il comportamento globale nonché di progettare interventi farmacologici risolutivi. Infatti il sistema con un grado superiore di complessità ha proprietà non riconducibili solo alla somma delle proprietà di quello inferiore. Perciò, accanto alla necessità di un espandersi delle conoscenze sul piano molecolare, si sente l'esigenza di ulteriori strumenti concettuali, di modelli esplicativi più generali, capaci di confrontarsi con queste problematiche.

È possibile la regressione?

L'esistenza di varie fasi legate a eventi epigenetici e all'intervento di fattori esogeni e endogeni che controllano e che favoriscono la crescita del tumore modifica in parte la nozione di

tumore come evento casuale, soggetto alle leggi probabilistiche e, ultimamente immodificabile nelle sue dinamiche, se non con un attacco distruttivo (chirurgia e chemioterapia).

Dopo aver analizzato gli elementi fondamentali delle conoscenze sulla patologia molecolare del cancro, ci si può chiedere se il diradarsi dell'oscurità sulla sua patogenesi consenta di progettare nuovi e più efficaci interventi terapeutici. Realisticamente, siamo ancora ben lontani da una sostanziale ricaduta di tali conoscenze sul piano terapeutico, anche se alcune linee di tendenza e di ricerca paiono molto promettenti.

Il concetto fondamentale è il seguente: se è vero che la malattia neoplastica è soggetta a una dinamica progressiva, è possibile anche una dinamica regressiva? I recenti studi su questo problema consentono di dare una risposta parzialmente affermativa, almeno sul piano teorico e sulla base di esperimenti su cellule in coltura (52, 53). Infatti pare chiaro che la crescita della neoplasia, neppure di quella maligna, non è inevitabilmente progressiva, non è totalmente priva di controllo, non è necessariamente irreversibile. Poco si può fare per modificare il gene trasformato, ma molto si potrebbe fare per bloccare gli effetti deleteri. La speranza sta quindi nel poter agire efficacemente a livello epigenetico, come sostenuto ad esempio da L. Sachs: "Le anomalie genetiche che danno luogo alla malignità possono essere by-passate e i loro effetti annullati inducendo la differenziazione che blocca la moltiplicazione" (53).

Alcune possibilità teoriche di indurre la regressione della neoplasia con mezzi non direttamente citotossici sono le seguenti (dalla trattazione è esclusa la chemio-radioterapia antitumorale, non perché non sia utile e importante, ma perché non rientra nel tema di questa rassegna):

a) Immunoterapia, consistente nel potenziamento delle difese, specifiche e aspecifiche, dell'organismo ospite, mediante la somministrazione di interferoni e citochine, o cellule trattate con citochine (LAK), o altri agenti immunostimolanti naturali o artificiali (qui la ricerca è estremamente aperta a nuove acquisizioni).

b) Blocco della espressione degli oncogeni, mediante l'aggiunta di appro-

priati agenti, quali interferoni (particolarmente importante pare essere l'interferone- α , soprattutto perché se ne è dimostrata la deficienza in alcuni tumori) o antagonisti dei tumor promoters, come ad esempio la briostatina, o i corticosteroidi.

c) Blocco della produzione delle proteine degli oncogeni, mediante la somministrazione di oligonucleotidi antisenso specifici per l'oncogene o gli oncogeni in causa, che andrebbero a interferire con i mRNA e quindi con la sintesi proteica nelle cellule tumorali.

d) Induzione della differenziazione, mediante fattori tessuto-specifici, ormoni, vitamine (es. vitamina A, vitamina D3), sodio butirato, e altri agenti che porterebbero le cellule a stadi più maturi, con conseguente arresto della proliferazione.

e) Induzione della espressione degli anti-oncogeni (molto importante, ma al momento puramente teorico, in quanto non si sa molto dei loro prodotti e dei loro modi di regolazione).

Tra tutte queste possibilità ha applicazione da tempo l'uso dei corticosteroidi nella cura delle leucemie, ma più recentemente anche l'uso della vitamina A (ac. retinoico) e soprattutto l'uso di citochine (interleuchine, interferoni, tumor necrosis factor, ecc.), perché tali agenti hanno effetti pleiotropici, agendo sia sull'ospite che sul tumore. Più che su una singola citochina, pare importante basare l'intervento sulla associazione di più citochine, in modo da poter sfruttare l'effetto sinergico e quindi ridurre le dosi e precisare il bersaglio o i bersagli. Data la loro importanza, queste linee di ricerca sono attivamente perseguite con risultati promettenti (54-58).

Dai lavori sulla induzione della differenziazione sono emersi anche risultati apparentemente paradossali, ma molto indicativi, come quello che la differenziazione di cellule leucemiche è ottenibile, in coltura, non solo con gli specifici fattori di differenziazione (questo però solo in alcune linee cellulari, evidentemente dotate di recettori), bensì anche con agenti quali le lectine, o i classici tumor promoters come il TPA, o basse dosi di agenti citostatici, o basse dosi di radiazioni (52). Evidentemente gli effetti promozive la proliferazione o promovente

la maturazione e quindi l'arresto della proliferazione non sono proprietà legate solo alla molecola usata, ma dipendono dalle dosi, dalla sensibilità dei recettori, dal tipo di oncogeni attivi in una certa linea cellulare, dal sinergismo o antagonismo con altri fattori del mezzo di coltura o prodotti dalle stesse cellule, dal metabolismo cui la sostanza subisce dentro la cellula, ecc... Data la complessità dei meccanismi in causa quindi è comprensibile il paradosso che lo stesso trattamento in cellule diverse sortisca effetti opposti. È anche comprensibile come un trattamento che secondo i concetti tradizionali dovrebbe essere pro-cancerogeno si riveli poi, sperimentalmente, anti-cancerogeno cambiando le dosi o il protocollo sperimentale. Molti agenti mitogeni, ad esempio, se somministrati alle cellule in piccole dosi e per lunghi periodi, le desensibilizzano, quasi sempre in modo omologo (cioè verso essi stessi), ma talvolta anche in modo eterologo (cioè verso altri agenti con azione simile a livello del meccanismo di trasduzione) (31).

Il fatto che l'effetto nocivo di sostanze velenose o tossiche possa cambiare specularmente in effetto terapeutico (o viceversa l'effetto terapeutico in effetto nocivo) al variare delle dosi, delle modalità di somministrazione e della sensibilità del sistema bersaglio non è una novità né nella medicina tradizionale né nella farmacologia sperimentale.

Come si è visto, i problemi che limitano un approccio semplicistico alla modulazione della crescita neoplastica sono molteplici, e ciò è tanto più vero se si considerano le possibili applicazioni cliniche. Infatti, per accennare brevemente solo ad alcune questioni aperte:

a) La terapia con citochine o con cellule LAK ha dimostrato avere spesso gravi effetti collaterali e per di più pare efficace in una minoranza (pur non trascurabile) dei tumori in cui è stata sperimentata.

b) I fattori di differenziazione e le stesse citochine potrebbero in alcune neoplasie comportarsi da fattori mitogenici, quindi accelerando la progressione del tumore.

c) I fattori inibitori della proliferazione difficilmente hanno specificità tale da inibire solo il tumore, quindi po-

trebbero avere effetti collaterali immunosoppressivi (v. corticosteroidi).

d) Gli oligonucleotidi antisenso (che teoricamente avrebbero l'enorme vantaggio della selettività) funzionano su cellule in coltura, ma a dosi che difficilmente si pensa potrebbero essere usate in vivo, dove anche verrebbero rapidamente degradati.

e) In generale è difficile prevedere le dosi reali che raggiungono le cellule bersaglio, soprattutto se si tratta di molecole non facilmente diffusibili o captate da recettori.

f) Infine un altro problema è anche legato al fatto che le sperimentazioni dei nuovi farmaci vanno prima eseguite su animali, ma in questo campo i modelli animali non sono molto predittivi del risultato nell'uomo.

Data l'eterogeneità della malattia neoplastica e la grande importanza del fattore ospite nella sua progressione, si capisce perché la terapia del cancro, sul piano pratico, trovi così grandi difficoltà e anche perché spesso trattamenti con tutti i presupposti teorici e scientifici per essere efficaci diano risultati incoraggianti in alcuni singoli casi, ma poco significativi sul piano statistico. Allo stato attuale del problema appare poco realistico pensare che vi possa essere "una" cura per il cancro, e ciò vale sia per le terapie convenzionali che per quelle non convenzionali. Ciò è dovuto semplicemente al fatto che "il cancro" è una astrazione, esistendo nella realtà solo casi particolari e diversi tra loro. Pare quindi importante procedere, senza trascurare l'importanza dei trials clinici controllati su singoli trattamenti, verso un tentativo di valorizzare l'"individualizzazione" dell'approccio al malato di cancro. Tale individualizzazione dovrebbe partire dal piano diagnostico per poi trasferirsi, possibilmente, sul piano terapeutico.

Questa rassegna non ha ovviamente lo scopo di fornire indicazioni di pratica clinica, ma quanto finora detto può suggerire, in linea generale, che ad una patologia complessa, come complesso è il cancro, non può non far riscontro una impostazione diagnostica e terapeutica fine, sofisticata e complessa. A fianco della tradizionale strategia "d'attacco" (chirurgica, farmacologica o radiante), si può ipotiz-

zare che l'individuazione dei vari e molteplici fattori che concorrono allo sviluppo della neoplasia possa consentire di applicare correttivi efficaci nell'indurre la regressione, o almeno nel rallentare la progressione. Di fronte alla varietà dei possibili livelli di dis-regolazione nel sistema nel suo complesso, difficilmente si può ipotizzare che si dimostri risolutivo l'approccio riduzionista, per cui conosciuto il meccanismo molecolare si possa poi intervenire con uno specifico farmaco, come difficilmente (e la storia lo dimostra) sarà risolutivo l'empirismo puro, per cui provando e riprovando si scoprirà una ricetta per la cura del cancro. È comunque l'esperienza, scientificamente fondata e metodicamente controllata, che può dire l'ultima parola sulla utilità di un trattamento. Trovandosi di fronte un problema di enorme complessità, la scienza biomedica moderna e l'approccio empirico, che spesso fa emergere nuovi e inattesi aspetti della realtà, si possono incontrare e integrare, ciascuno fornendo il suo specifico apporto. Impostando razionalmente i problemi sulla base delle attuali conoscenze biologiche, si comprendono i limiti, ma anche le grandi potenzialità della medicina in questo campo. □

Bibliografia

- Berridge, M. and Galione, A. (1988) *Cytosolic calcium oscillators*. FASEB J. 2: 3074-3082.
- Adey, W.R. (1988) *Physiological signaling across cell membranes and cooperative influences of extremely low frequency electromagnetic fields*. In: Biological Coherence and Response to External Stimuli (H. Frohlich ed.) Springer-Verlag, Berlin, p.p. 148-170.
- Tsong, T.Y. (1989) *Deciphering the language of cells*. Trends Biochem. Sci. 14: 89-92.
- Popp, F.A., Warnke, U., Konig, H.L. and Peschla, W. (1989) *Electromagnetic bioinformation*. Urban and Schwarzenberg, Munchen.
- Kell, D.B. (1989) *Coherent properties of energy-coupling membrane systems*. In: Biological Coherence and Response to External Stimuli (E. Frohlich ed.) Springer Verlag, p.p. 233-241.
- Popp, F.A. (1985) *Nuovi orizzonti in medicina. La teoria dei biofotoni*. I.P.S.A. Editore, Palermo.
- Hameroff, S.R. (1988) *Coherence in the cytoskeleton: Implications for biological information processing*. in: Biological Coherence and Response to External Stimuli (H. Frohlich ed.) Springer-Verlag, Berlin 242-265.
- Luben, R.A., Cain, C.D., Chen, M-yY., Rosen, D.M. and Adey, W.R. (1982) *Effects of electromagnetic stimuli on bone and bone cells in vitro: inhibition of responses to parathyroid hormone by low-energy, low-frequency fields*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 4180-4183.
- Conti, P., Gigante, G., Cifone, M.G., Alesse, E., Ianni, G.F., Reale M. and Angeletti, P.U. (1983) *Reduced mitogenic stimulation of human lymphocytes by extremely low frequency electromagnetic fields*. FEBS Lett. 162: 156-160.
- Weaver, J.C. and Astumian, R.D. (1990) *The response of living cells to very weak electric fields: the thermal noise limit*. Science 247: 459-462.
- Pandiella, A., Beguinot, L., Vicentini, L.M. and Meldolesi, J. (1989) *Transmembrane signalling at the epidermal growth factor receptor*. Trends in Pharmacol Sci. 10: 411-414.
- Murray, A.W. and Kirschner, M.W. (1991) *Il controllo del ciclo cellulare*. Le Scienze 273: 32-39.
- Hunter, T. (1984) *Le proteine degli oncogeni*. Le Scienze 194: 67-77.
- Varmus, H. (1989) *An historical overview of oncogenes*. In: Oncogenes and the molecular origins of cancer (R.A. Weinberg) Cold Spring Harbor Lab. Press, p.p. 3-43.
- Bishop, J.M. (1986) *Oncogenes and proto-oncogenes*. J. Cell. Physiol. Suppl. 4: 1-5.
- Nishimura S. and Sekiya T. (1987) *Uman cancer and cellular oncogenes*. Biochem. J. 243: 313-327.
- Weinberg, R.A. (1984) *Una base molecolare per il cancro*. Le Scienze: 34-45.
- Weinberg, R.A. (1989) *Growth factors and oncogenes*. In: Oncogenes and the molecular origins of cancer (R.A. Weinberg ed.). Cold Spring Harbor Lab. Press: 45-65.
- Fрати, L. (1989) *Oncogeni e fattori di crescita*. In: Progressi nella ricerca sul cancro Le Scienze S.p.A. ed., p.p. 34-39.
- Neiman, T. (1991) *Oncogenes and neoplastic disease*. In: Harrison's Principles of Internal Medicine (Wilson, J.D. et al., eds.), 12th Ed. McGraw-Hill, New York, p.p. 64-71.
- Strigni, P., Carobbi, S. and Sansone, R. (1990) *Componente genetica del rischio oncogeno*. Federaz. Med. 43: 289-298.
- Hockenberry, D., Nunez, G., Milliman, C., Schreiber, R.D. and Korsmeyer, S.J. (1990) *Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death*. Nature 348: 334-346.
- Klein, G. (1988) *Oncogenes and tumor suppression genes*. Rev; Oncol. 1: 417-437.
- Nowell, P.C. and Croce, C.M. (1988) *Chromosomal approaches to oncogenes and oncogenesis*. FASEB J. 2: 3054-3060.
- Vile, R. (1990) *Tumour suppressor genes*. Br. Med. J. (ed. Ital.) 12: 25-27.

- (26) Friend, S.H., Dryia, T.P. and Weinberg, R.A. (1988) *Oncogenes and tumour-suppressing genes*. N. Engl. J. Med. 318: 618-641.
- (27) Diaz, M.O., Rubin, C.M., Harden, A., Ziemins, S., Larson, R.A., Le Beau, M.M. and Rowley, J.D. (1990) *Deletions of interferon genes in acute lymphoblastic leukemia*. N. Engl. J. Med. 322: 77-82.
- (28) Goodman, R. and Shirley-Henderson, A. (1990) *Exposure of cells to extremely low-frequency electromagnetic fields: relationship to malignancy?* Cancer Cells 2: 355-359.
- (29) Pool, R. (1990) *Is there an EMF-cancer connection?* Science 249: 1096-1098.
- (30) Galva, D. (1991) *I campi magnetici domestici contribuiscono al rischio di leucemie*. Medico e Paziente 2: 14-15.
- (31) Rozenfurt, E. (1991) *Neuropeptides as cellular growth factors: role of multiple signalling pathways*. Eur. J. Clin. Invest. 21: 123-134.
- (32) Williams, L.T. (1991) *Growth factors*. In: Harrison's Principles of Internal Medicine (Wilson, J.D. et al., eds.), 12th Ed. McGraw-Hill, New York. p.p. 60-64.
- (33) Klein, G. and Klein, E. (1985) *Evolution of tumours and the impact of molecular oncology*. Nature 315: 190-195.
- (34) Spandidos, D.A. (1986) *A unified theory for the development of cancer*. Biosci. Reports 6: 691-708.
- (35) Bellavite, P. (1988) *The free radical forming system of phagocytes*. Free Rad. Biol. Med. 4: 225-261.
- (36) Bellavite, P. (1990) *Moderne interpretazioni patogenetiche dell'infiammazione acuta*. Riv. Ital. Omotossicol. 8 (3): 12-21.
- (37) Cerutti, P.A. (1991) *Oxidant stress and carcinogenesis*. Eur. J. Clin. Invest. 21: 1-5.
- (38) Rizzo, S. (1981) *Incompatibilità fra allergia e cancro: esame dei fattori di rischio e ipotesi eziopatogenetiche*. Medicina Toracica 3: 325-330.
- (39) Guerriero, A. (1987) *La natura vivente*. Studium 4-5: 597-615.
- (40) Watson, J.D., Hopkins, N.H., Roberts, J.W., Steitz, J.A. and Weiner, A.M. (1987) *Molecular Biology of the Gene*. Vol. II. Benjamin/Cummings Publ. Co. Menlo Park, California.
- (41) Guidotti, G.G. (1990) *Patologia Generale*. C. ed. Ambrosiana.
- (42) Invernizzi, G. and Gala, C. (1989) *Aspetti psicologici del problema cancro*. In: Progressi nella ricerca sul cancro Le Scienze S.p.A. Ed., p.p. 163-166.
- (43) Albrecht-Buehler, G. (1990) *In defense of "nonmolecular" cell biology*. Int. Rev. Cytol. 120: 191-241.
- (44) Bistolfi, F., Olzi, E. and Asdente, M. (1985) *Campi magnetici e cancro*. Ed., Minerva Medica, Torino.
- (45) Bistolfi, F. (1989) *Radiazioni non ionizzanti, ordine, disordine e biostrutture*. Ed. Minerva Medica Torino.
- (46) Smith, C.W. (1988) *Electromagnetic effects in humans*. In: Biological Coherence and Response to External Stimuli (H. Frohlich ed.) Springer-Verlag, Berlin, p.p. 205-232.
- (47) Meletani, S. (1990) *Mora Terapia. Teoria e Pratica*. Guna Editore, Milano.
- (48) van Wijk, R. and van der Molen, C. (1990) *Biological effects and physical characteristics of potentiated high dilutions of sulphur*. In: Homeopathy In Focus. VGM Verlag fur Ganzheitsmedizin, Essen (K.P. Schlebusch, ed.).
- (49) Leonhardt, H. (1982) *Fondamenti dell'elettroagopuntura sec. Voll.* Piccin Ed. Padova.
- (50) Kenyon, J.N. (1983) *Modern techniques of acupuncture*. 3 Vols. Orsons Publ. Un. New York.
- (51) Arecchi, F.T. and Arecchi, I. (1990) *I simboli e la realtà*. Jaca Book, Milano.
- (52) Sachs, L. (1986) *Crescita, differenziazione e reverzione dei tumori*. Le Scienze (Marzo): 48-55.
- (53) Sachs, L. (1989) *Cell differentiation and tumour suppression*. In: Genetic analysis of tumour suppression. Wiley, Chichester. Ciba Found. Symposium 142: 217-233.
- (54) Huber, B.E. (1989) *Therapeutic opportunities involving cellular oncogenes: novel approaches fostered by biotechnology*. FASEB J. 3: 5-13.
- (55) Battistini, A., Affabris, E., Fiorucci, G., Coccia, E.M., Romeo, G., Marziali, G. and Rossi, G.B. (1990) *Spectrum of biological activity of interferons*. Ann. Ist. Sup. Sanità 26: 227-254.
- (56) Oldham, R.K. (1986) *Biotherapy: The fourth modality of cancer treatment*. J. Cell. Physiol. Suppl. 4: 91-99.
- (57) Strander, H. (1986) *Interferon treatment of human neoplasia*. Adv. Cancer Res. 46: 1-265.
- (58) Hassan, H.T. (1990) *Induced differentiation of leukaemic cells*. Lancet 335: 118.

- Heel

**Elenco degli unitari Heel in fiale sempre disponibili in magazzino
(nella confezione base da 10 fiale da 1,1 ml.)**

Acetylcholinchlorid	D6	Baryum oxalsuccinicum	D6
Acidum cis-aconitum	D6	para Benzochinon	D6
Acidum L(+) asparagicum	D6	Glyoxal	D6
Acidum citricum	D10	Methylenblau	D6
Acidum fumaricum	D6, D10, D30, D200	Methylglyoxal	D6
Acidum ketoglutaricum	D6, D10, D30, D200	Natrium oxalsuccinicum	D6
Acidum DL malicum	D4, D10, D30, D200	Natrium pyruvicum	D4, D6, D10, D30, D200
Acidum succinicum	D4	Trichinoyl	D6