

Breve storia della ricerca sul cancro: *un racconto per educare alla ricerca*

Anna Di Lonardo, Laura Bracci e Simonetta Pulciani

**Breve storia della ricerca sul cancro:
un racconto per educare alla ricerca**

Anna Di Lonardo^a, Laura Bracci^b e Simonetta Pulciani^c

^a*Dipartimento Malattie cardiovascolari, dismetaboliche e dell'invecchiamento*

^b*Dipartimento Oncologia e medicina molecolare*

^c*Centro Nazionale Malattie rare*

Istituto Superiore di Sanità

Breve storia della ricerca sul cancro: un racconto per educare alla ricerca.

Anna Di Lonardo, Laura Bracci e Simonetta Pulciani

2016, 66, v p., Dispense per la scuola 16/1

Questa dispensa descrive il percorso scientifico intrapreso da Ippocrate ad oggi per comprendere il cancro. Questa dispensa, inoltre, vuole porre in risalto come le attuali conoscenze sull'argomento, si basino sulle antiche scoperte e teorie scientifiche. Ippocrate fu il primo a postulare una teoria scientifica sul cancro, aprendo nuovi orizzonti allo studio di questa malattia. Da allora in poi, gli scienziati hanno proseguito il cammino, approfondendo sempre di più la conoscenza del cancro. Questa dispensa illustra anche i successi recenti e le moderne tecnologie in campo oncologico, sottolineando la loro importanza per una migliore diagnosi e scelta terapeutica della malattia.

Parole chiave: oncologia; storia; ricerca; cancro

Istituto Superiore di Sanità

A short history on cancer research: a tool for students to approach research.

Anna Di Lonardo, Laura Bracci and Simonetta Pulciani

2016, 66, v p., Dispense per la scuola 16/1 (in Italian)

This booklet describes the scientific path undertaken to understand cancer from the time of Hippocrates to present day genomics. This booklet also aims to highlight old theories and achievements that are the cornerstones of our modern cancer research. Hippocrates had postulated the earliest scientific theory about cancer and established a new approach in studying this disease. Thereafter, the scientists continued the path and gained knowledge fundamental in the understanding of cancer onset and development. Finally, the booklet gives an insight of the modern achievements and technologies stressing their crucial role played in cancer diagnosis and therapy.

Key words: oncology; history; research; cancer

Comitato editoriale: Paola De Castro (coordinatrice), Maria Cristina Barbaro, Sandra Salinetti

Redazione e impaginazione grafica: Giovanna Morini

Illustrazioni e progetto grafico: Cosimo Marino Curianò

Per informazioni scrivere a: grupposcuola.sae@iss.it

La dispensa è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Di Lonardo A, Bracci L, Pulciani S. *Breve storia della ricerca sul cancro: un racconto per educare alla ricerca.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2016. (Dispense per la scuola 16/1).

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici nonché dell'apparato iconografico è dei singoli autori.

© 2016 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)



INDICE

Prefazione	
<i>Filippo Belardelli</i>	iii
Introduzione	v
Capitolo 1	
Dalla Preistoria al Milleottocento	1
Capitolo 2	
Da Boveri alla scoperta del primo oncogene	16
Capitolo 3	
I geni del cancro	32
Capitolo 4	
Presente e futuro: dal Progetto Genoma Umano all'Era post-genomica	41
Conclusioni	51
Per approfondire	
Lecture consigliate	52
Appendici	
1. Giuramento di Ippocrate	56
2. Tumori rari	58
3. Due teorie alternative sullo sviluppo dei tumori	61
Glossario	63

PREFAZIONE

La curiosità ed i tentativi dell'uomo nel comprendere la natura dei tumori e nello studiare come trattare il cancro sono stati una costante nella storia del pensiero scientifico e medico nel corso dei secoli. Questa dispensa ne descrive alcune fasi fondamentali, quasi dall'origine dell'uomo fino ai nostri giorni. La storia della ricerca oncologica è caratterizzata da un processo continuo di avanzamento delle conoscenze, segnato da intuizioni e tappe fondamentali rese possibili dal concomitante sviluppo delle conoscenze sulla biologia e sulla medicina.

In questi ultimi decenni, la ricerca sul cancro ha registrato progressi enormi, sia in termini di conoscenza dei meccanismi molecolari alla base del processo neoplastico e metastatico, sia in termini di sviluppo di terapie sempre più mirate e personalizzate. L'identificazione dei primi oncogeni cellulari agli inizi degli anni '80 e lo sviluppo della ricerche che hanno portato nel 2003 al sequenziamento del genoma umano hanno aperto nuovi scenari per la messa a punto di metodi molecolari per una diagnosi precoce di diversi tumori umani e per lo sviluppo di marcatori prognostici della progressione della malattia. Con lo sviluppo della ricerca abbiamo compreso, sempre meglio, come il cancro comprenda molteplici e differenti tipi di malattie neoplastiche, con caratteristiche morfologico-molecolari diverse e diversa prognosi e risposta alle terapie. Alle terapie convenzionali (chirurgia, chemioterapia e radioterapia) si sono aggiunti nuovi protocolli di trattamento del paziente oncologico basati su farmaci innovativi, quali le piccole molecole ad azione specifica su bersagli molecolari della cellula tumorale, gli anticorpi monoclonali e le nuove tipologie dei cosiddetti "prodotti medicinali per terapie avanzate", basati su cellule del paziente stesso. In particolare, in questi ultimi tre anni, il settore dell'immunoterapia ha registrato un'ondata di forte ottimismo nella comunità scientifica sulla base dei risultati clinici in pazienti trattati soprattutto con una nuova generazione di anticorpi ad azione immunomodulante. Alcune sfide fondamentali della ricerca oncologica sono oggi quelle di identificare biomarcatori specifici di risposta ai singoli farmaci e di sviluppare protocolli di terapia combinata basati sulle nuove conoscenze sui meccanismi d'azione dei farmaci stessi e della concomitante risposta immune contro il tumore stesso.

Il progresso della ricerca oncologica, di questi ultimi anni, ha introdotto quindi il concetto di un'oncologia personalizzata, che tende ad individuare il "giusto trattamento" per il "giusto paziente" al "tempo giusto" di insorgenza della malattia. Tuttavia, l'obiettivo di un trattamento personalizzato dei tumori su larga scala rappresenta, oggi, ancora una sfida che necessita di un continuo percorso di ricerca e di sforzi per rendere i risultati della ricerca stessa trasferibili alla pratica clinica a beneficio di tutti i pazienti.

Se è indubbiamente vero che la ricerca oncologica ha permesso oggi di curare tumori prima ritenuti incurabili aprendo nuovi orizzonti terapeutici, l'impatto in termini di sofferenza e costi socio-economici del problema cancro rimane enorme nella società odierna. Il cancro è una delle principali cause di morte al mondo con circa 14 milioni di nuovi casi e 8,2 milioni di decessi connessi con il cancro nel 2012. In Italia, i decessi dovuti a tumori maligni sono stati, secondo l'ISTAT, quasi 175.000 nell'anno 2011 (99.000 fra gli uomini e 77.000 fra le donne). La frequenza dei decessi causati dai tumori è in media ogni anno di circa 4 decessi ogni 1.000 residenti uomini e circa 3 ogni 1.000 donne. In media, un uomo ogni 3 e una donna ogni 6 muoiono a causa di un tumore nel corso della loro vita. Per la sua frequenza e storia naturale, il cancro si configura quindi a livello mondiale come non solo un problema sanitario ma anche come un vero problema sociale che impatta sulla sopravvivenza e sulla qualità della vita stessa.

Un'attenzione particolare di una ricerca oncologica finalizzata alla salute pubblica deve essere dedicata alla prevenzione primaria, che si basa principalmente sull'attenzione a quegli stili di vita che possono prevenire l'insorgenza del tumore e prevenire l'esposizione a fattori di rischio, come suggeriti dall'International Agency for Research against Cancer (IARC). La sfida per una prevenzione efficace dei tumori deve essere impostata in un'ottica globale, guardando alle problematiche del nord e sud del mondo. Ad esempio, l'incidenza di alcuni tumori causati da alcuni agenti infettivi è particolarmente alta in alcuni Paesi in via di sviluppo, dove l'uso di vaccini potrebbe incidere fortemente come strumento di prevenzione, ma problemi economici e politici ne impediscono l'uso corrente.

Altrettanto importante è promuovere una sempre più efficiente prevenzione secondaria, basata sulle più aggiornate conoscenze e metodi di diagnostica precoce dei tumori. Nuove prospettive si aprono, oggi, per un trattamento precoce dei tumori e per sviluppare protocolli di prevenzione terziaria che possano portare al mantenimento prolungato o costante di uno stato libero da malattia mediante trattamenti di immunoterapia dei tumori. Tutto ciò può portare benefici sia per la qualità della vita del paziente che per i sistemi sanitari nazionali, sempre più in difficoltà nei Paesi avanzati a sostenere le spese sanitarie nel contesto di un generale processo di invecchiamento della popolazione.

Per queste ragioni, anche a livello europeo, sono stati prodotti enormi sforzi per meglio coordinare le risorse e le attività di ricerca e cura in campo oncologico. L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) stesso ha promosso, insieme al Ministero della Salute, il lancio di progetti europei in modo congiunto tra diversi Paesi membri nell'area dell'oncologia traslazionale, al fine di condividere le priorità della ricerca stessa e incoraggiare una collaborazione internazionale in grado di incidere più organicamente nel fronteggiare il problema cancro. Caratteristiche dell'impegno dell'ISS nel settore tumori hanno, in questi ultimi anni, riguardato lo sviluppo di progetti di ricerca di base su tematiche alla frontiera della ricerca oncologica stessa (quali l'identificazione di cellule staminali tumori, lo sviluppo di biomarcatori molecolari e la messa a punto di nuovi farmaci e strategie terapeutiche nel settore dell'oncoimmunologia). Al tempo stesso, si è cercato di promuovere concretamente una ricerca traslazionale e clinica sui tumori finalizzata allo sviluppo di protocolli terapeutici innovativi basati sui risultati della ricerca interna, stimolando al tempo stesso collaborazioni inter-istituzionali a livello nazionale ed europeo ed una nuova cultura a supporto dell'oncologia traslazionale.

Questa dispensa sulla storia della ricerca oncologica rappresenta un utile strumento di conoscenza per comprendere l'evoluzione del pensiero e delle conoscenze scientifiche sul cancro. Può essere di grande utilità e stimolo di riflessione per gli studenti ed i giovani che intendano avvicinarsi al mondo della ricerca sul cancro. Attraverso un percorso storico che, per quanto non comprensivo, investe tutta l'evoluzione delle nostre conoscenze sul cancro, questo testo permette di comprendere che la ricerca è un faticoso processo continuo, caratterizzato da tappe fondamentali basate sull'evoluzione delle conoscenze e delle tecnologie. Anche nel campo della ricerca oncologica, come in ogni ambito della ricerca, conoscere il passato è essenziale per comprendere il presente e programmare il futuro.

*Filippo Belardelli
già Direttore del Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare,
Istituto Superiore di Sanità*

INTRODUZIONE

Un tumore è una massa di cellule divenute permanentemente o temporaneamente autonome rispetto ai meccanismi di controllo cui sono sottoposte le normali cellule di un tessuto. Non essendo più regolate da alcun meccanismo di controllo interno o esterno, le cellule tumorali possono crescere a dismisura, dando così luogo alla massa tumorale.

Sebbene questa dispensa si intitolò *Breve storia della ricerca sul cancro: un racconto per educare alla ricerca*, essa in realtà copre solo una parte dell'investigazione scientifica condotta in questo campo fino ad oggi: la dispensa ha l'intento di riassumere alcuni degli studi più importanti che hanno cercato di far luce su quel complesso fenomeno attraverso il quale una cellula normale si trasforma in tumorale.

Questa dispensa vuole mostrare come la ricerca scientifica in genere, e la ricerca sul cancro in particolare, non sia un'entità statica, ma un percorso dinamico verso la conoscenza, caratterizzato da continue innovazioni e integrazioni. La ricerca può essere paragonata ad un grande edificio che si va costruendo negli anni, in cui ciascun mattone è costituito dai risultati e dalle ipotesi di ogni singolo scienziato che ha contribuito, con fatica, alla sua costruzione.

Nella ricerca scientifica, ogni risultato ed ogni ipotesi è sempre e comunque importante, anche quando al momento non è possibile capire la giusta collocazione di alcuni mattoni nella realizzazione di questo grande edificio. Infatti, come vedremo, molti risultati scientifici hanno ricevuto il giusto riconoscimento solo a distanza di anni. Inoltre, molte delle più importanti ipotesi scientifiche, formulate in certi periodi della storia della ricerca, non sono state verificate nell'immediato, poiché gli strumenti a disposizione degli scienziati in quei periodi non erano adatti per lo scopo.

Questa dispensa vorrebbe insegnare ai giovani che la conoscenza è un processo lungo e paziente. Nella ricerca scientifica, nonostante il rischio di scoraggiarsi sia molto alto, è essenziale credere nel proprio onesto operato e tramandare con fiducia le proprie idee: forse in seguito qualcuno ne dimostrerà la veridicità.

Erodoto asseriva: *All'inizio non traspare quale sarà la fine.*

Nota:

Per facilitare la comprensione del testo, alcuni termini, evidenziati in neretto, sono riportati nel glossario a p. 63.

Capitolo 1

DALLA PREISTORIA AL MILLEOTTOCENTO

Dalla Preistoria ad Ippocrate

Il cancro esiste sulla Terra ancor prima della comparsa dell'uomo, come testimoniato dai reperti paleontologici di tumori negli animali preistorici, quali i dinosauri.

La prima descrizione di un tumore umano è stata rinvenuta nel Papiro di Edwin Smith che risale al 3000 a.C. ed illustra un caso di cancro al seno. Successive descrizioni di diversi tipi di tumori (pelle, utero, stomaco, retto) sono presenti nel Papiro di Ebers del 1500 a.C. In Figura 1 è mostrata un'immagine di papiro antico.

In questi ed altri documenti antichi, il **cancro** (glossario) viene sempre riportato come una malattia incurabile, associata alla maledizione degli dei, idea che fu accettata fino ad Ippocrate (460-370 a.C.).

Questo scienziato e filosofo si oppose all'idea che fossero gli eventi soprannaturali a scatenare le malattie.

Ippocrate fu il primo a sottolineare l'importanza di distinguere il mondo divino da quello terreno e di cercare le cause delle malattie negli eventi naturali: proprio per questo è considerato il padre della medicina moderna.

Ippocrate è anche famoso per il suo giuramento (*Appendice 1, p. 56*) che introdusse nella pratica della medicina un codice etico in modo che questa fosse esercitata solo da persone esperte ed affidabili, così da proteggere l'integrità morale e fisica dei pazienti.

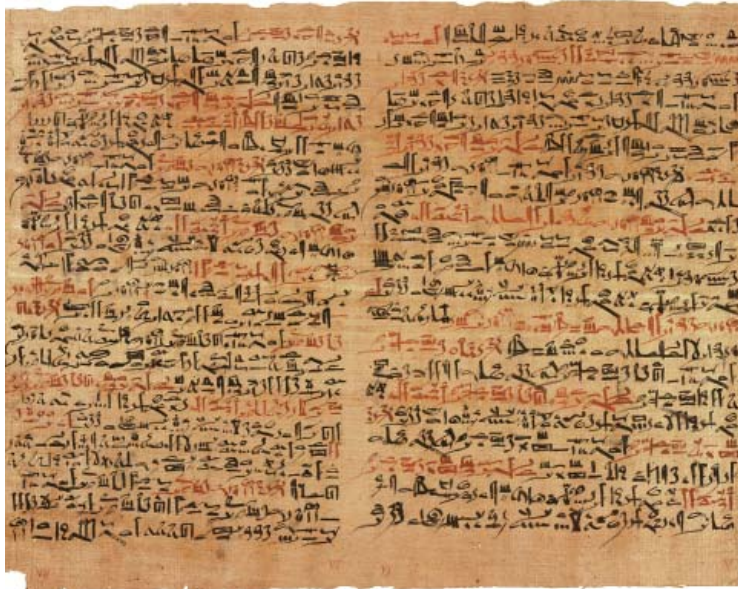


Figura 1. Immagine di papiro antico

Ippocrate sosteneva che il corpo fosse un'entità unitaria da potersi considerare in salute soltanto quando tutte le sue parti erano sane. In particolare, questo scienziato sosteneva che lo sviluppo delle malattie fosse legato ad un'alterazione degli equilibri tra quattro umori corporei (sangue, catarro, bile gialla e bile nera). In linea con tale pensiero, enunciò la prima teoria scientifica sull'origine del cancro. Per questo scienziato il cancro si sviluppava quando nel corpo c'era un eccesso di bile nera.

Ippocrate divise i tumori in tre categorie: cancri duri, cancri ulcerati e cancri nascosti, definendo questi ultimi incurabili.

L'opera di Ippocrate, in ambito medico, è stata immensa e il libro *Hippocratis opera quae extant* pubblicato nel 1588, raccoglie una revisione critica e sistematica degli scritti medici dello scienziato (Figure 2 e 3).

Ad Ippocrate è stato anche attribuito il cosiddetto *Corpus Hippocraticum*, una raccolta di circa settanta libri in greco antico su una varietà di argomenti medici, di cui soltanto dodici o al massimo quattordici dovrebbero essere stati scritti dallo scienziato stesso.

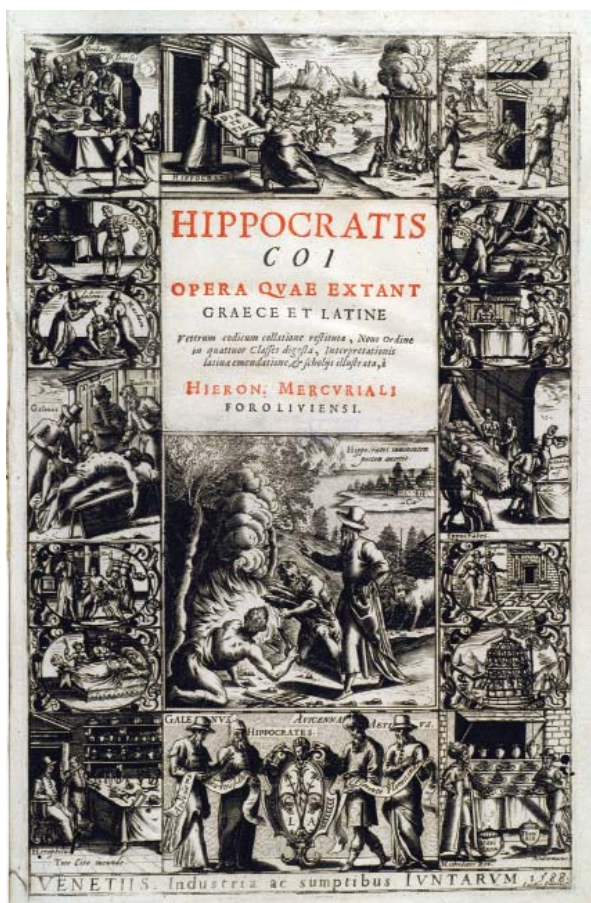


Figura 2. Copertina del libro *Hippocratis opera quae extant* pubblicato nel 1588. Fondo Rari dell'Istituto Superiore di Sanità



Figura 3. Immagine tratta dal libro *Hippocratis opera quae extant* che raffigura una medicheria. Fondo Rari dell'Istituto Superiore di Sanità

Dall'antica Roma fino alla caduta dell'Impero Romano d'Occidente

Roma, dopo la conquista della Grecia (146 a.C.), divenne il fulcro della scienza medica; qui si trasferirono e ottennero la cittadinanza molti medici greci: uno di questi fu Galeno (130-200). Questo illustre medico perfezionò la teoria di Ippocrate sostenendo che le forme curabili ed incurabili di cancro erano dovute rispettivamente ad alterazioni della bile gialla e nera. Secondo Galeno, per prevenire lo sviluppo dei tumori, era importante evitare l'infiltrazione della bile nei tessuti; una volta instauratasi la forma curabile (benigna) della malattia, il paziente poteva essere curato con medicamenti vari, una sana alimentazione e, nei casi estremi, con l'asportazione chirurgica o con le bruciature. Invece, per i pazienti affetti da forme ritenute incurabili, l'unico rimedio era alleviare il dolore con la somministrazione di estratto di papavero.

A Galeno si deve il merito di aver descritto nei dettagli, per la prima volta, un tumore della mammella.

Altro celebre medico del periodo romano fu Celso (25 a.C.-50 d.C.); nel suo libro *De Medicina*, egli ampliò e completò le descrizioni di Ippocrate dei processi tumorali asserendo che ogni terapia, per essere efficace, deve essere tempestiva.

Si deve proprio ai medici-scienziati Ippocrate e Galeno l'aver coniato i termini ancora oggi in uso per denominare i processi tumorali e tutto ciò che ad essi si riferisce, comprese le scienze dedicate al loro studio (Tabella 1). Ippocrate utilizzò, infatti, il termine greco *karkinos* per identificare questa malattia, paragonandola ad un granchio che con le sue chele attanaglia i tessuti circostanti in una morsa. Da questo termine greco deriva la parola carcinoma. Galeno, invece, preferì utilizzare

Tabella 1. Confronto tra i termini utilizzati attualmente in oncologia ed i termini latini o greci da cui derivano

Parola antica	Termine moderno
<i>Karkinos</i> (termine greco per granchio)	Carcinoma
<i>Oncos</i> (termine greco per rigonfiamento)	Oncologia, oncologico, oncogeni
<i>Sarkos</i> (termine greco per carne)	Sarcoma
<i>Cancer</i> (termine latino per granchio)	Cancro, cancerogeno, cancerogenesi ecc.
<i>Tumor</i> (termine latino per rigonfiamento)	Tumore, tumorale
<i>Neo</i> (termine greco per nuovo)	Neoplasia, neoplastico
<i>Plasia</i> (termine greco per formazione)	
<i>Metástasis</i> (dal greco mutamento, spostamento: meta = al di là e <i>stasis</i> = stato)	Metastasi, metastatico

il termine *oncos* per descrivere i tumori, ossia gonfiore. La parola oncologia, cioè la disciplina che studia i processi neoplastici, deriva proprio dall'unione delle due antiche parole *oncos* e *logos*.

Inoltre, Galeno descrisse con il nome *sarkos*, vocabolo greco che significa carne, quei tumori che oggi conosciamo sotto il nome di sarcomi.

Celso tradusse la parola greca *karkinos* con la corrispondente latina *cancer* cioè granchio, da cui è derivata la parola cancro.

Una curiosità: anche i termini *sartân* e *saratân*, utilizzati rispettivamente in ebraico ed in arabo per identificare le malattie tumorali, significano "granchio". Nell'arabo medioevale, invece, i tumori sono chiamati *ákilah* cioè roditori.

Il Medioevo nel mondo bizantino e nel mondo arabo

La deposizione nel 476 di Romolo Augustolo, ultimo imperatore romano, segnò la fine dell'Impero Romano d'Occidente e del suo predominio intellettuale e culturale. Con questo evento, considerato da molti l'inizio del Medioevo, le conoscenze tecnico-scientifiche e mediche vennero per la maggior parte trasferite, raccolte e protette nelle città di Costantinopoli e Baghdad. Questi luoghi divennero i baluardi orientali della cultura in generale e della medicina in particolare.

I medici, fino ad allora, erano sempre stati anche filosofi e, più in generale, uomini di scienza; tale propensione continuò nel mondo bizantino ed in seguito in quello arabo. Gli scienziati di queste aree geografiche ebbero l'incommensurabile

merito di acquisire, conservare, tradurre e diffondere i fondamenti della scienza greca. Questa loro lungimiranza fu la premessa per l'avanzamento delle discipline scientifiche nel mondo arabo e costituì, in seguito, il presupposto per un'interazione proficua e costruttiva tra culture.

Nell'ambito oncologico è da ricordare Oribasio di Pergamo (325-403), medico dell'imperatore Giuliano l'Apostata; egli osservò più in dettaglio i tumori, descrivendoli come masse indolori, costituite da un insieme di tessuti compatti, necrotici e liquidi.

Questo medico credeva fermamente che il liquido corrispondesse alla bile nera. Non meno importanti furono le innovazioni in campo chirurgico introdotte da Paolo di Egina (625-690), tra le quali la pratica dell'asportazione della tiroide e dei polipi nasali e di altri tipi di operazioni chirurgiche.

Questi medici riassunsero e commentarono i testi di Galeno, e le loro opere influenzarono il successivo sviluppo della medicina nel mondo arabo. Tale sviluppo fu favorito anche dalle conquiste militari iniziate alla morte di Maometto. Infatti, l'occupazione della Persia, di Bisanzio, della Spagna e della Sicilia furono determinanti per il progresso della scienza in generale e della medicina in particolare, grazie al rimescolamento ed all'integrazione delle conoscenze delle popolazioni coinvolte.

Tra i più illustri medici di questo periodo ricordiamo Rhazes di Baghdad, Avicenna e Avenzoar (Figura 4).

Rhazes di Baghdad (860-932) fu un esperto chirurgo che utilizzò nuovi strumenti e tecniche operatorie per il trattamento di diversi tumori, in particolare dell'intestino e delle vie biliari. Questo filosofo-medico contribuì notevolmente alla diffusione delle teorie di Ippocrate e Galeno nel mondo arabo e divenne famoso perché fautore dell'osservazione clinica come fondamentale metodologia diagnostica.

Avicenna (980-1037) fu medico, filosofo, matematico e fisico; scrisse un notevole numero di opere mediche, rimaste incontrastate per più di sei secoli. Nel campo oncologico, egli introdusse la pratica delle asportazioni dei polipi del retto.

Avenzoar (1070-1162) iniziò anche la pratica dell'isterectomia per la rimozione dei tumori uterini e rilevanti sono i suoi studi e descrizioni dei tumori dell'esofago e del retto.



Figura 4. Ritratto di Avicenna. Immagine tratta dal sito https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3APortrait_of_Avicenna_Wellcome_M0000768.jpg

Il Medioevo in Europa

Restiamo nello stesso periodo storico del Medioevo e volgiamo lo sguardo a quanto accadeva nell'attuale Europa: qui, il monopolio della cultura era pressoché interamente nelle mani del clero.

Le biblioteche dei conventi divennero i luoghi di trascrizione e custodia dei manoscritti latini e greci salvati dal saccheggio e dalla distruzione dei nuovi potenti conquistatori. Nel Medioevo, quindi, i monaci protessero la conoscenza antica, che altrimenti sarebbe stata vittima innocente degli sconvolgimenti geopolitici.

Inoltre, grazie proprio a questi monaci, si sviluppò una medicina oggi chiamata "conventuale", perché esercitata proprio nei monasteri. I monaci, accogliendo il messaggio evangelico di soccorso ai più deboli, realizzarono i primi ospedali, dapprima luoghi per accogliere e proteggere i più deboli ed in seguito strutture dedicate alla cura dei malati. Questi luoghi di accoglienza vennero costruiti vicino a chiese e conventi o, addirittura, nei conventi stessi. Nell'Alto Medioevo, caratterizzato da sanguinose guerre, solo gli ordini religiosi potevano avere la serenità e la motivazione di assistere bisognosi ed infermi (Figura 5).



Figura 5. Ippocrate e Galeno in un affresco della Cripta della Cattedrale di Anagni (secolo XIII). Foto di Nina Aldin Thune dal sito <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Galenohippokrates>

Oltre alla medicina "conventuale", intorno all'anno Mille, si sviluppò anche una medicina laica: in questo contesto è da ricordare la Scuola Medica Salernitana, la prima e più importante istituzione medica d'Europa, anticipatrice delle attuali università.

La nascita della Scuola Medica Salernitana viene così descritta in una leggenda: “Una notte, durante un forte temporale quattro pellegrini, Pontus, Salernus, Helinus e Abdela, trovarono rifugio sotto un acquedotto. Pontus era greco e Salernus latino, mentre Helinus era ebreo e Abdela arabo. Salernus era ferito ed iniziò a prendersi cura delle proprie ferite, e Pontus cercò di aiutarlo. Infine, anche Helinus e Abdela si avvicinarono e fornirono molti buoni suggerimenti per la cura della ferita. Iniziarono così a discutere sapientemente sulla cura di vari tipi di lesioni e scoprirono di essere tutti e quattro medici. Essi decisero, quindi, di fondare una Scuola per divulgare le loro conoscenze”.

L’approccio formativo utilizzato nella Scuola Medica Salernitana comprendeva l’insegnamento di testi della tradizione greco-latina così come di quella araba ed ebraica. Comunque, la didattica in questa Scuola si basava prevalentemente sull’esperienza maturata nella quotidiana attività di assistenza ai malati.

Oltre alla Scuola Medica Salernitana si svilupparono altre scuole di medicina. Inoltre, il Basso Medioevo vide il fiorire di importanti università, tra cui quella di Bologna.

È importante sottolineare che, nel Medioevo, le donne hanno avuto un ruolo rilevante in medicina. La loro preparazione molte volte era anche superiore a quella degli uomini, soprattutto per quanto riguardava argomenti quali la gravidanza, il parto e l’anatomia femminile. Tutto ciò sicuramente era dovuto alle conoscenze tramandate da madre a figlia e al pudore delle donne a comunicare le proprie malattie agli uomini.

Le donne furono molto apprezzate nella Scuola Medica Salernitana come docenti e come studenti; queste scrissero anche alcuni importanti trattati di medicina, e nel XVII secolo Antonio Mazza, priore della Scuola, ammise che le donne erano i maestri più sapienti.

Tra i medici e i chirurghi illustri del Basso Medioevo dobbiamo ricordare Teodorico (1205-1296), grande chirurgo e vescovo. Nel 1215, Papa Innocenzo III, con il IV Concilio Lateranense, proibì la pratica chirurgica ai membri degli Ordini Maggiori; fortunatamente Teodorico ignorò queste disposizioni e continuò ad esercitare la sua attività, collezionando innumerevoli informazioni che raccolse nel trattato *Chirurgia*. Nei tre capitoli dedicati interamente al cancro, Teodorico sottolineò come solo gli interventi chirurgici radicali avrebbero potuto essere di qualche giovamento nel trattamento dei tumori.

Questa concezione radicale nel trattamento dei tumori fu anche la posizione del chirurgo francese Henry de Mondeville (1260-1320), che nel suo trattato *Chirurgie* scrisse che il cancro è guaribile solo se estirpato radicalmente. È straordinaria la modernità di pensiero di questi medici vissuti oltre 700 anni fa, quando le conoscenze in campo medico e scientifico erano molto limitate.

Riguardevole in questo campo è anche l'opera *Anothomia*, scritta da Mondino de' Liuzzi nel 1316, e successivamente riscritta e commentata nel 1514 da Berengario da Carpi. A queste opere seguiranno, nella prima metà del 1500, quelle di Andrea Vesalio e di Gabriele Falloppio.

Bisogna, inoltre, sottolineare che, tra la fine del Medioevo e l'inizio dell'Età moderna, lo studio dell'anatomia non era prerogativa ed interesse esclusivo dei medici, ai quali si affiancavano anche gli artisti (basti ricordare Leonardo da Vinci) (Figura 6).

Grazie alle conoscenze anatomiche acquisite dagli scritti dei chirurghi e all'avvento della pratica delle **autopsie** (glossario), venne collezionata una mole di dati che avrebbe messo poi in discussione la teoria degli umori formulata da Ippocrate. Questa teoria, infatti, pur avendo rappresentato il trampolino di lancio per un approccio razionale nel campo della medicina, si rivelò nel corso degli anni d'intralcio al progredire della conoscenza medica, anche in oncologia, in quanto veniva assunta come un dogma indiscutibile. Diversi scienziati si opposero apertamente alle teorie di Ippocrate e Galeno, ma dovette trascorrere molto tempo prima che queste fossero completamente abbandonate.

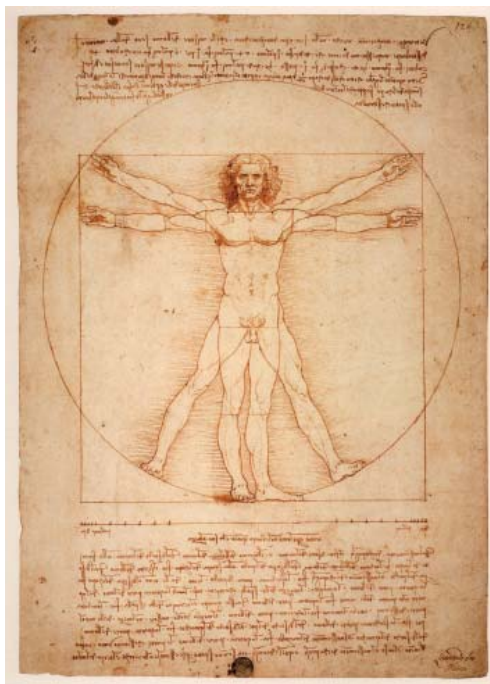


Figura 6. Immagine dell'Uomo vitruviano (1490 circa) di Leonardo da Vinci

L'Età moderna

In Europa, nel 1455 il tedesco Johannes Guttenberg stampò il primo libro utilizzando un nuovo macchinario che lui stesso aveva ideato. Fino ad allora i libri venivano trascritti e la loro diffusione era limitata alle sole persone facoltose che se ne potevano permettere il costo. Guttenberg con l'invenzione della stampa permise un cambiamento radicale nella diffusione di ogni tipo di conoscenza, anche quella medica.

Soltanto nel XVI secolo la teoria di Ippocrate iniziò veramente a vacillare e ad essere messa in dubbio da parte di diversi studiosi: primo tra questi fu Paracelso (1493-1541), interessato sia ai sintomi della malattia che all'interazione dell'individuo con il mondo esterno. Egli, studiando i tumori dei minatori del Tirolo, ipotizzò che la causa di queste forme neoplastiche non fosse l'accumulo di bile nera, come avrebbero sentenziato Ippocrate e Galeno, bensì l'accumulo di cristalli di un sale

nel loro sangue. Tale sale, denominato *realgar*, non era altro che un composto di arsenico e zolfo che i minatori respiravano durante il loro lavoro nelle miniere. La correlazione tra l'insorgenza dei tumori nei minatori ed il sale *realgar* dimostra la lungimiranza di Paracelso e può considerarsi il primo esempio di rischio per la salute dovuto a fattori ambientali legati ad attività lavorative.

In seguito, il medico ed anatomista fiammingo Andrea Vesalio (1514-1564) dimostrò con accurati studi **autoptici** (glossario) l'inesistenza della bile nera. Egli scrisse la prima opera scientifica di anatomia, intitolata *De humani corporis fabrica libri septem*, corredandola di numerose illustrazioni del corpo umano. Altre sue importanti opere sono: il libro *Anatomia* scritto nel 1604 conservato presso l'Istituto Superiore di Sanità (Roma) (Figura 7), contenente diversi disegni del corpo umano (Figura 8) e il libro *Chirurgia Magna* del 1569 sulla pratica chirurgica (Figura 9).

Ragguardevole è, inoltre, l'opera di Gabriele Falloppio, famoso non solo per gli studi anatomici ma anche per la sua affermazione: "quando il cancro è tranquillo sia tranquillo anche il medico". Forse tale suggerimento scaturiva anche dal fatto che, fino alla scoperta degli anestetici e al perfezionamento delle condizioni di sterilità, gli interventi chirurgici potevano causare la morte del paziente ancor prima del male stesso.

Nonostante le scoperte di Andrea Vesalio e di Paracelso, la teoria della bile nera continuò ad avere un cospicuo numero di seguaci ancora per un certo numero di anni. Tale teoria era dominante ancora ai tempi del filosofo Cartesio (1596-1650), il quale si oppose fermamente alle teorie di Ippocrate e Galeno, proponendo una teoria alternativa che attribuiva alla "linfa" la causa dell'insorgenza delle malattie tumorali.



Figura 7. Copertina del libro *Anatomia* di Vesalio. Fondo Rari dell'Istituto Superiore di Sanità

Agli inizi del Settecento, lo scienziato olandese Herman Boerhaave (1668-1738) ipotizzò, invece, che il cancro fosse indotto da elementi, presenti nell'acqua o nel terreno, che definì virus. Una volta acquisiti, questi "virus" rimanevano nel corpo ed erano potenzialmente trasmessi per contagio o per via ereditaria. La possibilità che il cancro fosse una malattia infettiva non era affatto un'idea innovativa, e circolava già nel Medioevo. Bisogna sottolineare che all'inizio del Settecento il termine virus non aveva il significato attuale, bensì si utilizzava per indicare alcuni tipi di sostanze tossiche; per cui da questo punto di vista l'ipotesi di Boerhaave era identica a quella di Paracelso.

Boerhaave, comunque, è stato il primo ad ipotizzare che il cancro potesse avere un qualche carattere ereditario, ed è proprio questa la grande innovazione che egli aveva apportato allo studio dei tumori. La teoria di Boerhaave è stata ripresa e rielaborata



Figura 8. Due studi di anatomia: disegni di Vesalio. Fondo Rari dell'Istituto Superiore di Sanità

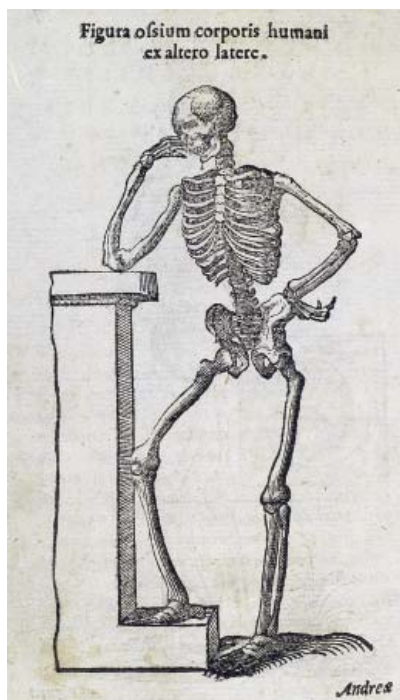


Figura 9. Immagine tratta dal libro *Chirurgia Magna* di Vesalio. Fondo Rari dell'Istituto Superiore di Sanità

molte volte nei secoli successivi e, finalmente, confermata negli ultimi anni del Novecento, studiando due tumori ereditari infantili: il tumore di Wilms ed il retinoblastoma. I ricercatori, infatti, stabilirono che lo sviluppo di questi due tumori infantili è determinato dalla trasmissione ereditaria di un allele mutato di geni ben definiti. In seguito, sono stati individuati molti altri tipi di tumori, oltre al tumore di Wilms ed il retinoblastoma, che hanno delle basi ereditarie.

Altre intuizioni fondamentali per il progresso delle conoscenze oncologiche, in questo periodo, sono state quelle del patologo italiano Giovanni Battista Morgagni (1682-1771). Egli, servendosi delle autopsie, cercò di identificare e studiare gli organi colpiti dalla malattia. I risultati di tali studi gli permisero di affermare che il cancro rappresenta una lesione d'organo.

Oltre a Morgagni, altri scienziati e chirurghi ipotizzarono che il cancro fosse una patologia distruttiva a carico degli organi colpiti, derivante da una trasformazione strutturale interna o da coaguli di "linfa". La teoria della bile nera che tanto aveva resistito nei secoli poteva ormai considerarsi superata.

È importante sottolineare che nel 1700 i medici e gli scienziati continuarono ad interrogarsi sulle cause del cancro, riprendendo ed ampliando l'ipotesi di Paracelso sull'associazione tra cancro e fattori ambientali e stili di vita. Rilevanti per quell'epoca furono gli studi del medico Bernardino Ramazzini (1633-1714), che osservò una più alta frequenza di tumori al seno nelle suore rispetto alle donne con prole. Ciò lo portò a postulare che la causa del tumore mammario potesse essere l'assenza dell'allattamento.

Si può, senz'altro, affermare che Bernardino Ramazzini, associando lo sviluppo del tumore mammario all'allattamento, ebbe un'intuizione straordinaria, se si considera che oggi diversi studi hanno evidenziato che l'allattamento al seno, prolungato per diversi mesi, può proteggere dal tumore al seno.

Nel 1761 John Hill, un medico inglese, descrisse un'associazione tra l'uso del tabacco da fiuto e l'insorgenza di polipi nasali. Per quanto concerne il coinvolgimento degli ambienti lavorativi nello sviluppo del cancro, sono da segnalare anche le osservazioni nel 1775 di Percivall Pott. Costui rilevò negli spazzacamini una maggiore frequenza di tumori dello scroto, suggerendo nella fuliggine la possibile causa.

Negli ultimi decenni del XIX secolo, Ludwig Rehn ipotizzò l'associazione tra insorgenza del cancro della vescica ed esposizione al colorante anilina nei lavoratori che manipolavano questa sostanza chimica.

Nel complesso, tutte queste osservazioni rafforzarono l'ipotesi di una correlazione tra tumore e sostanze presenti nell'ambiente, gettando le basi per quelle discipline oggi note come "cancerogenesi chimica" ed "epidemiologia dei tumori".

Il microscopio e la ricerca oncologica

Un grande impulso alla ricerca oncologica è stato fornito dal microscopio. In generale il microscopio, al pari del suo inverso, il cannocchiale, deve essere considerato uno strumento che è stato determinante per il progredire di molte discipline scientifiche e, in particolare, per le scienze naturali.

Il microscopio è stato lo strumento che ha permesso di "vedere" le cellule e determinare che queste erano l'unità di base di tutti gli organismi viventi, scoperta di fondamentale rilevanza per il progresso della biologia e della medicina.

Non si sa con esattezza chi sia stato l'inventore di questo strumento: forse il primo microscopio fu costruito nel 1590 da Johannes e Zacharias Jansen, padre e figlio, fabbricanti olandesi di occhiali.

Scienziati come Robert Hooke e Antoni van Leeuwenhoek contribuirono notevolmente al suo sviluppo.

Straordinarie furono le scoperte di Hooke, ottenute grazie ai perfezionamenti da lui apportati al microscopio. Nel suo trattato *Micrographia*, pubblicato nel 1665, lo scienziato descrive microfunghi, insetti e protozoi. Hooke fu anche il primo scienziato ad identificare le cellule che poi sarebbero state riconosciute come i mattoni che formano ogni essere vivente. Egli, analizzando al microscopio un



Figura 10. Fotografia del microscopio di Hooke. Per gentile concessione del National Museum of Health and Medicine, Silver Spring, Md

pezzo di sughero, osservò delle cavità separate da pareti che apparivano come tante piccole celle, e per questa ragione le chiamò con il termine latino “cella” (Figura 10).

Le cellule osservate da Hooke erano morte, per cui senza nucleo. Anche lo scienziato Antoni van Leeuwenhoek osservò in campioni di acqua, cibo e terreno dei microrganismi: probabilmente batteri e/o miceti. L'opera di questi due scienziati, in particolare di Hooke, è stata senza dubbio determinante. Bisogna, comunque, attendere la prima metà dell'Ottocento ed il perfezionamento del microscopio ottico per l'effettivo inizio della citologia moderna. Infatti, fino all'inizio dell'Ottocento si pensava che gli esseri viventi fossero costituiti da una materia gelatinosa, visibile al microscopio in forma solidificata.

Il Milleottocento: l'alba dell'Età contemporanea

Nel 1824, Henri Dutrochet ipotizzò per la prima volta che la **cellula** (glossario) fosse l'elemento base di ogni organismo.

Henri Dutrochet formulò le proprie ipotesi circa ottanta anni dopo le osservazioni di Robert Hooke. È importante osservare come la conoscenza sia un processo lungo e paziente. Ogni scienziato fornisce il proprio contributo che poi verrà sviluppato nel tempo da altri scienziati. In questo processo sono molto importanti gli strumenti a disposizione degli studiosi. Nella scienza non bisogna scoraggiarsi quando non si riesce a dimostrare la validità delle proprie idee, può darsi che non esistano ancora gli strumenti idonei. È fondamentale, però, comunicare le proprie idee, forse in seguito qualcuno dimostrerà che erano giuste.

I microscopi da lui utilizzati, però, non avevano ancora una risoluzione sufficiente, e per questo non riuscì a comprendere l'effettiva costituzione delle cellule e, in particolare, a vedere i nuclei. Passarono pochi anni e, proprio grazie ai nuovi microscopi, la teoria di Dutrochet fu ampliata e perfezionata da Matthias Jacob Schleiden e Theodor Schwann.

Schleiden, studiando le cellule delle piante, ipotizzò che queste fossero le parti elementari dei vegetali formatesi attraverso un processo di costituzione di membrane che avvolgevano il contenuto mucoso delle cellule.

Nel Milleottocento la nascita della **genetica** e della **citologia** (glossario) furono determinanti per l'inizio della moderna ricerca oncologica.

Schwann, osservando al microscopio tessuti fetali, intuì che lo schema di formazione descritto da Schleiden poteva essere applicato anche alle cellule animali. Queste teorie cellulari furono determinanti non solo per lo sviluppo della biologia, in generale, ma anche per l'approccio che offrivano allo studio e alla caratterizzazione dei tumori.

Infatti, fino al Settecento, i tumori erano stati osservati solo ad occhio nudo, mentre dall'Ottocento in poi, grazie al microscopio, gli scienziati poterono finalmente analizzare le cellule che costituivano i tessuti, anche quelli tumorali. Johannes Müller fu il primo a riportare delle osservazioni straordinarie relative alle differenze di "aspetto" tra cellule tumorali benigne e maligne, ipotizzando la formazione di nuove cellule all'interno dell'organo malato e la loro diffusione in differenti parti del corpo attraverso i vasi sanguigni. Inconsapevolmente, Müller aveva affrontato uno degli aspetti più complessi del cancro, quello che oggi conosciamo con il nome di **metastasi** (glossario).

Inoltre, egli associò lo sviluppo dei tumori all'invecchiamento (ipotesi che è stata scientificamente confermata in tempi più recenti) e osservò che i tumori interessati da **necrosi** (glossario) potevano regredire.

Oltre a Müller, molti altri studiosi come Karl Thiersch si interessarono al fenomeno delle metastasi. Impressionanti furono le osservazioni e deduzioni di Thiersch che suggerì che i cancri si diffondono, ossia metastatizzano, per il distacco di cellule maligne dal primo tumore osservato.

Lo scienziato Rudolf Virchow, nel 1858, studiò attentamente tutte le ipotesi ed i risultati ottenuti dai suoi predecessori e propose che ogni cellula genera un'altra cellula, concetto riassunto nella frase *Omnis cellula ex cellula*. Partendo da questo presupposto, egli poté formulare la straordinaria ipotesi che il cancro non è altro che una malattia delle cellule. Virchow cercò di dare anche una spiegazione alla "diffusione" dei tumori, sostenendo che il tumore principale secernesse un liquido (succo) in grado di diffondersi in altri organi e stimolare la formazione di nuovi tumori. L'idea del succo di Virchow era in netto contrasto con quella di Thiersch sul distacco di cellule maligne, ma trovò un ampio consenso essendo Virchow molto conosciuto e stimato. Inoltre, Virchow ebbe il merito di aver scoperto la **leucemia** (glossario), una forma di tumore del sangue.

La teoria di Thiersch, agli inizi non molto considerata, verso la fine dell'Ottocento venne ripresa da Stephen Paget che, studiando i tumori del seno, giunse alla nuova ipotesi del "seme e terreno" per spiegare come un tipo di tumore tende a formare metastasi in altre parti del corpo. Secondo questa teoria, analogamente a quanto avviene nel mondo vegetale, "una cellula tumorale (seme), che si stacca, potrà andare in qualsivoglia direzione, ma attecchirà e crescerà solo nel tessuto (terreno) ad essa congeniale". Nello stesso periodo, Julius Cohnheim suggerì che i tumori avessero origine dalle cellule embrionali.

Mentre Müller, Virchow e altri erano impegnati a far capire al mondo che una possibile cura per il cancro si poteva ottenere solo attraverso un accurato studio delle cellule al microscopio, altri scienziati si prodigavano a risolvere sperimentalmente il cosiddetto dilemma dell'ereditarietà.

Ippocrate, già nel V secolo a.C., tentò di affrontare il problema dell'ereditarietà, postulando l'esistenza nel seme paterno di minuscole particelle contenenti le informazioni per il passaggio delle caratteristiche fisiche dal padre ai figli. Aristotele, in seguito, ampliò tale teoria affermando che il seme paterno contiene i "piani" per il completo sviluppo dell'embrione in individuo adulto. Le posizioni di Ippocrate e di Aristotele erano del tutto androcentriche, cioè centrate sulla figura maschile, ma riconoscevano anche che i caratteri ereditari sono trasmissibili da una generazione all'altra.

Negli anni compresi fra il 1860 e la fine del secolo le osservazioni fatte da alcuni grandi scienziati permisero di identificare le parti della cellula che contengono il materiale deputato alla trasmissione dei caratteri ereditari (**cromosomi**) (glossario), e di formulare le prime ipotesi sul modo in cui questi venivano trasmessi dai genitori ai figli. Nacque così la genetica, la branca della biologia che studia i geni e l'ereditarietà. Qui di seguito elenchiamo alcune delle tappe principali che condussero alla sua nascita.

Il chimico Friedrich Miescher fu il primo ad identificare, nel 1860, il DNA nel nucleo delle cellule, e proprio per questa sua localizzazione lo denominò "acido nucleico".

Nel 1879, Walther Flemming, biologo e medico cecoslovacco, colorò con l'anilina, un colorante molto diffuso a quei tempi, cellule di salamandra in divisione, riuscendo così ad individuare numerosi "corpi" a forma di bastoncino. Questi "corpi" erano localizzati nel nucleo delle cellule e, proprio in prossimità della divisione, condensavano e assumevano un colore di un ceruleo brillante. Essi furono detti cromosomi proprio per la loro particolare affinità ai coloranti.

Negli stessi anni, Gregorio Mendel pubblicava i suoi risultati sugli esperimenti di incrocio tra piante di piselli, mentre Charles Darwin, oltre a studiare l'evoluzione delle specie, introduceva il concetto delle "gemme" come meccanismo della trasmissione dei caratteri ereditari.

Il biologo August Weismann (1834-1914) teorizzò che ogni organismo fosse composto da cellule somatiche e cellule germinali, e che fossero proprio queste ultime quelle deputate alla trasmissione dei caratteri ereditari.

Alla fine dell'Ottocento, il botanico Hugo De Vries sosteneva l'esistenza nelle cellule germinali dei pangeneti, responsabili della trasmissione dei caratteri ereditari. Straordinaria, infine, fu l'intuizione degli scienziati Weismann e Wilhelm Roux che definirono i cromosomi come depositari dei caratteri ereditari.

Le osservazioni e le teorie di questi scienziati, come vedremo, contribuirono alla ricerca oncologica e al progredire nella strada iniziata da Müller e Virchow. Infatti, la larga accettazione che il cancro fosse una malattia delle cellule portò i ricercatori ad esaminare sempre più attentamente al microscopio i tessuti tumorali. In questo contesto, nel 1890, David von Hansemann, patologo tedesco, studiò al microscopio diversi tumori ed osservò che tutti presentavano delle anomalie nei loro cromosomi. Lo scienziato ne dedusse che tutte le cellule tumorali erano diventate tali proprio a causa di queste anomalie.

Le ipotesi di Hansemann furono successivamente riprese, ampliate ed approfondite da Theodor Boveri, biologo tedesco, che nel suo libro *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren* (1914) scrisse: "la crescita del tumore si basa su una particolare combinazione cromosomica, errata, che è la causa delle caratteristiche di crescita anormale trasmesse alle cellule figlie".

Deduzioni davvero sbalorditive, se si pensa che alla fine dell'Ottocento non si conosceva nulla sulla composizione e sull'organizzazione dei cromosomi. La strada giusta era stata imboccata; addentriamoci adesso nel XX secolo, per analizzare come le scoperte della ricerca oncologica hanno dimostrato la correttezza delle idee di Boveri.

In Tabella 2 sono riassunte le principali tappe della ricerca sul cancro dalla Preistoria a tutto il 1700.

Tabella 2. Tappe principali della ricerca sul cancro dalla Preistoria a tutto il 1700

Periodo storico	Tappe della ricerca
Paleolitico	Tumori in animali preistorici.
3000 a.C.	Il papiro di Edwin Smith descrive per la prima volta un tumore umano.
1500 a.C.	Il papiro di Ebers descrive i tumori della pelle, dell'utero, dello stomaco e del retto.
400 a.C.	Ippocrate propone la prima teoria sullo sviluppo dei tumori.
25 a.C.- 50	Nel libro <i>De Medicina</i> , Celso descrive diverse varietà di tumori ed evidenzia il fatto che i tumori al seno causano la morte attraverso la diffusione agli organi distanti, raccomandando la terapia chirurgica.
81-138	Aretaeus descrive per la prima volta i tumori dell'utero.
100-200	Galeno implementa la teoria di Ippocrate, proponendo che l'eccesso di bile nera causa i tumori incurabili e che quello di bile gialla causa, invece, i tumori curabili.
300-400	Oribasio di Baghdad conferma che i tumori sono causati da un eccesso di bile nera.
500-1300	Ezio di Costantinopoli (527-565) introduce il trattamento dei tumori del seno mediante amputazione dell'intero organo. Paolo di Egina (625-690) pratica la tiroidectomia e la polipectomia dei polipi nasali. Rhazes di Baghdad (860-932) descrive nuovi trattamenti per i tumori nel libro <i>De Chirurgia</i> . Avicenna (Persia 980-1037) introduce l'asportazione dei tumori dell'intestino retto. Avenzoar di Cordova (Spagna 1070-1162) descrive i tumori dell'esofago e del retto ed introduce l'isterectomia per l'asportazione dei tumori uterini.
1500	Paracelso inizia a dubitare delle teorie di Ippocrate e Galeno ed ipotizza che i tumori si sviluppano per un accumulo di "sali" nel sangue. A. Paré, chirurgo francese, ipotizza che una dieta irregolare è la causa dell'insorgere delle malattie neoplastiche, inducendo un accumulo di materiale flocculento nel sangue.
1600	I medici e chirurghi propongono che la coagulazione e la fermentazione del sangue e/o della linfa siano la causa dello sviluppo di tumori.
1700	Lo scienziato olandese Boerhaave ipotizza che il cancro è molto probabilmente indotto da elementi, presenti nell'acqua o nel terreno, che definisce virus. In questo secolo, si sviluppano varie ipotesi per spiegare l'insorgenza dei fenomeni neoplastici. L'infiammazione cronica, lesioni, traumi e predisposizioni familiari vengono considerate come possibili cause dello sviluppo dei tumori. Le autopsie evidenziano che il cancro è una "lesione di organo". B. Ramazzini associa lo sviluppo del tumore del seno e dell'utero allo stile di vita (1713). G.B. Morgagni suggerisce che il cancro è correlato a lesioni patologiche di un particolare organo (1760). P. Pott associa il cancro dello scroto in età avanzata degli spazzacamini alla fuliggine (1775).

Capitolo 2

DA BOVERI ALLA SCOPERTA DEL PRIMO ONCOGENE

Le scoperte e le intuizioni di inizio Novecento

Il cammino della ricerca oncologica nel XX secolo è segnato da tappe straordinarie, ed alcune scoperte si sono rivelate fondamentali per l'oncologia.

Nel 1911 un agricoltore, incuriosito dal fatto che una sua gallina di razza Plymouth Rock presentava un voluminoso tumore solido, la portò in visione al ricercatore Peyton Rous del Rockefeller Institute di New York.

Rous scoprì che, inoculando un filtrato acellulare ottenuto dal tumore della gallina, riusciva ad indurre lo stesso tipo di neoplasia in un pollo Plymouth Rock sano.

Un filtrato acellulare si ottiene sminuzzando dapprima un tessuto in pezzi molto piccoli e poi “pestandolo” in un mortaio per rompere la membrana delle cellule. Infine, si passa il tutto in un “passino” con dei fori piccolissimi. I fori devono avere una grandezza tale da lasciar passare solo tutto ciò che ha dimensione inferiore ad un qualsiasi tipo di cellula, compresa quella batterica.

Quindi, con il suo esperimento Rous dimostrò che i tumori potevano essere trasmessi da particelle più piccole dei batteri. Già nel 1908, Wilhelm Ellerman e Olaf Bang avevano dimostrato la trasmissibilità della leucemia nei polli mediante un filtrato acellulare: inconsapevolmente essi erano stati i primi ad isolare i primi virus oncogeni, cioè virus capaci di indurre la formazione di tumori. A quei tempi, però, la leucemia non era ritenuta un tumore vero e proprio; per questa ragione, la scoperta del primo virus oncogeno è stata sempre attribuita a Rous, anche se le sue dimostrazioni avvennero in un momento successivo a quelle di Ellerman e Bang. Di certo, Ellerman e Bang e, successivamente Rous non avevano la consapevolezza di aver scoperto un gruppo di **virus** (glossario) che, come vedremo in seguito, si riveleranno un importante modello per la ricerca oncologica e non solo.

Inoltre, diversi studiosi dimostrarono sperimentalmente che specifici prodotti chimici presenti nell'ambiente e sui posti di lavoro potevano indurre la formazione di tumori in animali da laboratorio, e per questo definiti cancerogeni. Emblematiche in questo campo sono le ricerche di Katsusaburo Yamagiwa e Koichi Ichikawa che, nel 1915, riuscirono ad indurre tumori della pelle in conigli in cattività, applicando sulla loro pelle “nuda” del catrame. Bisogna sottolineare, e tener ben presente, che questi scienziati avevano stabilito che alcune sostanze chimiche potevano provocare tumori negli animali da laboratorio, ma non sapevano ancora come questo potesse accadere. Bisognerà aspettare qualche decennio per determinare la modalità d'azione dei cancerogeni; infatti, all'inizio del Millenovecento non erano ancora noti il ruolo e la struttura del DNA.

Sempre nello stesso periodo, sul fronte della genetica, Boveri osservò che anomalie nella fisiologia di organismi semplici come il riccio di mare ed un parassita dei cavalli erano associate ad “alterazioni” dei cromosomi. Lo scienziato, grazie a queste osservazioni, elaborò la propria teoria sull'origine dei tumori



Figura 1. Copertina del libro *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren* di Theodor Boveri. Per gentile concessione dell'Università di Bologna, Bi.Ge.A., Dipartimento di Scienze Biologiche Geologiche e Ambientali, Sezione di Biologia

descrivendola e spiegandone le ragioni in maniera dettagliata nel suo libro *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren* (Figura 1).

Come vedremo in seguito, l'insieme dei risultati accumulati nel corso del XX secolo ha dimostrato inequivocabilmente che le sostanze cancerogene ed i virus inducono il cancro con un comune meccanismo, ossia l'alterazione del patrimonio genetico a carico delle cellule colpite. Nel contempo, tali scoperte sono state anche fondamentali per dimostrare la validità della teoria di Boveri riguardo alle basi genetiche del cancro. Questo scienziato può essere veramente considerato il "veggente" della ricerca oncologica, e per mostrarvi quanto ciò sia vero riportiamo alcune frasi "divinatorie" del suo libro *Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren*: "...una cellula maligna ... possiede dei difetti ... questi difetti si trovano nel nucleo, ... le cellule tumorali insorgono perché dei "difetti" sono stati prodotti in una cellula che fino allora era normale...".

Il Millenovecento, il secolo della biologia molecolare: breve storia del DNA

Ricapitolando quanto esposto nel paragrafo precedente, all'inizio del XX secolo i ricercatori erano riusciti a dimostrare, in modo sperimentale, che agenti esterni come sostanze chimiche, radiazioni e virus potevano, potenzialmente, scatenare i processi neoplastici. Ormai sussistevano i presupposti per confermare sperimentalmente la correttezza delle ipotesi di Paracelso, Boerhaave, Hill, Pott ed altri insigni scienziati del passato sul ruolo di tali agenti nello sviluppo delle neoplasie. Inoltre, le nuove conquiste della fisica, della chimica, della biologia e della genetica potevano fornire nuovi approcci sperimentali per analizzare sempre più in dettaglio i meccanismi del processo neoplastico.

Per questa ragione, non è possibile separare la storia dell'oncologia da quella delle altre scienze: nessuna delle conquiste della moderna ricerca sui tumori sarebbe stata possibile senza i nuovi e raffinati protocolli sperimentali scaturiti dai progressi della biologia ed in particolare della biologia molecolare.

Nella Tabella 1 sono messe a confronto le tappe principali della ricerca biologica e quelle della ricerca oncologica, per evidenziare come la prima sia stata fondamentale per i successi ottenuti nel determinare i meccanismi molecolari alla base dei processi neoplastici.

Tabella 1. Confronto tra le tappe fondamentali della biologia molecolare e quelle dell'oncologia

Anno	Biologia molecolare	Oncologia
1824	H. Dutrochet ipotizza che la cellula è l'elemento base di ogni organismo.	
1838		J. Müller descrive le differenze morfologiche tra neoplasie benigne e maligne.
1848	W. Hofmeister osserva la separazione dei cromosomi durante la divisione cellulare.	
1850	T. Schwann e M. Schleiden propongono indipendentemente la teoria cellulare.	
1859	C. Darwin pubblica il libro "Origine della specie".	
1860		R. Virchow propone che il cancro è una malattia cellulare.
1865	G. Mendel porta a termine degli esperimenti di incrocio tra piante di piselli.	K. Thiersch suggerisce che i cancri si diffondono, ossia "metastatizzano", per il distacco di cellule maligne dal tumore primario.
1869	F. Miescher localizza il DNA nel nucleo delle cellule e lo nomina "acido nucleico".	
1875	C. Darwin introduce il concetto di "gemme" per spiegare la trasmissione dei caratteri genetici.	
1877		J. Cohnheim suggerisce che i tumori originano dalle cellule embrionali.
1885	W. Roux ipotizza che i cromosomi sono i depositari dei caratteri ereditari.	
1889		S. Paget propone la teoria del "seme e del terreno" per spiegare la formazione delle metastasi.
1900	H.M de Vries propone la teoria dei pangeni e conia il termine "mutazione".	
1891		D. Hansemann propone che tutte le cellule tumorali hanno delle anomalie a livello della cromatina.
1902	W. Sutton e T. Boveri propongono la teoria cromosomica. W. Sutton sviluppa la teoria cromosomica dell'ereditarietà, inventa il termine "gene" e suggerisce che i "fattori" dell'eredità sono localizzati nei cromosomi.	
1907		G. Ciuffo dimostra che le verruche umane sono causate da un agente infettivo.
1908	W. Bateson e R. Crudell Punnett dimostrano che alcuni "geni" influenzano l'azione di altri "geni".	V. Ellerman e O. Bang dimostrano che la leucemia aviaria è causata da un virus.
1910		P. Rous isola un virus dal sarcoma nei muscoli del petto di una gallina Plymouth Rock.
1914	T. Morgan e C. Bridges dimostrano che i geni sono localizzati sui cromosomi.	T. Boveri ipotizza che la crescita tumorale è correlata a modificazioni cromosomiche.

Segue

Continua

Anno	Biologia molecolare	Oncologia
1915		K. Yamagiwa e K. Ichikawa inducono il cancro nei conigli di laboratorio applicando catrame sulla loro pelle.
1926	T. Morgan pubblica il libro <i>Theory of the gene</i> e dimostra che i raggi X inducono mutazioni.	
1933	A. Tiselius introduce la tecnica di separazione di proteine in liquido.	R. Shope scopre il papillomavirus dei conigli sevatici, denominato <i>Shope papillomavirus</i> , il primo virus tumorale a DNA.
1936		J. Bittner scopre il virus del tumore mammario dei topi. Il virus si trasmette tra topi di laboratorio tramite l'allattamento al seno.
1937	F. Bawden scopre il virus ad RNA del mosaico del tabacco.	
1941	G. Beadle ed E. Tatum propongono la teoria: "un gene = un enzima".	
1944	O. Avery, C. Mcleod e M. McCarty ipotizzano che i geni sono fatti di DNA. E. Schrödinger pubblica il libro <i>What Is Life?</i> , suggerendo l'esistenza di una molecola complessa contenente il codice della vita.	
1946	M. Delbruck and A. Hershey scoprono la ricombinazione genetica.	
1949	E. Chargaff trova che il DNA ha contenuti simili di adenina, citosina, timina e guanina.	
1952	R. Franklin e M. Wilkins analizzano il DNA con protocolli di cristallografia ai raggi X.	
1953	J. Watson e F. Crick propongono il modello della struttura del DNA.	
1954		L. Gross isola il virus della leucemia murina.
1955	F. Sanger annuncia la prima sequenza completa di una proteina.	
1956	Kornberg scopre ed isola l'enzima DNA-polimerasi dai batteri <i>E-coli</i> . F. Crick e G. Gamov annunciano il "Dogma centrale della biologia": l'informazione genetica fluisce "dal DNA all'RNA alle proteine".	A. Graffi e J. Moloney, scoprono, indipendentemente, i virus che possono indurre la leucemia in topi di laboratorio.
1958		Viene sviluppato un test per individuare il virus murino a RNA del Sarcoma di Rous.
1959	F. Jacob e J. Monod scoprono l'operone: insieme di geni strutturali e di sequenze di DNA che controllano la trascrizione dei geni strutturali stessi.	L. Gross, S. Stewart isolano il virus Polioma murino.
1961	M. Nirenberg, H. Mathaei e S. Ochoa determinano il "codice genetico". S. Brenner, F. Jacob e M. Meselson scoprono l'RNA messaggero.	B. Eddy e M. Hilleman e B. Sweet scoprono il virus vacuolizzate delle scimmie 40 (SV40). L. Crawford ed E. Crawford dimostrano che il genoma del virus del sarcoma di Rous è RNA.

Segue

Coninua

Anno	Biologia molecolare	Oncologia
1964		A. Epstein, B. Achong e Y. Barr identificano il virus di Epstein-Barr (EBV), primo virus tumorale umano. H. Temin propone la teoria del provirus.
1966	M. Nirenberg e H. Gobind Khorana completano il codice genetico.	
1967	M. Weiss e H. Green sviluppano il protocollo di ibridazione cellulare.	B. Blumberg isola e caratterizza il virus dell'epatite B.
1969		R. Huebner e G. Todaro propongono l'ipotesi del virogene/oncogene.
1970		H. Temin e D. Baltimore isolano l'enzima trascrittasi inversa.
1972	P. Berg realizza il primo DNA ricombinante <i>in vitro</i> .	
1973	H. Boyer e S. Cohen usano un plasmide per clonare del DNA. F. Graham e A. van der Eb sviluppano la tecnica della trasfezione di DNA in cellule eucariotiche.	J. Rowley dimostra la presenza di anomalie cromosomiche nei pazienti oncologici.
1975	G. Kohler e C. Milstein producono il primo "anticorpo monoclonale".	
1976	E. Southern pubblica il protocollo della tecnica di "Southern Blot" atta ad identificare frammenti di DNA.	D. Stehelin, H. Varmus, M. Bishop e P. Vogt caratterizzano il progenitore cellulare dell'oncogene <i>src</i> del virus del sarcoma di Rous.
1977	W. Gilbert e F. Sanger sviluppano la tecnica per il sequenziamento del DNA. R. Roberts e P. Sharp scoprono gli "introni": le regioni non codificanti di un gene.	B. Ames dimostra che le sostanze cancerogene inducono mutazioni nei geni batterici.
1979		A. Levine, D. Lane e L. Old scoprono l'anti-oncogene p53.
1980		Scoperta dell'HTLV I, il primo retrovirus umano.
1982		Individuazione e caratterizzazione dei primi oncogeni umani.
1983	K. Mullis sviluppa la tecnica dell'amplificazione genica (PCR).	
1986		Scoperta dell'anti-oncogene Rb isolato dal retinoblastoma. Inizio del Progetto Genoma Umano.
1987		Scoperta del virus dell'epatite C.
1990	Inizia il Progetto Genoma Umano.	
1994		Scoperta dell'herpesvirus associato al sarcoma di Kaposi- (KSHV o HHV8). Identificazione degli anti-oncogeni <i>BRCA1</i> e <i>BRCA2</i> correlati con lo sviluppo di alcuni tumori al seno.
1996	P. Brown sviluppa la tecnica dei <i>Microarray</i> . I. Wilmut presenta Dolly, il primo essere vivente clonato.	

Segue

Continua

Anno	Biologia molecolare	Oncologia
1999	Il Progetto Genoma pubblica la sequenza completa del cromosoma umano 22.	
2001	Presentazione dei risultati preliminari del Progetto Genoma Umano.	
2002	Presentazione dei dati del Progetto Genoma Umano.	
2008		Publicazione da parte della rete <i>Cancer Genome Atlas</i> dei risultati sulla caratterizzazione di 601 geni isolati da 206 campioni di glioblastoma. Publicazione della prima sequenza del genoma di una leucemia mieloide acuta e di quello delle cellule normali della pelle provenienti da uno stesso individuo.
2009		Scoperta dei fattori di rischio genetico per il cancro al pancreas.
2010		Sequenziamento e pubblicazione dei genomi completi di vari tipi di tumori umani (seno, reni, pelle).

Basti pensare che senza la definizione della struttura e delle funzioni del DNA non sarebbe stato possibile dimostrare le teorie di Boveri e capire i meccanismi di azione degli agenti tumorali: virus, sostanze chimiche e radiazioni.

Per mostrare la rilevanza del DNA, è utile ripercorrere il cammino scientifico che va dalla scoperta di questa molecola al giorno d'oggi, mettendo in risalto le tappe più significative. Il DNA fu identificato per la prima volta, nel 1869 dal chimico Johan Friedrich Miesher, ma trascorsero ben cento anni prima che si chiarisse il ruolo di questa molecola. Il DNA può presentarsi a differenti livelli di condensazione ed associato a proteine, RNA, visibili nelle diverse forme della cromatina e dei cromosomi.

Quando si parla di DNA, pensiamo subito a Watson e Crick, e raramente viene menzionato il nome di Miescher. La sua storia dimostra quanto sia importante la comunicazione nel mondo scientifico. Di carattere introverso e non incline a mettersi in mostra, egli era interessato alla caratterizzazione delle proteine. Per tale motivo raccolse i leucociti da bende ricche di pus; nel corso della purificazione estrasse una sostanza acida, ricca di fosforo. Egli aveva isolato non delle proteine, ma la molecola del DNA che chiamò allora nucleina per la sua localizzazione. Nel 1871, Miescher pubblicò i suoi esperimenti nel libro *Sulla composizione chimica delle cellule pus*. Purtroppo, il titolo scelto per la sua opera non era così accattivante, ed inoltre egli non si curò molto di pubblicizzarla nella comunità scientifica. Quindi, grazie a Miescher conosciamo il DNA, ma pochi ricordano la sua persona.

All'inizio del Novecento, il ricercatore inglese William Bateson coniò il termine gene, definendo gli alleli, i gameti ed i loro aggettivi: eterozigote e omozigote. Nel 1905 lo stesso scienziato, fervente sostenitore delle idee di Mendel, usò la parola genetica per descrivere lo studio dell'ereditarietà e delle variazioni ereditarie. Sempre agli inizi del Novecento, in maniera indipendente, Walter Sutton e Boveri svilupparono la teoria cromosomica dell'ereditarietà, stabilendo la collocazione dei geni sui cromosomi e quindi la relazione tra geni ed ereditarietà.

Alla medesima conclusione giunse anche Thomas Hunt Morgan, un genetista e biologo statunitense che riuscì a stabilire che i geni sono allineati lungo i cromosomi e disposti a coppia nello stesso punto di ciascuna coppia di **cromosomi omologhi** (glossario) (Figura 2).

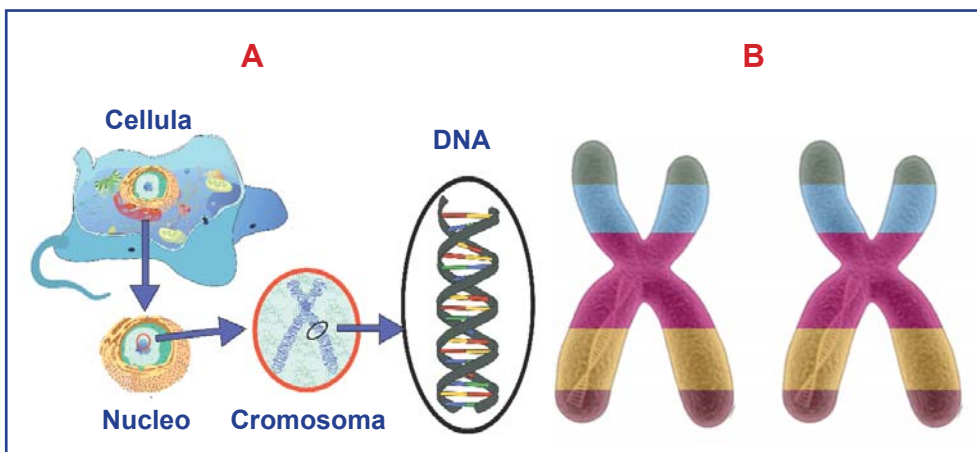


Figura 2. **A.** I cromosomi sono contenuti all'interno del nucleo delle cellule eucariotiche e disposti a coppie. **B.** Coppia di cromosomi omologhi: i geni sono allineati lungo i cromosomi e disposti a coppia nello stesso punto di ciascuna coppia di cromosomi omologhi.

La Figura 2A è riprodotta da https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Eukaryote_DNA.svg

Morgan ottenne tali risultati studiando la *Drosophila melanogaster*, cioè più semplicemente il moscerino della frutta. Questo insetto è da sempre molto utilizzato per gli studi di genetica: è molto piccolo, facile da allevare in laboratorio, la femmina depone circa 600 uova che danno luogo alla nuova generazione nel breve tempo di due settimane, ed ha solo quattro paia di cromosomi.

Hermann Joseph Muller, collaboratore dello stesso Thomas Hunt Morgan, invece fu il primo che riuscì ad indurre una mutazione genetica tramite l'impiego dei raggi X.

Il fenomeno della vita che riesce a tramandare se stessa ha sempre attratto gli scienziati. Negli anni '40, il fisico teorico Erwin Schrödinger, nel suo famoso libro *Che cos'è la vita?*, ipotizzò l'esistenza di un codice della vita scritto nei geni, una sorta di linguaggio morse a tre caratteri capace di governare la cellula. Straordinaria intuizione, tenendo conto che a quel tempo i ricercatori erano ancora divisi sulla natura delle macromolecole cellulari responsabili della trasmissione dei caratteri ereditari.

Alcuni ricercatori, tra cui Oswald Theodore Avery, Colin MacLeod e Maclyn MacCarty, ritenevano che fosse il DNA ad avere un ruolo predominante nella trasmissione dei caratteri ereditari, mentre Alfred Mirsky dava maggiore importanza al ruolo delle proteine. Il dilemma venne sciolto nel 1952 dagli esperimenti dei genetisti americani Martha Chase e Alfred Hershey, quest'ultimo insignito anche del premio Nobel. Essi fecero delle importanti scoperte studiando la replicazione dei virus dei batteri chiamati batteriofagi o fagi. Tali virus, all'atto dell'infezione, iniettano nella cellula batterica solo il loro acido nucleico costituito da DNA. Da questa osservazione scaturì la conclusione che il DNA fagico dovesse senz'altro contenere tutta l'informazione genetica necessaria per generare la futura progenie virale (Figura 3).

Questi risultati costituirono la prova decisiva per promuovere definitivamente il DNA a molecola depositaria dei caratteri ereditari.

Un anno dopo, nel 1953, James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins e Rosalind Franklin pubblicarono, sulla rivista *Nature*, i loro articoli sulla struttura a doppia elica del DNA, e posero, così, le basi per spiegare i meccanismi di duplicazione e trasmissione dell'informazione genetica.

La scoperta del ruolo del DNA e della sua struttura ha rivoluzionato gli approcci sperimentali nella ricerca biologica e determinato l'inizio della ingegneria genetica, che ha permesso di intraprendere gli ambiziosi Progetti Genoma.

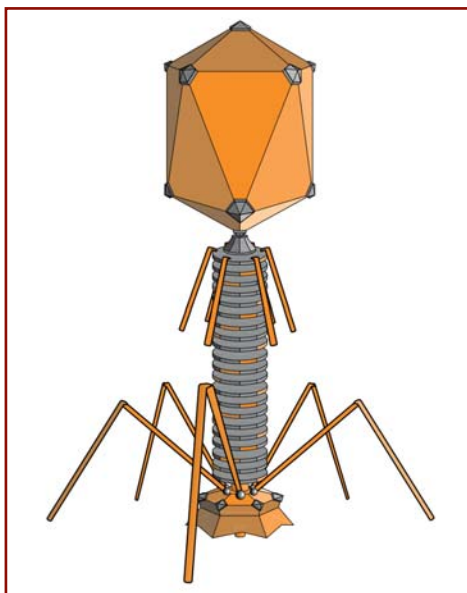


Figura 3. Struttura di un batteriofago
Immagine tratta dal sito <https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3APhageExterior.svg>

Virus oncogeni

Si definiscono virus oncogeni quei virus che possono indurre tumori in esseri viventi e trasformare le cellule coltivate *in vitro* (glossario). L'espressione "manipolazione *in vitro*" indica il lavoro sperimentale effettuato in laboratorio utilizzando provette, cellule in coltura e vari tipi di reagenti chimici e/o biologici.

I virus oncogeni si dividono in due grandi categorie: quelli con un genoma di DNA e quelli con un genoma di RNA. Questi ultimi appartengono al "gruppo" dei retrovirus e devono il loro nome al particolare modo di replicarsi. Infatti, quando i retrovirus infettano una cellula, il loro genoma ad RNA viene copiato in una molecola di DNA dalla trascrittasi inversa e, quindi, si integra nel DNA della cellula ospite. La trascrittasi inversa è un enzima codificato dal genoma virale ed è presente nel virione che entra nella cellula infettata assieme all'RNA.

Il genoma virale integrato nel DNA della cellula ospite, viene detto “provirus”. Il provirus è ereditato ed espresso, e si replica come un qualsiasi segmento di DNA genomico cellulare. Gli RNA, le proteine virali si assemblano e gemmano attraverso la membrana plasmatica (Figura 4).

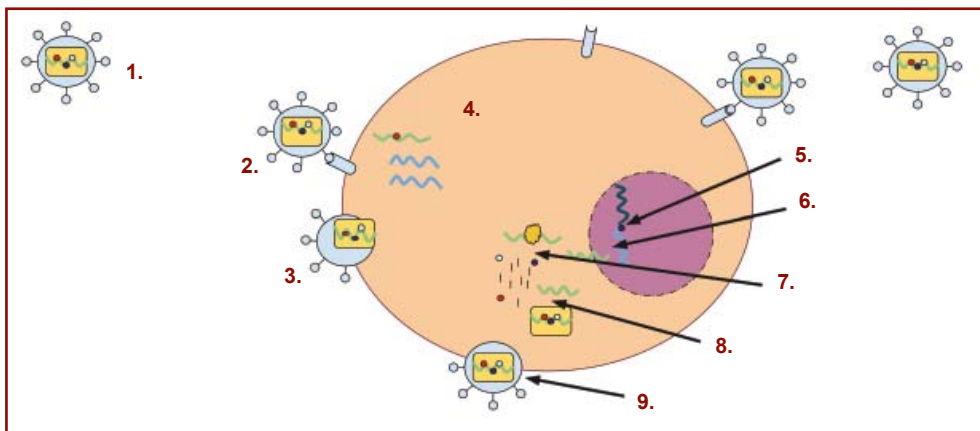


Figura 4. Ciclo replicativo dei retrovirus.

Immagine tradotta e liberamente modificata dal sito https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Life_Cycle_of_a_Retrovirus.svg#/media/File:Life_Cycle_of_a_Retrovirus.svg

Legenda **1.** Retrovirus. **2.** Il retrovirus si attacca alla cellula. **3.** Il retrovirus inietta il genoma RNA e la trascrittasi inversa nella cellula. **4.** La trascrittasi inversa converte il genoma virale da RNA a DNA. **5.** Il DNA virale si integra nel DNA cellulare. **6.** Il DNA virale viene trascritto in RNA come qualsiasi gene cellulare. **7.** L'RNA virale viene tradotto nelle proteine virali. **8.** L'RNA virale viene incapsulato nelle proteine virali e dà luogo alla progenie virale. **9.** Le nuove particelle virali complete dell'involucro esterno gemmano dalla cellula

Virus oncogeni con il genoma di DNA appartengono a sei distinte famiglie di virus: *Poliomaviridae* (SV40 e Polioma), *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Papillomaviridae*, *Poxviridae* e i virus dell'epatite B. I genomi a DNA di questi virus sono di lunghezza variabile, da poche migliaia a decine di migliaia di coppie di basi in forma lineare o circolare. Questi virus, ad eccezione dei *Poxovirus*, si replicano tutti in sede nucleare. Il processo di trasformazione cellulare da parte di questi virus è quasi sempre dovuto all'integrazione dell'oncogene virale nel DNA della cellula ospite e conseguente produzione delle proteine trasformanti virali da esso codificate. Queste proteine possono indurre trasformazione tumorale interagendo con determinate proteine cellulari, oppure alterando l'attività di importanti geni cellulari.

La scoperta dei virus oncogeni

All'inizio del Novecento, Ellerman, Bang e Rous si erano avvicinati allo studio dei virus tumorali, utilizzando modelli animali quali la specie aviaria. La comunità scientifica dell'epoca aveva mostrato un certo scetticismo sulla possibilità che tali modelli animali potessero essere applicati allo studio delle neoplasie umane. Fortunatamente, alcuni ricercatori continuarono a credere nella cancerogenesi virale e perseverarono sulle orme di Ellerman, Bang e Rous, ottenendo risultati importanti.

A partire dagli anni '30 si scoprirono nuove forme tumorali ad eziologia virale, anche in altre specie animali oltre che in quella aviaria. Particelle virali vennero indicate da Richard Shope nel 1932, quali causa dell'insorgenza di papillomi e fibromi nel coniglio selvatico.

Un discorso a parte merita il ricercatore italiano Giuseppe Ciuffo. Nel 1907, questo medico sardo dimostrò, in maniera inequivocabile, l'origine virale delle verruche. Per chiarire la causa e la trasmissibilità di queste formazioni cutanee, egli fece sulla sua persona una prova sperimentale che si rivelerà poi molto importante. Infatti si auto-inoculò un filtrato acellulare ottenuto da verruche, e poco dopo vide comparire sulla sua pelle i segni tipici della malattia. L'agente infettivo individuato da Ciuffo era sicuramente più piccolo di un batterio, e più tardi si dimostrò che questo filtrato acellulare conteneva delle particelle virali, caratterizzate poi come virus a DNA. Il significato di questa scoperta è stato compreso solo molti anni più tardi, quando è stata dimostrata l'associazione tra insorgenza del cancro nell'uomo ed alcuni tipi di questi virus, attualmente noti come papilloma. Infatti, nel 1974 lo scienziato Harald zur Hausen evidenziò la presenza di DNA di papilloma virus nei tumori della cervice uterina.

Nel 1936, John Joseph Bittner dimostrò che anche il carcinoma mammario, che si sviluppava nei topi C3H, un particolare ceppo di topi utilizzati in laboratorio, era causato da un agente trasmissibile apparentemente veicolato dal latte materno e per questo denominato "fattore del latte". Infatti, l'allattamento da parte di madri C3H provocava la comparsa della patologia tumorale sia nella propria prole che in quella adottiva. Questo "fattore del latte", poiché capace di attraversare i filtri batteriologici, poteva ben identificarsi con un virus.

Molti anni più tardi, nel 1953, Ludwik Gross isolò il primo virus capace di indurre la leucemia nei topi. Il virus di Gross costituì il capofila di una lunga serie di virus leucemici murini.

In assenza di una razionale nomenclatura tassonomica, i nuovi isolati di virus leucemici murini assunsero convenzionalmente il nome del ricercatore che per primo era stato in grado di individuarli. Sulla base di questo criterio, riconosciamo i virus di Arnold Graffi (1955), William Moloney (1957), Charlotte Friend (1957) e Frank J. Rauscher (1962), tutti capaci di indurre leucemie nei topi.

Alla fine degli anni '50, sempre Ludwik Gross e, indipendentemente, Sarah Stewart scoprirono un virus dei topi capace di indurre un'ampia varietà di tumori, che per questa ragione venne chiamato "polioma". Qualche anno dopo, all'inizio degli anni '60, Sarah Sweet e Maurice Hillerman identificarono in colture di cellule di scimmia Rhesus un virus strettamente affine al polioma che venne chiamato SV40 (Simian Virus 40).

Sarah Sweet e Maurice Hillerman identificarono il virus SV40 in maniera del tutto fortuita. Nella ricerca scientifica questo può accadere, ma bisogna essere molto attenti ad osservare ogni particolare.

Questo virus è presente nei suoi ospiti naturali in uno stato di latenza, cioè in uno stato dormiente, e non induce alcuna sintomatologia, mentre quando viene iniettato in criceti giovani dà luogo alla comparsa di sarcomi.

I virus del papilloma, poliovirus e SV40 sono stati raggruppati da Helnick, nel 1962, in una “classe virale” a DNA definita *Papovaviridae*. Nel 2000, il “Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses” ha suddiviso questa famiglia in due nuove famiglie denominate *Papillomaviridae* e *Poliomaviridae*.

Quindi, con il trascorrere degli anni e con l’acquisizione di un numero sempre crescente di evidenze sperimentali sull’esistenza di agenti trasmissibili associati a tumori, la teoria della carcinogenesi virale superò con successo tutte le obiezioni del passato.

Inoltre, l’avvento della microscopia elettronica insieme alle tecniche chimico-fisiche permisero finalmente di caratterizzare le particelle virali. Si scoprì sorprendentemente che alcune di queste contenevano DNA (ad esempio, quelle isolate da Shope e Gross) mentre altre contenevano RNA (ad esempio, quelle isolate da Rous, da Bittner e da Friend). Era ormai dimostrata l’esistenza di virus ad RNA o a DNA in grado di indurre tumori e, pertanto, definiti virus oncogeni (Tabelle 2 e 3).

Tabella 2. Alcuni dei principali virus oncogeni a RNA (retrovirus) e loro oncogeni

Retrovirus	Scoperto ed isolato da	Anno	Oncogene
Virus della leucosi aviaria	Ellermann e Bang	1908	Nessuno
Virus del sarcoma di Rous	Rous	1911	<i>src</i>
Virus del sarcoma di Fujinami e Inamoto	Fujinami e Inamoto	1914	<i>fps</i>
Virus del mielocitoma aviario MH2	Murray e Begg	1930	<i>myc</i>
Virus della eritroblastosi aviaria	Engelbreth-Holm Rothe Meyer	1932	<i>erbB e erbA</i>
Virus del sarcoma murino di Harvey	Harvey	1964	<i>h-ras</i>
Virus del sarcoma murino di Moloney	Moloney	1966	<i>mos</i>
Virus della reticoloendoteliosi aviaria	Theilen e coll.	1966	<i>rel</i>
Virus del sarcoma murino di Kirsten	Kirsten e Mayer	1967	<i>k-ras</i>
Virus della leucemia murina di Abelson	Abelson e Rabstein	1970	<i>abl</i>
Virus del sarcoma murino BALB	Aaronson	1970	<i>h-ras</i>

Tabella 3. Alcuni dei principali virus oncogeni a DNA e loro oncogeni

Virus oncogeni a DNA	Scoperto ed isolato da	Anno	Oncogene
<i>Adenovirus</i>	Rowe	1953	E1A regione 2
Polyoma	Gross, Stewart	1959	T Grande
SV40	Sweet, Hillerman	1960	T Grande
Papilloma Virus Umano	Zur Hausen	1976	E7

Nonostante questa scoperta fondamentale, bisognava dare ancora risposte a degli interrogativi fondamentali: il loro meccanismo di infezione, replicazione e di trasformazione cellulare.

Una svolta decisiva in campo virologico si ebbe negli anni '50 con l'introduzione delle colture di **cellule eucariotiche** (glossario), ovvero cellule complesse come quelle dell'uomo o degli animali cresciute in appositi contenitori in laboratorio, cioè *in vitro*.

La disponibilità di un sistema *in vitro* su cui far crescere i virus ha rivoluzionato la virologia, permettendo innanzitutto di ottenere grandi quantità di virus. Grazie alle colture cellulari sono stati isolati e purificati molti virus, dimostrando così l'origine virale di un notevole numero di tumori animali.

Soprattutto, grazie alle colture cellulari è stato possibile osservare direttamente l'interazione virus-cellula, requisito base per indagini sempre più approfondite sui meccanismi che inducono la formazione di un tumore. Le colture cellulari, infatti, hanno permesso di osservare e studiare *in vitro* come una cellula normale si trasforma in una **cellula tumorale** (glossario).

“Come i virus potevano indurre un evento così complesso e sconvolgente quale la trasformazione cellulare?": la risposta a questa domanda fu fornita dal mondo dei batteri.

Negli anni '50, infatti, André Michael Lwoff aveva pubblicato i suoi studi sul ciclo lisogeno dei fagi, dimostrando che i fagi potevano integrarsi nel genoma del batterio ospite alterandone quindi l'organizzazione del DNA, ossia il **genotipo** (glossario). L'integrazione del fago comportava un'alterata espressione dell'informazione genetica del batterio, con conseguente alterazione del suo **fenotipo** (glossario), ovvero delle sue caratteristiche di crescita (Figura 5).

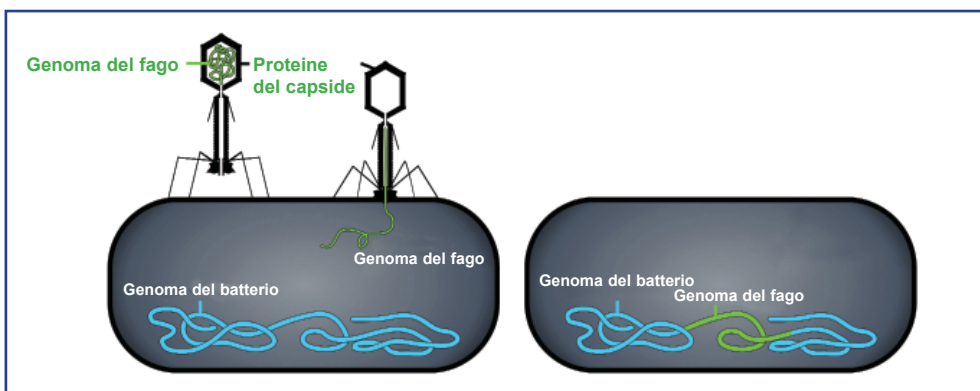


Figura 5. Ciclo lisogeno di un fago.

Immagine tradotta e liberamente modificata da: [https://it.wikipedia.org/wiki/Virus_\(biologia\)#/media/File:Phage_injecting_its_genome_into_bacteria.svg](https://it.wikipedia.org/wiki/Virus_(biologia)#/media/File:Phage_injecting_its_genome_into_bacteria.svg)

Tale modello apparve subito valido per poter dare una spiegazione ai meccanismi di trasformazione dei virus oncogeni a DNA. A quei tempi, non si sapeva ancora molto riguardo ai meccanismi di trasformazione cellulare dei virus a DNA, ma verosimilmente si poteva ipotizzare che tali virus esercitassero le loro proprietà trasformanti integrando il loro genoma in quello della cellula ospite utilizzando lo stesso meccanismo dei fagi.

Il modello dei fagi, però, non sembrava applicabile nel caso della trasformazione da parte di virus oncogeni ad RNA. Come avrebbe mai potuto un virus ad RNA integrarsi nel DNA della cellula ospite? L'unico modo possibile sarebbe stato quello di convertire il suo genoma ad RNA in un genoma a DNA, ma tale processo era contrario al "dogma centrale" della biologia molecolare, formulato nel 1958 da Francis Crick ed altri scienziati.

Tale dogma asseriva che soltanto il DNA era in grado di trasmettere ed esprimere l'informazione genetica in essa contenuta. I ricercatori affermavano l'esistenza di un unico percorso unidirezionale per l'informazione genetica: le molecole di DNA potevano generarsi soltanto da molecole di DNA e queste potevano essere trascritte in molecole di RNA messaggero (mRNA), ossia i futuri stampi per il processo di traduzione in proteine (Figura 6).

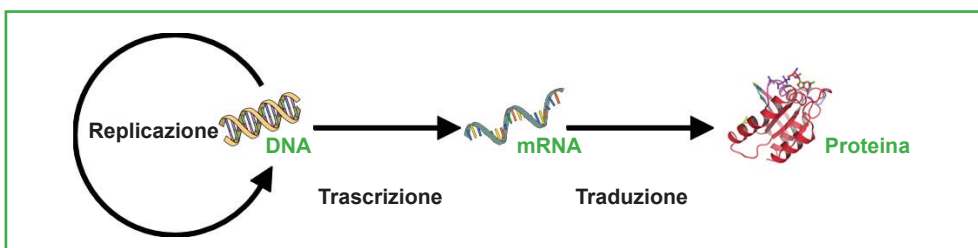


Figura 6. Il percorso dell'informazione genetica secondo il dogma centrale della biologia. Immagine liberamente modificata dal sito https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3AFlusso_informazione_genetica_diagramma.jpg

I dati sperimentali, fino ad allora in possesso dei ricercatori, escludevano la possibilità di un cammino all'inverso, e cioè che da molecole di RNA si potessero generare molecole di DNA. Nonostante queste certezze che sembravano inconfutabili, Howard Martin Temin iniziò a formulare l'ipotesi straordinaria che i virus oncogeni a RNA convertissero il loro genoma in DNA. Questo ricercatore, futuro premio Nobel, progettò un esperimento per verificare la sua ipotesi, azzardata per quei tempi, dimostrando che l'informazione genetica virale, deputata alla formazione della nuova progenie, è dapprima convertita da RNA a DNA e poi espressa.

I risultati ottenuti da Temin fecero sorgere un quesito pressante e difficile: "Come si poteva ottenere una molecola di DNA utilizzando come stampo una di RNA?". Non sembrava esserci alcuna risposta a questo interrogativo. Fino a quel momento, non esisteva alcuna evidenza sperimentale che si potessero trasferire informazioni genetiche dall'RNA al DNA. La risposta giunse con la scoperta della trascrittasi inversa.

Nel 1970 lo stesso Howard Martin Temin e, in maniera indipendente, David Baltimore isolarono un enzima capace di sintetizzare una molecola di DNA utilizzando come stampo una molecola di RNA. Tale enzima per questa sua peculiarità d'azione fu denominato **trascrittasi inversa** (glossario).

I virus ad RNA, grazie alla trascrittasi inversa, possono commutare il loro genoma in DNA ed integrarlo in quello della cellula ospite, seguendo il modello della lisogenia batterica. Sulla base di queste nuove conoscenze, i virus ad RNA vennero chiamati retrovirus, proprio per il loro particolare modo di replicazione.

La trascrittasi inversa ha apportato una rivoluzione nel mondo scientifico, non soltanto per aver azzerato il dogma centrale della biologia molecolare, ma anche per aver permesso lo sviluppo di innovativi approcci sperimentali. Ormai gli scienziati, grazie agli enzimi di restrizione, alla DNA polimerasi, alla trascrittasi inversa e a molti altri enzimi, potevano progettare sofisticati esperimenti per analizzare a livello molecolare ogni organismo.

Determinanti per lo sviluppo dell'ingegneria genetica sono stati gli enzimi di restrizione: nel 1970 il ricercatore svizzero Werner Arber e l'americano Hamilton O. Smith osservarono che alcuni batteri possedevano delle proteine in grado di frammentare DNA estraneo, cioè introdotto dall'esterno grazie all'aiuto di un virus. Tali proteine, definite per l'appunto enzimi di restrizione, tagliano il DNA estraneo solo in specifiche sequenze di nucleotidi. Nel tempo furono scoperti innumerevoli enzimi di restrizione ognuno con uno specifico punto di azione: questi furono determinanti per lo sviluppo dell'**ingegneria genetica** (glossario) e per le conseguenti applicazioni all'oncologia e non solo (Figura 7).

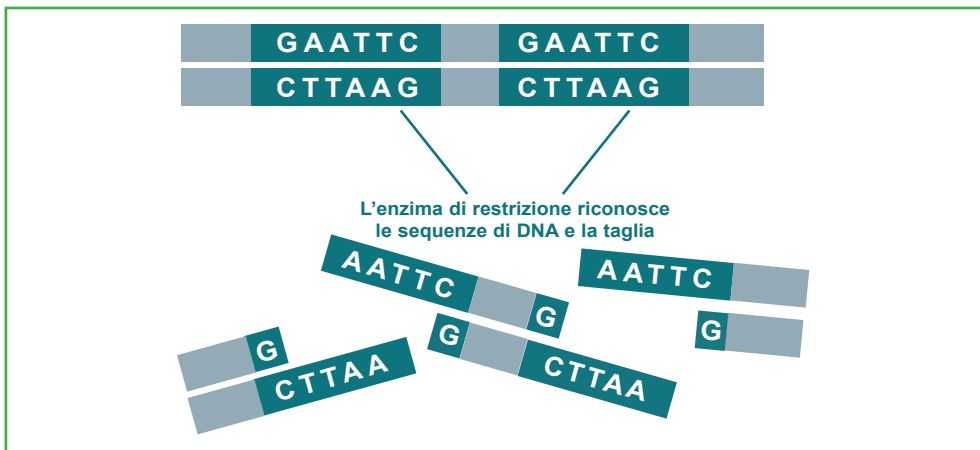


Figura 7. Meccanismo d'azione degli enzimi di restrizione. Immagine liberamente modificata dal sito Zanichelli scuola.it

Il materiale genetico ora poteva essere trascritto e tradotto a partire da molecole di DNA e/o RNA con le polimerasi appropriate e, con gli enzimi di restrizione, si potevano "tagliare e cucire" frammenti di DNA ove si voleva. L'ingegneria genetica rappresentava ormai il mezzo principale per analizzare il DNA in tutto e per tutto, cosicché le varie tecniche di clonaggio molecolare hanno permesso di isolare e studiare i geni del cancro. Nella Figura 8 è illustrato uno schema di clonaggio molecolare di un gene utilizzando dei **plasmidi** (glossario) (Figura 8).

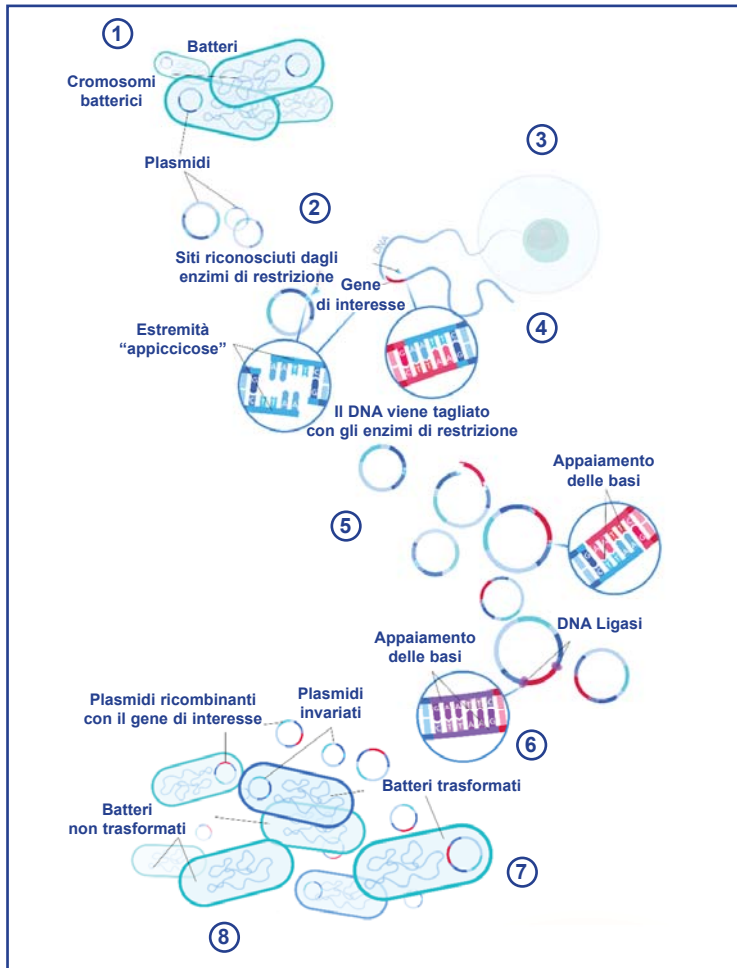


Figura 8. Schema di un esperimento di clonaggio molecolare.

Immagine tradotta e modificata dal sito https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/3/34/Genes_cloning-fr.svg

Legenda: **1.** I plasmidi sono estratti da cellule batteriche e servono come molecole vettori per clonare i geni di interesse. **2.** I plasmidi hanno dei geni che permettono loro di crescere in particolari condizioni ambientali e conseguentemente di selezionare dei batteri ospiti. Ad esempio, il gene LacZ che conferisce un colore blu ai batteri ospiti quando questi sono coltivati in presenza di lattosio. I plasmidi possono avere anche geni che conferiscono resistenza agli antibiotici. **3.** Cellula che contiene il DNA da clonare: da questa viene estratto il DNA. **4.** Gli enzimi di restrizione riconoscono delle sequenze specifiche, lunghe 4-8 paia di basi sul DNA. **5.** I frammenti di DNA plasmidico e cellulare vengono "mischiati", in proporzioni opportune che dipendono dalla grandezza del gene che si vuole clonare. Le estremità "appiccicose" dei frammenti si cercano e uniscono le loro basi secondo il principio fondamentale della struttura a doppia elica del DNA. **6.** L'enzima DNA ligasi unisce in modo definitivo i frammenti di DNA che si erano appaiati. In questo modo, si ottengono varie combinazioni di frammenti di DNA cellulare e plasmidico. I frammenti ricombinanti, utili al clonaggio molecolare, sono quelli formati da un plasmide e dal gene di interesse. **7.** I frammenti di DNA, legati in modo definitivo tra di loro, si mescolano con dei batteri. Alcuni batteri inglobano questo DNA e si trasformano. **8.** Tra tutti i batteri trasformati verranno selezionati quelli che hanno inglobato il plasmide legato al gene di interesse grazie alla crescita in opportuni terreni selettivi.

Oncogeni di alcuni retrovirus

I ricercatori, studiando delle particolari cellule mutate, avevano dimostrato che le proprietà tumorali del virus del sarcoma di Rous erano correlate ad un particolare gene virale.

Nel 1976 Dominique Stehelin, Harold Varmus, Michael Bishop e Peter Vogt riuscirono a dimostrare che il gene trasformante del virus del sarcoma di Rous era simile ad un gene presente in normali cellule di pollo. Verosimilmente il virus, durante i suoi passaggi nelle cellule ospiti, era riuscito a catturare il gene cellulare, e a fargli acquisire le proprietà tumorali. Tale gene fu chiamato *src* e definito oncogene per le sue capacità di indurre nella cellula un fenotipo neoplastico (trasformato).

Sotto la spinta della scoperta del gene *src*, i ricercatori individuarono successivamente gli oncogeni di molti altri retrovirus (*Tabella 2, p. 26*). I ricercatori dimostrarono che gli oncogeni di quasi tutti i retrovirus derivavano da geni cellulari, che proprio per questo furono denominati proto-oncogeni.

I ricercatori, grazie a tecniche sempre più raffinate di biologia molecolare ed ingegneria genetica, riuscirono a stabilire che le proprietà cancerogene della maggior parte dei virus oncogeni erano collegate proprio alla presenza nel loro genoma degli oncogeni.

Nei virus con genoma di DNA queste sequenze trasformanti non erano altro che geni virali, mentre nella maggior parte dei retrovirus gli oncogeni erano geni che erano stati catturati dal genoma delle cellule ospiti (*Tabella 3, p. 26*). Quando, come e perché questo evento si era verificato non era noto a nessuno e molti dubbi permangono ancora oggi.

I ricercatori riuscirono anche ad evidenziare che non tutti i retrovirus possedevano degli oncogeni e che alcuni retrovirus trasformavano le cellule inserendosi, ad esempio, vicino a particolari geni cellulari e modificandone così le funzioni.

Nello stesso periodo in cui venivano scoperti gli oncogeni virali, Bruce Ames dimostrava che alcune sostanze chimiche, già conosciute come cancerogene, inducevano mutazioni nei geni batterici. Ames, quindi, dimostrò sperimentalmente che i cancerogeni chimici agiscono modificando il DNA. Questi esperimenti furono determinanti per confermare che le sostanze cancerogene inducono il cancro, danneggiando i geni delle cellule bersaglio.

Negli anni successivi, venne confermato che anche i cancerogeni fisici, quali le radiazioni ionizzanti, hanno un'attività mutagena.

I risultati sui meccanismi di trasformazione dei cancerogeni, chimici o fisici, vennero subito analizzati in parallelo con i dati sui meccanismi di trasformazione dei virus oncogeni, ed entrambi apparvero concordare con le lungimiranti ipotesi del ricercatore Boveri, formulate all'inizio del Novecento: "... una cellula maligna ... possiede dei difetti ... questi difetti si trovano nel nucleo, ... le cellule tumorali insorgono perché un "difetto" è stato prodotto in una cellula che fino allora era normale ...".

Inoltre, tali risultati avevano mostrato quale era il percorso da intraprendere per riuscire a individuare i meccanismi molecolari del cancro. Infatti, la dimostrazione sperimentale che i virus tumorali e le sostanze cancerogene inducono i processi neoplastici attraverso un unico meccanismo, ossia la mutazione dei geni normali, ha costituito il presupposto della moderna ricerca oncologica.

Capitolo 3

I GENI DEL CANCRO

Oncogeni umani

A questo punto della nostra storia, è necessario richiamare l'attenzione su tre scoperte fondamentali per la ricerca sui tumori, qui di seguito riassunte:

- 1) i virus oncogeni inducono la trasformazione tumorale della cellula ospite tramite dei geni che ne alterano l'espressione del patrimonio genetico; nella maggior parte dei casi, essi si integrano nel DNA della cellula infettata;
- 2) la maggior parte dei retrovirus trasformano le cellule ospiti tramite geni cellulari catturati in una precedente infezione;
- 3) le sostanze cancerogene provocano mutazioni nel DNA, alterando molto probabilmente la funzione di alcuni geni che così acquisiscono la capacità di indurre la trasformazione tumorale.

Dopo queste scoperte, il passo successivo fu quello di individuare le funzioni degli oncogeni virali e i geni bersaglio degli agenti cancerogeni. Per raggiungere tale obiettivo, i ricercatori si servirono, in particolare, della tecnica denominata "trasfezione di DNA".

La tecnica, denominata "trasfezione di DNA", permette di trasferire, in appropriate cellule eucariotiche, DNA esogeno (ossia esterno alle cellule stesse) (Figura 1). Questa tecnica era stata già utilizzata da O.T. Arvey, C. MacLeod e M. McCarty nel 1944.

Questi scienziati erano riusciti a dimostrare la capacità di batteri non patogeni di acquisire un fenotipo patogeno, dopo incorporazione di DNA estratto da ceppi di batteri patogeni.

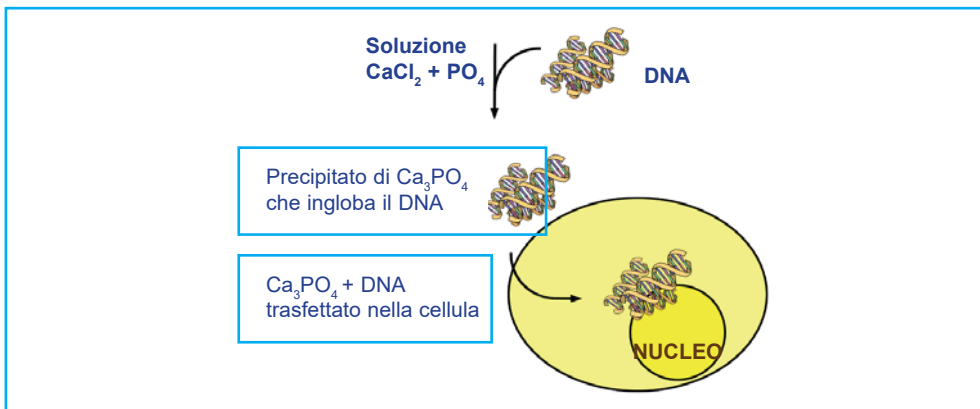


Figura 1. Esperimento di trasfezione in cui il DNA viene precipitato mediante una soluzione di calcio-fosfato ed introdotto e rilasciato nella cellula.

Immagine modificata con il permesso di Valeria Benedusi

Negli anni '70, i ricercatori estrassero il DNA da Adenovirus, un virus oncogeno a DNA, e lo trasferirono in cellule "normali" NIH-3T3, ottenendo la trasformazione di queste cellule da normali a tumorali e la comparsa di caratteristici "foci" di trasformazione. I ricercatori stabilirono che tutto questo era dovuto all'espressione dei geni trasformanti di *Adenovirus*.

Differenze di crescita *in vitro* tra cellule "normali" e cellule "trasformate"

Le cellule "normali" e "tumorali" possono essere "adattate" a crescere *in vitro* in appositi contenitori (capsule), utilizzando appropriati liquidi di coltura dotati di tutti i nutrienti necessari, e opportune condizioni di aerazione e temperatura. Le cellule "normali" hanno una crescita ben regolata e controllata da fattori interni ed esterni.

Le cellule "trasformate" hanno una crescita incontrollata che non risponde a meccanismi di controllo interni ed esterni.

Le cellule normali, come ad esempio, le cellule NIH3T3, crescono aderenti sul fondo della capsula e smettono di dividersi quando arrivano ad una certa densità per un processo chiamato inibizione da contatto, formando quello che viene definito un monostrato. Al contrario, le cellule tumorali (trasformate) non rispondono all'inibizione da contatto, e continuano a moltiplicarsi disponendosi su strati multipli (Figura 2).

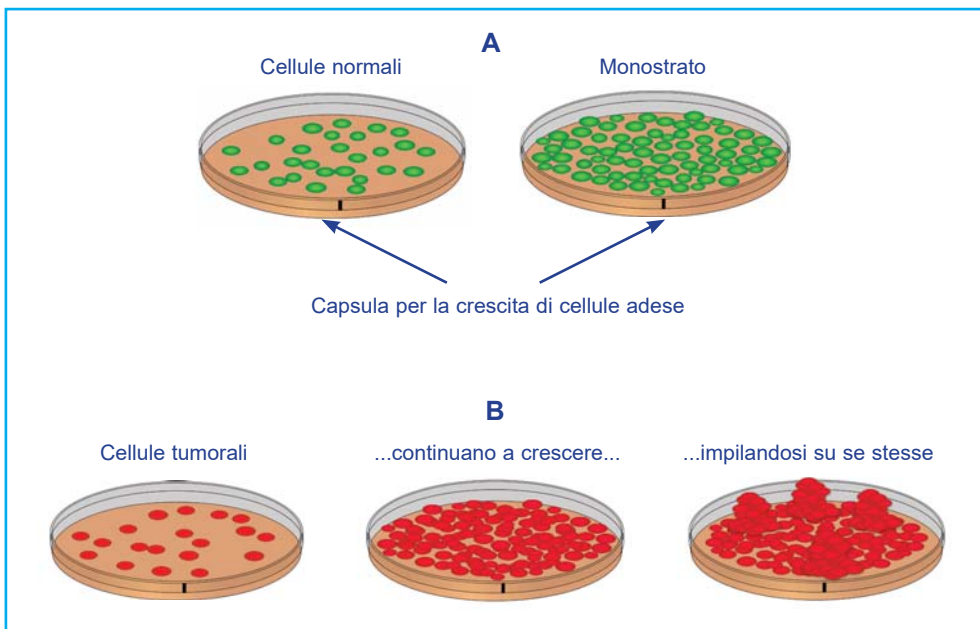


Figura 2. Esempi di cellule "normali" e "trasformate" che crescono aderenti sul fondo di una capsula per la crescita di cellule adese. **A.** Cellule normali che formano un monostrato. **B.** Cellule trasformate che crescono in maniera incontrollata

Proprio grazie a queste differenti capacità di crescita, è stato possibile isolare le cellule che venivano trasformate negli esperimenti di trasfezione e che formavano dei foci.

Per “foci” di trasformazione si intendono quelle cellule che si trasformano ed assumono un fenotipo caratteristico delle cellule tumorali, dovuto alle nuove proprietà di crescita “incontrollata” (Figura 3).



Figura 3. Focus di trasformazione cellulare

Le cellule NIH-3T3 furono utilizzate dallo scienziato Robert Weinberg per analizzare le proprietà trasformanti dei DNA estratti da tumori animali indotti con cancerogeni chimici. Tali DNA, una volta trasfettati in cellule NIH-3T3, diedero luogo ad un notevole numero di foci di trasformazione. Questi esperimenti sembravano dimostrare che il DNA dei tumori animali, indotti con cancerogeni chimici, contenesse geni trasformanti.

La comunità scientifica dedusse da tali risultati che, probabilmente, le cellule trattate con i cancerogeni avevano subito mutazioni in qualche gene, attivandone così le capacità trasformanti. Nel corso degli esperimenti di trasfezione, questi geni “mutati” si erano integrati nel genoma delle cellule NIH-3T3 e le avevano trasformate.

Gli scienziati iniziarono a porsi la domanda: “potevano anche i tumori umani “spontanei” contenere geni trasformanti?”. Non restava altro che eseguire esperimenti di trasfezione simili a quelli di R. Weinberg, utilizzando il DNA di tumori umani. Alcuni gruppi di ricercatori, continuando su questa linea di ricerca, ottennero dei foci di trasformazione a dimostrazione che anche i tumori umani contenevano geni trasformanti.

La successiva analisi molecolare di tutti i geni trasformanti (oncogeni), umani ed animali, individuati con gli esperimenti di trasfezione, dimostrò che la maggior parte di questi erano “omologhi”, cioè simili, agli oncogeni di alcuni retrovirus ed in particolare all'oncogene *ras* di alcuni retrovirus dei topi o dei ratti.

A questo punto vi chiederete: “Come può un gene cellulare acquisire proprietà trasformanti senza essere stato catturato da un retrovirus?”

Non solo voi, ma soprattutto i ricercatori dell'epoca volevano dare una risposta a questa domanda.

Il modo più semplice fu quello di porre a confronto il DNA isolato da cellule normali con quello utilizzato negli esperimenti di trasfezione. Più precisamente i ricercatori confrontarono le sequenze *ras* presenti nel DNA “normale” con le sequenze

ras presenti nel DNA “tumorale”. L’unica differenza rilevata tra le sequenze *ras* “normale” e “tumorale” era una sostituzione di una base del DNA con un’altra, ossia una semplice mutazione puntiforme. Questa semplice mutazione aveva il potere di cambiare la struttura ed il funzionamento della proteina codificata dal gene stesso, conferendogli le proprietà trasformanti.

I geni “trasformanti” cellulari, isolati con gli esperimenti di trasfezione, vennero anche loro denominati “oncogeni” analogamente a quelli virali.

Un proto-oncogene è un gene normale che può acquisire un’attività trasformante dopo essere stato “catturato” da un retrovirus o a causa di mutazioni o di un aumento dell’espressione. I proto-oncogeni codificano proteine che hanno importanti funzioni nella fisiologia cellulare.

Un oncogene è un gene che può indurre trasformazione cellulare. Gli oncogeni dei virus a DNA sono geni virali, mentre gli oncogeni dei retrovirus derivano, quasi tutti, da proto-oncogeni cellulari.

Inoltre, gli scienziati riuscirono a dimostrare che la maggior parte delle anomalie genetiche, quali ad esempio traslocazioni, amplificazioni o di altro genere, identificate in quasi tutti i tumori umani ed animali mediante studi di citogenetica, comprovavano proprio la struttura dei proto-oncogeni.

Si parla di **amplificazione genica** quando le sequenze di un gene vengono moltiplicate più volte, ottenendo molte copie dello stesso gene. Le amplificazioni geniche possono dar luogo ad una super produzione di una specifica proteina, alterandone le funzioni e la regolazione.

Si definisce **traslocazione genetica** ogni spostamento di sequenze di DNA all’interno di uno stesso cromosoma o tra due cromosomi diversi. Le traslocazioni genetiche possono dar luogo a proteine mutate o, anche, ad una loro super produzione.

Si definisce **delezione genica** la perdita di sequenze di DNA. Questo fenomeno può comportare l’eliminazione di un gene o parte di esso, con conseguente alterazione o perdita delle funzioni della proteina da questo codificata.

Un esempio emblematico tra tutti i tumori è dato dalla leucemia mieloide cronica (LMC). Questo tipo di tumore presenta un’alterazione genetica ben definita, conosciuta da sempre come “Cromosoma Philadelphia”. Questo cromosoma, così chiamato in onore della città americana in cui fu scoperto, fu individuato analizzando il cariotipo di cellule di una LMC. Il cromosoma Philadelphia deriva da una traslocazione reciproca di sequenze di DNA tra i cromosomi 22 e 9. Tale scambio

conduce all'inserzione di una parte del gene Abelson (del cromosoma 9) sul cromosoma 22 accanto ad un frammento del gene brc (Figura 4). Questo nuovo gene chimerico *abl-brc* produce una proteina di fusione con una potente attività chinasi, capace di stimolare la proliferazione leucemica dei mieloblasti.

Con grande sorpresa, quindi, l'insorgenza dei tumori umani "spontanei" e quella dei tumori animali indotti da cancerogeni era causata, nella maggior parte dei casi, da mutazioni o alterazioni genetiche nelle stesse sequenze (proto-oncogeni) da cui erano derivati gli oncogeni dei retrovirus.

In Tabella 1 sono elencati alcuni oncogeni ed i tumori da cui sono stati isolati e la funzione della loro proteina.

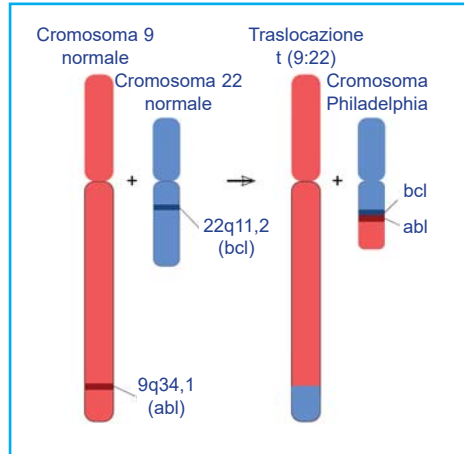


Figura 4. Traslocazione del cromosoma Philadelphia.

Immagine tradotta da https://commons.wikimedia.org/wiki/File%3ASchematic_of_the_Philadelphia_Chromosome.svg

Tabella 1. Alcuni oncogeni, principali tumori da cui sono stati isolati, e funzione della loro proteina

Oncogene	Tumore	Funzione della proteina
<i>SIS</i>	Glioma/fibrosarcoma	Induzione della crescita cellulare
<i>TRK</i>	Carcinoma del colon e della tiroide	Differenziamento delle cellule nervose
<i>SRC</i>	Carcinoma del colon	Trasporto di segnali
<i>ABL</i>	Leucemia mieloide cronica	Trasporto di segnali
<i>RAS</i>	Leucemia mieloide cronica, carcinoma della tiroide e melanoma	Invio di segnali che inducono la proliferazione cellulare
<i>MYC</i>	Carcinoma, mielocitomatosi	Fattori che regolano la trascrizione
<i>FOS</i>	Osteosarcoma	Fattori che regolano la trascrizione
<i>JUN</i>	Sarcoma	Fattori che regolano la trascrizione
<i>SKI</i>	Carcinoma	Fattori che regolano la trascrizione
<i>REL</i>	Leucemia linfatica	Fattori che regolano la trascrizione
<i>ETS</i>	Tumori ematologici	Fattori che regolano la trascrizione
<i>ERB</i>	Glioma	Fattori che regolano la trascrizione

Gli anti-oncogeni

Come descritto nel precedente paragrafo, era ormai ampiamente dimostrato che "una cellula acquisisce proprietà trasformanti quando particolari sequenze genetiche vengono *modificate*".

Gli studi di citogenetica avevano messo in evidenza che le cellule tumorali presentano, in genere, una perdita di materiale genetico. Studiando le alterazioni genetiche di vari tumori, i ricercatori riuscirono a determinare che anche la "delezione" completa o parziale di alcuni geni poteva essere correlata allo sviluppo di

alcuni tumori. Citiamo come esempi il retinoblastoma ed il tumore di Wilms, che presentano delezioni su entrambe le coppie dei cromosomi 13 (gene Rb) e 11 (gene WT1), rispettivamente.

I ricercatori fecero una fusione tra cellule normali e cellule tumorali che presentavano importanti delezioni genetiche, utilizzando protocolli di ibridazione cellulare.

Seguendo questo approccio è stato possibile dimostrare che il fenotipo maligno delle cellule tumorali poteva essere “annullato” ogni qualvolta esse potevano “riacquisire” l’informazione genetica mancante dalle cellule normali. Ad esempio, le cellule del tumore di Wilms, se riacquisivano l’intero cromosoma 11 “normale”, perdevano tutte le loro caratteristiche di cellule cancerose.

Ibridazione cellulare

I protocolli di ibridazione cellulare consistono nel fondere cellule differenti per generare un’unica cellula che contiene l’informazione genetica di entrambe. La prima ibridazione cellulare è stata attuata dal ricercatore Georges Barski nel 1960, semplicemente coltivando negli stessi contenitori due differenti tipi di cellule tumorali di topo.

Dopo alcuni mesi di questa “strana convivenza”, Barski ha riscontrato nei contenitori un terzo tipo di cellule, che aveva caratteristiche di entrambe le cellule “iniziali”. In seguito, nel 1964, il gruppo di lavoro diretto da Boris Ephrussi perfezionò la possibilità di “fondere” tra loro cellule differenti. Tale tecnica fu denominata “ibridazione cellulare” (Figura 5).

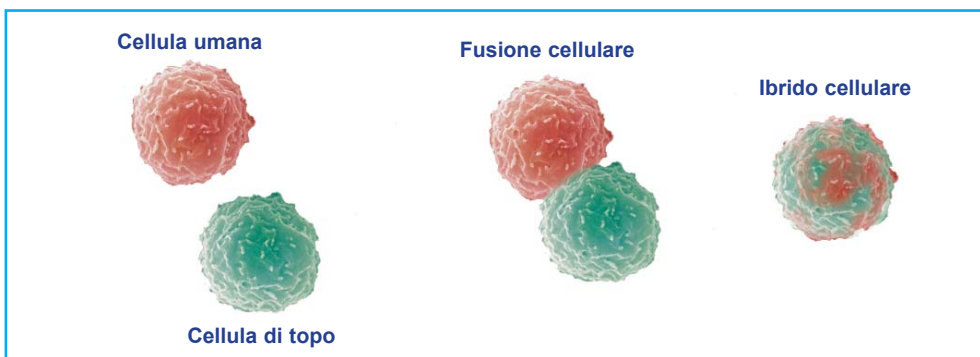


Figura 5. Esperimento di ibridazione cellulare

Per quanto riguarda il tumore di Wilms ed il retinoblastoma, verso la fine degli anni '80, attraverso elaborati protocolli sperimentali si è giunti al clonaggio molecolare dei geni la cui perdita causa lo sviluppo di tali tumori (Wt1 per il tumore di Wilms e di Rb1 per il retinoblastoma).

Sia il retinoblastoma che il tumore di Wilms possono essere ereditari o spontanei. Dagli studi di caratterizzazione delle due forme tumorali è emerso che, in quelle ereditarie, i geni Rb1 e WT1 presentano delle mutazioni già nelle cellule germinali; ciononostante, questa condizione non è sufficiente allo sviluppo del tumore, che

insorge soltanto quando entrambi gli alleli sono mutati. Questo dato rappresentò la conferma sperimentale dell'ipotesi, formulata da Alfred Knudson, secondo la quale esistono "geni sentinella" che impediscono l'insorgenza e lo sviluppo dei tumori.

Tumori ereditari o spontanei

Un tumore si definisce **spontaneo** quando si sviluppa a causa di mutazioni acquisite nel corso della vita. Generalmente questo tipo di tumore insorge in età avanzata.

Un tumore si definisce **ereditario** in presenza di una certa predisposizione familiare allo sviluppo dello stesso tumore. Generalmente i tumori ereditari insorgono in giovane età.

I geni Rb1 e WT1 rappresentano, a tutti gli effetti, i capostipiti di questi geni sentinella, denominati, per questa loro peculiarità, anti-oncogeni o geni oncosoppressori. In Tabella 2 sono elencati alcuni dei principali anti-oncogeni.

Tabella 2. Anti-oncogeni

Antioncogene	Tumore	Funzione
<i>RB</i>	Retinoblastoma	Blocco della replicazione cellulare
<i>WT1</i>	Nefroblastoma	Regolazione della trascrizione
<i>NF1</i>	Neurofibromatosi	Proliferazione e differenziazione cellulare
<i>APC</i>	Tumori del colon	Invio di messaggi che regolano la replicazione cellulare
<i>p53</i>	Tumori vari	Regolazione del ciclo cellulare

Straordinariamente, Boveri aveva previsto l'esistenza degli anti-oncogeni circa un secolo prima che venissero individuati, quando scriveva: "Un'altra possibilità è che vi è uno specifico meccanismo inibitorio in ogni cellula normale che permette la divisione cellulare solo quando questo meccanismo è inibito da qualche stimolo. Un tumore si può sviluppare allorché vengono eliminati i *cromosomi inibitori* permettendo alla cellula di potersi replicare senza alcun controllo".

La caratterizzazione molecolare e funzionale delle proteine sintetizzate dagli alleli non mutati degli oncogeni, cioè i proto-oncogeni, e degli anti-oncogeni ha evidenziato che queste hanno, come c'era d'aspettarsi, un ruolo determinante nella fisiologia cellulare. Generalmente i prodotti dei proto-oncogeni mediano funzioni che stimolano la crescita e la divisione cellulare, mentre gli alleli "normali" degli anti-oncogeni espletano funzioni correlate con l'inibizione della crescita cellulare e con l'attivazione dell'apoptosi, cioè della morte cellulare programmata. Alterazioni genetiche strutturali permanenti dei proto-oncogeni ed anti-oncogeni (mutazioni puntiformi, amplificazioni, traslocazioni, delezioni) modificano i loro prodotti genici distruggendone la regolare funzione. I proto-oncogeni diventano così oncogeni, con conseguente attivazione dei processi neoplastici e di una crescita cellulare incontrollata. Dall'altro lato, la perdita di entrambe le copie di un anti-oncogene (ad esempio Rb) determina la soppressione delle funzioni deputate all'inibizione

della crescita cellulare, ed anche dell'**apoptosi** (glossario). Analogamente a quanto avviene nel caso degli oncogeni, il risultato finale è una proliferazione cellulare incontrollata con conseguente sviluppo di tumori.

Oltre alle alterazioni genetiche a carattere permanente, esistono modificazioni genetiche reversibili denominate "mutazioni epigenetiche". Queste coinvolgono esclusivamente le proteine associate al DNA che ne determinano la struttura tridimensionale.

Mutazioni epigenetiche

Sono quelle mutazioni che cambiano la conformazione dei cromosomi senza provocare alterazioni nella sequenza del DNA. Ad esempio, le basi di DNA possono legare delle molecole, ma la sequenza genica non viene alterata. Inoltre, ai cromosomi sono "appiccicate" proteine e glicoproteine; queste molecole "accessorie" possono cambiare, producendo un cambiamento nella conformazione dei cromosomi ma non nella loro sequenza di DNA. Il cambiamento di conformazione, però, può causare un'alterazione dell'espressione genica, poiché può rendere un gene più o meno accessibile agli enzimi deputati alla sua trascrizione (Figura 6). I meccanismi epigenetici sono influenzati dallo sviluppo (in utero, infanzia), da agenti chimici, da farmaci, dall'invecchiamento, dall'alimentazione. I possibili effetti sulla salute sono lo sviluppo del cancro, le malattie autoimmuni, i disturbi mentali, il diabete ed altre patologie.

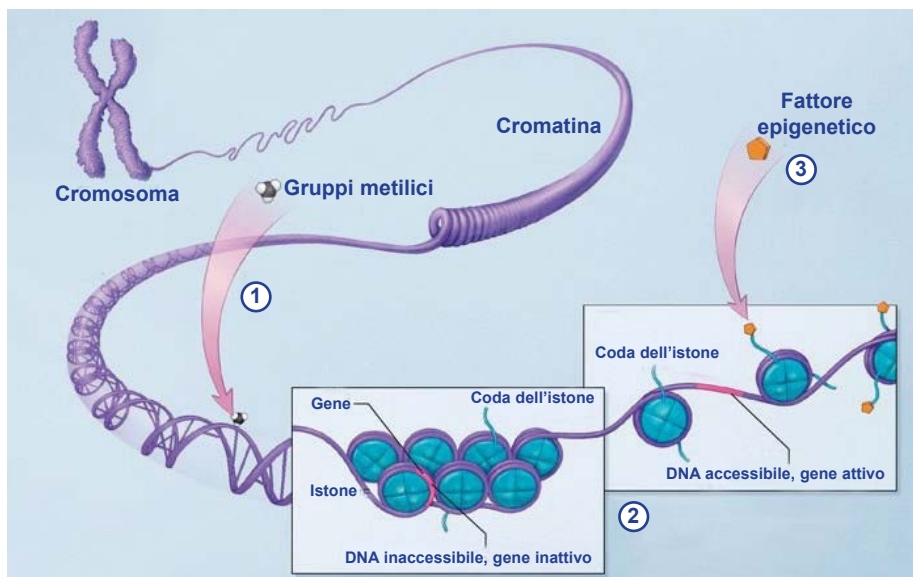


Figura 6. Meccanismo epigenetico.

Immagine modificata e tradotta da <https://commonfund.nih.gov/sites/default/files/epigeneticmechanisms.pdf>

Legenda 1. Metilazione del DNA: un gruppo metilico (fattore epigenetico presente in alcune fonti alimentari) può legarsi al DNA e attivare o reprimere (inattivare) alcuni geni. 2. Gli istoni sono proteine intorno alle quali il DNA può avvolgersi e compattarsi regolando così l'espressione genica. 3. Modifica dell'istone: il legame dei fattori epigenetici alle code degli istoni altera l'avvolgimento del DNA intorno agli istoni e modifica la trascrizione dei geni

Le mutazioni epigenetiche, pur non alterando le sequenze di DNA, modulano l'espressione genica, inducendo una variazione nella quantità di proteine prodotte dai proto-oncogeni e dagli anti-oncogeni. Tutto ciò ha nuovamente come effetto finale l'attivazione di processi neoplastici.

È interessante sottolineare che l'insorgenza di alcuni tumori causati da virus a DNA è correlata all'inibizione dei prodotti degli anti-oncogeni da parte di proteine virali.

Ad esempio, la proteina E6 dei virus oncogeni umani Papilloma induce la trasformazione cellulare in quanto si lega alla proteina p53, codificata da un anti-oncogene cellulare. La p53 viene così degradata e inattivata nelle sue funzioni, tra cui la regolazione dell'espressione di proteine coinvolte nel ciclo cellulare e l'apoptosi.

La complessità del processo neoplastico: l'eterogeneità dei tumori

Da sempre è risaputo che lo sviluppo di un tumore è un processo complesso. A tale proposito, nel 1985, Renato Dulbecco aveva dichiarato: "Un'importante lacuna da colmare per la nostra comprensione dei processi cancerosi è definire come l'attività di un oncogene è a questi correlata... Ma, il primo compito è quello di accertare se il DNA di un tumore avanzato è eterogeneo così come il fenotipo delle cellule che lo compongono. Se vogliamo saperne di più sul cancro, dobbiamo ora concentrarci sul genoma cellulare...", decretando così l'inizio del "Progetto Genoma Umano (The Human Genome Project - HGP)", finalizzato a sequenziare l'intero genoma umano.

Il **sequenziamento** (glossario) dell'intero genoma umano, concluso all'inizio di questo secolo, rappresenta un punto di svolta per la ricerca biomedica: l'identificazione dei geni umani e la loro conseguente caratterizzazione permetteranno un giorno, purtroppo non troppo vicino, di correlare patologie ed alterazioni genetiche. Tutto ciò avrà un notevole impatto nella medicina, in quanto produrrà una metamorfosi negli approcci di diagnosi e prognosi delle malattie.

Al Progetto Genoma Umano va dato anche il grande merito di aver reso disponibili materiali e tecnologie utili allo sviluppo di nuovi e sofisticati protocolli per l'analisi strutturale e funzionale dei geni clonati e sequenziati. Si sono così aperte le porte di quella che viene definita l'Era post-genomica.

Il connubio tra le conoscenze del genoma umano e le tecnologie innovative di analisi del DNA e dei suoi prodotti ha permesso la raccolta di un numero consistente di dati sulle alterazioni genetiche implicate nella genesi e nella progressione del cancro. Ciò che è emerso è la straordinaria complessità di ogni forma tumorale, soprattutto in termini di eterogeneità genetica e cellulare.

L'eterogeneità può essere inter-paziente o intra-tumorale; nel primo caso interessa tumori dello stesso tipo in pazienti diversi, nel secondo caso coinvolge cellule di uno stesso tumore.

Al giorno d'oggi, l'eterogeneità dei tumori rappresenta la maggiore sfida che la scienza deve affrontare per migliorare i percorsi di prevenzione, diagnosi e cura di ogni forma neoplastica. Questo argomento, di così estrema importanza, sarà oggetto di discussione nel prossimo capitolo.

Capitolo 4

PRESENTE E FUTURO: DAL PROGETTO GENOMA UMANO ALL'ERA POST-GENOMICA

Già Boveri agli inizi del Novecento aveva ipotizzato che il cancro fosse un processo complesso e sfaccettato e che lo sviluppo di un tumore derivasse da “una combinazione anormale di cromosomi”.

Renato Dulbecco, circa settanta anni dopo, promosse l'avvio del Progetto Genoma Umano (PGU) per una conoscenza più approfondita di oncogeni/geni/anti-oncogeni e delle loro funzioni nell'inizio e nella progressione dei processi neoplastici.

I dati derivanti dal Progetto Genoma Umano e dalle ricerche ad esso collegate costituiscono la prova inconfutabile della lungimiranza di questi due scienziati.

Il Progetto Genoma Umano: una lente di ingrandimento sul nostro codice genetico

Il PGU è un Progetto internazionale iniziato formalmente il 1° ottobre del 1990, ma concepito sin dalla metà degli anni '80 quando erano ormai ben note la struttura e le funzioni del DNA ed erano disponibili tecniche per il suo **sequenziamento** (glossario). Lo scopo del Progetto era la mappatura completa del codice genetico umano, cioè l'identificazione dell'esatta disposizione delle basi nucleotidiche adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G) lungo tutta la doppia elica del DNA, con l'obiettivo finale di comprendere il ruolo dei geni nello sviluppo delle malattie. Questo ambizioso Progetto è stato realizzato sia grazie agli sforzi della ricerca pubblica di molte Nazioni che a quelli di aziende private come, ad esempio, l'americana Celera Genomics. In Italia, il PGU ha visto la partecipazione congiunta di diversi gruppi di ricerca afferenti ad Università, al Centro Nazionale delle Ricerche (CNR) e a vari enti di ricerca pubblici e privati sparsi su tutto il territorio nazionale e coordinati dal professor Renato Dulbecco (Figura 1). Obiettivo dei ricercatori italiani era il sequenziamento di una specifica regione del cromosoma X, individuata come Xq24qter, ma il lavoro si è interrotto a metà degli anni '90 per insufficienza di finanziamenti.



Figura 1. Foto che ritrae Renato Dulbecco tratta dall'articolo *Renato Dulbecco: Viruses, genes, and cancer* Crossref. DOI link: <http://doi.org/10.1073/pnas.1203513110>, pubblicato sulla prestigiosa rivista scientifica *PNAS* il 27 marzo 2012 (riprodotta per gentile concessione)

I primi dati relativi al sequenziamento del genoma umano sono stati pubblicati nel 2001 da J. Craig Venter e Francis S. Collins, due genetisti americani a capo dei gruppi di ricerca, privati e pubblici rispettivamente, e considerati a tutti gli effetti i "Padri" del PGU. Il Progetto PGU si è concluso ufficialmente nel 2003, con due anni di anticipo rispetto ai tempi previsti. Al sequenziamento del genoma umano ha fatto seguito il sequenziamento dei patrimoni genetici di molti altri organismi viventi, quali, ad esempio, il ratto, il lievito, la *Drosophila* ecc. (www.genome.gov/).

Il Progetto HGP non ha fornito informazioni sulla funzione dei geni, ma soltanto sulla loro sequenza e sulla loro posizione all'interno dei cromosomi che compongono il patrimonio genetico di un individuo. Dal 2003 in poi, numerosi progetti internazionali (ad esempio, il Progetto ENCODE) stanno cercando di attribuire un ruolo a tutti i geni finora identificati.

La scoperta che la quantità di DNA presente in una cellula non corrisponde al suo grado evolutivo è uno dei risultati più rilevanti del Progetto PGU: alcuni parassiti, infatti, hanno un contenuto di DNA paragonabile o addirittura superiore rispetto all'uomo pur essendo organismi meno complessi. Il dato più singolare emerso dal Progetto PGU è che l'uomo e la scimmia differiscono soltanto nel 2% delle sequenze. La maggior parte di queste sembravano non codificare per alcuna proteina e non aver alcuna funzione: per tale motivo vennero inizialmente definite "DNA spazzatura" (**junk DNA**) (glossario).

Renato Dulbecco

Un pioniere della lotta contro il cancro, uno tra i massimi cervelli che l'Italia abbia conosciuto, Renato Dulbecco si dedicò per ottant'anni alla ricerca scientifica e alla cura delle malattie genetiche. Calabrese di nascita, ligure d'adozione, frequentò il ginnasio a Imperia e, nonostante una forte passione per la fisica e la matematica, a soli sedici anni si iscrisse alla facoltà di Medicina dell'Università di Torino dove si laureò sei anni più tardi. In quel periodo conobbe Rita Levi-Montalcini, studentessa nello stesso corso di Anatomia, che negli anni a venire avrebbe avuto una grande influenza sulla sua vita. Dopo la laurea, Renato Dulbecco iniziò a lavorare come medico, ma scoppiata la Seconda Guerra Mondiale, nel 1942 partì per la campagna di Russia. Di ritorno dalla guerra, divenne assistente del Professor Giuseppe Levi all'Istituto di Anatomia Patologica di Torino dove ritrovò Rita Levi-Montalcini. In quegli anni conseguì una seconda laurea in Fisica e conobbe il futuro premio Nobel Salvador Luria che gli propose di partire per gli Stati Uniti d'America per un'esperienza di ricerca. Questo avvenimento rappresentò una svolta nella sua vita di scienziato. In quegli anni, Dulbecco si interessò ai virus batteriofagi e ai meccanismi cellulari che riparano il DNA quando è danneggiato da radiazioni. Nel 1972 si trasferì all'Imperial Cancer Research Fund di Londra per approfondire i suoi studi sulla relazione tra virus e tumori per i quali, nel 1975, vinse il premio Nobel per la Medicina insieme a David Baltimore e ad Howard Temin. Tornò quindi negli Stati Uniti e nel 1986 lanciò il Progetto Genoma Umano con l'obiettivo di decifrare il patrimonio genetico dell'uomo, coordinando la partecipazione italiana al Progetto dal CNR di Milano presso cui si era trasferito in quegli anni. Morì a La Jolla in California il 19 febbraio del 2012, a soli tre giorni dal suo novantottesimo compleanno.

Ben presto, i ricercatori compresero che il “DNA spazzatura” aveva specifiche funzioni e che la diversità individuale non dipendeva dal numero di geni, bensì dai meccanismi che ne regolano l’espressione.

Dal punto di vista applicativo, quali ricadute ha avuto il sequenziamento del genoma umano sulla diagnosi e sulla terapia dei tumori?

Il Presidente degli Stati Uniti Bill Clinton, annunciando i primi risultati del Progetto Genoma nel 2000, proclamò che si trattava di una scoperta che avrebbe rivoluzionato la diagnosi, la prevenzione e il trattamento della maggior parte delle malattie dell’uomo. Oggi sappiamo che conoscere la sequenza dei geni è solo il primo passo per comprenderne la funzione. Infatti, la ricerca nell’odierna Era post-genomica si prefigge di stabilire l’associazione tra una sequenza e la sua funzione biologica, e chiarire il ruolo dei fattori ambientali nei meccanismi di regolazione dell’espressione genica.

Impatto del Progetto Genoma Umano sulla diagnosi dei tumori

L’annuncio del completamento del sequenziamento dell’intero genoma umano ha creato l’illusione di essere prossimi alla conoscenza delle basi genetiche di molte malattie, inclusi i tumori. Si è così assistito alla nascita della Medicina Predittiva, ovvero di quella branca della medicina che tenta di prevedere lo sviluppo di una malattia prima ancora che questa si manifesti. La Medicina Predittiva si rivolge, quindi, a persone potenzialmente sane nelle quali, attraverso un test genetico, si cerca di stabilire la probabilità individuale di sviluppare una determinata malattia nel corso della vita. Questo approccio si è rivelato particolarmente efficace nel caso delle malattie ereditarie monogeniche o “mendeliane”, cioè causate da alterazioni in un singolo gene (ad esempio, la fibrosi cistica), ma ha avuto finora modesti risultati per quanto riguarda i tumori.

Le malattie ereditarie monogeniche o “mendeliane” rappresentano una particolare classe di malattie genetiche, cioè derivanti da modificazioni del DNA. Esse sono il risultato di mutazioni in singoli geni e sono trasmesse dai genitori ai figli secondo le Leggi di Mendel.

Il cancro, infatti, è una malattia complessa, multifattoriale, ovvero che origina dall’interazione di più fattori. L’insorgenza di un tumore è riconducibile alla mutazione non di un singolo gene, ma di più geni e a numerose variazioni nella sequenza del genoma, le quali, interagendo tra loro e con fattori ambientali (fumo di sigaretta, radiazione ultravioletta ecc.) determinano la trasformazione delle cellule normali in tumorali. Per alcuni tipi di tumore in cui la componente genetica è prevalente (ad esempio, tumore dell’ovaio e del colon), l’identificazione tempestiva di mutazioni nel DNA mediante un test genetico costituisce un passo decisivo per la prevenzione e/o per la diagnosi precoce della malattia.

Per tutti i tumori, la prima diagnosi si basa sull’esecuzione dell’esame istologico, cioè l’osservazione al microscopio del tessuto “sospetto” opportunamente colorato (Figura 2). Inoltre, mediante la tecnica dell’immunoistochimica è possibile rilevare nel tessuto in esame, rispetto al tessuto sano, alcune proteine tipiche tumorali o aumentati livelli di proteine normali.

Esame istologico

Consiste nell'osservazione al microscopio di un vetrino su cui è stato deposto un campione di tessuto prelevato chirurgicamente dalla parte del corpo in cui si sospetta si stia sviluppando un tumore. L'anatomopatologo, il medico specializzato in questo tipo di analisi, esamina il campione per verificare l'eventuale presenza di cellule tumorali. In caso di un esito positivo, questo esame fornisce delle indicazioni molto importanti sulla natura del tumore (tipo istologico) e sul grado di aggressività, caratteristiche utili ad indirizzare il paziente verso il trattamento più idoneo. L'uso dell'esame istologico ha origini molto antiche. Il primo tentativo di caratterizzare finemente la struttura di un organo risale al XVII secolo quando il medico italiano Marcello Malpighi osservò che i polmoni non sono altro che un agglomerato di microstrutture circondate da una fitta rete capillare (*De pulmonibus*, 1661). Due secoli più tardi, grazie alla diffusione di nuove tecniche di conservazione e colorazione dei tessuti, l'istologia, cioè la caratterizzazione delle cellule nei tessuti al microscopio, divenne una disciplina a sé. Alla fine dell'Ottocento, infatti, Paul Erlich sperimentò l'uso dei coloranti sul sangue con lo scopo di riconoscere le cellule normali da quelle in condizioni patologiche e nel 1906 due istologi, l'italiano Camillo Golgi e lo spagnolo Santiago Ramon y Cajal, vinsero il premio Nobel per la Medicina e la Fisiologia per i loro studi sulla struttura del sistema nervoso. Questi studiosi misero a punto la cosiddetta "reazione nera" o "metodo di Golgi", una tecnica rivoluzionaria che permise per la prima volta nella storia di colorare un'intera cellula e i suoi prolungamenti, svelandone la complessa morfologia. Da allora l'istologia si è arricchita di nuovi particolari e di nuove tecniche di marcatura diventando uno strumento determinante nel guidare le scelte terapeutiche dei medici.

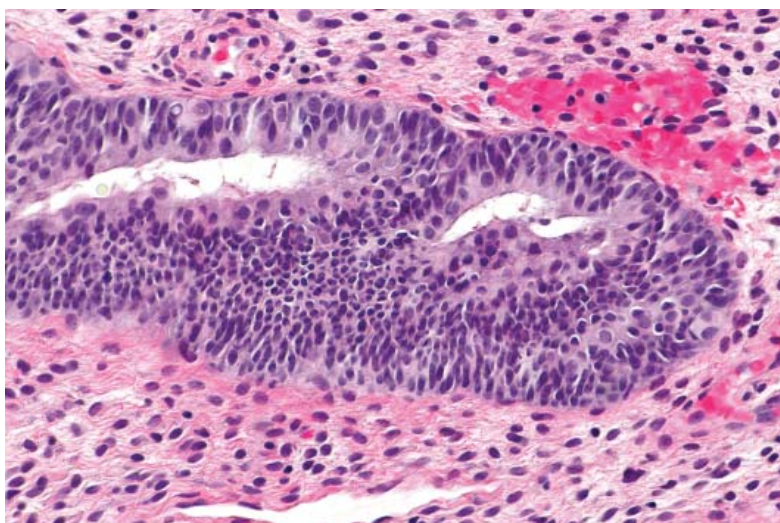


Figura 2. Sezione istologica, colorata con ematossilina-eosina. Immagine tratta dal sito https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2e/Endometrial_polyp_with_fused_glands--_high_mag

La pratica clinica riporta che tumori apparentemente simili sulla base dei risultati dell'analisi istochimica possano, in realtà, avere un decorso clinico diverso in diversi individui e rispondere in modo differente ad una stessa terapia. Ciò è dovuto al fatto che il cancro è una malattia che si sviluppa in seguito all'accumulo di diverse mutazioni ed alterazioni nel DNA.

Tali variazioni genetiche compromettono in maniera differente la funzionalità delle cellule, ma non sono necessariamente riscontrabili mediante l'osservazione al microscopio.

Immunoistochimica

È una tecnica che permette di individuare specifiche molecole cellulari e si basa sul principio di coniugazione antigene-anticorpo.

Un antigene è una sostanza in grado di essere riconosciuta dal sistema immunitario. Un anticorpo è una proteina con la peculiare funzione di riconoscere e neutralizzare un dato antigene.

L'anticorpo ha una forma ad "Y". I bracci della Y sono in grado di "legarsi" all'antigene che riconoscono. La produzione di anticorpi è la funzione principale del sistema immunitario umorale. La molecola da ricercare nella sezione di tessuto in esame viene riconosciuta e "legata" da un anticorpo prodotto da un animale immunizzato contro quella stessa molecola.

Il legame dell'anticorpo all'antigene viene poi rilevato attraverso l'uso di coloranti che lo rendono visibile al microscopio (Figura 3).

Negli ultimi quindici anni, a queste tecniche si è aggiunta quella dei *Microarray*, che permette di analizzare il livello di trascrizione e la presenza di eventuali mutazioni in centinaia di migliaia di geni contemporaneamente. Confrontando tessuti sani e tessuti tumorali, attraverso la tecnologia dei *Microarray*, è possibile fare una valutazione molto accurata delle caratteristiche molecolari di un tumore. Questo approccio, infatti, consente di ottenere informazioni sulle caratteristiche funzionali delle cellule tumorali ancora prima che queste siano rilevabili con il microscopio. La possibilità di analizzare le caratteristiche molecolari di un tessuto canceroso ha rivoluzionato la classificazione dei tumori ed ha favorito migliori approcci terapeutici.

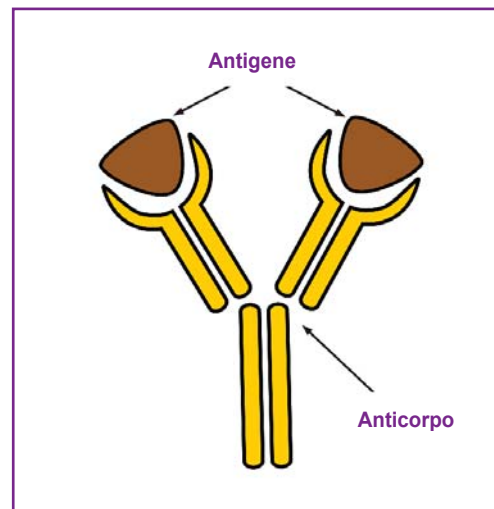


Figura 3. Legame antigene-anticorpo.

Immagine liberamente riadattata dal sito https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fb/Immune_complex.svg

Tecnologia dei *Microarray*

Si è sviluppata negli anni '90 producendo una vera “svolta” nello studio del DNA e dell'RNA. La tecnica si basa sul riconoscimento di determinati RNA o DNA, nel campione da analizzare, mediante l'utilizzo di una collezione ordinata di sequenze note di geni dette **sonde** (glossario), deposte sulla superficie dei vetrini *Microarray* (Figura 4).

Le sonde di DNA derivano da sequenze geniche clonate da vari tessuti e sequenziate. Esse possono essere cDNA (ossia molecole di DNA ottenute per retrotrascrizione da molecole di RNA messaggero) amplificati per **PCR** (glossario) od oligonucleotidi di sequenza nota. Queste vengono depositate sui vetrini a formare il reticolo del *Microarray* mediante sistemi automatici (A). I campioni di DNA o di RNA da analizzare sono estratti dai tessuti, marcati con un tracciante fluorescente e trattati in modo tale che possano riconoscere e legarsi alle sonde specifiche stampate sul vetrino (B). I legami tra i campioni e le sonde avverranno solo se questi saranno complementari. I legami così formati saranno rilevati da un sistema computerizzato (C e D). L'insieme dei dati ottenuti permetterà di conoscere, nei campioni, le caratteristiche strutturali e/o funzionali dei geni rappresentati dalle sonde.

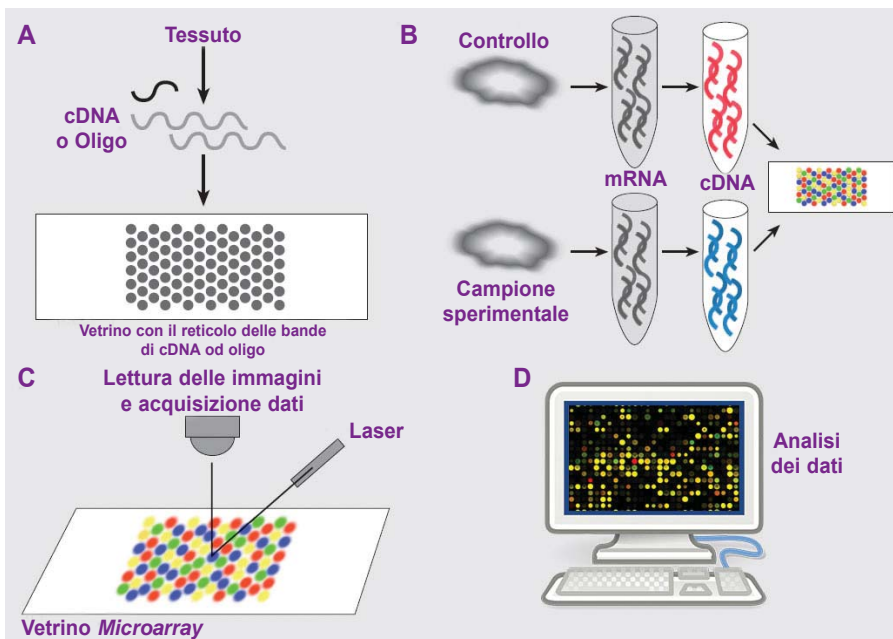


Figura 4. Schema di un esperimento di *Microarray* per l'analisi quantitativa dell'espressione genica in tessuti di controllo (cellule normali) e in campioni sperimentali (cellule tumorali). Immagine liberamente modificata da *Ann Ist Super Sanità* 2006;42(2):211-21.

Nel caso del tumore al seno, ad esempio, l'analisi molecolare per *Microarray* ha consentito di distinguere tre tipi di tumore sulla base dei livelli di espressione di tre elementi: il recettore degli estrogeni, il recettore del progesterone e il gene Erb-b2. Tali risultati hanno permesso di mettere in relazione le caratteristiche “molecolari” di ogni

tumore con la scelta del trattamento più idoneo e/o con il decorso della malattia (prognosi). Conoscere il profilo molecolare dei tumori si è quindi rivelato importantissimo per poter adeguare la terapia farmacologica alle caratteristiche specifiche di quel tumore e predire la risposta di quel paziente ad un certo trattamento (Medicina personalizzata).

Medicina personalizzata o di precisione

È un approccio clinico innovativo che non si concentra solo sulla malattia e i suoi sintomi, ma si interessa della persona nella sua interezza, tenendo in considerazione la sua componente genetica, l'ambiente in cui vive e lo stile di vita. Questo approccio terapeutico ha anche finalità di prevenzione delle malattie e si avvale delle più avanzate tecnologie derivate dal Progetto Genoma Umano.

Dal Progetto Genoma alla terapia personalizzata

Attualmente per ogni tumore si può disporre di una “fotografia molecolare”, ossia di un’analisi molecolare approfondita e realizzata in tempi brevi. Ciò ha permesso di scoprire la grande eterogeneità, cioè variabilità, nell’ambito di questa patologia.

L’eterogeneità può essere inter-paziente o intra-tumorale. Nel primo caso essa definisce la variabilità esistente tra tumori dello stesso tipo in persone diverse. Nel secondo caso, invece, essa fa riferimento alla presenza di aree con caratteristiche differenti all’interno dello stesso tumore di uno stesso individuo.

L’eterogeneità inter-paziente è probabilmente dovuta al fatto che ogni individuo è geneticamente differente dagli altri e può seguire uno stile di vita diverso. L’eterogeneità intra-tumore probabilmente deriva dal fatto che le cellule cancerose, durante la replicazione, possono acquisire delle mutazioni genetiche differenti che danno luogo a fenotipi differenti.

La consapevolezza di queste sorgenti di variabilità ha indotto a rivedere il concetto di terapia e a ricercare nuove strategie basate su trattamenti non più uguali per tutti, ma disegnati *ad hoc* per quel tipo di tumore in quel paziente. La possibilità di eseguire la “fotografia molecolare” di un tumore, infatti, permette di evidenziare i meccanismi molecolari alterati nelle cellule tumorali di quel paziente rispetto a quelle sane. Ciò ha fatto sì che alla chemioterapia tradizionale, che colpisce indistintamente tutte le cellule proliferanti (siano esse sane o tumorali), si sia affiancato un numero crescente di farmaci la cui attività è orientata contro specifici “bersagli molecolari”, presenti nelle cellule tumorali ma non in quelle normali. Alcuni farmaci a “bersaglio” molecolare” hanno già cambiato la storia naturale di alcuni tumori, allungando i tempi di sopravvivenza del paziente e migliorando notevolmente la sua qualità della vita.

L’esperienza clinica, inoltre, dimostra che persone diverse, seppur con lo stesso tipo di tumore, possono rispondere in maniera diversa ad uno stesso trattamento. Per questo motivo è necessario conoscere il livello di sensibilità individuale ad un dato trattamento. Ciò è, oggi, possibile grazie alla **Farmacogenomica** (glossario), una disciplina che mette a punto nuovi farmaci avvalendosi delle informazioni acquisite sul genoma in modo da personalizzare il più possibile i trattamenti.

Uno degli aspetti centrali della Medicina personalizzata, in campo oncologico, è l’identificazione di **biomarcatori tumorali** (glossario), cioè di fattori biologici prodotti direttamente dalle cellule tumorali - come ormoni, enzimi o altre proteine - oppure prodotti dall’organismo in risposta al tumore e rilasciati nei fluidi corporei (sangue,

urine ecc). I biomarcatori tumorali possano essere utilizzati dal medico oncologo per individuare precocemente la presenza di un tumore o per monitorare il suo andamento durante o dopo un trattamento. Alcuni biomarcatori tumorali (ad esempio, la calcitonina nel tumore della tiroide e il **PSA** (glossario) nel tumore della prostata) sono ormai entrati nella routine clinica e sono un valido supporto nella diagnosi e nel monitoraggio dell'andamento di una data terapia nel tempo.

Tuttavia, la possibile presenza di tali fattori anche nel sangue di individui affetti da patologie non tumorali (ad esempio, infezioni virali o malattie infiammatorie) o di persone sottoposte a particolari indagini cliniche, richiede delle particolari precauzioni ai fini diagnostici. Infatti, una diagnosi completa ed affidabile non potrà basarsi solo sui biomarcatori, ma dovrà essere accompagnata da un'attenta valutazione della sintomatologia e da altre indagini strumentali per evitare di incorrere in conclusioni errate.

Un notevole sforzo della ricerca in oncologia è oggi indirizzato sia all'identificazione di nuovi bersagli molecolari, contro cui orientare nuovi farmaci ad attività anti-tumorale sia all'individuazione di biomarcatori sempre più affidabili nella diagnosi precoce e nel monitoraggio della malattia tumorale.

Un nuovo alleato nella lotta contro i tumori: l'immunoterapia

In aggiunta alla **chemioterapia** (glossario) e alla **radioterapia** (glossario), le terapie biologiche, in particolare l'immunoterapia, occupano oggi un ruolo di rilievo nella lotta contro i tumori. L'immunoterapia è così importante da aver conquistato la copertina della prestigiosa rivista *Science* che l'ha definita come il traguardo scientifico più importante del 2013.

L'immunoterapia non utilizza farmaci che colpiscono direttamente le cellule tumorali, bensì strategie che stimolano le cellule del sistema immunitario a riconoscere e combattere il tumore. Evidenze scientifiche a supporto dell'idea che il sistema immunitario potesse limitare lo sviluppo di un tumore emersero più di un secolo fa quando si osservò che talvolta i tumori scomparivano quando un paziente contraeva un'infezione batterica. William B. Coley, chirurgo al Memorial Hospital di New York dal 1892 al 1936, dedicò tutta la propria vita alla messa a punto di terapie basate su questa osservazione. Egli tentò deliberatamente di infettare pazienti affetti da cancro con miscele di batteri con l'idea di procurare in loro una reazione immunitaria che avrebbe debellato il cancro insieme all'infezione. Successivamente, Coley usò un vaccino prodotto con batteri uccisi per trattare pazienti affetti da tumori avanzati ottenendo la guarigione di alcuni di essi. Data l'imprevedibilità dei risultati, questi trattamenti non vennero tenuti nella giusta considerazione per decenni fino a quando, tra la fine degli anni '60 e i primi anni '70, venne formulata una teoria secondo la quale il sistema immunitario cerca costantemente di distruggere le cellule tumorali che si formano (teoria dell'immunosorveglianza). Se la reazione del sistema immunitario è debole, essa viene sopraffatta dalla crescita incontrollata delle cellule tumorali; al contrario, se è vigile e pronta, può tenere sotto controllo la crescita del tumore ed eventualmente sconfiggerlo. Negli anni seguenti vennero sviluppate diverse forme di immunoterapia:

- aspecifica (citochine, derivati batterici, anticorpi immunomodulanti);
- passiva (immunoglobuline);
- attiva (vaccini antitumorali);
- adottiva (trasferimento di linfociti).

Ognuna di queste forme di immunoterapia ha i suoi vantaggi e i suoi limiti. Rispetto alla chemioterapia e alla radioterapia, esse hanno il pregio di un'elevata specificità d'azione e di una limitata comparsa di effetti collaterali, tali da collocarle tra le terapie più promettenti nella lotta contro i tumori.

Data la complessità della malattia tumorale, la battaglia contro il tumore può essere affrontata combinando trattamenti che rimuovano fisicamente le cellule maligne (ad esempio, chirurgia) e/o le distruggano (chemioterapia, radioterapia) con trattamenti che stimolino la risposta del sistema immunitario del paziente contro le eventuali cellule tumorali residue. Il fine ultimo di questa combinazione terapeutica è quello di eliminare ogni cellula tumorale ed impedirne la ricomparsa.

Sistema immunitario

È formato da una complessa rete di cellule che difende l'organismo da qualsiasi forma di aggressione chimica, traumatica o infettiva. Il sistema immunitario riconosce i "nemici", poiché questi hanno dei marcatori, chiamati "antigeni", diversi da quelli che si trovano su ogni cellula dell'organismo da difendere.

Il ruolo dell'Istituto Superiore di Sanità nella lotta ai tumori

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) è un'istituzione pubblica con il compito di promuovere la salute attraverso: la ricerca, la sorveglianza delle malattie, la formazione, l'informazione ed il controllo di farmaci, alimenti, presidi chimici, dispositivi medici e diagnostici. Inoltre, l'ISS fornisce consulenza al Ministero della Salute, al Governo e alle Regioni in materia di tutela della salute pubblica. All'interno dell'ISS, il Dipartimento Oncologia e medicina molecolare (OMM) rappresenta il principale punto di riferimento sull'argomento "cancro" per il Ministero della Salute e per tutte le altre istituzioni sul territorio nazionale. In questo Dipartimento, epidemiologi, medici e biologi collaborano su diversi aspetti che riguardano i tumori. In particolare, la ricerca è rivolta sia allo studio delle alterazioni molecolari che rendono una cellula tumorale diversa e distinguibile da una cellula normale, aspetto utile a fini diagnostici e alla progettazione di nuovi farmaci, sia allo studio di nuovi biomarcatori di diagnosi e di monitoraggio. Inoltre, nei laboratori dell'ISS si ricercano con grande attenzione le cause e i meccanismi molecolari che innescano lo sviluppo di tumori nell'età adulta e nell'età pediatrica. A tal fine, vengono utilizzate tecniche di sequenziamento del DNA all'avanguardia per decodificare il genoma di alcuni tipi di tumore e identificare nuovi bersagli terapeutici utili allo sviluppo di nuovi farmaci. Inoltre, si indaga sul possibile ruolo di disfunzioni metaboliche come l'obesità e il diabete nel predisporre all'insorgenza di tumori.

Un altro aspetto della ricerca condotta nel Dipartimento OMM dell'ISS riguarda l'identificazione di cellule con caratteristiche staminali, dette appunto "cellule staminali tumorali", nei tumori del colon-retto, del polmone e del sistema nervoso centrale. Gli studi condotti dai ricercatori dell'ISS in collaborazione con altri gruppi di ricerca nel mondo hanno mostrato che le cellule staminali tumorali svolgono ruoli importanti nella crescita e nella propagazione dei tumori e presentano una

spiccata resistenza alle terapie tradizionali come la chemioterapia o la radioterapia. Per questi motivi, esse rappresentano oggi un bersaglio molto promettente nello sviluppo di nuove terapie.

Lo studio delle cellule staminali è un settore particolarmente promettente della ricerca oncologica, e sarebbe assolutamente riduttivo riassumere in poche righe le conoscenze a riguardo. Per tale motivo invitiamo i lettori interessati a consultare la dispensa per la scuola già pubblicata dall'ISS *Le cellule staminali: spunti per un'azione didattica*.

Nell'ultimo decennio, l'ISS ha svolto un ruolo sempre più attivo nel tentativo di favorire un efficiente trasferimento delle scoperte scientifiche originate in laboratorio in applicazioni cliniche a vantaggio dei pazienti e del cittadino. A questo scopo, l'ISS promuove e coordina sperimentazioni cliniche nel settore dell'immunoterapia dei tumori in collaborazione con ospedali e centri di riferimento nazionali. Nel 2006 l'apertura di FaBioCell, il primo laboratorio pubblico dedicato alla produzione di farmaci cellulari e vaccini terapeutici personalizzati contro i tumori, ha rappresentato un ulteriore importante passo in questa direzione, animato anche dalle nuove conoscenze e tecnologie sviluppate dai ricercatori dell'ISS, con particolare riferimento a strategie di vaccinazione basate su cellule dendritiche. Le cellule dendritiche sono cellule del sistema immunitario altamente specializzate nello stimolare l'innescò di una risposta immunitaria verso un bersaglio riconosciuto come "nemico". Per questo motivo rappresentano uno strumento molto promettente per educare il sistema immunitario di un paziente con tumore al riconoscimento delle cellule tumorali e favorirne la distruzione. I farmaci cellulari basati sull'impiego di cellule dendritiche, prodotti nel laboratorio FaBioCell, sono generati a partire da campioni di sangue degli stessi pazienti secondo rigorosi processi produttivi e sono sottoposti a stringenti controlli di qualità prima di essere utilizzati come vaccino cellulare contro diversi tipi di tumore. Attualmente il laboratorio FaBioCell ha prodotto farmaci cellulari a base di cellule dendritiche che sono già stati oggetto di sperimentazioni cliniche in pazienti affetti da melanoma e da linfoma non-Hodgkin. Questi farmaci cellulari vengono somministrati in aggiunta alla chemioterapia prevista per quel tipo di tumore. Le caratteristiche della struttura FaBioCell e l'alta specializzazione del personale che vi opera consentiranno, nel prossimo futuro, la produzione di un numero sempre maggiore di farmaci cellulari "personalizzati" da mettere a disposizione della comunità medico-scientifica e dei pazienti (Figura 5).

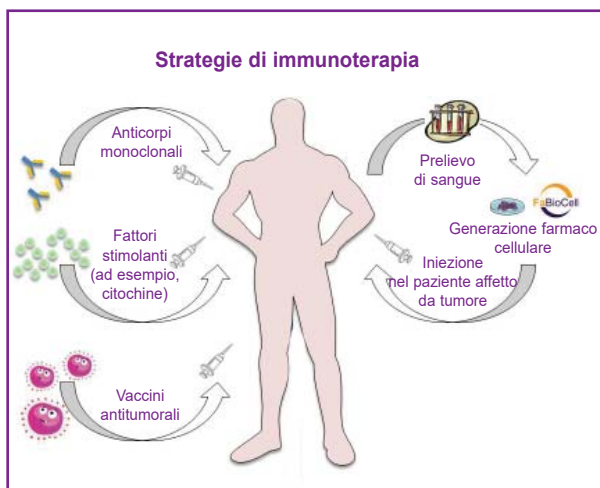


Figura 5. Descrizione e confronto dei diversi tipi di immunoterapia

CONCLUSIONI

Il nostro racconto è terminato, ma il cancro rimane ancora un problema irrisolto. I ricercatori hanno fatto conquiste eccezionali, ma le domande che aspettano una risposta sono ancora tante. Chissà se qualcuno tra voi giovani lettori un giorno si appassionerà al “problema cancro” ed intraprenderà il cammino della ricerca oncologica. In tal caso, ci piace pensare che il nostro sforzo divulgativo avrà contribuito a far nascere questa passione, e ci auguriamo che le varie scoperte scientifiche qui descritte costituiscano le fondamenta di ogni sua futura sperimentazione.

Ringraziamenti

Si ringraziano Corrado Fagnani (Centro di Riferimento Scienze comportamentali e salute mentale, ISS) per la revisione critica del manoscritto e Andrea Vittozzi (Centro Nazionale Malattie rare, ISS) per l’elaborazione grafica delle figure a pagina 22, 23, 24, 27, 28, 29, 30 32, 33, 34, 36, 37, 39, 45, 46.

Si ringraziano Mirco Travaglini ed il Dipartimento di Scienze Biologiche Geologiche e Ambientali dell’Università di Bologna per l’utilizzo dell’immagine della copertina del libro Zur Frage der Entstehung Maligner Tumoren di Theodor Boveri.

Si ringraziano Filippo Belardelli (già Direttore del Dipartimento di Ematologia, oncologia e medicina molecolare, ISS) per la prefazione e Domenica Taruscio (Direttore del Centro Nazionale Malattie rare, ISS) per il suo incoraggiamento.

Si ringrazia il Gruppo di Lavoro per la Valorizzazione e la Conservazione del Fondo Rari della Biblioteca dell’ISS per aver fornito le immagini delle Figure 2, 3, 7, 8, 9 del primo capitolo, tratte dal Fondo Rari della Biblioteca dell’ISS.

Si ringrazia Elisabetta Affabris, docente di virologia dell’Università degli Studi Roma Tre, per i suoi suggerimenti.

Per approfondire

LETTURE CONSIGLIATE

- Comitato Nazionale per la Bioetica, Presidenza del Consiglio dei Ministri "Progetto Genoma Umano". 18 marzo 1994.
- Di Lonardo A, Nasi S, Pulciani S. Cancer: we should not forget the past. *J Cancer* 2015; 6(1):29-39: DOI:10.7150/jca.10336 (www.jcancer.org/v06p0029.htm).
- Dulbecco R. A turning point in cancer research: sequencing the human genome. *Science* 1986;231:1055-6.
- Harris H. Concerning the Origin of Malignant Tumours by Theodor Boveri. Translated and annotated by Henry Harris. *J Cell Sci* 2008;121:1-84 (http://jcs.biologists.org/content/121/Supplement_1/1.long).
- Human Genome Project (www.genome.gov).
- Hunter T. Le proteine degli oncogeni. *Le Scienze* 1984;56-73.
- Levi-Montalcini R. *Abbi il coraggio di conoscere*. Milano: BUR Biblioteca Univ. Rizzoli (collana Best BUR) 2013; 170 p.
- Levi-Montalcini R. *Elogio dell'imperfezione*. Milano: Baldini & Castoldi (collana I saggi) 2014; 289 p.
- Obinu GM. *Il cancro dal punto di vista storico*. Genova: Scientia Veterum; 1961.
- Pulciani S, Di Lonardo A, Fagnani C, D'Ippolito C, Bomprezzi R, Stazi MA. DNA-microarray: nuovi approcci sperimentali per lo studio dei gemelli. *Ann Ist Super Sanità* 2006;42(2):211-21.
- Pulciani S, Santos E, Lauver AV, Long LK, Aaronson SA, Barbacid M. Oncogenes in solid human tumours. *Nature* 1982;300:539-42.
- "Renato Dulbecco - Biographical". Nobelprize.org.Nobel Media AB 2014. Web. 25 Nov 2015 (www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1975/dulbecco-bio.html).
- Shampo MA, Kyle RA. J. Craig Venter. The Human Genome Project. *Mayo Clinic Proceedings* 2011;86(4):e26-e7. doi:10.4065/mcp.2011.0160.
- Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. In: *Biologia molecolare del gene*. Anna A. (Ed.). Messina: Zanichelli Editore; 2015.
- Weinberg RA. The molecular basis of oncogenes and tumor suppressor genes. *Ann N Y Acad Sci* 1995;758:331-8. doi: 10.1111/j.1749-6632.1995.tb24838.
- Weinberg RA. Una base molecolare per il cancro. *Le Scienze* 1984. p. 34-45.

APPENDICI

Introduzione alle Appendici

Abbiamo ritenuto utile completare questa storia sulla ricerca oncologica con tre Appendici.

La prima appendice riporta il “Giuramento di Ippocrate” nelle sue due versioni, antica e moderna. Leggendo questo giuramento, potrete voi tutti capire come e perché il grande medico greco si sia meritato l'appellativo di Padre della Medicina. Tale giuramento è tuttora in vigore e tutti i medici sono obbligati a pronunciarlo nel rispetto dei principi formulati da Ippocrate.

La seconda appendice descrive le ricerche condotte nel Centro Nazionale Malattie Rare dell'Istituto Superiore di Sanità sui tumori rari. Potrà sembrare questo un argomento di “nicchia”; in realtà esso è di fondamentale importanza poiché, anche se rari, nel loro insieme questi tumori colpiscono migliaia di persone.

La terza appendice espone una nuova teoria sull'origine dei tumori chiamata Tissue Organization Field Theory (TOFT). Nei capitoli di questa dispensa sulla ricerca oncologica, ci siamo soffermati soltanto sulla teoria più accreditata alla base della genesi dei tumori: ossia la presenza cellule “impazzite”. Ci sembrava, quindi, opportuno presentare anche questa teoria “alternativa”, meno conosciuta.

Vi presentiamo dei brevi estratti delle tre Appendici per incuriosirvi ed invitarvi alla lettura.

Appendice 1

GIURAMENTO DI IPPOCRATE

Giuramento antico

Giuro su Apollo medico, su Asclepio, su Igea, su Panacea e su tutti gli dèi e tutte le dèe, che mi siano testimoni, che porterò a compimento, secondo la mia forza e il mio giudizio, questo giuramento e questo scritto:

di considerare colui che mi ha insegnato questa arte pari ai miei genitori, di vivere in comunità con lui e di prestargli soccorso quando ha bisogno; che considererò i suoi figli come fratelli e insegnerò loro quest'arte, se vogliono impararla, senza ricompense né impegni scritti; di comunicare i precetti e gli insegnamenti orali e ogni altra dottrina ai miei figli, ai figli del mio maestro e ai discepoli legati da un patto scritto e vincolati dal giuramento del medico, e a nessun altro.

Adotterò un regime di vita per il bene dei malati secondo la mia forza e il mio giudizio, e mi asterrò dal recar danno e offesa.

Non darò a nessuno una sostanza letale, nemmeno su richiesta, né suggerirò un tale consiglio; allo stesso modo non darò a nessuna donna un farmaco abortivo.

Custodirò con purezza e devozione la mia vita e la mia arte. Mi asterrò dalla litotomia, e mi rivolgerò a coloro che praticano questa attività.

In qualsiasi casa andrò, io vi entrerò a giovamento dei malati, e mi asterrò da ogni ingiustizia e danno volontario, soprattutto da ogni atto sessuale sul corpo di donne e uomini, liberi e schiavi.

Manterrò il silenzio su tutto quello che possa vedere o sentire durante la terapia, o anche al di fuori della terapia, sulla vita degli uomini, se non è necessario che sia divulgato, custendolo come un segreto.

E a me, dunque, che ottempero a questo giuramento e non lo trasgredisco, sia concesso di godere della vita e dell'arte, onorato da tutti gli uomini per sempre; se invece non lo rispetto e spergiuro, che mi accada il contrario.

Fonte: *Il giuramento Ippocrate*. Traduzione di Giuseppe Girgenti.

A cura di Giorgio Cosmacini. Editore: AlboVersorio.

Collana: Perle di saggezza. Milano; 2013.

Giuramento moderno

Consapevole dell'importanza e della solennità dell'atto che compio e dell'impegno che assumo, giuro:

- di esercitare la medicina in libertà e indipendenza di giudizio e di comportamento;
- di perseguire come scopi esclusivi la difesa della vita, la tutela della salute fisica e psichica dell'uomo e il sollievo della sofferenza, cui ispirerò con responsabilità e costante impegno scientifico, culturale e sociale, ogni mio atto professionale;
- di non compiere mai atti idonei a provocare deliberatamente la morte di un paziente;

- di attenermi nella mia attività ai principi etici della solidarietà umana, contro i quali, nel rispetto della vita e della persona non utilizzerò mai le mie conoscenze;
- di prestare la mia opera con diligenza, perizia e prudenza secondo scienza e coscienza ed osservando le norme deontologiche che regolano l'esercizio della medicina e quelle giuridiche che non risultino in contrasto con gli scopi della mia professione;
- di affidare la mia reputazione esclusivamente alle mie capacità professionali ed alle mie doti morali;
- di evitare, anche al di fuori dell'esercizio professionale, ogni atto e comportamento che possano ledere il prestigio e la dignità della professione;
- di rispettare i colleghi anche in caso di contrasto di opinioni;
- di curare tutti i miei pazienti con eguale scrupolo e impegno indipendentemente dai sentimenti che essi mi ispirano e prescindendo da ogni differenza di razza, religione, nazionalità, condizione sociale e ideologia politica;
- di prestare assistenza d'urgenza a qualsiasi infermo che ne abbisogni e di mettermi, in caso di pubblica calamità, a disposizione dell'Autorità competente;
- di rispettare e facilitare in ogni caso il diritto del malato alla libera scelta del suo medico tenuto conto che il rapporto tra medico e paziente è fondato sulla fiducia e in ogni caso sul reciproco rispetto;
- di osservare il segreto su tutto ciò che mi è confidato, che vedo o che ho veduto, inteso o intuito nell'esercizio della mia professione o in ragione del mio stato.

Fonte: www.riflessioni.it/enciclopedia/giuramento-ippocrate.htm

Appendice 2

TUMORI RARI

Giovanna Floridia, Marco Salvatore

Centro Nazionale Malattie rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

e-mail: giovanna.floridia@iss.it - marco.salvatore@iss.it

I tumori rari costituiscono una famiglia eterogenea di patologie che possono interessare persone di qualsiasi fascia d'età (bambini, adolescenti, adulti, anziani) e colpire pressoché tutte le parti del corpo. Diversi sono i fattori di rischio implicati in queste patologie, alcuni conosciuti, altri no. La lista dei tumori rari comprende, ad oggi, circa 200 diversi tipi di neoplasie. Tuttavia, il loro numero è destinato ad aumentare poiché le nuove tecnologie sempre più avanzate e mirate ne permettono la scoperta e la caratterizzazione.

Un tumore si definisce raro quando non si hanno più di 6 casi all'anno per 100.000 persone. Nonostante questo basso indice, se vengono considerati complessivamente tutti i casi di tutti i tumori rari, il loro numero diventa molto elevato.

La rarità di queste forme di tumore determina alcuni problemi che si riflettono in maniera determinante sia sul percorso diagnostico che su quello terapeutico.

Un'importante caratteristica dei tumori rari è la grande difficoltà ad ottenere una diagnosi ben definita ed un corretto intervento terapeutico, poiché esistono pochi studi clinici e le case farmaceutiche non hanno interesse a sviluppare farmaci per queste patologie con così "pochi pazienti". È bene sottolineare che un tumore raro non necessariamente va considerato incurabile o con una più limitata possibilità di guarigione rispetto ad un tumore più comune. Alcune neoplasie rare hanno percentuali di guarigione o di controllo della malattia superiori a quelle di tumori molto più diffusi.

Ogni anno in Italia sono diagnosticati circa 85.000 nuovi casi di tumore, ovvero circa un nuovo caso di cancro su cinque è rappresentato da un tumore raro. Attualmente in Italia sono almeno 600.000 le persone che convivono con una diagnosi di tumore raro.

Ad oggi sono state descritte dodici famiglie di tumori rari (alcuni esempi: sarcomi, tumori neuroendocrini, tumori della testa e del collo, tumori infantili) che sono seguiti da medici specialistici, associazioni di pazienti e Centri di riferimento.

Per garantire al malato oncologico raro la qualità e la continuità dell'assistenza, nel 1997 è nata la "Rete nazionale tumori rari" coordinata dall'Istituto Nazionale dei Tumori. I vari Centri di riferimento, che fanno parte della Rete nazionale tumori rari, condividono a distanza tutte le informazioni possibili sui vari casi clinici, in modo da assicurare che tutte le diagnosi ed i trattamenti vengano eseguiti secondo criteri uniformi. Uno degli obiettivi della Rete è quello di assicurare a tutti i cittadini italiani un'adeguata e tempestiva assistenza sanitaria nel luogo di residenza senza essere costretti ai cosiddetti "viaggi della salute".

Centri di riferimento per le malattie rare

Fanno parte della Rete nazionale istituita per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi e la terapia delle malattie rare. Questi Centri sono generalmente situati in strutture ospedaliere e sono presenti su tutto il territorio nazionale. I Centri di riferimento operano scambiandosi informazioni e documentazione, anche con strutture internazionali, favorendo la possibilità di effettuare diagnosi più tempestive e fornendo terapie più appropriate.

Rete nazionale tumori rari

È costituita da diversi centri oncologici sparsi su tutto il territorio nazionale. Questi Centri collaborano tra di loro e sono coordinati dall'Istituto Nazionale dei Tumori. La collaborazione tra questi Centri permette la condivisione a distanza di tutte le informazioni sui vari casi clinici, permettendo interventi terapeutici più appropriati. La collaborazione tra i vari Centri è determinante per acquisire ed approfondire le conoscenze su questi tumori.

Gli studi di genetica ed i microRNA come possibili marcatori biologici per la diagnosi dei tumori rari

Il rapido processo tecnologico e la cooperazione di svariate discipline scientifiche consentono, al giorno d'oggi, una conoscenza sempre più approfondita dei tumori rari. L'insieme delle nuove conoscenze consente l'impiego di approcci diagnostici e terapeutici basati sull'identificazione e la caratterizzazione di nuovi marcatori molecolari.

In particolare, negli ultimi anni, i ricercatori hanno approfondito i meccanismi genetici che regolano i processi di trascrizione e traduzione dei geni, di alcune molecole (o geni) chiamate **microRNA** (glossario).

I microRNA sono delle piccole molecole di RNA non codificante, della lunghezza di 19-22 nucleotidi che hanno importanti funzioni nel metabolismo cellulare. Studi recenti hanno dimostrato che i microRNA hanno un ruolo nella regolazione di oncogeni e anti-oncogeni e, di conseguenza, nello sviluppo dei tumori rari e di altre numerose forme di neoplasia.

Marcatore biologico molecolare

È una caratteristica molecolare di un particolare stato biologico. Un marcatore biologico molecolare o, più semplicemente, molecolare può essere, ad esempio, l'abbondante espressione di un gene. Nel nostro caso specifico si tratta di piccoli pezzi di RNA che indicano la presenza di un tumore raro.

Metabolismo cellulare

Individua l'insieme dei processi chimici e fisici che determinano la crescita, la replicazione, il differenziamento e la morte della cellula stessa.

Il Centro Nazionale Malattie Rare dell'Istituto Superiore di Sanità e lo studio di alcuni tumori rari

Presso il Centro Nazionale Malattie Rare (CNMR) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) si svolgono ricerche su due particolari tumori rari: gli epatoblastomi, rari tumori dell'età pediatrica e i tumori delle ghiandole salivari.

Gli epatoblastoma

L'epatoblastoma è il tumore del fegato più comune osservato in bambini di età inferiore ai 3 anni.

In Italia, ogni anno circa 30 bambini (età media 2 anni) sono interessati da questa patologia. Le cause correlate all'insorgenza dell'epatoblastoma sono, a tutt'oggi, sconosciute, ma sicuramente molteplici (coinvolgimento di specifici geni quali, ad esempio, beta-catenina, gene APC; prematurità nella nascita, basso peso alla nascita). Alcune ricerche su questo tumore, coordinate dal CNMR, hanno recentemente portato all'identificazione di specifici microRNA coinvolti nella regolazione e nello sviluppo dell'epatoblastoma. Infatti, analizzando i microRNA espressi in campioni di tessuto e di siero, prelevati da pazienti, è stato possibile identificare alcuni microRNA che consentono di distinguere l'epatoblastoma da altre forme tumorali epatiche (quali ad esempio, l'epatocarcinoma). Inoltre, è stato individuato un microRNA (microRNA-483) che risulta più espresso nei pazienti rispetto ai soggetti normali.

I tumori delle ghiandole salivari

Studi epidemiologici hanno dimostrato che in tutto il mondo occidentale si registrano circa 2,5-3 nuovi casi di tumori delle ghiandole salivari ogni 100.000 ogni anno. Questi tumori sono estremamente eterogenei; la diagnosi istologica e la valutazione della progressione di tali tumori risultano molto difficili.

Presso il CNMR dell'ISS sono stati eseguiti studi su tessuto tumorale proveniente da pazienti affetti da tumori delle ghiandole salivari al fine di identificare alterazioni genetiche e correlarle con lo sviluppo e la progressione di queste neoplasie. Sono stati analizzati alcuni campioni di tumori delle ghiandole salivari con tecniche molecolari per evidenziare possibili alterazioni genetiche e comprendere i meccanismi che causano questi tumori.

In un primo studio sono stati analizzati diversi geni e i risultati suggeriscono che l'alterazione della funzione del gene oncosoppressore CDKN2A/ARF potrebbe avere un ruolo nella patogenesi di questi tumori.

In un altro studio è stata messa in evidenza la presenza del batterio *Streptococcus suis*, suggerendo un possibile ruolo di questo batterio nello sviluppo dei tumori delle ghiandole salivari.

Per approfondire

Taruscio D, Carbone P, Magrelli A, Salvatore M. Riflessioni sulle malattie rare ambiente correlate. *Il Cesalpino* 2011;27:33-9.

www.salute.gov.it/portale/salute/p1_5.jsp?id=46&area=Malattie_rare

Appendice 3

DUE TEORIE ALTERNATIVE SULLO SVILUPPO DEI TUMORI

Alessandro Giuliani

*Dipartimento Ambiente e salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma
e-mail: alessandro.giuliani@iss.it*

A partire dagli anni '70 del secolo scorso, la ricerca sui tumori si è concentrata sulla ricostruzione di tutti i passaggi molecolari che in teoria dovevano portare a quello che era considerato l'evento cruciale dello sviluppo di un tumore: la crescita incontrollata di un clone derivante dalle divisioni successive di una singola cellula "mutata".

Tuttora la teoria, denominata Somatic Mutation Theory (SMT) è quella più accettata dell'origine dei tumori. L'idea di base è che mutazioni somatiche, ossia mutazioni del DNA di una cellula di un tessuto non trasmissibili alla progenie in quanto non rilevanti per la linea germinale, facciano "deragliare" una singola cellula dalla crescita controllata necessaria alla fisiologica organizzazione di un tessuto e ne provochino l'espansione illimitata con la conseguente formazione di un tumore maligno.

Se la teoria SMT è vera, allora la scelta della cellula come il livello organizzativo da esplorare per la comprensione (e quindi la possibile cura) dei tumori è del tutto naturale e giustificata.

L'accettazione da parte della comunità scientifica del paradigma SMT ha avuto come conseguenza il proliferare di studi meccanicistici sulla funzione e sulla regolazione di un numero enorme di geni la cui conseguenza sarebbe il prodursi di una crescita incontrollata delle cellule. Questi studi hanno portato alla scoperta di un numero elevato di possibili "bersagli terapeutici" (geni mutati nelle cellule cancerose ma non nelle normali) ma nessuna delle molecole che "bloccavano" l'attività di questi geni ha mostrato efficacia nella guarigione dei tumori. Di fatto, tutti quanti concordano nell'ammettere che, almeno nel caso dei tumori solidi (per le leucemie ed i linfomi il discorso è differente) l'allungamento della speranza di vita dei pazienti osservato negli ultimi trenta anni è un artefatto dovuto al miglioramento delle tecniche diagnostiche che permettono di evidenziare in modo più precoce la malattia e non all'efficacia delle cure farmacologiche.

In questi ultimi cinque anni si è affacciato al mondo scientifico un paradigma concorrente detto Tissue Organization Field Theory (TOFT).

Secondo il paradigma TOFT il tumore non è una malattia "delle cellule" ma dei tessuti, insomma la crescita illimitata sarebbe non la conseguenza di un "deragliamento" della singola cellula dalla crescita "limitata ed ordinata", ma una caratteristica dell'intero tessuto (composto da milioni di cellule), un problema sociale delle relazioni fra cellule, legato alla variazione del campo morfogenetico, dell'insieme cioè di

influenze ormonali, fisiche ed anche di strutturazione geometrica dei tessuti (il che spiegherebbe tra l'altro il comportamento differente dei tumori del sangue che non hanno una geometria caratteristica) e non un problema individuale della cellula. Se avessero ragione i sostenitori della TOFT, il lavoro di ricerca volto a scovare mutazioni di sempre nuovi geni "tumoral" semplicemente non avrebbe senso in quanto si tratterebbe di "effetti" e non di "cause" e quindi assolutamente irrilevanti in una prospettiva terapeutica che invece dovrebbe rivolgersi allo studio delle caratteristiche del campo morfogenetico e tentare la via di una riprogrammazione generale dello spazio del tessuto verso la direzione della differenziazione (produzione di tessuto buono a crescita limitata). Piuttosto che uccidere le "cellule cattive", che tanto già si sa che prima o poi si riformeranno se in quella zona "le cattive influenze" permangono, si tratterebbe di rendere "favorevoli" le influenze del campo morfogenetico.

Insomma, l'accettazione della teoria TOFT indica che il livello della singola cellula non è quello giusto per comprendere il cancro e suggerisce il microambiente dei tessuti come la scala corretta di analisi. Entrambe le teorie si confrontano a suon di "evidenze scientifiche" che sono imponenti da entrambe le parti e riempiono le riviste specialistiche.

È difficile dire quale delle due teorie si affermerà nel futuro, e chiaramente la lotta sarà decisa anche da cause extra-scientifiche e di politica della scienza; l'aspetto importante è che lo sviluppo della conoscenza scientifica che nella divulgazione ci viene fatto credere lineare e conseguente è invece più simile a un campo di battaglia.

Per approfondire

Baker SG. A cancer theory kerfuffle can lead to new lines of research. *J Natl Cancer Inst* 2015;107(2):475-80.

Baker SG, Cappuccio A, Potter JD. Research on early-stage carcinogenesis: are we approaching paradigm instability? *J Clin Oncol* 2010;28(20):3215-8.

Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery. *Nat Chem Biol* 2008;4(11):682-90.

Pascual M, Levin, SA. From individuals to population densities: searching for the intermediate scale of nontrivial determinism. *Ecology* 1999;80(7):2225-36.

Tun K, Menghini M, D'Andrea L, Dhar P, Tanaka H, Giuliani A. Why so few drug targets: a mathematical explanation? *Curr Comput Aided Drug Des* 2011;7(3):206-13.

GLOSSARIO

Apoptosi

È un processo che determina la morte programmata di una cellula a un certo punto del suo ciclo vitale ed è controllato geneticamente.

Autopsia

È l'esame medico del corpo e dei relativi organi della persona dopo la morte per stabilirne le cause, le modalità ed eventualmente i mezzi che l'hanno causata.

Autoptico

È un aggettivo che nel linguaggio medico fa riferimento a tutto ciò che è relativo all'autopsia.

Biomarcatori tumorali

Sono molecole implicate nello sviluppo del tumore: sostanze prodotte direttamente dalle cellule tumorali - come ormoni, enzimi o altre proteine - oppure prodotte dall'organismo in risposta al tumore. I biomarcatori tumorali che sono entrati nella routine clinica sono quelli presenti nei liquidi biologici (sangue e urine) e possono suggerire la possibile presenza di tumore. Una volta accertata la malattia consentono di:

- predire l'andamento della malattia nel tempo (ad esempio, la propensione allo sviluppo di metastasi) (bio-marcatore prognostico);
- predire se un paziente risponderà ad una data terapia (bio-marcatore predittivo);
- monitorare precocemente l'efficacia di una terapia e/o l'insorgenza di effetti collaterali (bio-marcatore di monitoraggio).

Cancro o tumore o neoplasia

È una massa di cellule divenute permanentemente o temporaneamente autonome rispetto ai meccanismi di controllo cui sono sottoposte le normali cellule di un tessuto. Non essendo più regolate da alcun meccanismo di controllo interno o esterno, le cellule cancerose (tumorali) possono crescere a dismisura, dando così luogo alla massa cancerosa (tumorale). Neoplasia, una delle parole utilizzate per definire una malattia oncologica, fu coniata agli inizi del Novecento dal patologo Rupert Allan Willis e deriva dalle parole greche *neos* "nuovo" e *plásis* "formazione". Tumore è un'altra delle parole utilizzate per definire una malattia oncologica e deriva dal latino *tumor* "rigonfiamento". Le varie forme tumorali si suddividono in "benigne" e "maligne". Quelle benigne sono costituite da cellule che crescono in modo incontrollato, ma mantengono le loro caratteristiche fisiologiche. Queste forme tumorali comprimono i tessuti vicini, ma non li distruggono. Le cellule che formano le forme tumorali maligne, oltre a crescere in modo incontrollato, perdono anche le loro caratteristiche fisiologiche ed invadono i tessuti vicini. Il processo di invasione dei tessuti vicini da parte di un tumore maligno si definisce metastasi.

Cellula

È l'unità base di ogni organismo vivente. Essa contiene al suo interno il materiale genetico che le assicura le funzioni fondamentali per la sua sopravvivenza e replicazione. Tale materiale genetico può essere racchiuso in una struttura detta nucleo e, quindi, separato tramite una membrana dalla restante porzione cellulare denominata citoplasma. Le cellule senza nucleo sono definite procariotiche ed hanno una struttura molto semplice. Le cellule con il nucleo vengono denominate eucariotiche.

Cellula tumorale

L'equilibrio morfologico-strutturale di un tessuto normale dipende in larga misura dalla regolazione della crescita, del differenziamento, del metabolismo e di altre importanti attività delle cellule che lo compongono. Si può, pertanto, definire un tumore come una crescita anormale di cellule che sono divenute permanentemente o temporaneamente autonome rispetto ai meccanismi di controllo cui sono sottoposte le normali cellule. Il processo che conduce all'instaurarsi di una simile situazione viene detto "cancerogenesi". Esso può essere indotto da un'ampia varietà di agenti eziologici di natura chimica, fisica (UV, radiazioni), biologica (ormoni, virus, parassiti). La conseguenza dell'instaurarsi del processo di "cancerogenesi" è la moltiplicazione della cellula primaria che genera milioni di cellule alterate costituenti nell'insieme la massa tumorale. Alcune di tali cellule possono anche essere in grado di migrare in altre parti dell'organismo e sviluppare metastasi.

Cellule eucariotiche

Sono cellule caratterizzate dalla presenza del nucleo, nel cui interno è conservato il DNA cellulare, a differenza delle cellule procariotiche che sono prive di un nucleo ben definito ed il loro genoma è spesso costituito da una molecola circolare di DNA.

Chemioterapia

Nel linguaggio comune, il termine "chemioterapia" viene, erroneamente, utilizzato solo per definire l'uso di sostanze sintetiche allo scopo di distruggere cellule tumorali. Tale termine è stato coniato all'inizio del XX secolo per descrivere l'uso di sostanze sintetiche allo scopo di distruggere gli agenti eziologici delle malattie infettive e, nel corso degli anni, tale definizione originaria è stata estesa anche a quei composti che distruggono "organismi invasori", quali le cellule tumorali.

Citologia

È la branca della biologia che studia la cellula. Tale parola deriva dal greco *kytos* "contenitore" e *logos* "studio".

Cromosoma

È una parola che deriva dall'unione delle parole greche *chroma* e *soma* che significano rispettivamente colore e corpo. Cioè i cromosomi sono dei corpi colorati: dei filamenti di DNA contenenti gruppi di geni.

Cromosomi omologhi

Nelle cellule che costituiscono un organismo pluricellulare (cellule somatiche) sono presenti due copie per ogni cromosoma, definiti cromosomi omologhi. Per tale motivo, queste cellule vengono dette diploidi. In ogni coppia di cromosomi omologhi, un cromosoma deriva dalla madre ed uno dal padre. Ogni cromosoma ha gli stessi geni del suo omologo, situati nello stesso punto, definito *locus*.

DNA spazzatura

Sono sequenze di DNA che non vengono trascritte in RNA oppure, anche se trascritte non codificano per alcuna proteina. Ricerche recenti hanno dimostrato che queste sequenze, apparentemente senza alcuna funzione, contribuiscono alla regolazione di numerose funzioni riguardanti la replicazione e trascrizione del DNA e la traduzione del RNA.

Farmacogenomica

È la branca della genomica che si interessa di come le conoscenze del Progetto Genoma possano essere utilizzate nella scoperta e nello sviluppo di nuovi farmaci.

Fenotipo e genotipo

Ogni gene definisce un particolare carattere ereditario, denominato genotipo. Il modo in cui il genotipo si manifesta si definisce fenotipo. Ogni individuo riceve un gene dalla madre ed uno dal padre. Se i geni ricevuti dai due genitori esprimono lo stesso fenotipo, essi si definiscono omozigoti. Se, invece, i due geni esprimono un diverso fenotipo, essi si definiscono eterozigoti.

Genetica

È la scienza che studia i meccanismi dell'eredità.

In vitro

Indica quel tipo di lavoro sperimentale effettuato in laboratorio utilizzando provette, cellule in coltura e vari tipi di reagenti chimici e/o biologici.

Ingegneria genetica

Termine con il quale si individuano tutte quelle tecnologie che permettono la manipolazione *in vitro* di molecole di DNA. Questo termine fu utilizzato da Rollin Hotchkiss nel 1965 per indicare quelle tecniche atte a isolare geni, clonarli e manipolarli. Questi geni possono essere introdotti in "ospiti" appropriati in modo da cambiarne le caratteristiche. Le applicazioni sono innumerevoli, ma la manipolazione genetica pone problemi etici di grande rilievo.

Leucemia

È un termine con il quale si indica un insieme di malattie maligne che colpiscono il sangue, il midollo osseo e il sistema linfatico, conosciute come "tumori dei tessuti ematopoietici e linfoidei".

Metastasi

Con il termine metastasi si individua il processo di "diffusione" delle cellule tumorali dal tumore originario ad altri organi dove possono riprodursi e generare nuovi tumori.

MicroRNA

Sono piccole molecole di RNA che non codificano per alcuna proteina. I microRNA sono presenti nelle piante, negli animali ed in alcuni virus. Queste molecole di RNA hanno importanti funzioni di regolazione dell'espressione genica.

Necrosi

È la morte di un gruppo di cellule in tessuti viventi. Questa parola deriva dal greco *nekròs*, cioè cadavere.

PCR (Polymerase Chain Reaction)

È una tecnica di amplificazione genica che permette di ottenere un numero elevato di copie di un gene o di una specifica sequenza genica. Questa tecnica è stata ideata dal ricercatore Kary B Mullis nel 1983. Nel 1993, proprio per questa invenzione, Mullis ottenne il premio Nobel per la chimica.

Plasmide

È un elemento genetico extracromosomico, di solito costituito da DNA circolare a doppia elica, presente nelle cellule batteriche, in grado di replicarsi indipendentemente dal DNA dell'ospite.

PSA

L'acronimo PSA significa "antigene-prostata-specifico". Il PSA è una proteina che viene secreta dalla prostata e serve a fluidificare lo sperma. Una prostata affetta da malattie, come le infiammazioni, l'ipertrofia benigna ed il cancro, produce più PSA del normale e il suo livello nel sangue aumenta. Un semplice prelievo di sangue può, quindi, rappresentare un comodo e semplice test di diagnosi precoce del tumore della prostata.

Radioterapia

È un particolare tipo di terapia fisica che utilizza le radiazioni nella cura dei tumori.

Sequenziamento del DNA

È una tecnica che consiste nell'individuare e ordinare tutti i nucleotidi che costituiscono il DNA, così come sono posizionati nel genoma. I nucleotidi sono unità ripetitive costituite da una base azotata (purina o pirimidina), zucchero pentoso (con cinque atomi di carbonio) e un gruppo fosfato. Lo zucchero pentoso del DNA è il desossiribosio, mentre quello dell'RNA è il ribosio. Le basi azotate sono: Adenina, Citosina, Guanina e Timina. Quindi, sequenziare il DNA significa determinare l'ordine delle basi azotate. Per effettuare un sequenziamento è necessario isolare un frammento di DNA, spezzettarlo in vari frammenti e amplificarlo.

Sonda

È una molecola utilizzata per individuarne altre con delle somiglianze più o meno estese. Le sonde molecolari più utilizzate in biologia sono molecole di DNA oppure di RNA che, dopo essere state opportunamente manipolate e poi marcate, riconoscono e si legano (ibridazione molecolare) a una seconda molecola di RNA o DNA contenente sequenze nucleotidiche complementari.

Trascrittasi inversa

È un enzima prodotto dai retrovirus capace di sintetizzare molecole di DNA su uno stampo di RNA.

Virus

È un piccolo agente infettivo che può replicarsi, cioè dar luogo a una progenie virale, solo infettando le cellule viventi di animali, piante o microrganismi, come ad esempio i batteri. Le cellule di questi organismi forniscono al virus gli apparati e le condizioni per potersi replicare. Il primo virus descritto in un articolo scientifico è stato quello del mosaico del tabacco, nel 1892, ad opera del ricercatore Dmitri Ivanovsky. In seguito, il botanico Martinus Willem Beijerinck, nel 1898, dimostrò che filtrati di foglie di tabacco infette potevano causare la malattia in piante sane. Beijerinck chiamò tale "agente infettivo filtrabile" *vira*, da cui virus. I virus sono talmente piccoli che è possibile osservarli solo al microscopio elettronico.

L'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ E LA SCUOLA

L'Istituto Superiore di Sanità da anni propone attività e progetti indirizzati ai docenti e studenti di istituti di istruzione secondaria per promuovere la cultura scientifica nelle scuole producendo diverso materiale didattico.

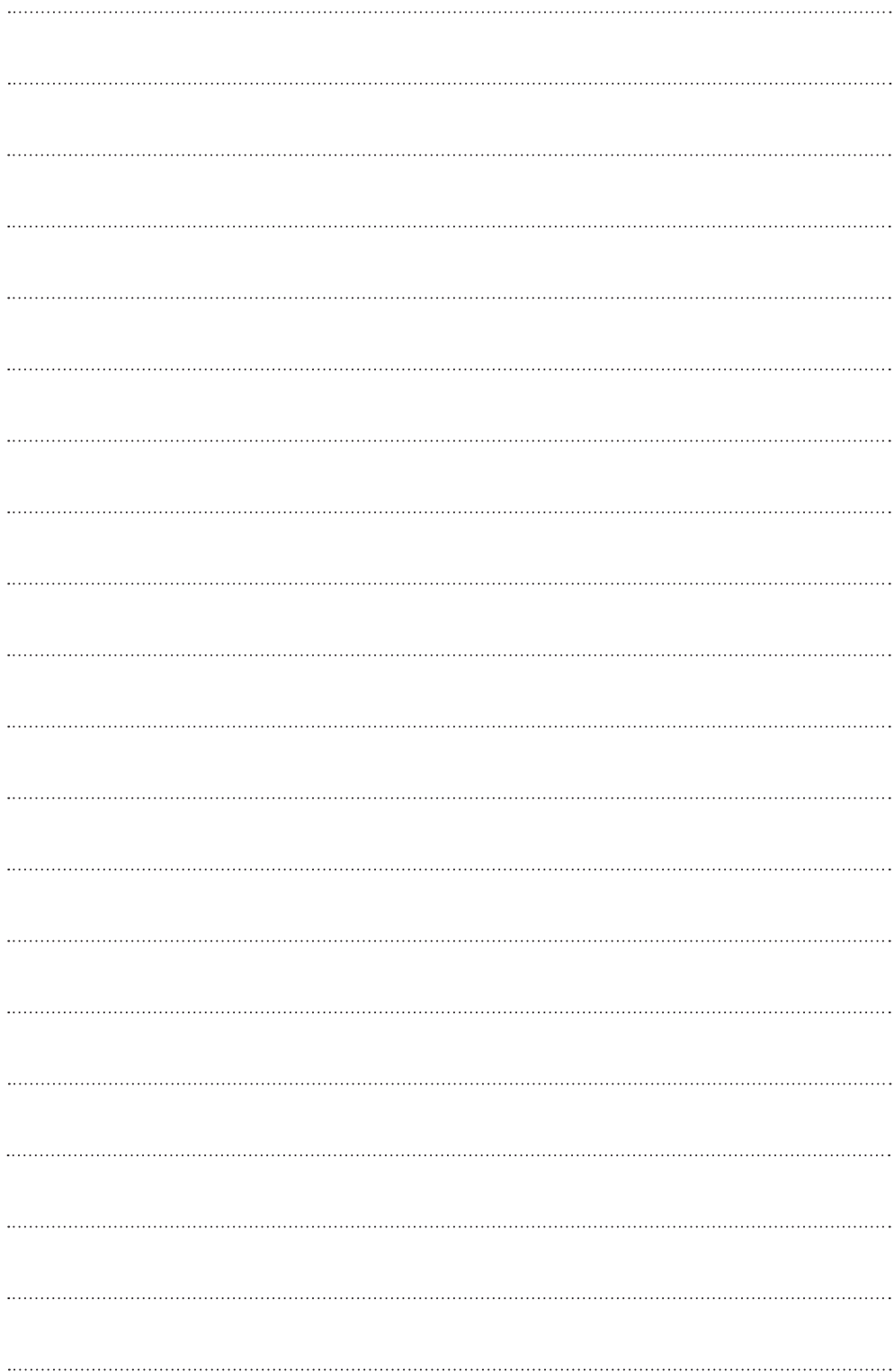
Si tratta di pubblicazioni eterogenee: alcune, prodotte dal 2001 al 2007, che possono essere considerate la genesi della collana "Dispense per la scuola" e condensano conoscenze scientifiche aggiornate con punti di vista innovativi sulla didattica; e altre su tematiche rilevanti in sanità pubblica, contenute in rapporti, articoli di riviste, concorsi, manifestazioni e diapositive.

Tutti i documenti sono disponibili online gratuitamente nel sito www.iss.it alla sezione "La scuola e noi" nella pagina delle Pubblicazioni*.

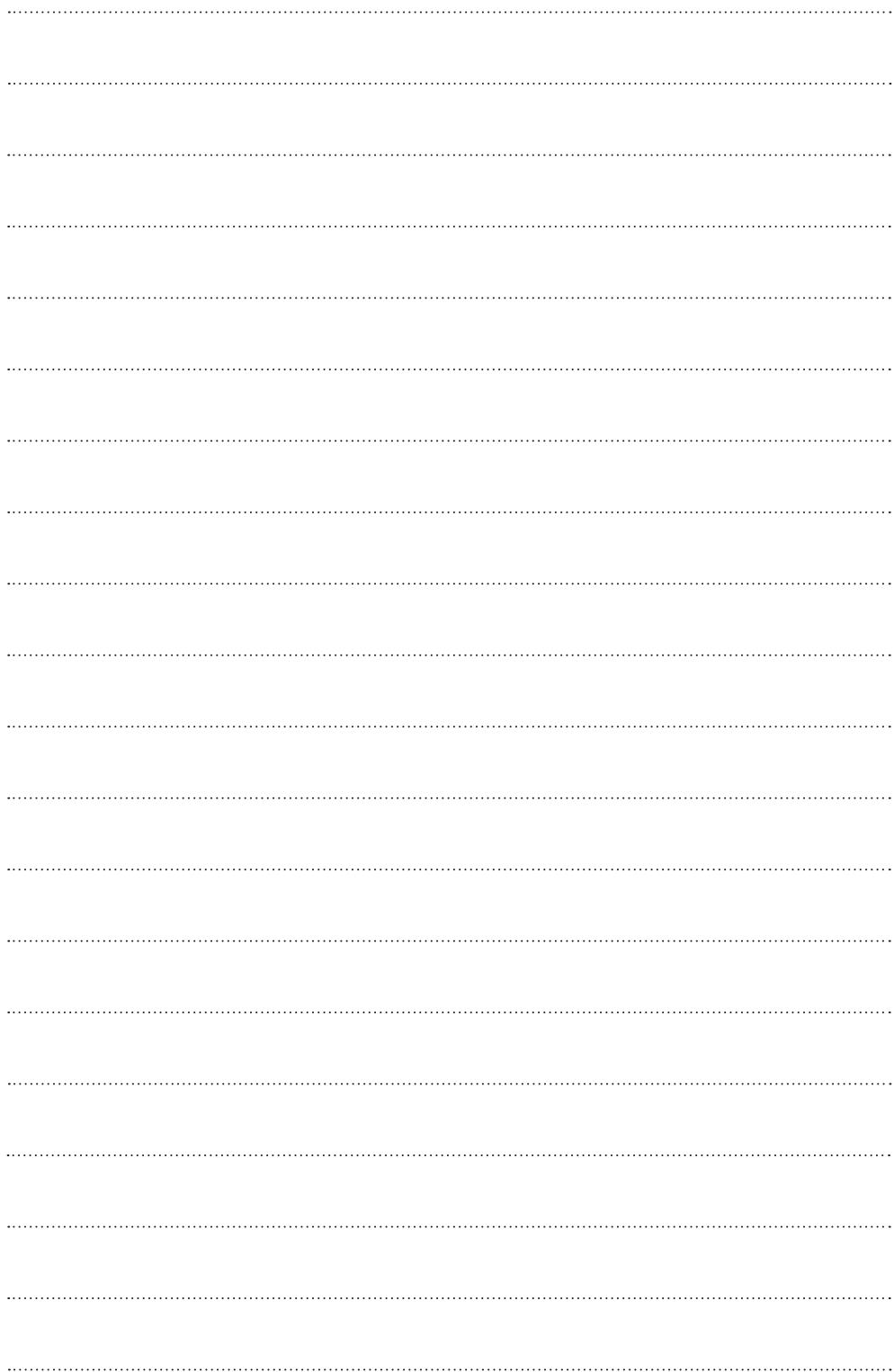
COLLANA "DISPENSE PER LA SCUOLA"

- 2008 Rossi AM, Gracceva G (Ed.). *Gli animali di Ulisse Aldrovandi: spunti per un'azione didattica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Dispense per la scuola 08/1).
- 2008 Bedetti C, Barbaro MC, Rossi AM (Ed.). *L'uso e l'abuso degli animali: spunti per un'azione didattica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2008. (Dispense per la scuola 08/2).
- 2009 Barbaro MC, Radiciotti L (Ed.). *Aspetti biologici e di salute della differenza di genere. Incontro con gli studenti di scuole medie superiori. Roma, 26 marzo e 24 aprile 2009. XIX Settimana della Cultura Scientifica e Tecnologica. Atti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Dispense per la scuola 09/1).
- 2011 Zeuner A, Palio E. *Le cellule staminali: spunti per un'azione didattica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2011. (Dispense per la scuola 11/1).
- 2011 Barbaro MC, Salinetti S (Ed.). *Femmine e maschi: cervelli diversi? Un approccio alla salute partendo dalle differenze di genere. Roma, 14 maggio 2010. Atti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2011. (Dispense per la scuola 11/2).
- 2012 Barbaro MC, Salinetti S (Ed.). *La salute nell'astuccio: dall'ISS spunti per un'azione didattica. Roma, 17 ottobre 2011. Atti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2012. (Dispense per la scuola 12/1).
- 2013 Barbaro MC, Salinetti S, Scavia G (Ed.). *Latte & dintorni: rischi e benefici correlati al consumo di latte*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2013. (Dispense per la scuola 13/1).
- 2014 Barbaro MC, Salinetti S (Ed.). *La salute nell'astuccio: dall'ISS spunti per un'azione didattica. Roma, 15 ottobre 2012. Atti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2014. (Dispense per la scuola 14/1).
- 2015 Gigantesco A, Morosini P. *Promozione del benessere psicologico e dell'intelligenza emotiva a scuola: un manuale per definire obiettivi e risolvere problemi*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2015. (Dispense per la scuola 15/1).
- 2016 Di Lonardo A, Bracci L, Pulciani S. *Breve storia della ricerca sul cancro: un racconto per educare alla ricerca*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2016. (Dispense per la scuola 16/1).

* www.iss.it/publ/scuo/cont.php?id=2190&lang=1&tipo=15&anno=







Supplemento 1, al n. 11-12 vol. 29 (2016)
del Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità
ISSN 0394-9303 (cartaceo)
ISSN 1827-6296 (online)

Legale rappresentante e Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità: Gualtiero Ricciardi
Direttore responsabile: Paola De Castro

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 475/88
del 16 settembre 1988 (cartaceo)
e al n. 117 del 16 maggio 2014 (online)

Stampato da Tiburtini srl
Via delle Case Rosse, 23 - 00131 Roma
Finito di stampare Febbraio 2017



Dispense per la scuola

Istituto Superiore di Sanità

Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

www.iss.it

Questa dispensa, rivolta ai ragazzi delle scuole secondarie superiori, è il racconto del percorso scientifico, intrapreso da Ippocrate ad oggi, per comprendere il cancro. Riassume i risultati ottenuti nella ricerca oncologica e si propone di appassionare gli studenti all'argomento, con l'auspicio che qualcuno dei lettori in futuro possa intraprendere l'interessante "lavoro" di ricercatore.

La serie *Dispense per la scuola* ospita contributi di vari esperti dell'Istituto Superiore di Sanità nell'ambito delle loro attività di ricerca con l'obiettivo di fornire agli insegnanti spunti utili per sviluppare itinerari didattici a scuola su temi scientifici specifici, di interesse per i giovani, e per promuovere consapevolezza su tematiche di salute.