

2. aprile

Il meccanismo che consente ai tumori di “sfidare” la morte e metastatizzare

*La prima parola del referto ad attirare il mio sguardo,
e a colpire le mie orecchie, è stato “metastatizzato”.
L'alieno aveva colonizzato un angolo del mio polmone e una buona parte del mio linfonodo.
E la sua base operativa era ubicata – da un bel pezzo – nel mio esofago.
Mio padre era morto, e molto rapidamente, di cancro all'esofago.
Aveva settantanove anni. Io ne ho sessantuno.
Se la vita è una specie di “corsa”, io di colpo mi ritrovo tra i finalisti.
Christopher Hitchens*

Quando le cellule si staccano dalla matrice extracellulare o dalle cellule vicine, di solito subiscono una forma di morte cellulare programmata nota come **anoikis** a causa della perdita della segnalazione dipendente dall'ancoraggio e pro-sopravvivenza.

Le cellule tumorali possono acquisire resistenza all'anoikis quando si staccano dai tessuti diventano arrotondate e formano sporgenze emisferiche dinamiche della membrana plasmatica chiamate **bleb** e così iniziano a metastatizzare.

Questo meccanismo descritto e dimostrato nel 2023 da **Michael Reichman-Fried & Erez Raz** del *Institute of Cell Biology, University of Münster*



Reichman-Fried M, Raz E.

Bleb protrusions help cancer cells to cheat death.

Nature. 2023 Mar;615(7952):402-403.

è il meccanismo cruciale che consente alle cellule tumorali di sopravvivere e metastatizzare .
L'acquisizione della resistenza all'anoikis è pertanto un passo fondamentale nella progressione della malattia del cancro e nella capacità di diffondere metastasi.

Pochi giorni fa il team di **Andrew Weems** del *Dipartimento di Bioinformatica della Southwestern Medical Center, Dallas*



ha pubblicato su **Nature** il report

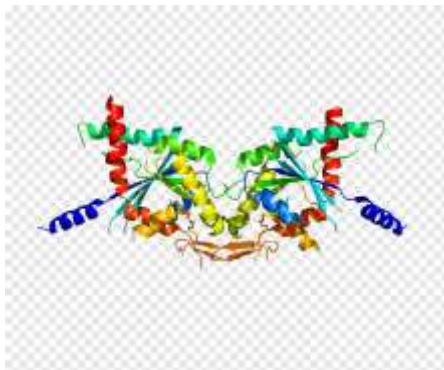
Weems AD et al

Blebs promote cell survival by assembling oncogenic signalling hubs.

Nature. 2023 Mar;615(7952):517-525.

Attraverso l'imaging tridimensionale e una profonda manipolazione degli stati morfologici cellulari il blebbing innesca la formazione di hub di segnalazione prossimale della membrana plasmatica che conferiscono resistenza all'anoikis.

*In particolare, nelle cellule di melanoma, il blebbing genera contorni della membrana plasmatica che reclutano proteine di **septina** sensibili alla curvatura come impalcature per NRAS ed effettori mutanti costitutivamente attivi. (vedi allegato)*

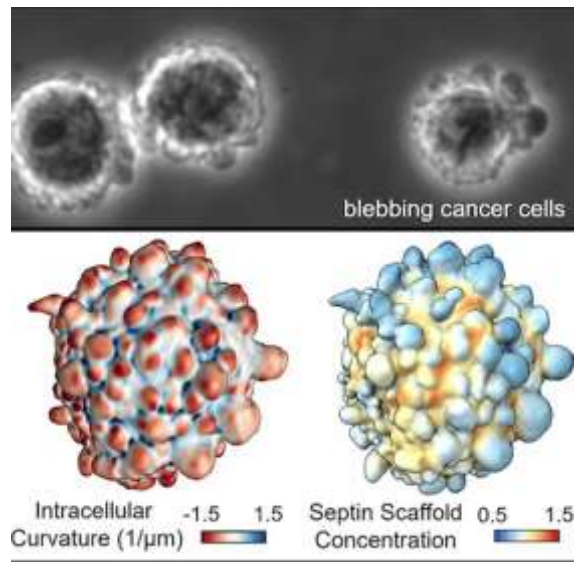


SEPTINA

Questi hub di segnalazione attivano promotori ben consolidati di ERK e PI3K di percorsi pro-sopravvivenza.

L'inibizione di bleb o septine ha scarso effetto sulla sopravvivenza delle cellule ben aderenti, ma nelle cellule distaccate provoca errata localizzazione NRAS, ridotta attività MAPK e PI3K e, infine, morte.

*Ciò svela un requisito morfologico affinché NRAS mutante operi come un'oncoproteina efficace. Inoltre, mentre alcune cellule di melanoma con mutazione BRAF non si basano su questo percorso di sopravvivenza in uno stato basale, l'inibizione di BRAF e MEK le sensibilizza fortemente sia all'inibizione del bleb che della **septina**.*



Inoltre, i fibroblasti progettati per sostenere **il blebbing** acquisiscono la stessa resistenza all'anoikis delle cellule tumorali anche senza ospitare mutazioni oncogeniche.

Pertanto, i **bleb** sono potenti organelli di segnalazione in grado di integrare una miriade di flussi di informazioni cellulari in risposte cellulari concertate, in questo caso garantendo una robusta resistenza all'anoikis.

Insieme, questi dati indicano che i blebs funzionano come **hub di segnalazione** per promuovere la sopravvivenza cellulare, suggerendo che questo meccanismo potrebbe essere mirato terapeuticamente per prevenire la resistenza all'anoikis. coerente con NRAS localizzati in settina che attivano la segnalazione pro-sopravvivenza.

Infine, l'espressione di un mutante **dynamamin** dominante negativo in fibroblasti embrionali di topo non maligni ha prolungato il sanguinamento post-distacco, che ha provocato resistenza all'anoikis. to be continued...

Allegato

SEPTINE

Le septine sono proteine che agiscono nella fase finale della divisione cellulare . Sono stati scoperti nel 1970 da Leland H. Hartwell negli studi sui funghi nella fase di citocinesi . Il radicale "sept" è stato adottato per ricordare la formazione del setto, che effettua lo strangolamento al termine della divisione, separando in due parti il contenuto citoplasmatico . I risultati di laboratorio hanno rivelato quattro mutanti che hanno impedito il verificarsi naturale della citocinesi a determinate temperature. I geni corrispondenti rappresentano le prime quattro septine, ScCDC3, ScCDC10, ScCDC11 e ScCDC12.

Le septine si organizzano in filamenti e anche in un grande anello, il cui diametro diminuisce gradualmente, comprimendo la cellula . La mitosi è completa quando il diametro dell'anello di septina diventa così piccolo che ogni cellula figlia ha la propria membrana plasmatica . Non si parla più di un citoplasma , ma di due, totalmente separati dal nuovo bordo di membrana. In questo momento, le septine sono disorganizzate, scomposte e digerite. Gli amminoacidi vengono riciclati. Diverse altre funzioni sono state associate alle septine. Si è notato che, sebbene vi fosse una certa diversità funzionale in esse, una caratteristica sembrava essere sempre presente: in tutte le osservazioni formavano complessi filamentosi che impedivano la mescolanza dei contenuti. In

altre parole, hanno partecipato alla creazione di divisori, membrane . È il caso della citocinesi , dell'esocitosi e della sporulazione . Più recentemente, le septine sono state identificate nel tessuto cerebrale umano . L'argomento è di crescente interesse nella comunità scientifica, poiché le septine sono state incluse nel gruppo di proteine che subiscono mutazioni causa o conseguenza di malattie neurodegenerative come l'Alzheimer e il Parkinson , così come alcuni tipi di cancro e l'infertilità maschile .

Il genoma umano indica la presenza di almeno tredici geni che codificano le septine. Le proteine prodotte da questi tredici geni sono raggruppate per omologia di sequenza in quattro sottogruppi, ciascuno chiamato per la septina fondatrice del gruppo: (i) SEPT2 (SEPT1, SEPT4, SEPT5), (ii) SEPT3 (SEPT9, SEPT12), (iii) SEPT6 (SEPT8, SEPT10, SEPT11, SEPT14) e (iv) SEPT7.

Una septina umana può essere suddivisa in tre regioni ben definite: l' N-terminale , il dominio di legame GTP e il C-terminale (che contiene sequenze di bobine a spirale). I membri del sottogruppo SEPT6 sono gli unici che non mostrano attività GTPase. Sebbene la maggior parte dei cristalli ottenuti provenga dal dominio di legame GTP , sono disponibili anche alcune strutture dai domini C-terminali .

Lecture integrative consigliate

Paoli P et al

Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression.

Biochim Biophys Acta. 2013 Dec;1833(12):3481-3498.

Anoikis è una morte cellulare programmata indotta dal distacco cellulare dalla matrice extracellulare, comportandosi come un meccanismo critico nel prevenire la crescita cellulare indipendente dall'adesione e l'attaccamento a una matrice inappropriata, evitando così la colonizzazione di organi distanti. Poiché la crescita indipendente dall'ancoraggio e la transizione epiteliale-mesenchimale, due caratteristiche associate alla resistenza all'anoikis, sono passaggi vitali durante la progressione del cancro e la colonizzazione metastatica, la capacità delle cellule tumorali di resistere all'anoikis ha ora attirato l'attenzione principale della comunità scientifica. Le cellule tumorali sviluppano resistenza all'anoikis a causa di diversi meccanismi, tra cui il cambiamento nel repertorio delle integrine che consente loro di crescere in nicchie diverse, l'attivazione di una pleora di segnali pro-sopravvivenza al rovescio come eccessiva attivazione dei recettori a causa di cicli autocrini sostenuti, attivazione dell'oncogene, sovraespressione del recettore del fattore di crescita o mutazione/supregolazione di enzimi chiave coinvolti nella segnalazione del recettore dell'integrina o del fattore di crescita. Inoltre, è stato anche riconosciuto che il microambiente tumorale contribuisce alla resistenza all'anoikis delle cellule tumorali astanti, modulando la rigidità della matrice, aumentando lo stress ossidativo, producendo fattori solubili pro-sopravvivenza, innescando la transizione epiteliale-mesenchimale e la capacità di auto-rinnovamento, oltre a guidare alle deregolazioni metaboliche delle cellule tumorali. Tutti questi eventi aiutano le cellule tumorali a inibire il meccanismo dell'apoptosi e a sostenere i segnali di sopravvivenza dopo il distacco, contrastando l'anoikis e costituendo bersagli promettenti per la terapia farmacologica antimetastatica.

Zhan M et al.

Signalling mechanisms of anoikis.

Histol Histopathol. 2004 Jul;19(3):973-83.

L'apoptosi in seguito alla perdita dell'ancoraggio cellulare ("anoikis") è rilevante per lo sviluppo, l'omeostasi tissutale e la malattia. Le integrine regolano la vitalità cellulare attraverso la loro interazione con la matrice extracellulare e possono percepire le forze meccaniche derivanti dalla matrice e convertire questi stimoli in

segnali chimici in grado di modulare la trasduzione del segnale intracellulare. Recentemente è stato dimostrato che le vie di segnalazione della protein chinasi e il controllo molecolare correlato all'apoptosi anoikis sia positivamente che negativamente. La chinasi di adesione focale, quando attivata dalle integrine, può sopprimere l'anoikis. La fosfatidilinositolo 3-chinasi/Akt e la protein chinasi attivata dal mitogeno possono mediare gli effetti di soppressione dell'anoikis delle cellule. Al contrario, la chinasi proteica attivata dallo stress/chinasi Jun amino-terminale promuove l'anoikis. Inoltre, alcune proteine correlate a bcl-2 e bcl-2 possono anche partecipare alla regolazione di anoikis. In questa recensione, verranno discussi i meccanismi molecolari della via del segnale che induce e perpetua l'apoptosi indotta dal distacco, con particolare enfasi sul ruolo delle integrine, della chinasi di adesione focale, della fosfatidilinositolo 3-chinasi/Akt, della protein chinasi attivata dal mitogeno e dei membri della famiglia bcl-2 .

Strzyz P.

Anoikis resistance through blebs.

Nat Rev Mol Cell Biol. 2023 Mar 14.

Un anno fa... Baedeker/Replay del 2 aprile 2022

Non è finita: dopo le "varianti" stanno aumentando i "ricombinanti"

Il CDC ha comunicato martedì 29 marzo che Omicron BA.2 rappresentava più della metà dei nuovi casi di Covid negli Stati Uniti. BA.2 è sicuramente la variante a cui tutti i centri di sequenziamento stanno prestando maggiore attenzione in questo momento; contemporaneamente si stanno monitorando molte varianti differenti e in particolare, molti modelli diversi di mutazioni per vedere se ce ne sono di "preoccupanti".

Una delle cose che si sta analizzando con particolare attenzione come segnalato più volte in Baedeker è la potenziale emergenza di virus ricombinanti, specialmente in seguito o durante le grandi ondate di diverse varianti che si precipitano e si scontrano l'una contro l'altra.

-Ma cosa sono i ricombinanti? Perché ne stiamo vedendo così tanti adesso?

- Quali sono esattamente i nuovi lignaggi XD, XE e XF?

- E' giusto preoccuparsi ?

I ricombinanti Quando due virus correlati infettano la stessa cellula (cioè durante una coinfezione) il meccanismo di replicazione virale può passare accidentalmente da un genoma all'altro dando così origine ad un "genoma misto" : questa è la ricombinazione virale. SARS2 ha fatto questo innumerevoli volte durante tutta la pandemia, tuttavia è facile individuare i ricombinanti solo quando i due virus parentali sono lontanamente imparentati.

Quali sono i nuovi lignaggi ricombinanti? Rientrano in 2 categorie: Delta x BA.1 (chiamato Deltracron nei media... giornalisti per favore smettetela di farlo!) e BA.1 x BA.2 Il motivo per cui stiamo vedendo molti ricombinanti è che, fino a poco tempo fa, circolavano molti virus geneticamente distinti Delta, BA.1 e BA.2 , solo quando si verificano ricombinazioni tra questi lignaggi è possibile identificare, anche se la parte mutata del genoma è solitamente piccola L'altro motivo per cui cominciamo a vederne molti ora e perché quando BA.1 è "decollato" (almeno in Europa e negli Stati Uniti) c'erano già livelli molto alti di Delta in circolazione (vedi Regno Unito sotto) quindi la possibilità di coinfectare era molto alta Delta x BA.1 è stato sequenziato e verificato da @SimonLoriere dell' istituto Pasteur e segnalato per la prima volta da @DrSnOU .

Contiene la proteina Spike di BA.1, il resto è totalmente Delta. XE è un ibrido di BA.1 x BA.2.

Sequenziato e verificato da @UKHSA, e @Istituto Ranger.

Segnalato per la prima volta da @nzm8qs.

Ha lo Spike e le strutturali di BA.2 ma la parte 5' del suo genoma di BA.1. XF è un lignaggio Delta x BA.1 .

Ancora una volta sequenziato e verificato da @UKHSA e prima segnalato da @nzm8qs .

Ha lo Spike e le proteine strutturali di BA.1 ma la parte 5' del suo genoma di Delta. L'unico report al momento disponibile in rete è un preprint del Laboratory and Testing Task Force, COVID-19 Emergency Response, Centers for Disease Control and Prevention dal titolo: Identification of a Novel SARS-CoV-2 Delta-

Omicron Recombinant Virus in the United States. Le conclusioni del lavoro sono esaustive: Questa è la prima evidenza di un genoma SARS-CoV-2 ricombinante contenente una proteina Spike ibrida derivata da un evento di ricombinazione Delta (AY.119.2)-Omicron (BA.1.1).

Tuttavia, la capacità di identificare e confermare in modo efficace ulteriori virus ricombinanti rimane difficile a causa della gamma di qualità delle sequenze disponibili nel pubblico dominio. Queste limitazioni sono il risultato dell'inefficienza dell'amplificazione e dell'errore algoritmico di consenso, nonché casi di coinfezione o potenziale contaminazione del campione. La caratterizzazione fenotipica comparativa degli isolati di virus dal cluster ricombinante non è stata possibile poiché tutti i campioni sono stati inattivati chimicamente. Nella proteina S, non ci sono sostituzioni di amminoacidi aggiuntive all'interno del dominio di legame del recettore rispetto ai virus del lignaggio BA.1.1 (Omicron). Nonostante sia stato rilevato nel corso di 6 settimane, il numero di casi risultanti da questi virus ibridi ricombinanti Spike rimane basso. Inoltre, la maggior parte dei casi è stata identificata nella regione dell'Atlantico centrale degli Stati Uniti. Date le potenziali conseguenze sulla salute pubblica delle nuove varianti che emergono dalla ricombinazione, le indagini che coinvolgono componenti di laboratorio e bioinformatiche, come quella qui presentata, sono fondamentali per identificare e tracciare correttamente questi virus.

Quelle che seguono sono le strutture dei ricombinanti ad oggi isolati e consultabili in rete.

[\(per continuare vai all'originale\)](#)

Un anno fa... Baedeker/Replay del 2 aprile 2021

Negligenza professionale?

Parte seconda: Risposta ai quesiti del 1 aprile