



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea  
Scienze Biologiche**

**Il ruolo dell'ossitocina nella patologia neoplastica  
The role of oxytocin in neoplastic pathology**

Tesi di Laurea di:  
Aurora Sabbatini Peverieri

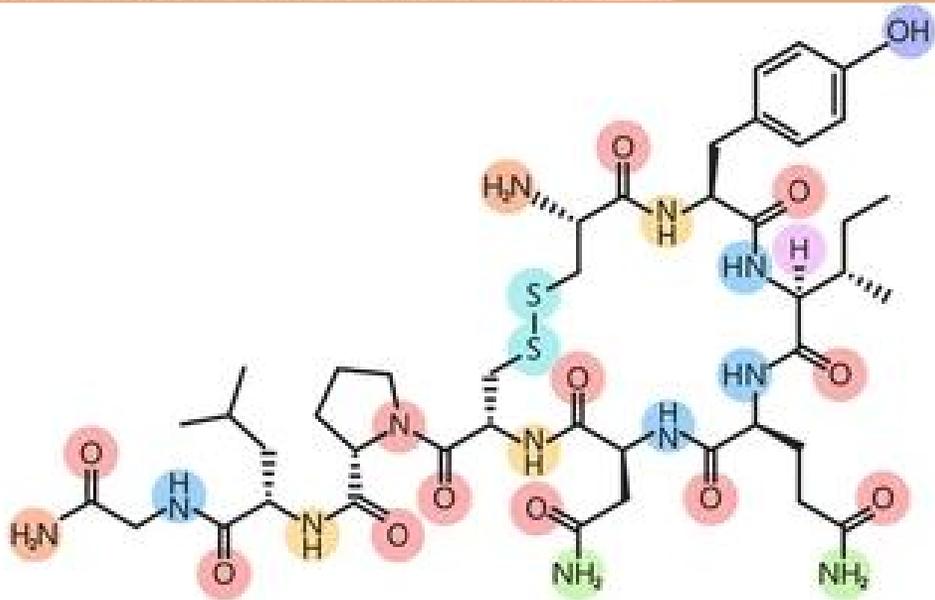
Docente Referente:  
Chiar.ma Prof.ssa Mara Fabri

**Sessione Autunnale Dicembre 2024  
Anno accademico 2023/2024**



# CARATTERISTICHE GENERALI E STRUTTURA DELL'OSSITOCINA

Neuropeptide prodotto dai nuclei ipotalamici, sopra-ottico e paraventricolare e secreto dalla neuroipofisi, dunque di natura proteica e di origine nervosa



Scoperta nel 1906 da Henry Dale e definita come sostanza in grado di accelerare il processo del parto. Le diede il nome di ossitocina dal greco antico "ὄξύς" cioè "veloce" e "τόκος" ossia "parto"

Costituita da nove amminoacidi, la cui sequenza è: Cys, Tyr, Ile, Gln, Asn, Cys, Pro, Leu, Gly-NH<sub>2</sub>. È presente legame a ponte disolfuro tra le due cisteine in posizione 1 e 6, che conferisce alla molecola una struttura parzialmente ciclica

Primo neuropeptide ad essere stato sequenziato nel **1984** e il primo sintetizzato nella sua forma biologicamente attiva nel **1992**



# MECCANISMO D'AZIONE DELL'OSSITOCINA

L'azione dell'OT, come per altri ormoni, prevede il legame con il proprio recettore (OTR) a livello di tessuti sia centrali che periferici.

Il recettore è un **recettore accoppiato a proteina G** (GPCRs) di classe I, costituito da 388 AA disposti in domini transmembrana ad alfa elica uniti da loop intracellulari e loop extracellulari. Il sito di legame sembra trovarsi in parte nei loop extracellulari e in parte nei domini transmembrana.

In seguito al legame tra OT e recettore viene attivata una Fosfolipasi C (PLC) che idrolizza il fosfatidilinositolo 4,5 bisfosfato formando così l'inositolo 1,4,5 trifosfato (IP3) e l'1,2-diacilglicerolo (DAG).

IP3 e IP4 (quest'ultimo generatosi da IP3) incrementano la concentrazione di  $Ca^{2+}$  intracellulare (considerato il vero secondo messaggero), sia liberando ioni  $Ca^{2+}$  dai siti di deposito del reticolo endoplasmatico, sia aprendo canali sulla membrana plasmatica.

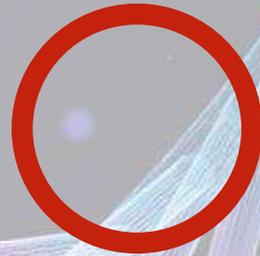
Il DAG attiva la proteinchinasi C, che fosforila i substrati proteici a livello dei residui degli aminoacidi serina e treonina. Il  $Ca^{2+}$ , una volta liberato all'interno del compartimento cellulare, lega la calmodulina, proteina citoplasmatica, formando un complesso  $Ca^{2+}$ -calmodulina che attiva una proteinchinasi calmodulina dipendente. Si è notato che il rilascio indotto dall'OT è maggiore in presenza di  $Ca^{2+}$  extracellulare, dimostrando l'effetto su canali di membrana da parte dell'OT e la sua capacità di promuovere un flusso di calcio tramite canali voltaggio dipendenti o recettori canali.



# RUOLI FISIOLGICI DELL'OSSITOCINA

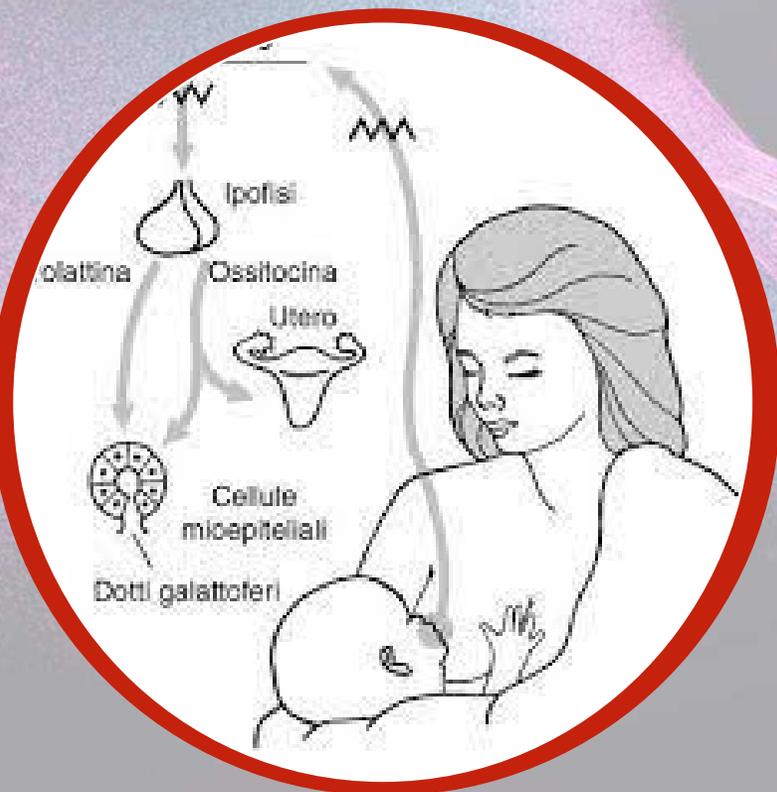


- Ruolo centrale nella regolazione del parto.
  - Durante il parto il miometrio uterino è trasformato da un tessuto con bassa connessione fra i singoli miociti a un tessuto con estese connessioni. Le connessioni fisiche avvengono attraverso pori formati da multimeri di connessina e durante il travaglio anche attraverso la liberazione paracrina di prostaglandina F<sub>2</sub> e la locale liberazione di calcio.
  - L'attivazione del recettore innesca una serie di eventi di segnalazione per stimolare la contrazione, principalmente elevando la concentrazione di Ca<sup>2+</sup> intracellulare, sia tramite il rilascio di calcio di riserva mediato dall'IP<sub>3</sub>, e l'ingresso di Ca<sup>2+</sup> mediante i canali voltaggio-dipendenti.
  - Queste estese connessioni fisiche e biochimiche portano alla depolarizzazione dei singoli miociti, che passa alle cellule vicine in modo da formare una grande onda di depolarizzazione e contrazione in ampie aree dell'utero.
- 
- Pressione intrauterina e distensione progressiva della cervice, che porta alla fine all'espulsione del feto.





# RUOLI FISIOLGICI DELL'OSSITOCINA



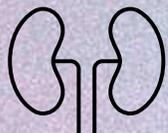
- Ruolo cruciale nell'allattamento.
- L'ossitocina fa contrarre le cellule mioepiteliali attorno agli alveoli della ghiandola mammaria. Così il latte raccolto negli alveoli scorre lungo i dotti e viene espulso. Questo effetto è innescato dallo stimolo della suzione.
- L'ossitocina, attraverso la circolazione sanguigna, viene trasportata al tessuto mammario, dove provoca la contrazione delle cellule mioepiteliali nelle pareti dei dotti galattiferi, dei seni e degli alveoli mammari, portando a un forte aumento della pressione intramammaria e all'espulsione del latte.
- Questo fenomeno è definito riflesso di rilascio, riflesso di eiezione del latte o riflesso della suzione.



# RUOLI FISILOGICI, COMPORTAMENTALI E SOCIALI DELL'OSSITOCINA



**AZIONE UTEROTONICA:** induzione di contrazioni uterine, L'ossitocina agisce sulla muscolatura liscia (miometrio) dell'utero inducendone la contrazione. Durante il parto gli estrogeni inducono un aumento dei recettori dell'ossitocina a livello uterino e l'organo diviene più sensibile agli effetti dell'ormone (Katzung, 1992).



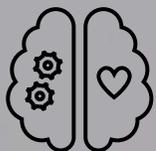
L'ossitocina possiede una debole azione antidiuretica sullo stesso tratto del tubulo renale su cui è attiva la vasopressina.



L'ossitocina è anche un importante ormone neuro-modulatorio che interviene in alcuni dei processi sottesi alla sfera sociale ed emozionale, in particolare quelli di decodificazione delle espressioni visive legate alle emozioni (riconoscimento di sentimenti di affettività o paura dai lineamenti del viso) (Shahrestani et al., 2013).



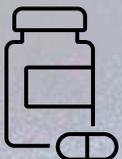
L'ossitocina è stata anche chiamata "ormone dell'amore" proprio perché coinvolta nei comportamenti sociali di attaccamento. Alcuni studi preliminari suggeriscono un possibile ruolo dell'ossitocina nei processi che regolano i comportamenti quali decision-making, valutazione e risposta a stimoli sociali, relazioni sociali-affettive, come le relazioni genitoriali madre-figlio e relazioni affettive e sessuali, mediazione delle interazioni sociali e formazione di memorie sociali (Macdonald, 2010).



L'ossitocina inoltre è risultata implicata in un'ampia gamma di funzioni neuropsichiatriche e potrebbe, pertanto, rappresentare un fattore comune in diversi disturbi psichiatrici che impattano sulla relazione sociale dell'individuo quali l'autismo, la schizofrenia, l'ansia e i disturbi dell'umore (Cochran et al., 2013).



# PROSPETTIVA NEOPLASTICA DELL'OSSITOCINA



- **Nei tumori, l'ossitocina agisce come regolatore della crescita, attraverso l'attivazione di uno specifico recettore transmembrana, il recettore dell'ossitocina.**



- **In vitro, l'ossitocina inibisce la proliferazione delle cellule neoplastiche di origine epiteliale, mammaria, endometriale, nervosa e probabilmente anche ossea, tutte esprimenti il recettore dell'ossitocina. Inoltre, un effetto di inibizione della crescita è stato anche testato e confermato in vivo nei carcinomi mammari di topi e ratti.**

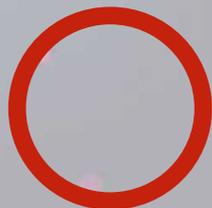
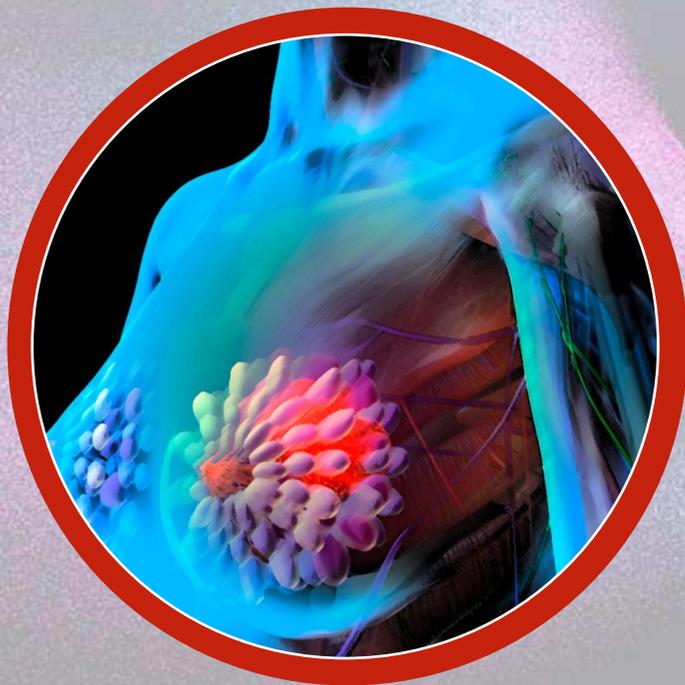


- **L'effetto inibitorio dell'ossitocina è apparentemente mediato dall'attivazione del percorso cAMP-proteina chinasi A, un percorso di segnalazione dell'ossitocina non convenzionale. Questo ruolo inaspettato dell'ossitocina (e dei suoi analoghi) nella regolazione della proliferazione cellulare, così come l'espressione diffusa dei recettori dell'ossitocina nei tessuti neoplastici di diversa origine, apre nuove prospettive sul ruolo biologico del sistema ossitocina-recettore nelle neoplasie.**

Tessuto	Tipo di espressione
Miometrio	mRNA e proteine
Polmone	mRNA
Seno	mRNA e proteine
Prostata	mRNA
Utero	mRNA e proteine
Cuore	mRNA
Endotelio vascolare	mRNA
Cervello	mRNA
Timo	mRNA
Pancreas	mRNA
Sangue	mRNA e proteine
Osso	mRNA



# OSSITOCINA E TUMORE MAMMARIO



- L'ossitocina ha effetti soppressivi sulla formazione e lo sviluppo del tumore al seno (Khorl et al., 2018).
- l'OT, attraverso l'inibizione di NF- $\kappa$ B (FATTORE NUCLEARE KAPPA b), un fattore che stimola il processo infiammatorio, può indurre la sovra-regolazione di miRNA-195 che può inibire la proliferazione cellulare e promuovere l'apoptosi. I percorsi di segnalazione correlati al tumore, tra cui NF- $\kappa$ B, miRNA-195 e Ciclina D1, sono stati valutati mediante analisi qPCR (PCR quantitativa in tempo reale) e le proteine Akt e la protein-chinasi B (PKB), che porta alla crescita cellulare e alla resistenza all'apoptosi, ed ERK, una chinasi extracellulare che stimola l'invasione, l'angiogenesi e la progressione cellulare, sono state valutate mediante Western Blot. Il volume e il peso dei tumori sono stati significativamente ridotti dopo la somministrazione di OT. Le espressioni di Akt ed ERK fosforilate sono diminuite significativamente nel gruppo trattato con OT rispetto al gruppo non trattato. Al contrario, le espressioni di Akt ed ERK defosforilate sono aumentate significativamente. Le espressioni di miRNA-195 e di mRNA dei geni OTR e Bax sono aumentate significativamente; l'espressione di mRNA dei geni ER $\alpha$ , PI3K, NF- $\kappa$ B, ciclina D1 e Bcl-2 è diminuita nel gruppo trattato con OT rispetto al gruppo non trattato
- Questi risultati possono mostrare un nuovo potenziale terapeutico per OT sulla down-regulation di NF-Kb e altri fattori di crescita, e sulla up-regulation di miRNA-195 e altri fattori specifici fattori di promozione apoptotica, determinando di conseguenza, una diminuzione del volume e del peso del tumore in un modello murino di cancro alla mammella.



# OSSITOCINA E TUMORE OVARICO

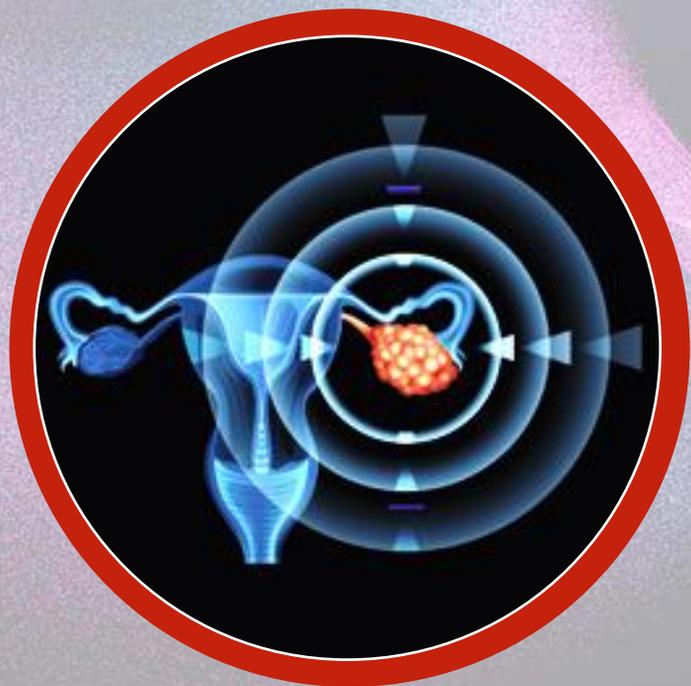
- Ruolo protettivo dell'OT nel cancro ovarico per i suoi effetti antiproliferativi, anti-migratori e anti-invasivi in vitro e in vivo. Tuttavia, il ruolo dell'ossitocina endogena non è stato esaminato nelle pazienti con cancro ovarico (Cuneo et al., 2019).

- L'OT ha anche proprietà antinfiammatorie che non sono state esaminate nel cancro. Lo scopo di questa ricerca era di esaminare le relazioni tra OT endogena, infiammazione associata al tumore (interleuchina-6) e sopravvivenza nelle pazienti con cancro ovarico epiteliale avanzato.

- **Metodi:** Il microambiente tumorale (ascite) e i livelli di OT plasmatica sono stati analizzati tramite ELISA su campioni ottenuti da 79 pazienti. Sono stati utilizzati modelli in vitro per caratterizzare l'OT e l'espressione del recettore dell'OT in quattro linee cellulari di cancro ovarico e per studiare gli effetti antinfiammatori diretti dell'OT nelle cellule tumorali. Sono stati osservati livelli elevati e variabili di OT nell'ascite. Livelli più elevati di OT erano associati a livelli più bassi di interleuchina-6 sistemica e associata al tumore. L'OT ha anche attenuato la secrezione di interleuchina-6 da più linee cellulari di tumore ovarico in vitro.



**Conclusioni:** questi dati dimostrano la presenza dell'OT nel microambiente del tumore ovarico e forniscono una prova iniziale che l'OT ha effetti protettivi nel cancro ovarico tramite meccanismi antinfiammatori. Studi futuri dovrebbero esaminare l'utilità terapeutica dell'OT.





# OSSITOCINA E TUMORE ENDOMETRIALE

- I recettori dell'ossitocina (OTR) sono espressi nelle cellule endometriali e l'OT partecipa alle funzioni endometriali (Cassoni et al., 2000).
- Per dimostrare la presenza e la posizione degli OTR e dell'mRNA dell'OTR, sono state impiegate procedure di immunocitochimica, reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa (RT-PCR) e ibridazione in situ in una serie di adenocarcinomi umani dell'endometrio. Utilizzando un anticorpo monoclonale anti-OTR (IF3), gli OTR sono stati dimostrati nella grande maggioranza dei carcinomi endometriali (82%), con un modello di positività che variava da diffuso a focale, in base alla differenziazione del tumore. Inoltre, in una linea cellulare di carcinoma endometriale umano (COLO 684) OTR è stato dimostrato mediante immunofluorescenza e RT-PCR ed è stato osservato che il trattamento con OT ha inibito significativamente la proliferazione cellulare. L'aggiunta di un inibitore della PKA al terreno di coltura ha abolito l'effetto antiproliferativo di OT, suggerendo che cAMP tramite PKA potrebbe essere il mediatore intracellulare dell'effetto OT, come precedentemente osservato nei tumori mammari e neurali.
- In conclusione, questo studio presenta prove dell'espressione di OTR nei carcinomi endometriali umani e di un effetto antiproliferativo di OT sulle cellule di cancro endometriale umano in vitro. Si suggerisce inoltre che OT e OTR possano essere coinvolti nella regolazione delle cellule endometriali, non solo in condizioni fisiologiche ma anche in un contesto neoplastico.

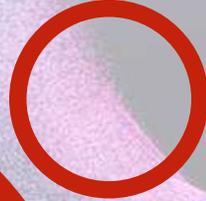




# OSSITOCINA E TUMORE DEL COLON-RETTO



- Nuovi studi suggeriscono che il sistema nervoso è coinvolto nello sviluppo del tumore nella periferia, tuttavia, il ruolo del sistema nervoso centrale rimane in gran parte sconosciuto. Qui, combinando approcci genetici, chemio-genetici, farmacologici ed elettrofisiologici, si mostra che i neuroni ipotalamici produttori di OT modulano la progressione del cancro associato alla colite (CAC) nei topi (Pan et al., 2021). L'esaurimento o l'attivazione dei neuroni OT potrebbe aumentare o sopprimere la progressione del CAC.



- È importante notare che il trattamento cerebrale con celastrolo, un triterpenoide pentaciclico, eccita i neuroni OT e inibisce la progressione del CAC, e questo effetto antitumorale è stato significativamente attenuato nei topi con lesioni dei neuroni OT.



- Nel complesso, questi risultati dimostrano che i neuroni OT ipotalamici regolano la progressione del CAC modulando l'attività neuronale. La stimolazione dei neuroni OT mediante sostanze chimiche, ad esempio celastrolo, potrebbe essere una nuova strategia per il trattamento del cancro coloretale.

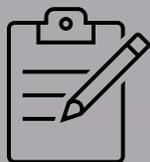
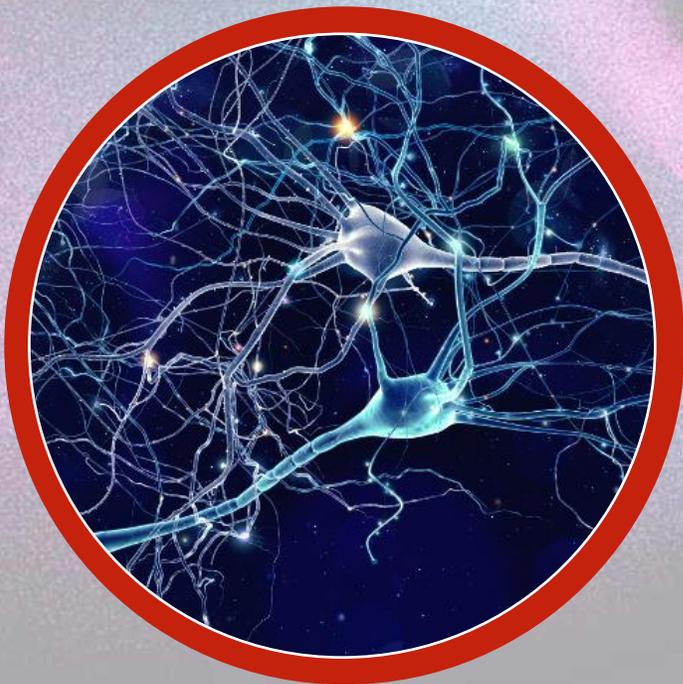


- Il celastrolo è un estratto vegetale che può agire sull'ipotalamo ed ha stimolato i neuroni OT e ridotto la crescita del tumore. In particolare, il composto ha funzionato agendo sul Sistema Nervoso Enterico (SNE) che trasmette messaggi all'intestino. Questi risultati preliminari suggeriscono che i neuroni ipotalamici produttori di OT possono influenzare la progressione del cancro coloretale nei topi regolando l'attività del SNE. La modulazione dell'attività dei neuroni produttori di OT potrebbe quindi essere una potenziale strada per il trattamento.





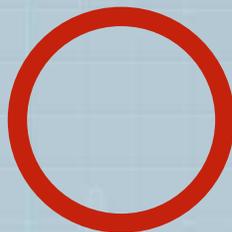
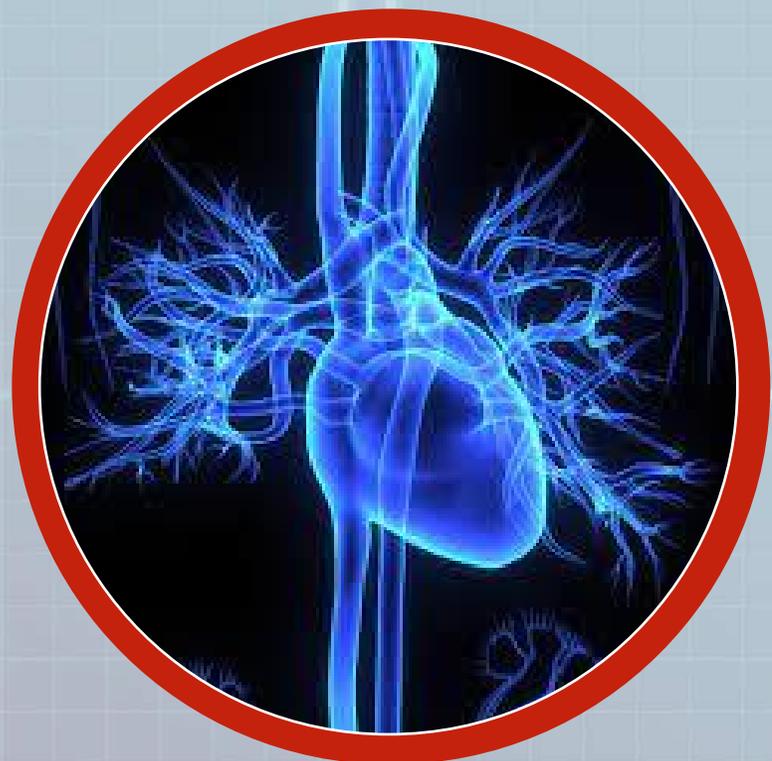
# OSSITOCINA E TUMORI DI ORIGINE NERVOSA



- Studio della presenza di recettori dell'ossitocina (OTR) nei neuroblastomi e glioblastomi primari umani e nelle linee cellulari correlate (Cassoni et al., 1998).
- Gli OTR sono stati dimostrati sia a livello di mRNA (utilizzando una procedura RT-PCR) sia a livello proteico (utilizzando procedure immunocitochimiche e di immunofluorescenza). Per chiarire se l'OT esercita un effetto biologico su questi tumori tramite OTR, è stata osservata la proliferazione cellulare in 3 linee cellulari di neuroblastoma umano (SK-N-SH, SH-SY5Y, IMR-32) e una linea cellulare di astrocitoma anaplastico umano (MOG-G-UVW) trattate con OT da 1 nM a 100 nM per 48 e 96 ore. A queste dosi, è stato dimostrato un effetto inibitorio dose-dipendente sulla proliferazione cellulare. L'inibizione è stata accompagnata da un significativo aumento della concentrazione intracellulare di cAMP, che è stato in precedenza segnalato come il mediatore intracellulare non convenzionale dell'effetto antiproliferativo dell'OT nelle linee cellulari del carcinoma mammario.
- Dunque specifici OTR sono presenti nei neuroblastomi e nei glioblastomi umani. Attraverso questi recettori, l'OT potrebbe inibire la proliferazione cellulare e modulare la crescita tumorale.



# OSSITOCINA E RIGENERAZIONE CARDIACA

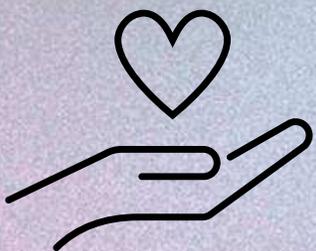


Recenti studi hanno indicato che l'OT potrebbe essere in grado di riparare i danni derivati da un infarto (Aguirre et al., 2022a,b).

I ricercatori hanno applicato l'OT ad un tessuto cardiaco danneggiato, sia nel pesce zebra che in colture cellulari umane: l'OT è stata in grado di far sì che le cellule staminali all'esterno del cuore si spostassero più in profondità nell'organo e si trasformassero in cardiomiociti.



# CONCLUSIONI



**L'ossitocina offre nuove prospettive in campo neoplastico, creando ponti verso nuove terapie, nuovi potenziali farmaci e nuovi trattamenti; molteplici studi condotti in vitro e in vivo suggeriscono un ventaglio di potenzialità dell'ormone di fronte a svariate patologie di natura tumorale.**



# RIASSUNTO ESTESO

Il corrente studio ha lo scopo di mettere in luce la correlazione tra il neuropeptide ossitocina (OT) e la patologia neoplastica, andando a vagliare l'ampio ventaglio di singole neoplasie sia nella donna che nell'uomo. In codesta trattazione sono state prese in esame le neoplasie mammaria, ovarica, endometriale per quanto concerne la donna; la neoplasia specifica del colon-retto per l'uomo ed infine la neoplasia a carico nervoso.

Attraverso molteplici studi è stato suggerito di considerare l'OT come regolatore di crescita tumorale, mediante il legame con il suo recettore transmembrana (OTR), accoppiato a proteine G.

**Metodi.** Sono state impiegate varie tecniche laboratoristiche e sperimentazioni in vitro e in vivo specifiche per la patologia trattata, quali la RP-PCR, ISH, somministrazioni dosate di OT e analoghi, immunocitochimica, e si è monitorato il decorso dell'ormone stesso. Nelle varie patologie è stato portato avanti, dunque, un protocollo di laboratorio, sottoponendo i campioni anche degli stessi pazienti a numerosi test e saggi. Nel caso dei tumori al colon-retto è stato monitorato un trattamento cerebrale con celastrolo, una sostanza pentaciclica, capace di stimolare i neuroni ossitocinergici.

**Risultati.** In molteplici neoplasie il risultato osservato è stato una riduzione del volume tumorale, sia nei modelli sperimentali che in pazienti umani, una riduzione della risposta infiammatoria nel sito patologico, con una generale inibizione della proliferazione cellulare maligna e una modulazione della crescita tumorale.

**Conclusioni.** Questi studi aprono la strada a nuove potenzialità terapeutiche mediante OT in campo tumorale e permettono di avviare nuove sperimentazioni che si auspica possano cambiare le sorti dei pazienti.

Inoltre, uno studio recente ha fornito evidenze, tramite studi su pesce zebra e colture cellulari umane, circa le capacità dell'OT di riparare i danni a carico del miocardio in soggetti infartuati, osservando la capacità dell'OT di stimolare la differenziazione delle cellule staminali in cardiomiociti.



# BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Aguirre A., Wasserman A. H., Huang A. R. 2022a. Oxytocin promotes epicardial cell activation and heart regeneration after cardiac injury, *Front. Cell Dev. Biol.*, 10. DOI: 10.3389 <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles>
- Cassoni P., Fulcheri E., Carcangiu M., Stella A., Deaglio S., Bussolati G. 2000. Oxytocin receptors in human adenocarcinomas of the endometrium: presence and biological significance, *J. Pathol.*, 190, 470-477. DOI: 10.1002 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10699997/>
- Cassoni P., Sapino A., Stella A., Fortunati N., Bussolati G. 1998. Presence and significance of oxytocin receptors in human neuroblastomas and glial tumors, *Int. J. Canc.*, 77, 695-700. DOI: 10.1002 [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19980831\)77:5%3C695::AID-IJC6%3E3.0.CO;2-Q](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1097-0215(19980831)77:5%3C695::AID-IJC6%3E3.0.CO;2-Q)
- Cuneo M., Szeto A., Schrepf A. et al. 2019. Oxytocin in the tumor microenvironment is associated with lower inflammation and longer survival in advanced epithelial ovarian cancer patients. *Psychoneuroendocrinology*, 106, 244-251. DOI: 10.1016 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306453019300642?via%3Dihub>
- Khori V., Alizadeh A., Khalighfar S., Heidarian Y., Khodayari H. 2018. Oxytocin effects on the inhibition of the NF- $\kappa$ B/miR195 pathway in mice breast cancer. *Peptides*, 107, 54-60. DOI: 10.1016 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0196978118301396?via%3Dihub>
- Pan S., Yin K., Tang Z., et al. 2021. Stimulation of hypothalamic oxytocin neurons suppresses colorectal cancer progression in mice. *Cell. Biol. Neurosci.* DOI: 10.7554 <https://elifesciences.org/articles/67535#abstract>
- Aguirre A. et al. 2022b. Le mille facce dell'ossitocina, l'ormone dell'amore, *Focus Salute e Ricerca*, <https://www.startmag.it/sanita/le-mille-facce-ossitocina-ormone-amore/>
- Cochran D. et al. 2013. Farmacologia - Come agisce Ossitocina? Pharmamedix, <https://www.pharmamedix.com/principiovoce.php?pa=Ossitocina&vo=Farmacologia>
- Katzung B. 1992. Farmacologia - Come agisce Ossitocina? Pharmamedix, <https://www.pharmamedix.com/principiovoce.php?pa=Ossitocina&vo=Farmacologia>
- Macdonald K. 2010. Farmacologia - Come agisce Ossitocina? Pharmamedix, <https://www.pharmamedix.com/principiovoce.php?pa=Ossitocina&vo=Farmacologia>
- Shahrestani S. et al. 2013. Farmacologia - Come agisce Ossitocina, Pharmamedix, <https://www.pharmamedix.com/principiovoce.php?pa=Ossitocina&vo=Farmacologia>



**GRAZIE PER L'ATTENZIONE!**