



Università politecnica delle marche
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze Biologiche

Titolo in italiano

Duplicazione e fusione genica: i motori della tumorigenesi

Titolo in inglese

Gene duplication and gene fusion: the drivers of tumourigenesis

Tesi di laurea di:
Eleonora Carletti

Docente referente:
Chiar.mo Prof. Marco Barucca

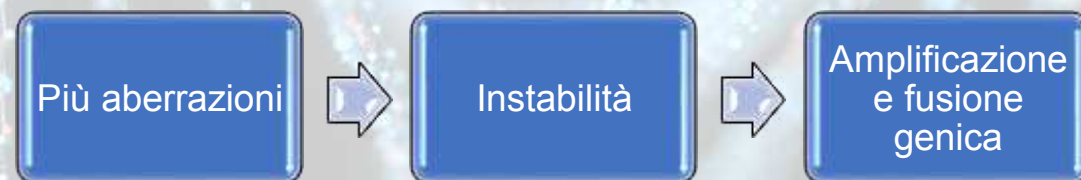
Sessione estiva
Anno accademico 2022/2023

Introduzione al cancro e tumorigenesi

Malattia caratterizzata dalla non controllata e anomala divisione di cellule somatiche clonali in un tessuto che porta allo sviluppo di masse dette tumori.

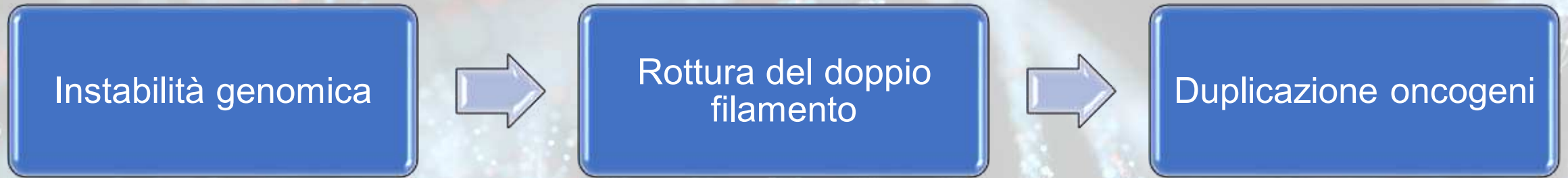
- Trasformazione neoplastica
- Patologia genica = alla base ci sono le mutazioni che riguardano le cellule somatiche

Comparsa di tumori in un organismo. L'avvio della tumorigenesi avviene in seguito a più aberrazioni.



Duplicazione genica nel cancro

Mutazione genica che consiste nel raddoppiamento di un tratto del cromosoma portando all'amplificazione di geni che possono aumentare la proliferazione e sopravvivenza delle cellule tumorali rispetto alle cellule normali wild-type. → Sovraespressione geni oncogeni.



I meccanismi principali per la duplicazione degli oncogeni sono:

- La delezione intracromosomica e la duplicazione in tandem

Sparsi casualmente nel genoma (**HSR**)

Piccoli frammenti di DNA extracromosomico circolarizzato (**ecDNA**)

↓
Circa il 30% sono coppie di corpi cromatinici detti DM, doppi minuti.



Cromotrips → fenomeno genico che precede la duplicazione e che prevede una rottura massiccia e catastrofica del DNA seguita da un riarrangiamento casuale di quest'ultimo.

- Guida la formazione di ecDNA, DM e di geni di fusione durante tumorigenesi e l'acquisizione della tolleranza ai chemioterapici.
- Meccanismi del suo innesco sconosciuti ma il modello più interessante è quello dei MICRONUCLEI.

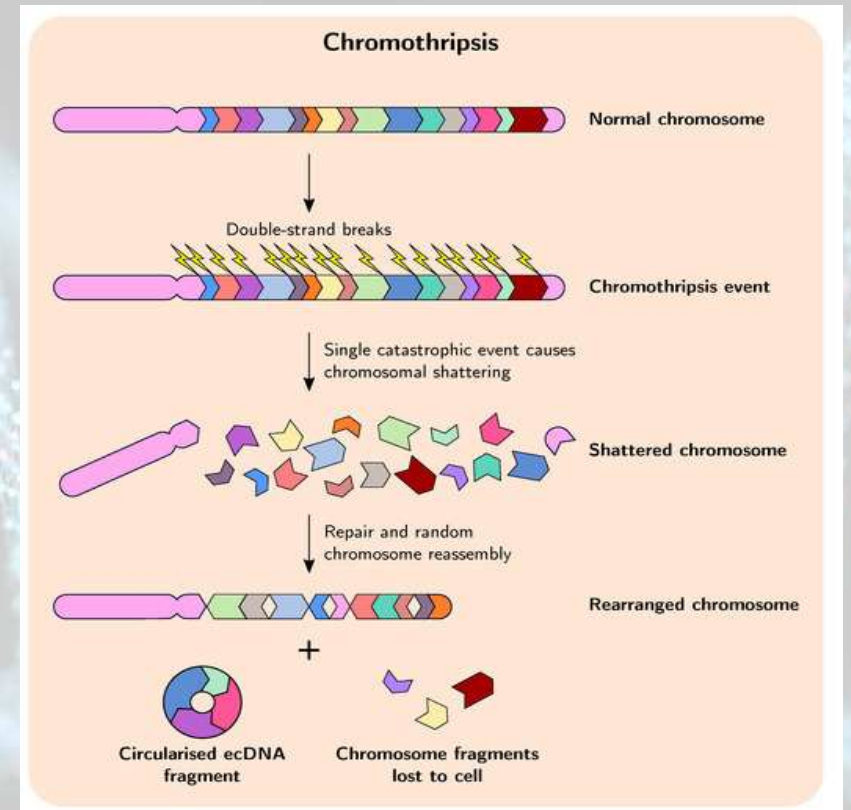


Fig.1: Processo di cromotrips nel cancro. Fonte: Glenfield, C.; Innan, H. Gene Duplication and Gene Fusion are Important Drivers of Tumorigenesis during Cancer Evolution. Genes 2021, 12, 1376.

Cambiamenti della ploidia

Amplificazione genica nel cancro

Tetraploidia/duplicazione dell'intero genoma: la cellula duplica il dna ma non avviene la divisione (**WGD**).

Aneuploidia: uno o più cromosomi vengono persi o aggiunti, duplicazione cromosoma (**WCD**).

Derivano da un'errata o non corretta divisione cellulare e ad una mancata attivazione della citodieresi dovuta:

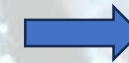
- Ostruzione fisica → fibre di amianto o di cromatina
- Mitosi ritardata che dà luogo ad uno slittamento mitotico per cui l' anafase non avviene → tetraploidizzazione
- Mutazioni geni regolatori della citocinesi

- La WDG si verifica precocemente causando l'oncogenicità delle cellule e ulteriore instabilità cromosomica CIN
- Perdita ampie regioni dei nuovi cromosomi → esempio; regioni braccio 4q tumore colon retto
- Cromosomi più soggetti a WCD: 7,12, 20

Frequenza delle variazioni strutturali

- Tra il 68% e l'80% dei tumori solidi umani sono aneuploidi

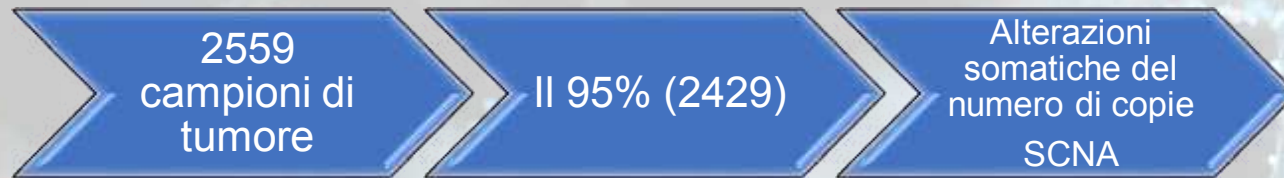
FREQUENZA DELLA CROMOTRIPSI



Alcuni ambienti tumorali sono più favorevoli alla cromotripsis.

Grafico ottenuto dallo studio di analisi pan-cancro dei genomi interi (PCAWG).

In uno studio parallelo del PCAWG sulla variazione strutturale



Variabilità frequenza e distribuzione di questi SCNA.

→ > tumore ovarico

- La duplicazione di solito contribuisce alla tumorigenesi mentre la duplicazione in tandem può portare anche alla disattivazione di soppressore di tumori.
- SCNA più comune è la delezione seguita da duplicazione in tandem

Frequenza della WGD

- Una delle aberrazioni genomiche più comuni associata ad un aumento di livelli di SCNA
- Sequenziamento 9692 tumori dove il 30% aveva una prevalenza di WGD
- Tra i tumori metastatici il tasso aumenta al 56%
- Il gene TP53 mutante è strettamente associato alla WGD (>1,8 volte) e alla cromotripsia (> 1,54 volte)

Le fusioni geniche



Processo che comporta la fusione di geni appartenenti allo stesso cromosoma o di cromosomi differenti attraverso eventi di:

- Inversione cromosomica → nei carcinomi papillari della tiroidei e nei carcinomi tiroidei; fusione dei geni rispettivamente **RET- CCDC6** e **APAK9-BRAF**
- Duplicazione in tandem → negli astrocitomi pilocitici; fusione di **KIAA1549-BRAF**
- Delezione interstiziale di segmenti cromosomici → nei tumori alla prostata; fusione di **TMPRSS2- ERG**
- Traslocazione → cromosoma Philadelphia e nei Linfomi di Burkitt

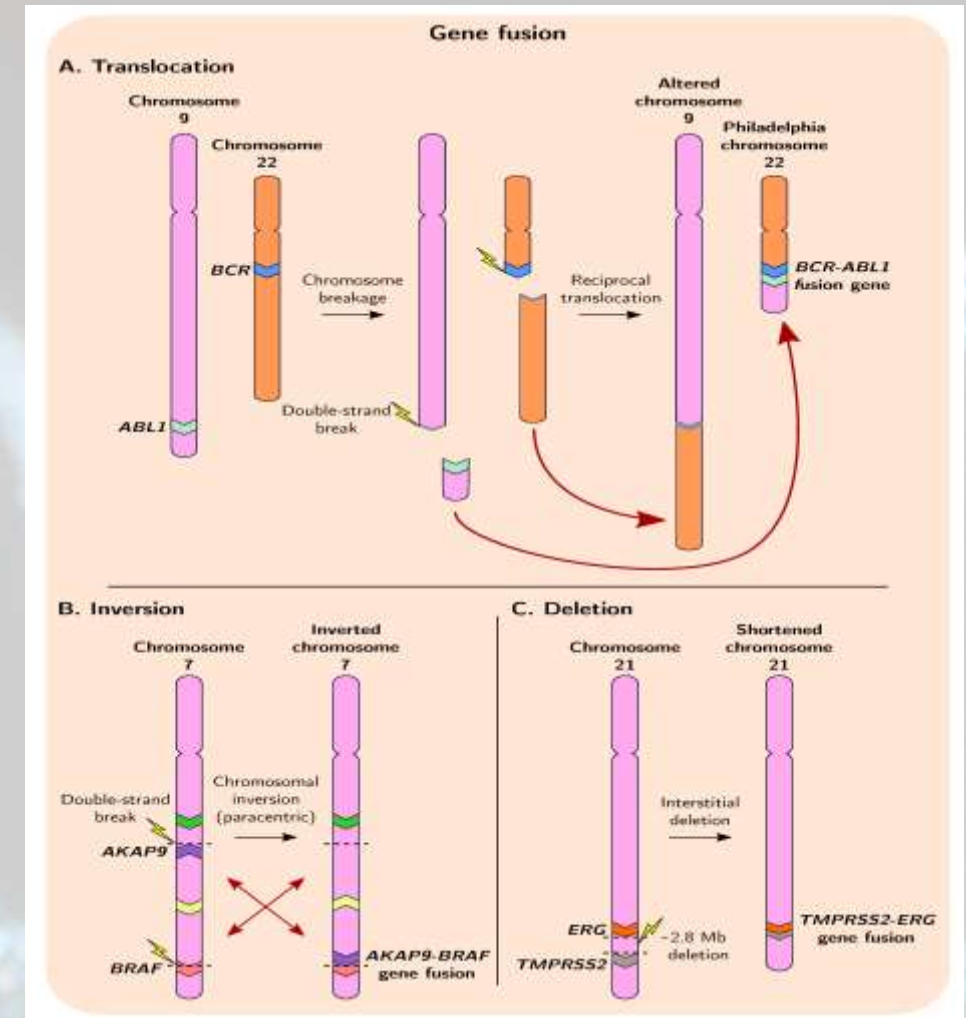
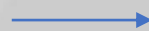


Fig.2:Panoramica fusioni geniche nel cancro. Fonte: Glenfield, C.; Innan, H. Gene Duplication and Gene Fusion are Important Drivers of Tumorigenesis during Cancer Evolution. *Genes* 2021, 12, 1376.

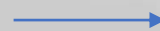
Tipo di cancro	Gene di fusione
Leucemia linfoblastica acuta	BCR-ABL1 , ETV6-RUNXI , TCF3-PBXI
Leucemia mieloide cronica	BCR-ABL1
Carcinoma mammario	TRMT11-GRK2 , CCNH-C5orf30 , FUSION NOTCH , FUSIONI MAST , ETV6-NTRK3
Carcinoma prostatico	TMPRSS2-ERG , TMPRSS2-ETV1 , TMPRSS2-ETV4 , MAN2A1-FER
Linfoma follicolare	BCL2-IGH
Linfoma di Burkitt	IGH-MYC , IGK-MYC , IGL-MYC
Carcinoma tiroideo	APAK9-BRAF , RET-CCDC6 , PAX8-PPARG , TFG-NTRK1 , TMP3-NTRK1

Dal sequenziamento high-throughput.

In 675 linee tumorali



Individuati RNA aberranti



Evidenziando 2200 eventi di fusione genica



Tuttavia alcuni partner di queste coppie erano già stati osservati precedentemente con altri partner comportando altre fusioni geniche

Dal sequenziamento del trascrittoma dell'RNA (RNA-seq).

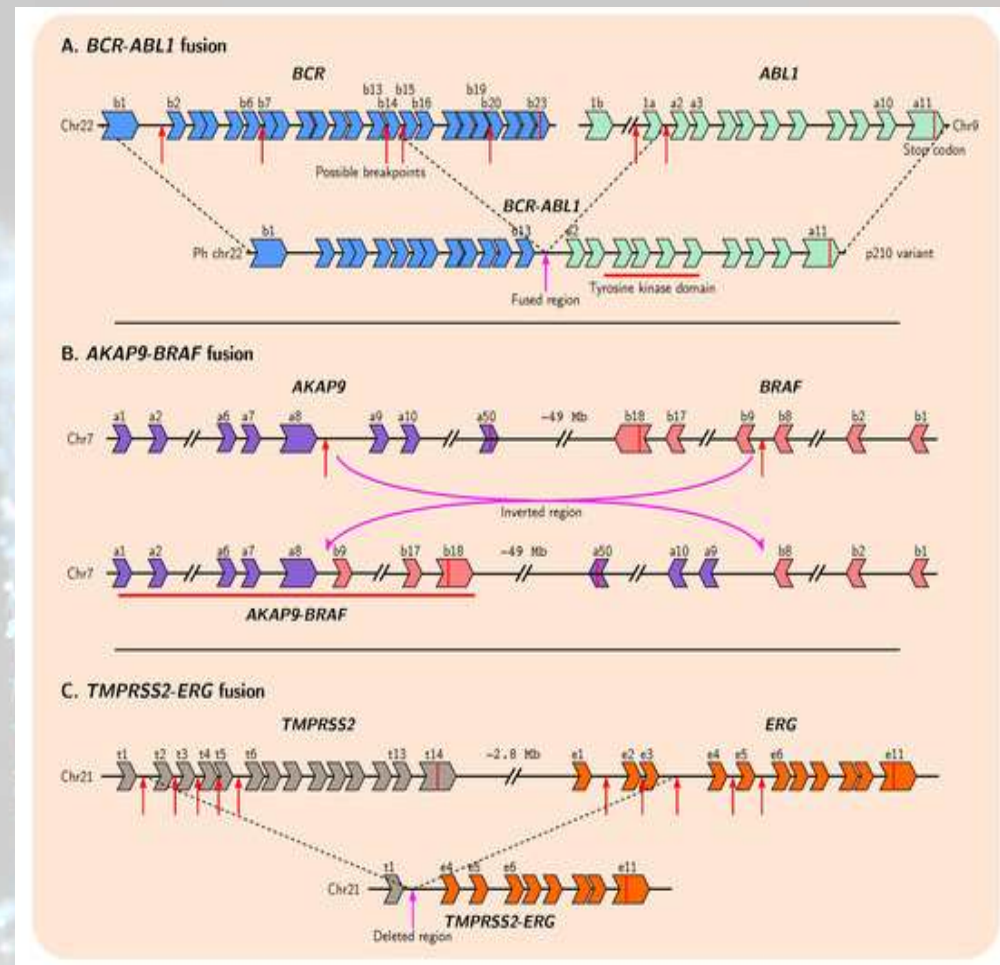
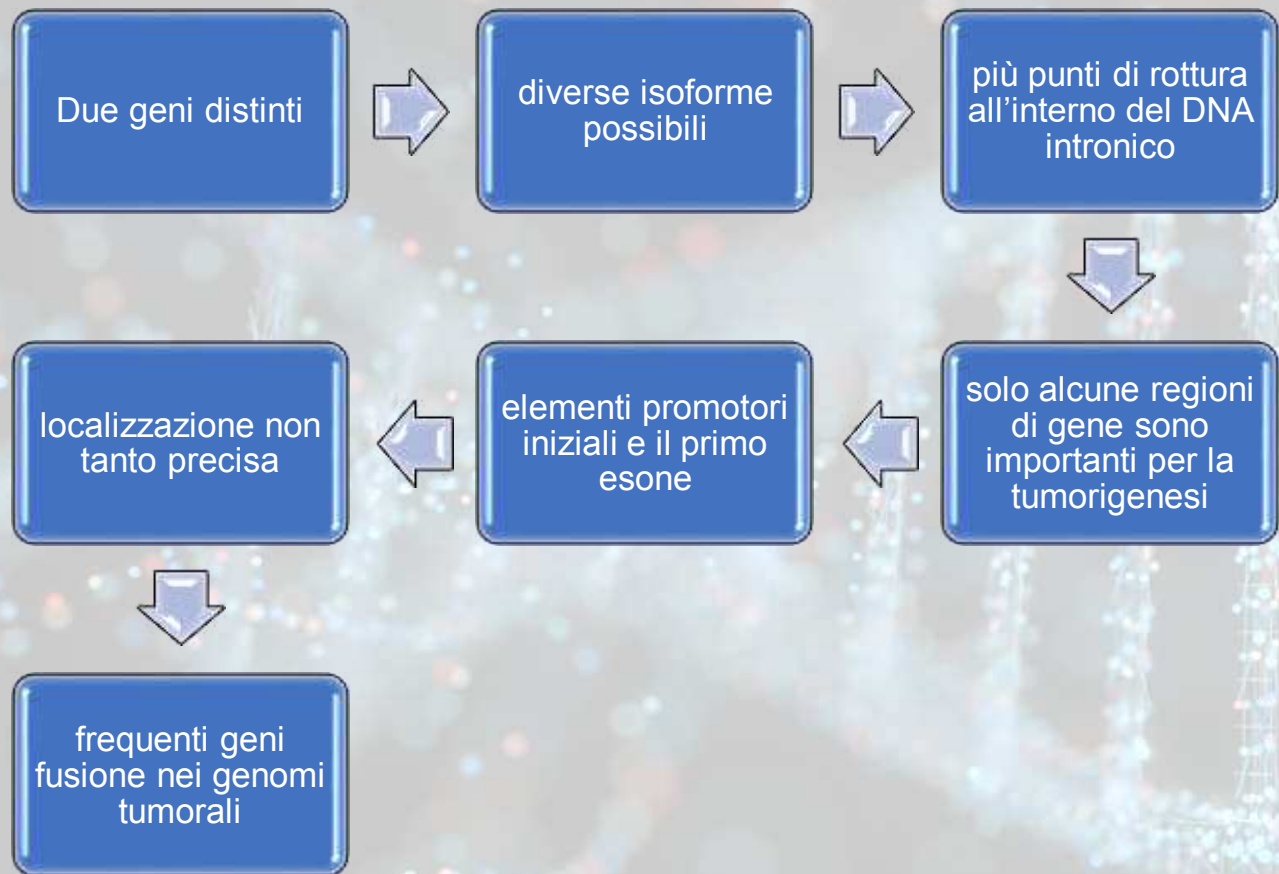


Fig. 3 Disposizione di esoni in fusioni geniche.
 Fonte:Glenfield, C.; Innan, H. Gene Duplication and Gene Fusion are Important Drivers of Tumorigenesis during Cancer Evolution. Genes 2021, 12, 1376.

La fusione dei geni rappresenta dunque un evento che porta l'avvio della tumorigenesi e contribuisce inoltre al carico tumorale e alla morbidità.

Nel carcinoma
mammario

Produzione RNA circolari (circRNA) che promuovono la trasformazione cellulare e la crescita tumorali; **EML4-ALK1 EWSR1-FLI1**.

Tumori in cui si riscontrano comunemente geni di fusione:

- **Cancro alla prostata** e altri tumori dei genitali maschili, tumori ossei, tumori ai tessuti molli e del sistema endocrino, i carcinomi epiteliali, neoplasie ematologiche e **tumori della mammella**.

Fusioni MAST
e geni NOTCH

Strumenti per il rilevamento dei geni di fusione dai i dati RNA-seq e di sequenziamento ad alta velocità HTS → algoritmi bioinformatici

- deFuse, FusionCatcher, PRADA, Fusion Hunter, SOAPfuse, JAFFA, **STAR-Fusion** e **ARRIBA**.

Rilevanza Terapeutica dei geni di fusione

Proteine e trascritti genici sono utilizzati come marcatori diagnostici e come bersaglio terapeutico nel trattamento del cancro.

- **IMATINIB (GLEEVEC)** per le fusioni di BCR-ABL nelle neoplasie ematologiche
- **ILOROTRECTINIB E ENTRECTINIB** colpiscono fusioni geniche contenenti geni RTK neurotrofici (NTRK) in cancro rari e in pochi cancro comuni → Ritardano lo sviluppo del cancro.

Riassunto

Nelle cellule tumorali alcune delle principali caratteristiche sono l'instabilità e il riarrangiamento cromosomico e di conseguenza eventi come la duplicazione e la fusione genica sono alla base dello sviluppo di neoplasie. Geni duplicati e fusi possono, in alcuni casi, avviare la formazione del tumore e possono persino trasformare delle cellule normali in cellule anomale. In generale possiamo affermare che queste modifiche geniche sono dei meccanismi non controllati e favoriscono dunque la tumorigenesi nell'uomo. Lo studio di questi eventi ci permette di conoscere meglio i vari meccanismi dell'evoluzione del cancro e soprattutto ci consente di sviluppare cure terapeutiche sempre più efficaci.

Vengono trattati nello specifico:

- La duplicazione genica, dell'intero genoma e dell'intero cromosoma soffermandoci anche sulla CROMOTRIPSI.
- Le frequenza delle variazioni strutturali
- Le fusioni geniche
- Gli strumenti per il rilevamento di geni di fusione e la loro rilevanza terapeutica

Conclusioni

La duplicazione e la fusione genica sono eventi di fondamentale importanza nell'evoluzione del cancro. Queste modifiche a livello genico, insieme a grandi eventi macroevolutivi, come la cromotripsi e la duplicazione dell'intero genoma e di interi cromosomi, portano a delle alterazioni genomiche vantaggiose per la tumorigenesi.

I loro effetti e i loro meccanismi ci devono aiutare a comprendere meglio l'evoluzione del cancro per poter sviluppare delle cure terapeutiche sempre più efficaci.

Bibliografia

- Glenfield, C.; Innan, H. Gene Duplication and Gene Fusion are Important Drivers of Tumorigenesis during Cancer Evolution. *Genes* 2021, 12, 1376.
- Peter J. Russel, a cura di Carla Cicchini e Alessandra Marchetti, *Genetica Un approccio molecolare*, 2019, Quinta Edizione.