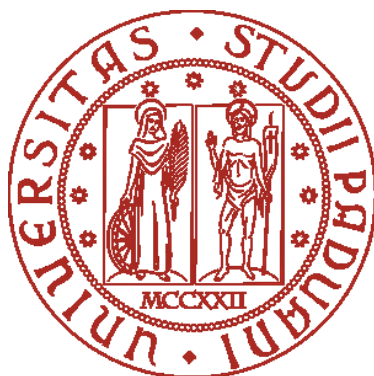


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**ANALISI BIOINFORMATICA DEI PROCESSI
CELLULARI ALLA BASE DELLA MELANOGENESI**

Tutor: Prof.ssa Marta Giacomello

Dipartimento di Biologia

Laureanda: Lisa Marola

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

	Pagina
1. Abstract	3
2. Introduzione	4
3. Risultati e metodi	8
4. Conclusioni	23
5. Bibliografia	24

1. ABSTRACT

La melanogenesi, ovvero la sintesi di melanina ad opera dei melanociti, determina la pigmentazione della pelle. La melanogenesi è un processo biochimico molto studiato in quanto associato a numerose patologie umane, quali ad esempio la sindrome di Bloom, l'anemia di Fanconi, lo Xeroderma Pigmentoso, la sindrome di Waardenburg, la discheratosi congenita e l'albinismo oculocutaneo. Questi studi hanno come fine una migliore comprensione delle vie di segnalazione intracellulare alla base della pigmentazione della pelle e prendono in considerazione sia variazioni naturali che fenotipi anomali di quest'ultima. La melanogenesi è un processo che deriva dall'interazione di molti geni che svolgono sia funzioni intrinseche che estrinseche delle cellule della pelle^[1].

In questa tesi di laurea, ho preso in considerazione il lavoro di Laura L. Baxter, Alba E. Watkins-Chow, William J. Pavan e Stacie K. Loftus, "*A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology*".

Gli studiosi hanno preparato un elenco curato di geni coinvolti nei fenotipi della pigmentazione per svolgere un'analisi bioinformatica di Gene Ontology Enrichment. L'elenco contenente i geni oggetto di analisi è stato ottenuto in seguito ad un'accurata consultazione di diversi database: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM, <https://www.omim.org>), MGI (<https://www.informatics.jax.org>), ZFIN (<https://zfin.org>) e il Gene Ontology Consortium (GO, <https://www.geneontology.org>)^[1].

L'analisi dei geni presenti nell'elenco è stata invece svolta utilizzando database pubblicamente disponibili come: ShinyGO (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>), Pathway Commons (<https://www.pathwaycommons.org/>), PANTHER (<https://pantherdb.org/>) e SEEK (<https://seek.princeton.edu/seek/>).

2. INTRODUZIONE

2.1 I melanociti

La pelle è composta da unità epidermiche, ovvero un melanocita circondato da un numero variabile di cheratinociti, responsabili della produzione e distribuzione della melanina attraverso un processo denominato melanogenesi. La pigmentazione non è responsabile solo del colore della pelle, dei capelli e degli occhi ma ha anche un ruolo fondamentale nella fotoprotezione dai raggi ultravioletti. Le melanine sono anche potenti chelanti di cationi e radicali liberi^[3].

La melanina è un pigmento contenuto all'interno dei melanosomi, granuli citoplasmatici presenti nei melanociti. Questi granuli sono responsabili della sintesi del pigmento e, una volta maturi, migrano lungo i prolungamenti cellulari dei melanociti, fino ad arrivare ai cheratinociti^[2]. I melanociti hanno origine nei melanoblasti della cresta neurale, e sono presenti nello strato basale dell'epidermide (lo strato esterno della cute) e nei follicoli piliferi.

Nell'epidermide, ogni melanocita interagisce attraverso i dendriti con 30-40 cheratinociti, questo permette il trasferimento dei melanosomi maturi.

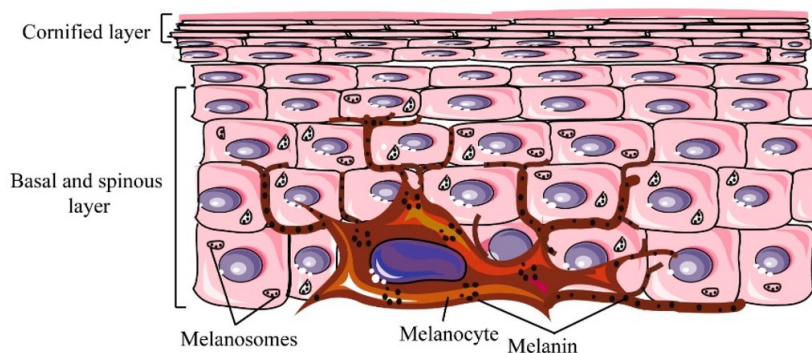


Figura 1

Il melanocita dendritico si trova nello strato basale della pelle e produce melanina. I pigmenti di melanina nei melanosomi vengono trasferiti ai cheratinociti^[2].

2.2 Diversi fenotipi della pigmentazione

Quello che differenzia la pigmentazione nei diversi gruppi etnici non è il numero di melanociti ma bensì:

- la quantità e il tipo di melanina che viene trasferita ai cheratinociti: i due principali tipi di melanina sono l'eumelanina e la feomelanina. L'eumelanina è presente soprattutto negli individui con pelle e capelli scuri, mentre la feomelanina si trova negli individui con capelli e pelle più chiari.

- la dimensione e il numero di melanosomi:
gli individui con pelle scura hanno un numero maggiore di melanosomi, ricchi di eumelanina. Inoltre quest'ultimi sono più grandi e di forma allungata.

La pigmentazione costitutiva è determinata geneticamente ma può essere modificata da diversi fattori intrinseci (es. infiammazione) ed estrinseci (es. raggi UV e farmaci). Questi fattori influenzano i diversi percorsi della melanogenesi.

2.3 Il processo della melanogenesi

La pigmentazione è dovuta a:

1. produzione dei melanosomi all'interno dei melanociti
2. sintesi della melanina
3. trasferimento dei melanosomi ai cheratinociti
4. degradazione dei melanosomi

La sintesi della melanina avviene nei melanosomi. Le prime due reazioni del processo di biosintesi sono catalizzate dall'enzima tirosinasi e sono:

- l'idrossilazione dell'L-tirosina a L-3,4-diidrossifenilalanina (L-DOPA)
- l'ossidazione di L-DOPA a DOPAchinone

Le successive reazioni sono differenti nella sintesi di eumelanine rispetto alla sintesi di feomelanine. Queste reazioni procedono spontaneamente.

Nella sintesi di eumelanine il DOPAchinone ciclizza formando un anello indolico che a sua volta si converte in DOPAcromo. Quest'ultimo perde un gruppo carbossilico producendo il 5,6-diidrossindolo (DHI), che ossida rapidamente a indolo-5,6-chinone. La polimerizzazione di quest'ultimo produce un polimero omogeneo di pigmento.

Nella sintesi di feomelanine invece, dal DOPAchinone, in presenza di gruppi sulfidrilici, si forma cisteinil-DOPA. Questo composto ciclizza in un anello non indolico, che polimerizza in feomelanina.

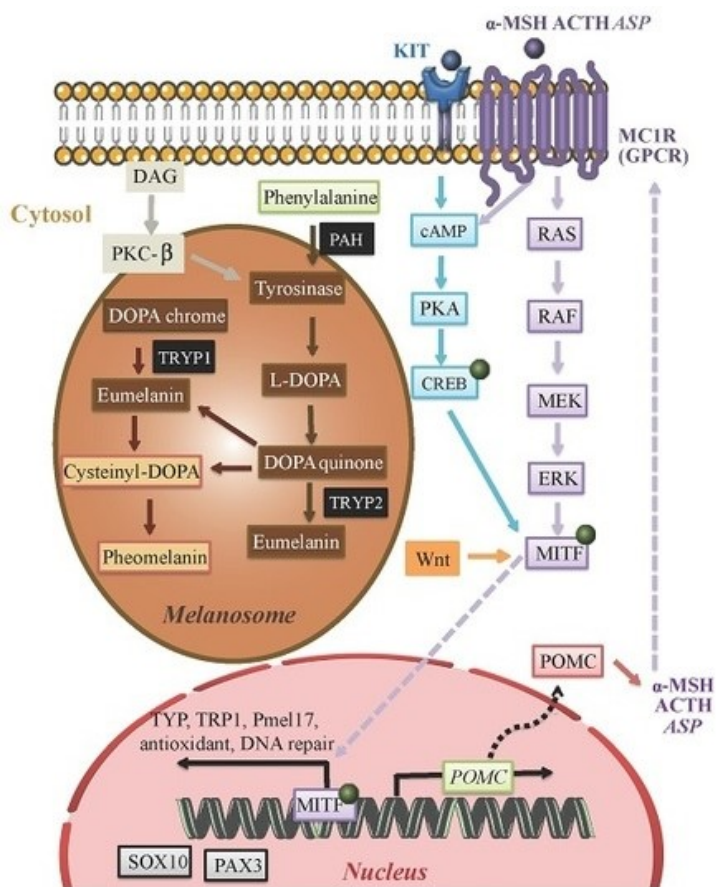


Figura 2

Vie della biosintesi delle melanine^[3].

Durante il processo di sintesi della melanina, i melanosomi vanno incontro a maturazione, si spostano dalla regione perinucleare del melanocita ai dendriti. Il trasporto avviene lungo i microtubuli con l'ausilio di diverse proteine. Successivamente vengono trasferiti ai cheratinociti circostanti^[3].

Una volta giunti ai cheratinociti, i melanosomi vengono degradati e la melanina distribuita alla cute e ai capelli dove determinerà il colore^[3].

2.4 Studio della melanogenesi

La melanogenesi è un processo complesso: che se alterato può portare a difetti della pigmentazione, che vengono di solito classificati come ipo o iperpigmentazione. Questi difetti possono manifestarsi con o senza alterazioni del numero di melanociti^[3] e possono essere legati a patologie. L'identificazione e comprensione dei meccanismi molecolari alla base di questi fenotipi può contribuire ad una migliore comprensione del processo biochimico, ma anche allo sviluppo di potenziali agenti

terapeutici e misure fotoprotettive atte a ridurre il fotoinvecchiamento e la fotocarcinogenesi^[3].

Per comprendere meglio i processi funzionali alla base della melanogenesi è possibile effettuare una analisi dei pathway nei quali sono implicati i geni associati ai diversi fenotipi di pigmentazione. Questa analisi è possibile grazie all'utilizzo di database bioinformatici. Attraverso una lista di 650 geni che influenzano la pigmentazione della pelle, è possibile individuare i geni associati a ipo e iperpigmentazione.

Gli autori dell'articolo che ho analizzato hanno ottenuto due liste distinte: una contenente i geni che sono stati associati ad una ridotta produzione di pigmento ed un'altra con quelli associati ad una maggiore produzione. Queste due liste di geni sono alla base della ricerca effettuata nei diversi database.

3. RISULTATI E METODI

3.1 *A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology*

La lista di geni presentata nell'articolo sopra citato include 650 geni il cui fenotipo è associato alla pigmentazione in *Homo Sapiens*, topo e zebrafish.

Sebbene l'elenco sia stato ricavato in base a diversi fenotipi della pigmentazione, si può notare che l'interruzione dei geni associati ai pigmenti può avere effetti pleiotropici. Pertanto alterazioni genetiche alla base di diversi fenotipi della pigmentazione possono essere associate anche ad alterazioni della fisiologia non solo dei melanociti, ma anche di altri tipi di cellule^[1].

3.2 Iperpigmentazione e ipopigmentazione

Per prima cosa, gli autori hanno stilato un elenco dei geni che in *Homo Sapiens* sono associati ad iperpigmentazione, ed un secondo elenco con quelli associati ad ipopigmentazione.

IPERPIGMENTAZIONE

UMANO	TOPO	ZEBRAFISH
ABCB6	ABCB6	abcb6a
ADAM10	Adam10	adam10a
ADAR	Adar	adar
ATM	Atm	atm
BLM	Blm	blm
BRCA2	Brca2	brca2
BRIP1	Brip1	brip1
CTC1	Ctc1	ctc1
CYP11A1	Cyp11a1	cyp11a1
DKC1	Dkc1	dkc1
ESCO2	Esco2	esco2
FANCA	Fanca	fanca
FANCC	Fancc	fancc
FANCD2	Fancd2	fancd2
FANCE	Fance	fance
FANCI	Fanci	fanci
FGFR3	Fgfr3	fgfr3
FMR1	Fmr1	fmr1
GPNMB	Gpnmb	gpnmb
HRAS	Hras	hrasa
IDS	Ids	ids
IDUA	Idua	idua
IKBKG	ikbkg	ikbkg
KIT	Kit	kita
KITLG	Kitl	kitlga
KRT5	Krt5	krt5
MC2R	Mc2r	mc2r
MCM4	Mcm4	mcm4
MLH1	Mlh1	mlh1
MRAP	Mrap	mrapp
MSH2	Msh2	msh2
MSH6	Msh6	msh6
NNT	Nnt	nnt
NR0B1	Nr0b1	nr0b1
PALB2	Palb2	palb2

PCNT	Pcnt	pcnt
PMS2	Pms2	pms2
POFUT1	Pofut1	pofut1
POGLUT1	Poglut1	poglut1
POLA1	Pola1	pola1
PRKAR1A	Prkar1a	prkar1aa
PSENN	Psenen	pseenn
PTEN	Pten	ptena
RIT1	Rit1	rit1
SASH1	Sash1	sash1a
SGPL1	Sgpl1	sgpl1
SHOC2	Shoc2	shoc2
SLC29A3	Slc29a3	slc29a3
SMARCAL1	Smarcal1	smarcal1
SNAI2	Snai2	snai2
ST3GAL5	St3gal5	st3gal5
STAR	Star	star
STK11	Stk11	stk11
TERT	Tert	tert
TINF2	Tinf2	tinf2
TP63	Trp63	tp63
WRAP53	Wrap53	wrap53
ZMPSTE24	Zmpste24	zmpste24

IPOPIGMENTAZIONE

UMANO	TOPO	ZEBRAFISH
ABCB6	ABCB6	abcb6a
ADAR	Adar	adar
AP3B1	Ap3b1	ap3b1a
AP3D1	Ap3d1	ap3d1
ATP7A	Atp7a	atp7a
BLM	Blm	blm
BLOC1S3	Bloc1s3	bloc1s3
BLOC1S5	Bloc1s5	bloc1s5
BLOC1S6	Bloc1s6	bloc1s6
CBS	Cbs	cbsa
CLCN7	Clcn7	clcn7

CTNS	Ctns	ctns
DCT	Dct	dct
DSTYK	Dstyk	dstyk
EDN3	Edn3	edn3a
EDNRB	Ednrb	ednrba
ENPP1	Enpp1	enpp1
EPG5	Epg5	epg5
ESCO2	Esco2	esco2
FGFR3	Fgfr3	fgfr3
GNAI3	Gnai3	gnai3
GPNMB	Gpnmb	gpnmb
GPR143	Gpr143	gpr143
HPS1	Hps1	hps1
HPS3	Hps3	hps3
HPS4	Hps4	hps4
HPS5	Hps5	hps5
HPS6	Hps6	hps6
IKBKG	ikbkg	ikbkg
KIT	Kit	kita
KITLG	Kitl	kitlga
KRT5	Krt5	krt5
LRMDA	Lrmda	lrmda
LYST	Lyst	lyst
MEN1	Men1	men1
MITF	Mitf	mitfa
MLPH	Mlph	mlpha
MYO5A	Myo5a	myo5aa
NBN	Nbn	nbn
OCA2	Oca2	oca2
PAH	Pah	pah
PAX3	Pax3	pax3a
PCNT	Pcnt	pcnt
POFUT1	Pofut1	pofut1
RAB27A	Rab27a	rab27a
SASH1	Sash1	sash1a
SLC17A5	Slc17a5	slc17a5
SLC24A5	Slc24a5	slc24a5

SLC45A2	Slc45a2	slc45a2
SMO	Smo	smo
SNAI2	Snai2	snai2
SOX10	Sox10	sox10
TP63	Trp63	tp63
TSC1	Tsc1	tsc1a
TSC2	Tsc2	tsc2
TYRP1	Tyrp1	tyrp1a
WRN	Wrn	wrn

3.3 I geni principali

Alcuni dei geni presenti nelle due liste sono direttamente coinvolti nella melanogenesi. Altri invece non sono direttamente collegati a questo pathway.

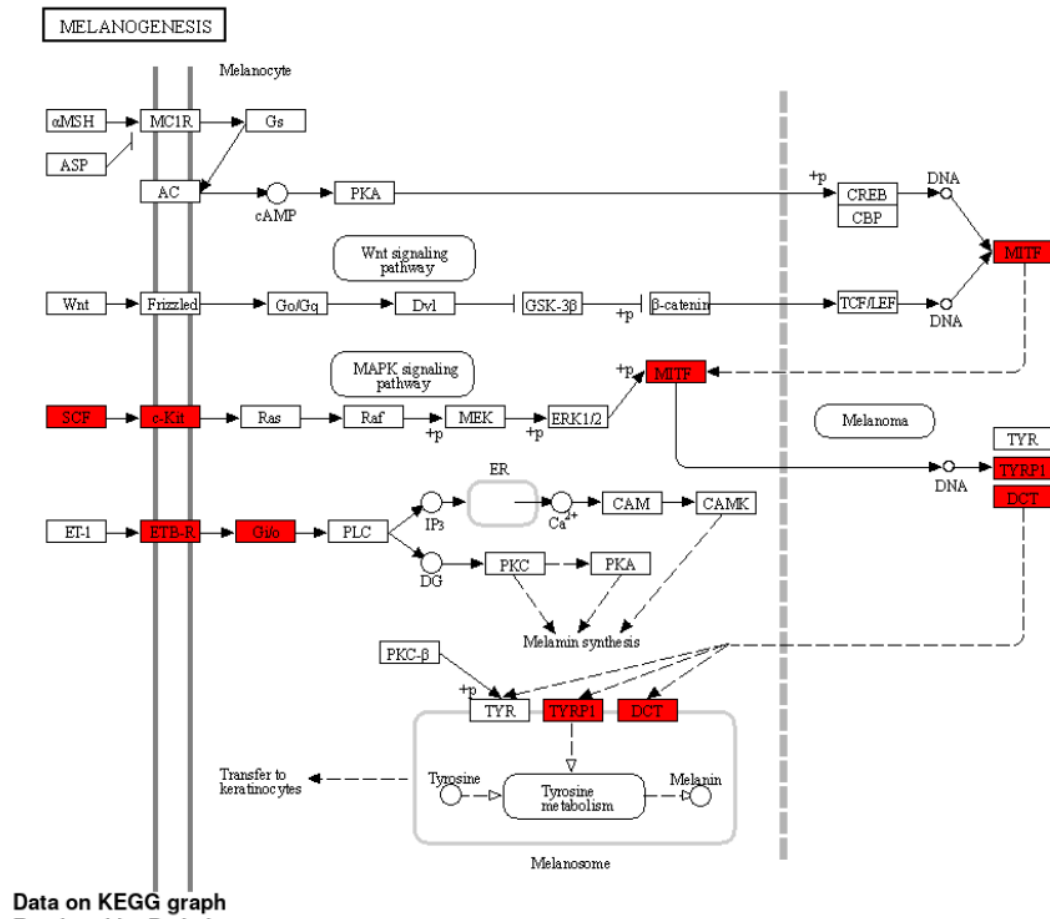


Figura 3 Pathway della melanogenesi^[5].

Il primo gene presente nella lista che svolge un ruolo chiave nel processo della melanogenesi è TYRP1, le cui mutazioni sono principalmente associate ad ipopigmentazione. Questo gene codifica per l'enzima melanogenico che catalizza la reazione di produzione dell'eumelanina^[3].

Il secondo gene individuato è MITF, un fattore di trascrizione che regola l'espressione di geni della melanogenesi (come ad esempio tirosinasi e TYRP1). L'aumento dell'espressione di MITF e la sua attivazione mediante fosforilazione stimolano la trascrizione dell'enzima tirosinasi (TYR), di TYRP1 e di DCT. L'espressione di MITF è guidata dai geni SOX10 e PAX3, anch'essi associati a ipopigmentazione^[3].

Un altro gene da sottolineare è KIT (figura 2), associato sia a fenotipi di iperpigmentazione che di ipopigmentazione. KIT codifica per il un recettore tirosin-chinasico che attiva le vie di segnalazione correlate al pathway melanogenico (es. Ras, MAPK e PI3K-Akt)^[3]. KIT induce la proliferazione, la differenziazione e la migrazione dei melanoblasti, precursori dei melanociti.

Un gene che invece è associato a iperpigmentazione e svolge un ruolo importante nel processo di melanogenesi è MSH. Quest'ultimo stimola l'attività dell'enzima tirosinasi attraverso la via del cAMP^[3].

Il gene BLOC1 è coinvolto, insieme a OCA2 e AP3, nel traffico dei melanosomi e nel loro smistamento^[3]. OCA2 codifica per la proteina P, proteina integrale di membrana del melanosoma per il trasporto della tirosina.

SOX10, come anticipato precedentemente, controlla la trascrizione di MITF, ed è coinvolto nel processo di differenziamento dei melanociti durante l'embriogenesi^[3].

Anche PAX3 svolge funzioni simili a quelle di SOX10, non solo nella regolazione di MITF ma anche nello sviluppo dei progenitori dei melanociti^[3].

Il gene PAH, associato a ipopigmentazione, codifica per la fenilalanina idrossilasi, enzima che catalizza la conversione della fenilalanina in L-tirosina, il substrato della tirosinasi^[4].

Infine molti dei geni presenti nella lista sono conosciuti per essere coinvolti in patologie che hanno come manifestazione fenotipica la variazione della pigmentazione. Alcuni esempi sono il gene WRN, associato alla sindrome di Werner, che si presenta fenotipicamente con l'ingrigimento dei capelli, e il gene BLM, coinvolto nella sindrome di Bloom.

3.4 Analisi di GO Enrichment

L'analisi GO enrichment porta ad individuare le funzioni molecolari e i processi biologici associati ad un elenco di geni.

Il primo sito utilizzato per questa analisi è ShinyGO (<http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>). Questo database biologico individua i pathway nei quali i geni inseriti sono coinvolti e li ordina in base al valore FDR (Fold Enrichment). Sinteticamente, possiamo considerare questo valore come un indicatore di come i geni dell'elenco siano rappresentati nel pathway. Da questo primo studio si individuano i seguenti pathway, per quanto riguarda i geni associati ad iperpigmentazione:

- via dell'anemia di Fanconi;

- ricombinazione omologa;
- riparazione dei mismatch;
- via di segnalazione Ras;
- via di segnalazione MAPK;
- via di segnalazione PI3K-Akt
- vie di segnalazione associate a cancerogenesi.

Per quanto riguarda i geni associati a ipopigmentazione, sono stati individuati i seguenti termini:

- melanogenesi
- lisosomi
- via di segnalazione della fosfolipasi D
- via di segnalazione Ras
- vie di segnalazione associate a cancerogenesi

Il secondo sito utilizzato per l'analisi è Pathway Commons (<https://www.pathwaycommons.org/>). Molti dei pathway identificati con ShinyGO sono presenti anche in questo database fatta eccezione per il processo di mantenimento dei telomeri attraverso biosintesi di DNA, associato ai geni di iperpigmentazione, e il rilevamento delle rotture del doppio filamento del DNA da parte dei geni di ipopigmentazione.

Il terzo sito utilizzato è Panther (<https://pantherdb.org/>). Per quanto riguarda i geni associati al fenotipo di iperpigmentazione si riportano i seguenti termini e i rispettivi geni associati:

- migrazione dei melanociti (KIT, KITLG, ATM)
- mantenimento dei telomeri (TINF2, TERT, CTC1, ATM)
- riparazione della rottura a doppio filamento coinvolta nella ricombinazione meiotica (BRIP1, BRCA2, FANCD, PALB2)
- ricombinazione omologa (MSH2, BRIP2, BLM, BRCA2, FANCD2, PALB2)
- regolazione della proliferazione dei cheratinociti (SNAI, TP63, BCL11B)
- biosintesi DNA (POLA1, TERT, SMARCAL1, CTC1)

Per quanto riguarda i geni associati a ipopigmentazione invece si riportano:

- differenziazione dei melanociti (LRMDA, TYRP1, HPS6, MREG)
- pigmentazione evolutiva (LRMDA, HPS5, HPS6, TYRP1, DCT, MREG)
- svolgimento del doppio filamento di DNA (WRN, NBN, BLM)

Anche tramite l'ultimo database utilizzato, SEEK (<https://seek.princeton.edu/seek/>), sono stati identificati i pathway sopra elencati.

3.5 Via dell'anemia di Fanconi

Il pathway associato all'anemia di Fanconi è un processo necessario per la riparazione del DNA danneggiato. I geni dell'elenco che il database associa a questo termine di Gene Ontology sono i seguenti: FANCD2, FANCI, FANCA, FANCC, FANCE, BLM, BRCA2, FANCN, FANCI, MLH1, PMS2.

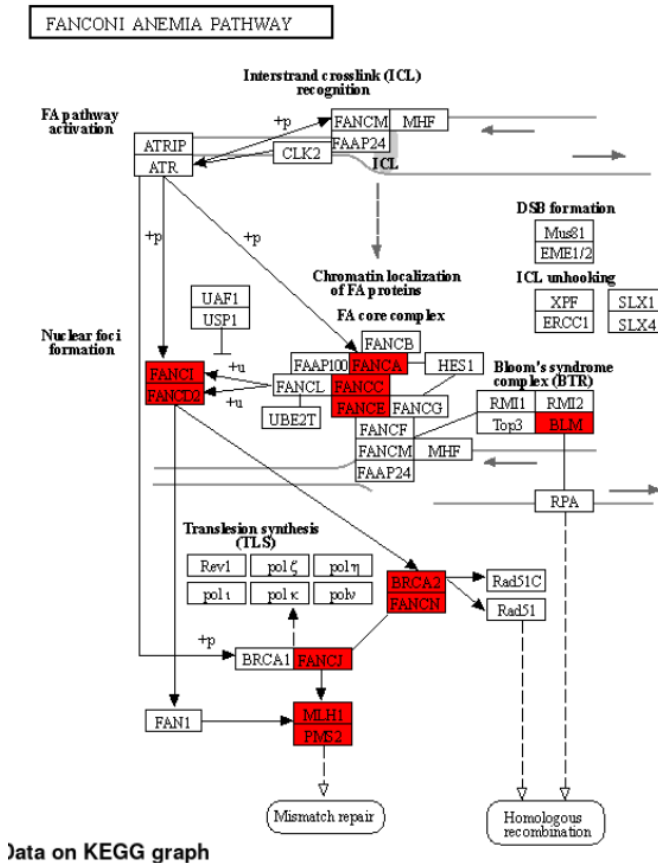


Figura 4
Via dell'anemia di Fanconi^[5].

Data on KEGG graph

Una volta riconosciuto il danno al DNA, viene reclutato il complesso centrale FA che monoubiquitina FANCD2 e FANCI. Quest'ultime proteine si attivano e interagiscono con le proteine di riparazione del DNA. L'anemia di Fanconi è causata da mutazioni nei geni FA ed è caratterizzata da anomalie congenite della crescita, insufficienza del midollo osseo e predisposizione al cancro (melanoma).

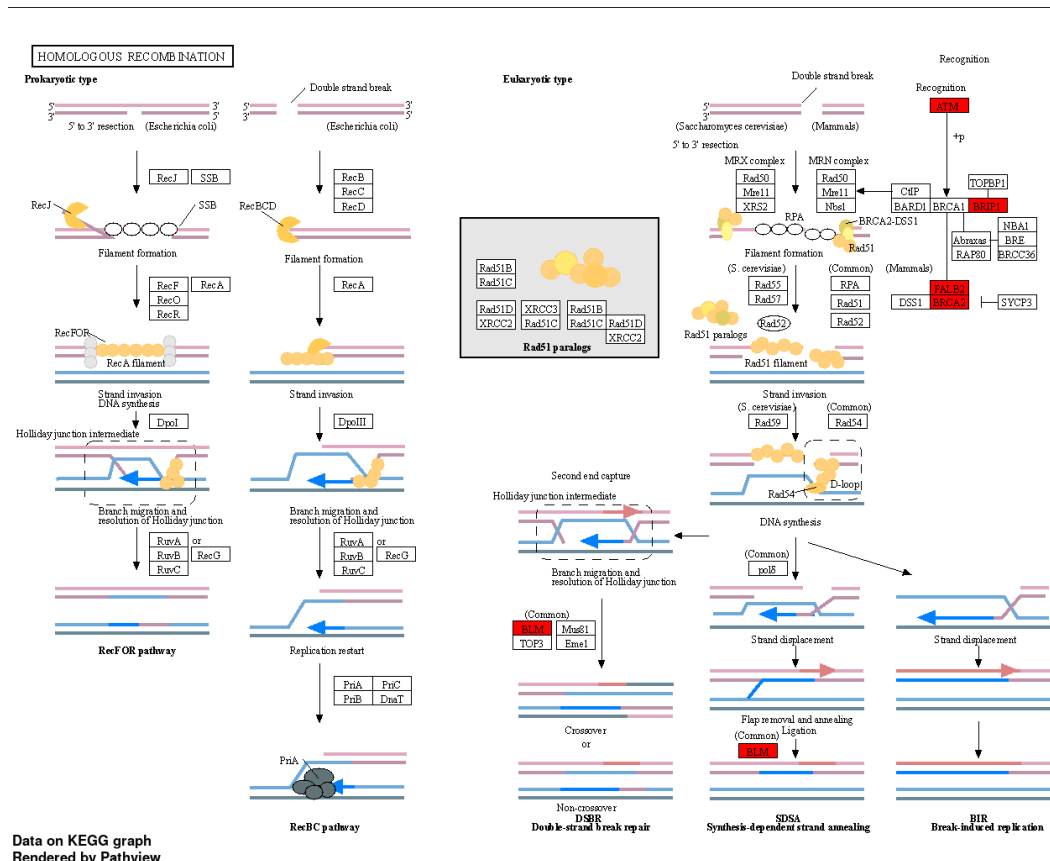
Questo è uno dei casi che evidenziano la rilevanza clinica dei geni della pigmentazione in malattie umane (effetti pleiotropici). La variazione della pigmentazione è infatti associata alla diagnosi dell'anemia di Fanconi.

3.6. Ricombinazione omologa (HR)

La ricombinazione omologa ha come scopo la riparazione delle rotture del doppio filamento di DNA. Questo processo ha luogo nella fase S-G2 del ciclo cellulare, e comporta la generazione di una regione di DNA a filamento singolo, seguita da invasione del filamento, formazione di una giunzione di Holliday, sintesi del DNA utilizzando il filamento intatto come stampo, migrazione del filamento e risoluzione^[5].

I geni associati ad iperpigmentazione individuati in questo pathway sono: ATM, BRCA2, BRIP1, PALB2 e BLM.

BRCA2 e BLM (sindrome di Bloom) sono soppressori tumorali che utilizzano questo processo per mantenere l'integrità del genoma.



Data on KEGG graph
Rendered by Pathview

Figura 5 Ricombinazione omologa^[5].

Diversi studi dimostrano che il danno al DNA e la conseguente riparazione aumentino la produzione di melanina.

3.8 Via di segnalazione Ras

La melanogenesi è strettamente regolata da molti segnali extracellulari che sono trasmessi attraverso specifiche vie di segnalazione. Tra i principali ci sono: la via di segnalazione Ras, la via di segnalazione MAPK e la via di segnalazione PI3K-Akt.

Le proteine Ras sono GTPasi che funzionano come interruttori molecolari per la proliferazione cellulare, la sopravvivenza, la crescita, la migrazione, il differenziamento o il mantenimento della struttura del citoscheletro^[5].

Questo pathway è associato sia a geni legati ad iperpigmentazione che ipopigmentazione. Come si può vedere dalla Figura 2 e dalla Figura 3 esso rappresenta un'importante via di regolazione strettamente associata alla melanogenesi.

3.9 Via di segnalazione della fosfolipasi

La fosfolipasi D è un enzima responsabile della produzione dell'acido fosfatidico (PA), un secondo messaggero. Quest'ultimo è coinvolto in processi cellulari fondamentali della melanogenesi, tra cui il traffico di membrana, il rimodellamento del citoscheletro di actina per il trasporto dei melanosomi, la proliferazione e la sopravvivenza cellulare^[5]. A questa via di segnalazione sono stati associati i geni TSC1 e TSC2, legati ad ipopigmentazione.

3.10 Lisosomi

I lisosomi sono organelli della cellula delimitati da membrana che hanno la funzione di digerire le macromolecole. La loro azione è data dagli enzimi idrolasi. Le molecole da degradare arrivano ai lisosomi attraverso processi di endocitosi, fagocitosi e autofagia^[5].

L'unico gene tra quelli associati a ipopigmentazione che viene indicato come appartenente alla via di formazione dei lisosomi è AP3.

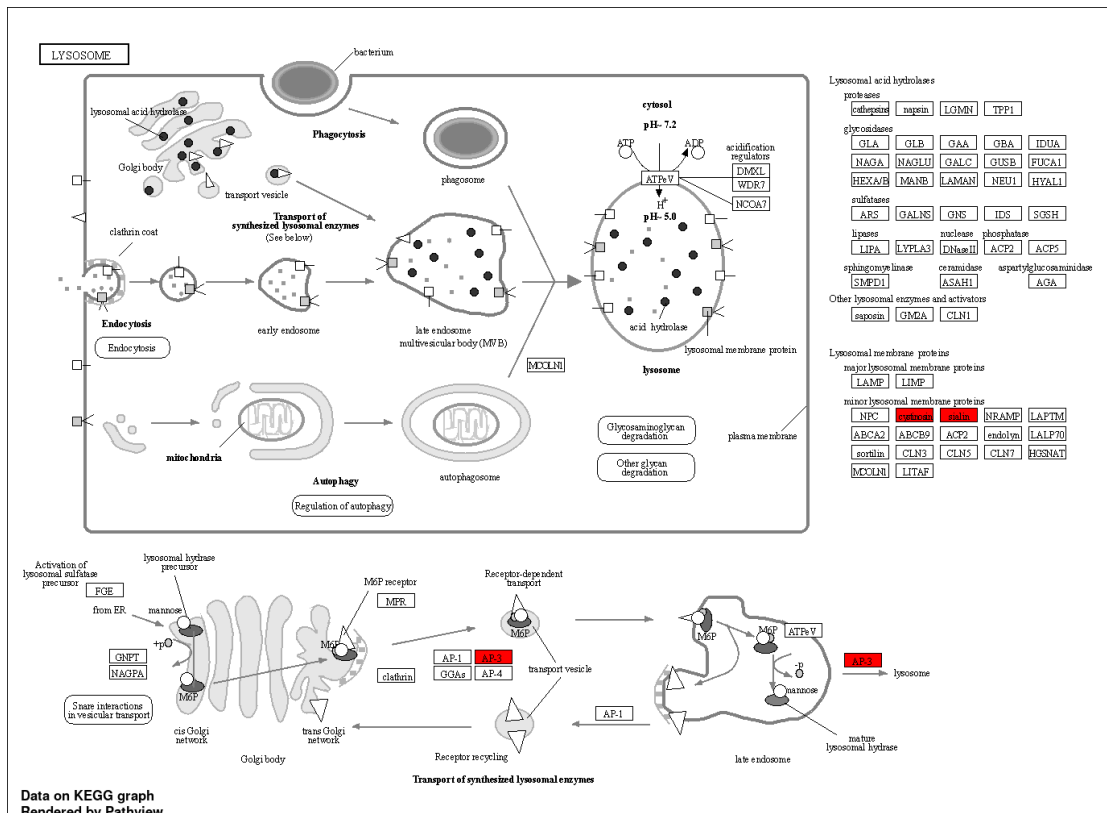


Figura 7 Formazione lisosomi^[5].

La sintesi dei lisosomi potrebbe influire sul processo di melanogenesi in quanto i melanosomi vengono degradati proprio dai lisosomi dei cheratinociti.

3.11 Via di segnalazione MAPK

La cascata della proteina chinasi attivata dal mitogeno (MAPK) è coinvolta in varie funzioni cellulari, tra cui: la proliferazione cellulare, la differenziazione e la migrazione^[5]. Come si può vedere dalla Figura 3 la via di segnalazione MAPK ha un ruolo centrale nel processo di melanogenesi. La variazione di questo pathway è ad opera del gene KIT che codifica per un recettore tirosin-chinasico. Un altro gene, dall'elenco di quelli associati a ipopigmentazione, coinvolto nella regolazione di questa via di regolazione è MITF, ligando del recettore codificato da KIT.

3.12 Mantenimento dei telomeri

I telomeri sono porzioni di DNA alle estremità dei cromosomi, e sono responsabili del mantenimento della loro lunghezza. L'accorciamento dei telomeri è associato al fenomeno di senescenza (invecchiamento) della cellula.

Il gene individuato nel lavoro in oggetto, associato a iperpigmentazione è TERT. Questo gene è coinvolto nella sintesi dell'enzima telomerasi, proteina che mantiene la lunghezza dei telomeri.

3.13 Via di segnalazione PI3K-Akt

La via di segnalazione del fosfatidilinositolo 3'-chinasi ha un ruolo fondamentale nella regolazione della melanogenesi. Essa è attivata da molti tipi di stimoli cellulari, e regola funzioni cellulari fondamentali come la trascrizione, la traduzione, la proliferazione, la crescita e la sopravvivenza. Il legame di fattori di crescita al loro recettore tirosin-chinasico o a recettori accoppiati a proteine G attiva PI3K. Questa catalizza la produzione di fosfatidilinositolo-3,4,5-trifosfato (PIP₃). PIP₃ a sua volta funge da secondo messaggero che induce l'attivazione di Akt. Una volta attivo, Akt può controllare i processi cellulari chiave fosforilando i substrati coinvolti nell'apoptosi, nella sintesi proteica, nel metabolismo e nel ciclo cellulare^[5].

Questo pathway ha un ruolo fondamentale nella sopravvivenza cellulare nel cancro.

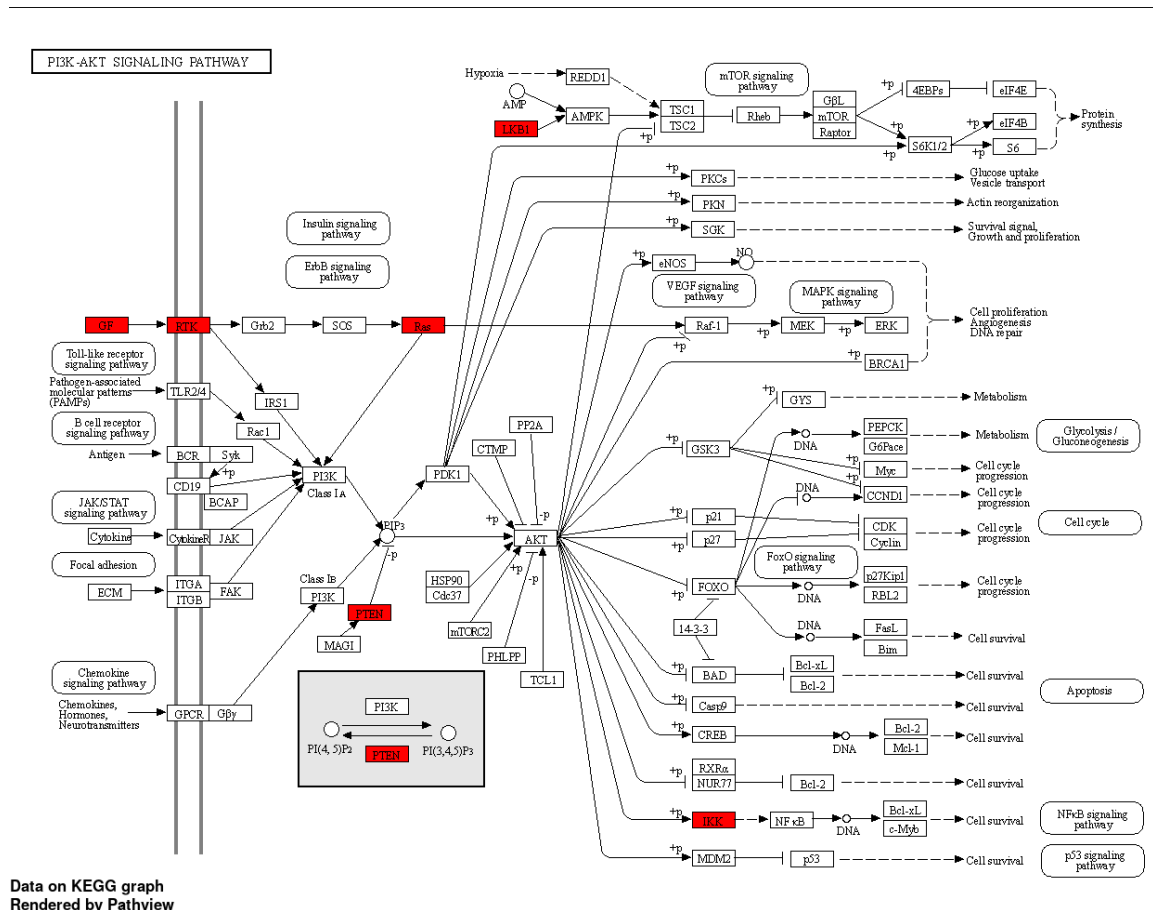


Figura 8 Via di segnalazione PI3K-Akt⁵¹.

Il principale gene, legato ad iperpigmentazione e coinvolto in questo processo è PTEN. Quest'ultimo è un soppressore tumorale che si oppone all'attività di PI3K ed è coinvolto nell'inibizione della migrazione cellulare. L'antagonismo dato dall'espressione di questo gene non induce solamente il blocco della proliferazione incontrollata del tumore dato da PI3K ma anche l'attivazione del processo di melanogenesi con conseguente aumento della pigmentazione. Diversi studi hanno dimostrato che l'espressione di PTEN induce una diminuzione della proliferazione a causa dell'arresto del ciclo cellulare nella fase G1^[7].

E' stato dimostrato che l'utilizzo di inibitori che bloccano la via di segnalazione PI3K/Akt ha come conseguenza la riduzione di espressione di MITF, TYR, TRP-1 e DCT, geni con un ruolo centrale nel processo di melanogenesi.

3.14 Vie di segnalazione associate a cancerogenesi

Il melanoma è una forma di cancro della pelle che nasce dalla trasformazione maligna di melanociti. Il principale fattore di rischio ambientale del melanoma è l'esposizione alla luce ultravioletta (UV): nelle persone con pelle chiara il rischio è notevolmente maggiore. Le mutazioni oncogeniche attivano le vie effettrici Raf-MEK-ERK e PI3K-Akt. Come descritto nel paragrafo precedente, PI3K-Akt può essere attivata attraverso la perdita o la mutazione del gene PTEN.

Queste mutazioni insorgono precocemente durante la patogenesi del melanoma e sono conservate durante la progressione del tumore. Il gene MITF (ipopigmentazione) è implicato nell'ulteriore progressione del melanoma e nella resistenza alla chemioterapia^[5].

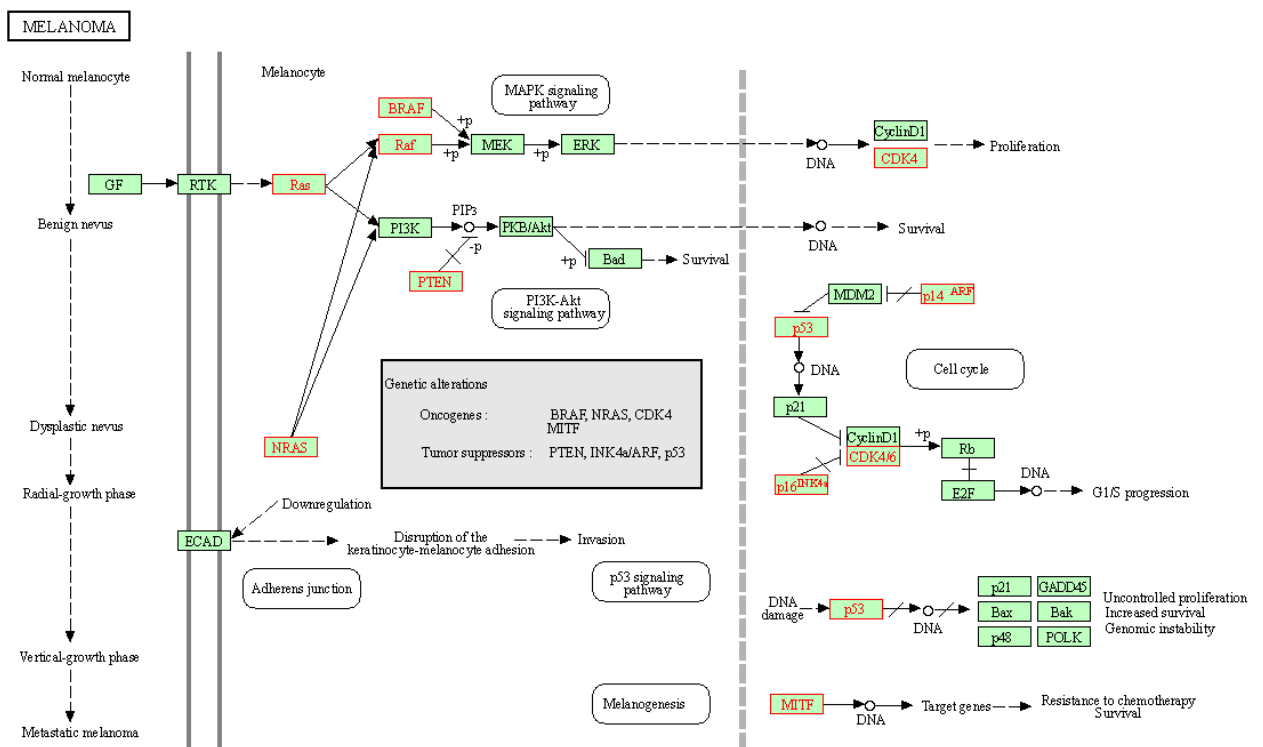


Figura 9 Percorsi del cancro^[5].

Oltre a MITF, nella lista di geni associati a ipopigmentazione, altri geni che sono coinvolti nei percorsi del melanoma sono KITLG, FGFR3 e SMO. Tutti e tre questi geni hanno una funzione nel processo di proliferazione cellulare.

Per quanto riguarda i geni associati a iperpigmentazione invece, sono stati individuati BRCA2, MLH1, MSH2 e MSH6 associati a instabilità genomica, FGFR3, KITLG, KIT coinvolti nel processo di proliferazione e PTEN e TERT, precedentemente descritti.

4. CONCLUSIONI

A partire da un elenco curato manualmente di geni associati a diversi fenotipi di pigmentazione, gli autori dell'articolo oggetto di questa tesi hanno identificato diversi complessi proteici, percorsi cellulari e funzioni che contribuiscono alla variazione della pigmentazione. Attraverso l'analisi di questi pathway è possibile capire come questi interagiscono e fare luce sull'intero processo della melanogenesi. Dai risultati ottenuti si evince che questo processo è regolato attraverso molti geni e diverse vie di segnalazione intracellulare. In particolare sono state individuate:

- via di segnalazione Ras;
- via di segnalazione MAPK;
- via di segnalazione PI3K-Akt
- vie di segnalazione associate a cancerogenesi
- via di segnalazione della fosfolipasi D

I risultati ottenuti contribuiscono ad una maggiore comprensione dei processi alla base della variazione della pigmentazione e di come questi processi vengano alterati in risposta a stimoli esterni (es. raggi UV). Inoltre, evidenziano, la rilevanza clinica dei geni della pigmentazione in diverse patologie umane quali anemia di Fanconi e cancro.

4. BIBLIOGRAFIA

- 1 Laura L.Baxter, Alba E. Watkins-Chow, William J.Pavan e Stacie K. Loftus, *A curated gene list for expanding the horizons of pigmentation biology*, in “*Pigment Cell & Melanoma Research*”, Ottobre 2018
- 2 Magina Sofia, Moura Daniel Felipe Lima e Videira Ines Ferreira dos Santos, *Mechanisms regulating melanogenesis*, in “*Anais Brasileiros de Dermatologia*”, Febbraio 2013
- 3 Stacey A. N. D’Mello, Graeme J. Finlay, Bruce C. Baguley e Marjan E. Askarian-Amiri, *Signaling Pathways in Melanogenesis*, in “*Biochemistry and Mechanisms of Melanogenesis*”, Luglio 2016
- 4 Rosa Pellegrino, Fenotipo pigmentario, in www.albinismo.it , Agosto 2009
- 5 ShinyGo 0.77, <http://bioinformatics.sdstate.edu/go/>
- 6 Han-Mo Koo, Matt VanBrocklin, Mary Jane McWilliams, Stephan H. Leppla, Nicholas S. Duesbery e George F. Vande Woude, *Apoptosis and Melanogenesis in Human Melanoma Cells Induced by Anthrax Lethal Factor Inactivation of Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase*, in “*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*”, Marzo 2002
- 7 Maria-Magdalena Georgescu, *PTEN Tumor Suppressor Network in PI3K-Akt Pathway Control*, in “*Genes Cancer*”, Dicembre 2010