

## ESTROGENI E CARCINOMA MAMMARIO: UN APPROCCIO DI PROTEOMICA

**Livia Malorni<sup>1</sup>, Giuseppina Cacace<sup>1</sup>, Gabriella Pocsfalvi<sup>1</sup>, Rosa Siciliano<sup>1</sup>, Virginia Carbone<sup>1</sup>, Alessandro Weisz<sup>2</sup> e Antonio Malorni<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro di Spettrometria di Massa Proteomica e Biomolecolare, Istituto di Scienze dell'alimentazione, CNR, Avellino, via Roma, 52 A/C, 81300-Avellino

<sup>2</sup>Dipartimento di Patologia Generale, Seconda Università di Napoli

Il carcinoma mammario (CM) costituisce ai nostri giorni la più frequente causa di morte per tumore nel sesso femminile, e la prima in assoluto nella fascia di età tra i 35 e i 55 anni. Il CM è un tumore epiteliale maligno che origina dai dotti galattofori (forma duttale) o dai piccoli dotti terminali (forma lobulare). Gli ormoni estrogeni, ed in particolare l'estradiolo (17 $\beta$ -estradiolo), favoriscono la crescita e la sopravvivenza delle cellule di CM. Dal punto di vista prognostico, la presenza del recettore per gli estrogeni (ER) è importante per la valutazione della natura della malattia e per orientare la strategia terapeutica. Dal punto di vista terapeutico, la somministrazione di farmaci in grado di antagonizzare gli estrogeni rappresenta la cura attualmente più utilizzata. Tuttavia, i meccanismi attraverso cui gli ormoni promuovono la carcinogenesi e la progressione tumorale non sono al momento noti, la determinazione immunoistochimica della presenza dei recettori ha una predittività dell'esito della terapia ormonale ancora piuttosto bassa e l'efficacia della terapia ormonale è variabile ed ancora non si hanno parametri validi per dirigere questa ed altre opzioni terapeutiche.

Sempre maggiori evidenze avallano la necessità di individuare, nell'ambito delle categorie di tumori ER + ed ER- , delle sottoclassi distinte per espressione di particolari patterns proteici, profili metabolici, cinetiche di proliferazione, invasività e capacità metastatiche, che hanno diverso comportamento biologico e, quindi, diversa prognosi. Le modalità attraverso cui si realizza l'azione trofica degli estrogeni sul CM sono solo in parte noti; tra le vie principali è stata posta in evidenza l'attivazione trascrizionale del gene per la ciclina D1, che innesca il passaggio G1/S sia direttamente, previo legame con la corrispondente chinasi *cdk2*, sia indirettamente, favorendo il distacco dell'inibitore *p21* dal complesso ciclina E/*cdk4*; la fosforilazione dell'oncosoppressore *Rb*; l'induzione dell'oncogene *c-myc*; l'attivazione non-genomica, mediante recettori di membrana, della cascata chinasi *ras*-dipendente.

Per chiarire il ruolo degli estrogeni sul CM attraverso l'individuazione di nuovi *markers* estrogeno regolati, sono stati intrapresi due diversi approcci di *expression proteomics* su una linea cellulare di carcinoma mammario estrogeno responsivo, le ZR 75.1.

Le metodologie utilizzate sono l'elettroforesi bidimensionale e l' *Isotope Coded Affinity Tag* ; entrambe si accoppiano alla spettrometria di massa, sia *MALDI* che *electrospray*, per l'identificazione delle proteine analizzate.

Dalla linea cellulare di carcinoma mammario ZR 75.1 sono stati finora preparati 12 estratti proteici che sono stati analizzati sia mediante elettroforesi bidimensionale che ICAT.

I risultati finora ottenuti mostrano la perseguibilità di questi tipi di approccio nel sistema cellulare preso in esame. L'identificazione di un set di proteine estrogeno-regolate avvierà la fase del lavoro rivolta a comprendere nel dettaglio il meccanismo d'azione degli estrogeni in cellule tumorali.

Tuttavia non sembra meno interessante l'identificazione sistematica di tutte le proteine separate per la creazione di una banca dati di questa linea cellulare che potrebbe contenere anche annotazioni provenienti da esperimenti di *microarray* (analisi trascrizionale) già effettuati. E' già disponibile una lista di geni estrogeno-regolati che potrebbe essere "confermata" o "smentita" dall'analisi proteomica.