



Charlotte Auerbach
(1899-1994)

Ispiratrice e fondatrice del settore di ricerca sulla mutagenesi chimica e sulla mutagenesi ambientale

Studiò le sostanze che possono reagire con il materiale genetico e causarne mutazioni

Confrontò gli effetti mutageni delle radiazioni ionizzanti e delle sostanze chimiche.

Dai suoi primissimi esperimenti fu evidente che le mutazioni prodotte chimicamente erano principalmente mosaici mentre quelle indotte tramite radiazioni ionizzanti erano cambiamenti whole-body.

Inoltre, il rapporto tra mutazioni puntiformi e mutazioni cromosomiche era differente, essendo molto più alto dopo il trattamento chimico che dopo radiazioni ionizzanti.

Dimostrò l'effetto mutageno del solfuro di dicloroetile = gas mostarda
($C_4H_8Cl_2S$)

Tipo di danni al DNA

Spontanei:

Errori durante la replicazione del DNA, errori nell'appaiamento del DNA omologo durante la ricombinazione, agenti endogeni prodotti dal metabolismo cellulare come i radicali liberi.

Indotti:

- Agenti fisici: raggi X, gamma, UV)
- Agenti chimici (alchilanti; inibitori sintesi deossiribonucleotidi; intercalanti)

Mutazioni indotte da stress ambientale

Lo stress

- Lo stress è definito come una condizione che disturba la normale funzione del sistema biologico o una condizione che diminuisce la fitness
- Lo stress è una risposta aspecifica del corpo a un qualsiasi cambiamento
- Le condizioni di stress possono agire come delle forze evolutive a cui le popolazioni rispondono in modo adattativo

Induttori ecologici di stress

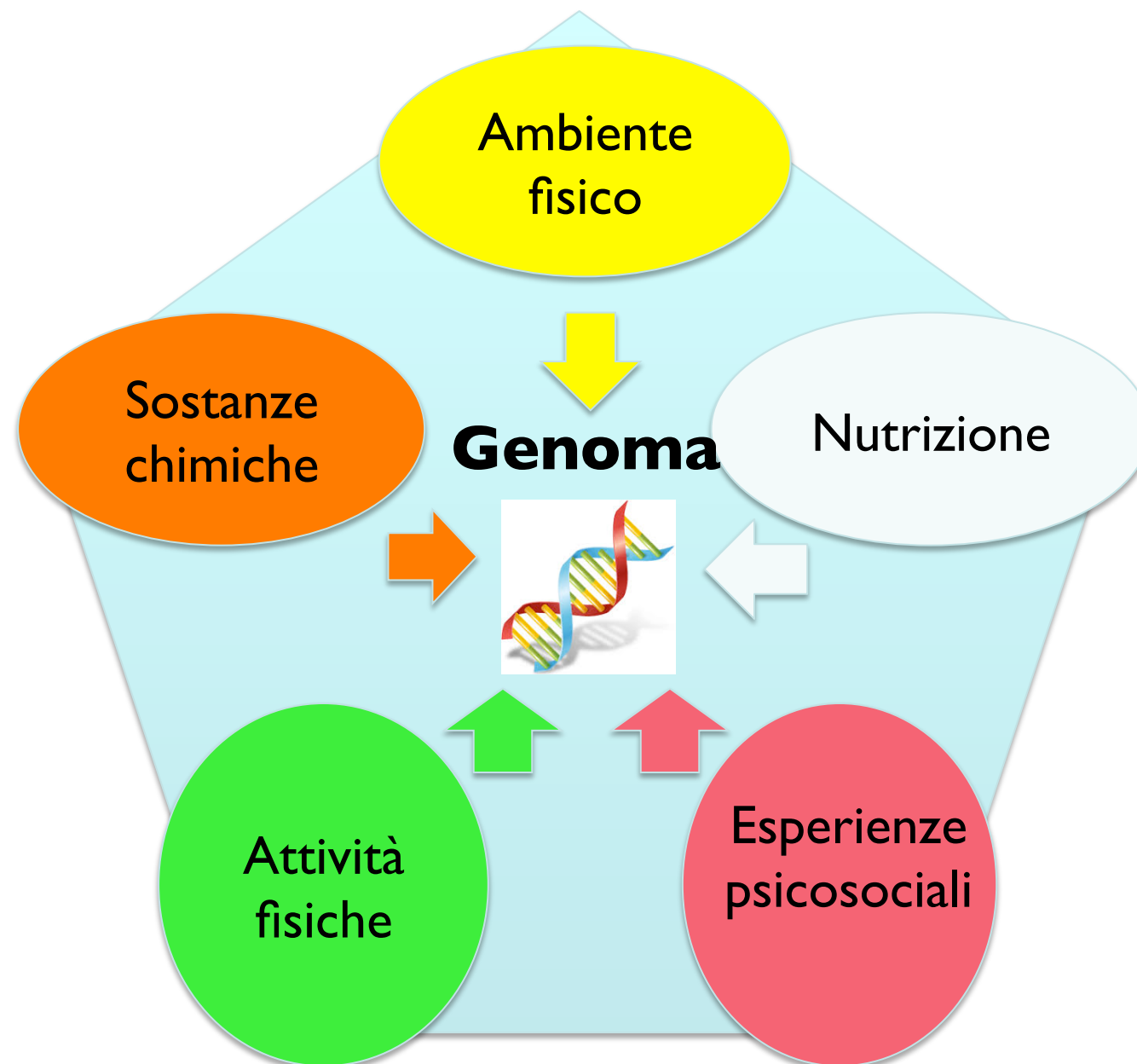
Ambientali:

Alta temperatura
Bassa temperatura
Radiazioni
Metalli pesanti
Pesticidi
Ipossia
Salinità
Alta densità di popolazione
Infezioni batteriche e virali
Parassitismo
Attività fisica
Essiccazione
Stress ossidativo
Traumi

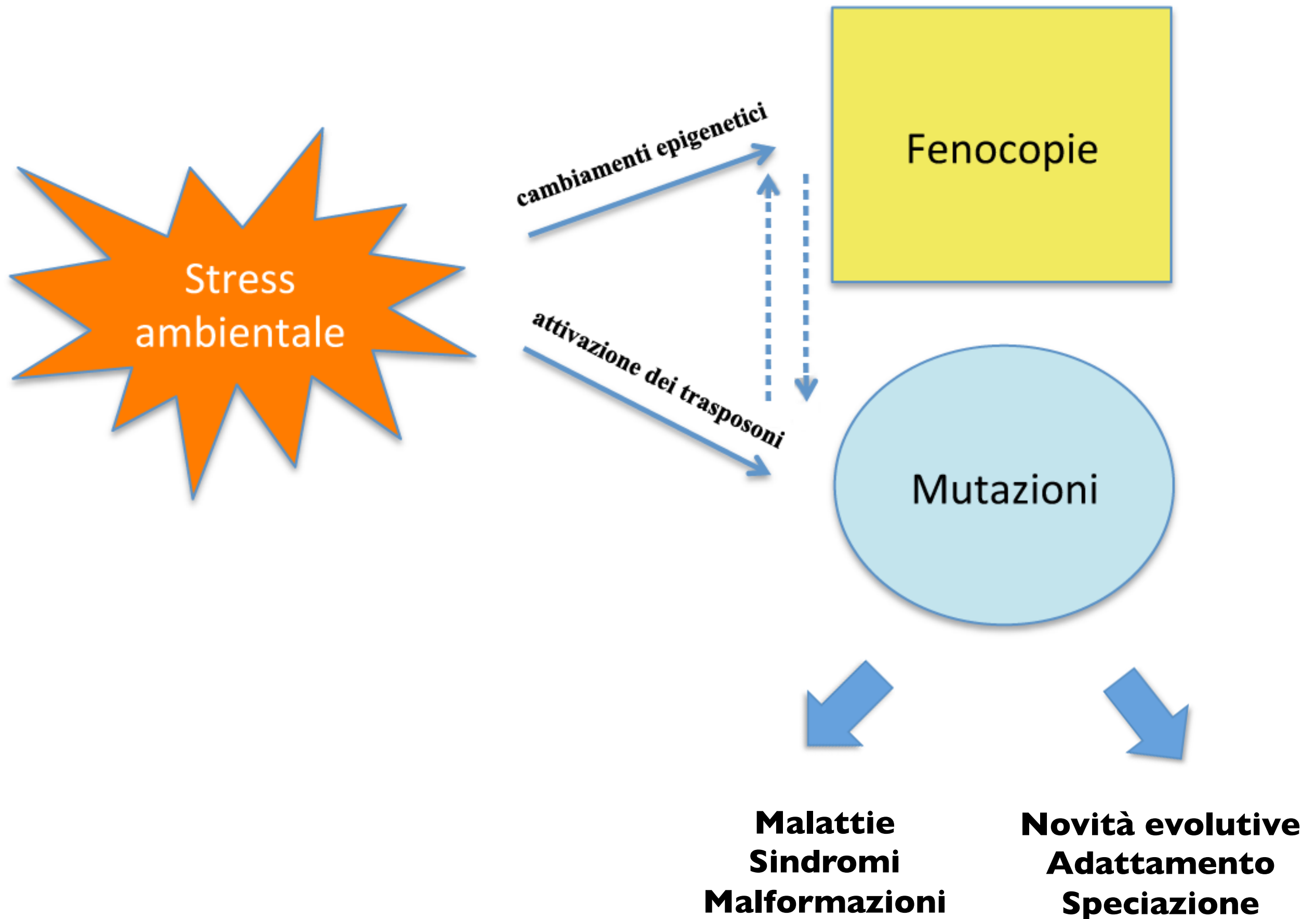
Genetiche:

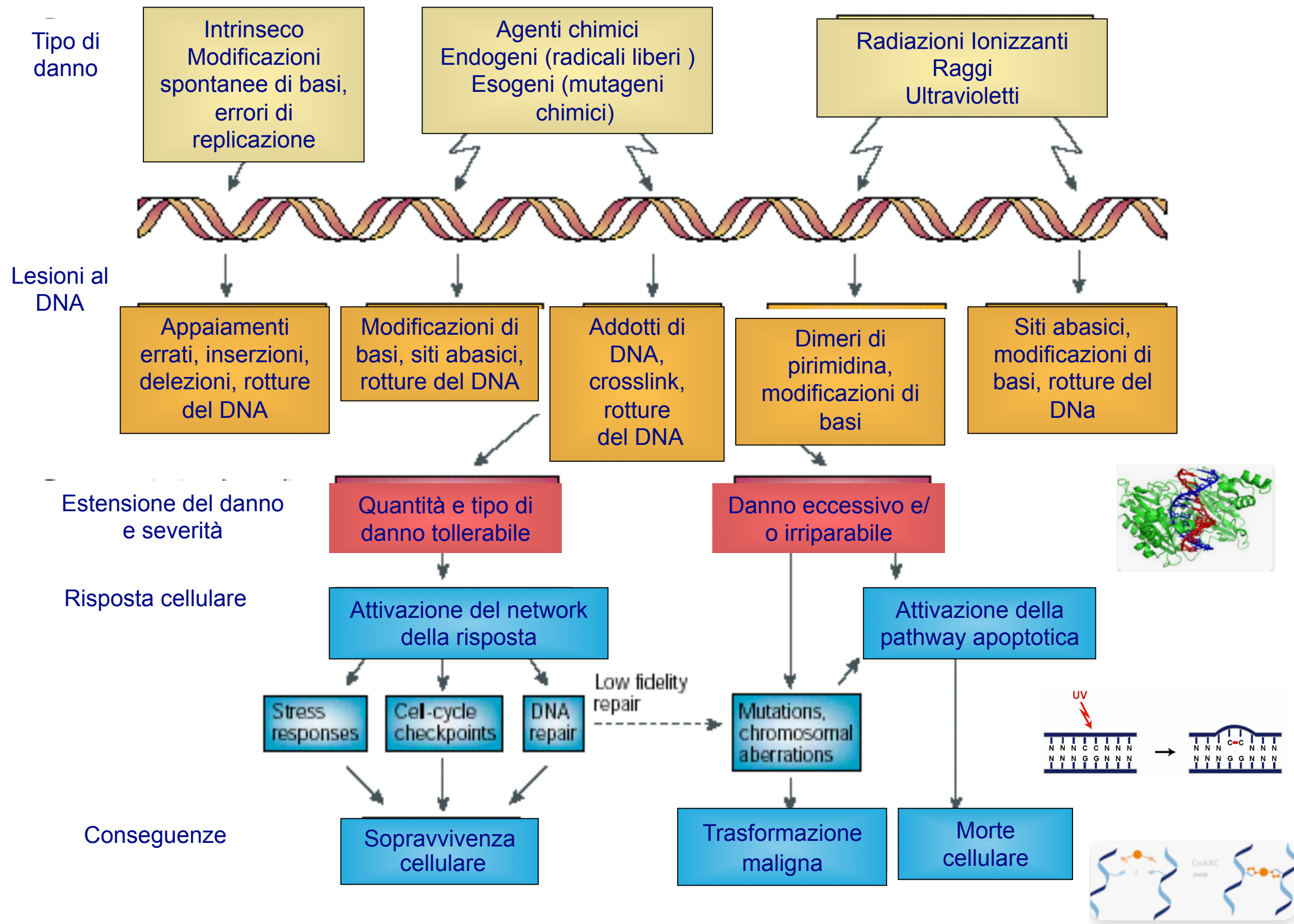
Senescenza
Inincrocio
Mutazioni deleterie

Gli effetti dello stress ambientale sull'evoluzione del genoma



Gli effetti dello stress ambientale



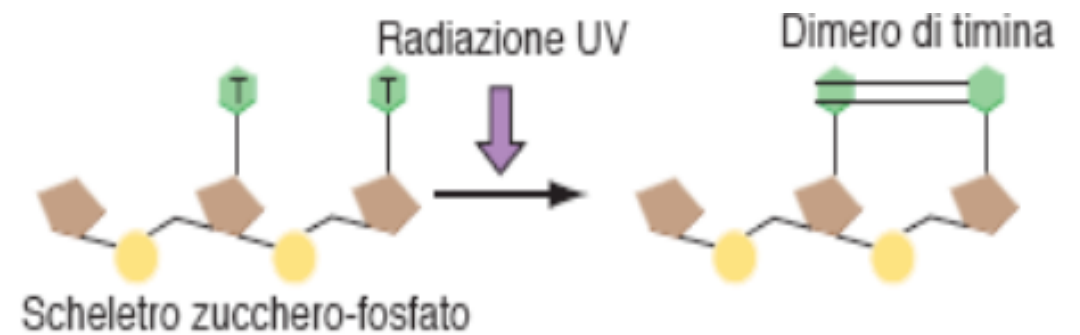


I mutageni chimici

- **Mutageni diretti:** interagiscono direttamente con il DNA
- **Mutageni indiretti:** possono formare specie reattive che interagiscono con la sintesi, la replicazione e il corretto mantenimento della struttura del DNA (antimetaboliti e inibitori mitotici). Oppure possono formare ROS (mutageni ossidativi)
- **Promutageni:** composti non polari che possono essere attivati metabolicamente a forme più reattive
- **Mutageni mitocondriali:** sostanze che reagiscono preferenzialmente con il DNA mitocondriale

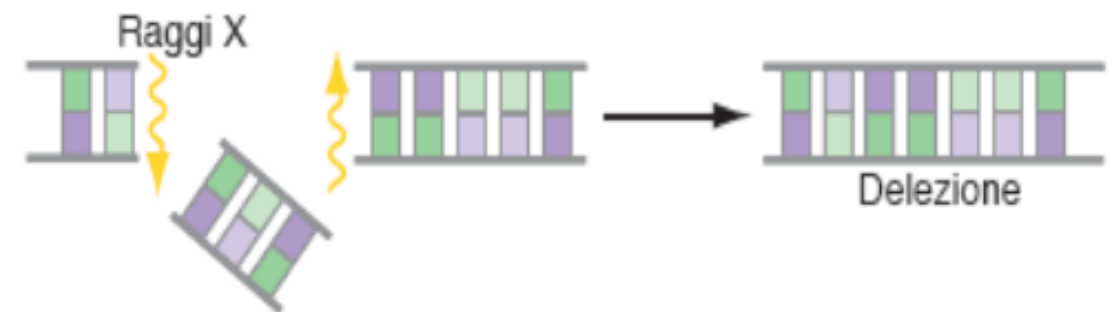
Danni molecolari da radiazioni

Radiazioni non ionizzanti:



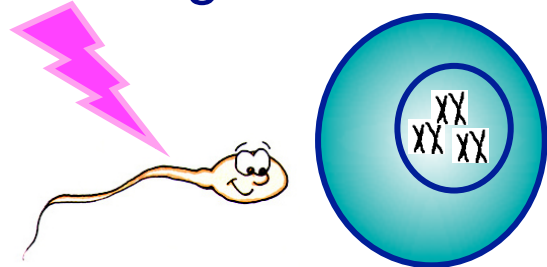
-dimerizzazione delle timine (legami covalenti o anelli di ciclobutano)

Radiazioni ionizzanti:

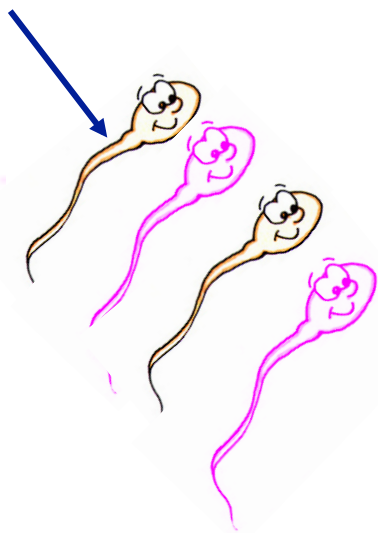


- distacco ed eliminazione di basi azotate (siti apurinici)
- rotture a singolo filamento (SSB)-idrolisi del legame fosfodiesterico o eliminazione del gruppo fosfato
- rotture a doppio filamento (DSB)
- legami crociati (interazioni tra radicali radioindotti)

mutazione germinale



L'intero organismo
porta la mutazione
(in eterozigosi)

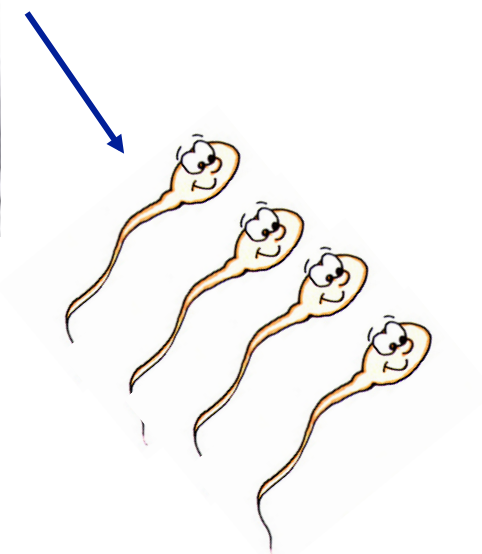
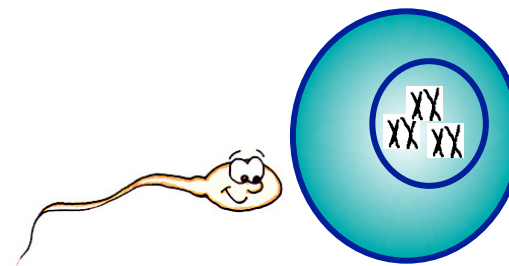


gameti

embrione

organismo

Gameti
dell'organismo



mutazione
somatica

Area mutata

Molti tumori derivano dall'esposizione a mutageni ambientali

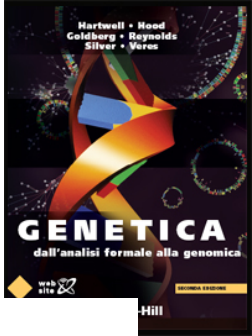


Tabella 18.2 L'incidenza di alcuni tumori comuni varia nei diversi paesi

Tessuto di origine del cancro	Popolazione con alta incidenza		Popolazione con bassa incidenza	
	Luogo	Incidenza*	Luogo	Incidenza*
Polmone	USA (New Orleans, neri)	110	India (Madras)	5,8
Seno	Hawaii (hawaiani)	94	Israele (non ebrei)	14,0
Prostata	USA (Atlanta, neri)	91	Cina (Tianjin)	1,3
Cervice dell'utero	Brasile (Recife)	83	Israele (non ebrei)	3,0
Stomaco	Giappone (Nagasaki)	82	Kuwait (Kuwaitis)	3,7
Fegato	Cina (Shanghai)	34	Canada (Nuova Scozia)	0,7
Colon	USA (Connecticut, bianchi)	34	India (Madras)	1,8
Melanoma	Australia (Queensland)	31	Giappone (Osaka)	0,2
Nasofaringe	Hong Kong	30	Gran Bretagna (sudovest)	0,3
Esofago	Francia (Calvados)	30	Romania (Cluj urbana)	1,1
Vescica	Svizzera (Basilea)	28	India (Nagpur)	1,7
Ovaie	Nuova Zelanda (polinesiani)	26	Kuwait (kuwaitiani)	3,3
Pancreas	USA (Los Angeles, coreani)	16	India (Poona)	1,5
Labbra	Canada (Newfoundland)	15	Giappone (Osaka)	0,1

*L'incidenza indica il numero di nuovi casi per anno ogni 100 000 abitanti, aggiustato per una distribuzione di età standardizzata (così da eliminare gli effetti dovuti esclusivamente a differenze nella distribuzione delle età nelle differenti popolazioni). I dati per i tumori della mammella, dell'utero e delle ovaie riguardano ovviamente solo le donne, mentre tutti gli altri si riferiscono esclusivamente ai maschi. Adattato da Cancer: *Principles and Practice of Oncology*, V.T. De Vita, S. Hellman and S.A. Rosenberg (editori), 4ª edizione Philadelphia: Lippincott, 1993; basato su dati di C. Muir et al., *Cancer Incidence in Five Continents*, Vol. 5 Lyon: International Agency for Research on cancer, 1987.

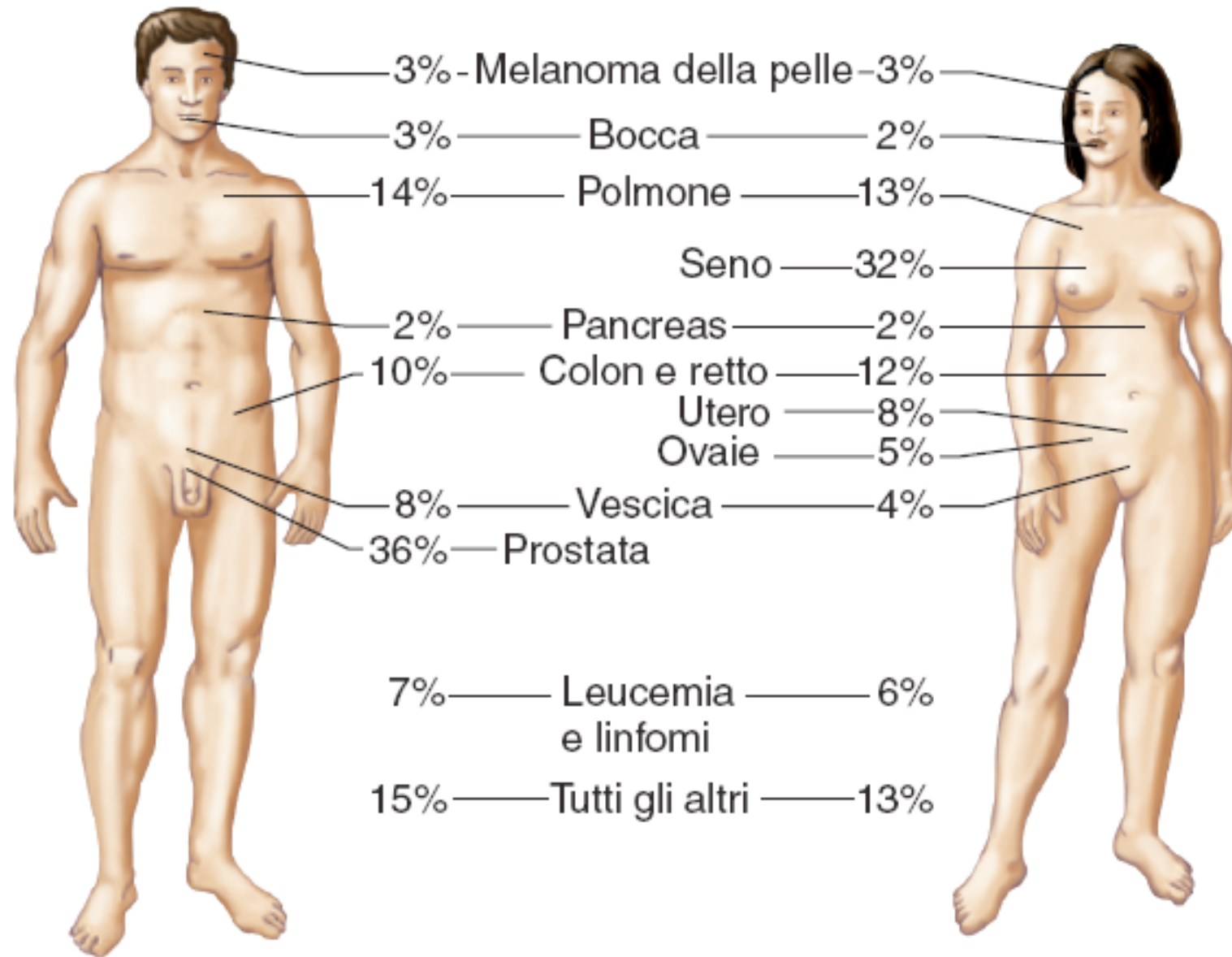
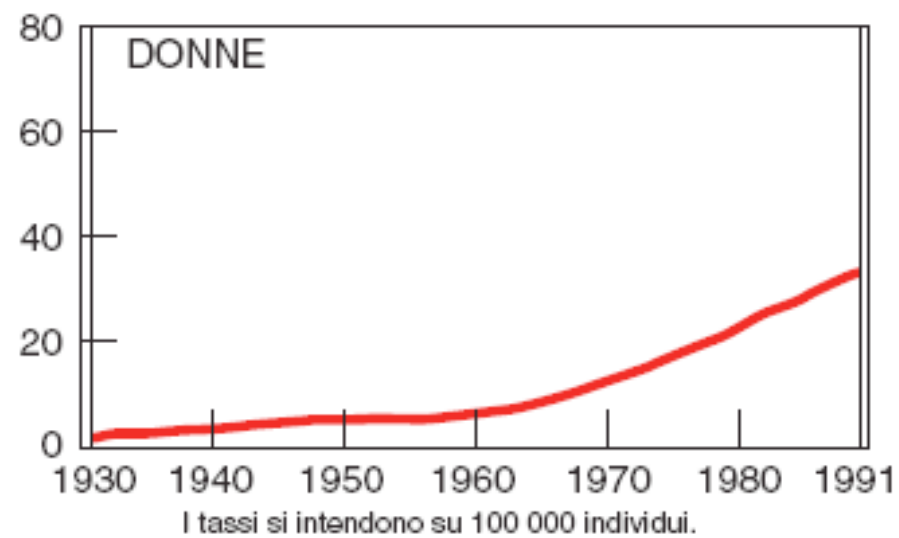
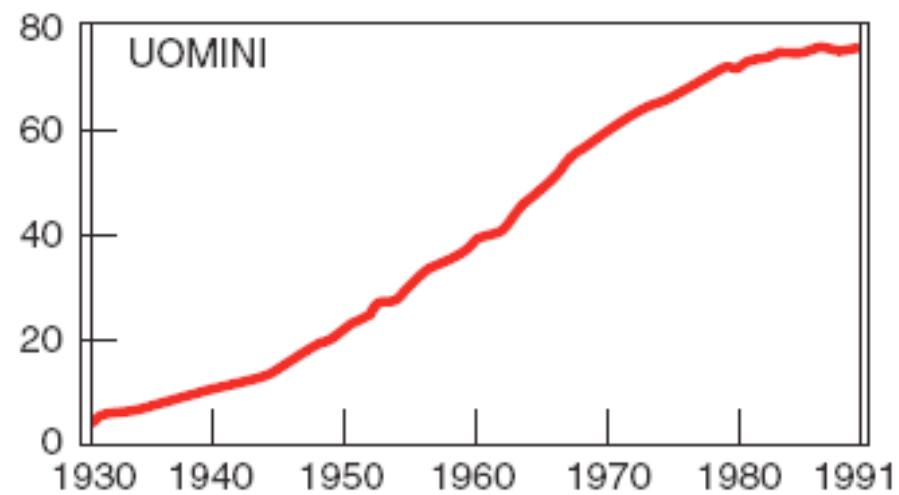


Figura 18.1 Percentuali relative di tumori che si generano in differenti parti del corpo di uomini e donne, negli Stati Uniti.

Il cancro può svilupparsi lentamente

(a) Tasso di mortalità per cancro ai polmoni, Stati Uniti 1930-91



(b)

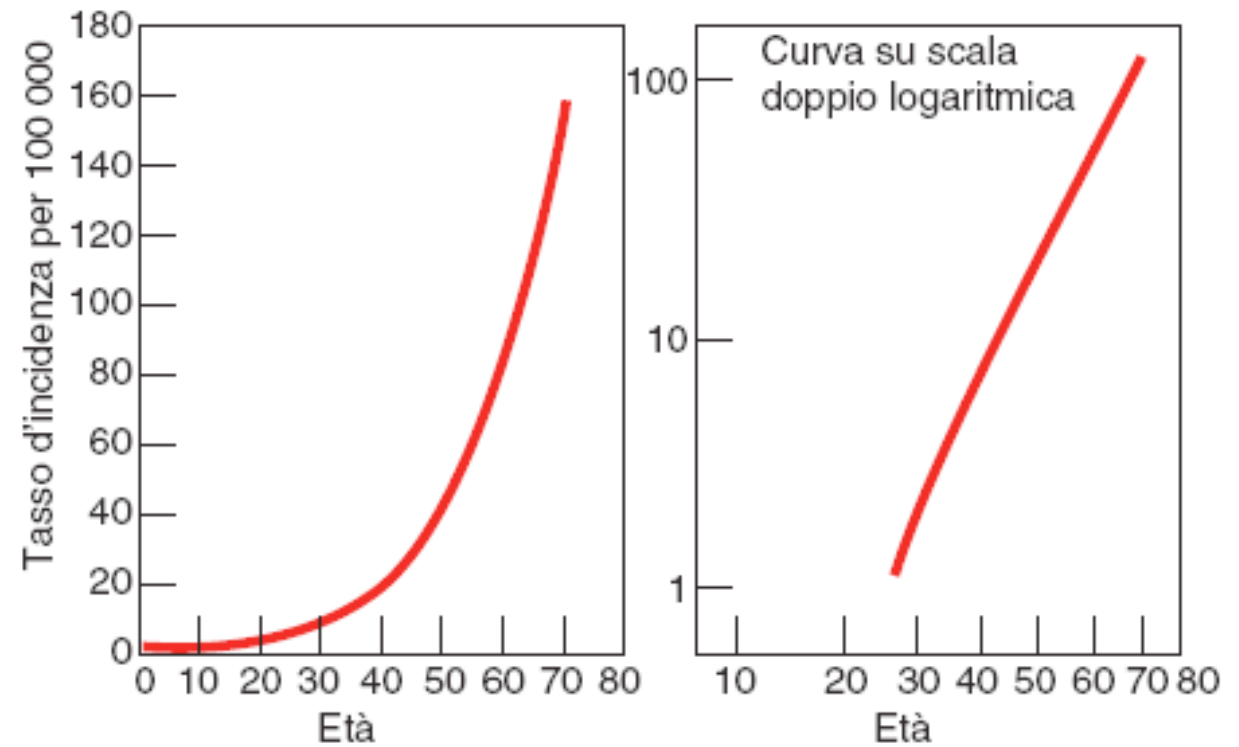


Figura 18.14 Tasso di mortalità per tumore ai polmoni e incidenza del cancro in relazione all'età. **(a)** Durante il XX secolo, negli Stati Uniti, il tasso di mortalità per tumore ai polmoni ha cominciato ad aumentare rapidamente negli uomini nel 1940, e nelle donne nel 1960. Questo riflette il fatto che il fumo divenne molto diffuso tra gli uomini circa venti anni prima che tra le donne. **(b)** L'incidenza di molti tumori mostra un notevole aumento con l'età, un risultato che si ritiene dipenda dall'accumulo di mutazioni nelle cellule somatiche.

Il cancro differisce dalla fibrosi cistica, dal morbo di Huntington e da altre condizioni genetiche causate dall'eredità di una o due copie di un singolo gene difettivo, in due modi:

(1) molte delle mutazioni che conducono al cancro si generano nelle cellule somatiche di un tessuto

(2) nel corso del tempo, prima che appaia il fenotipo tumorale, si devono accumulare delle mutazioni multiple in un gruppo di geni nei discendenti clonali di una singola cellula.

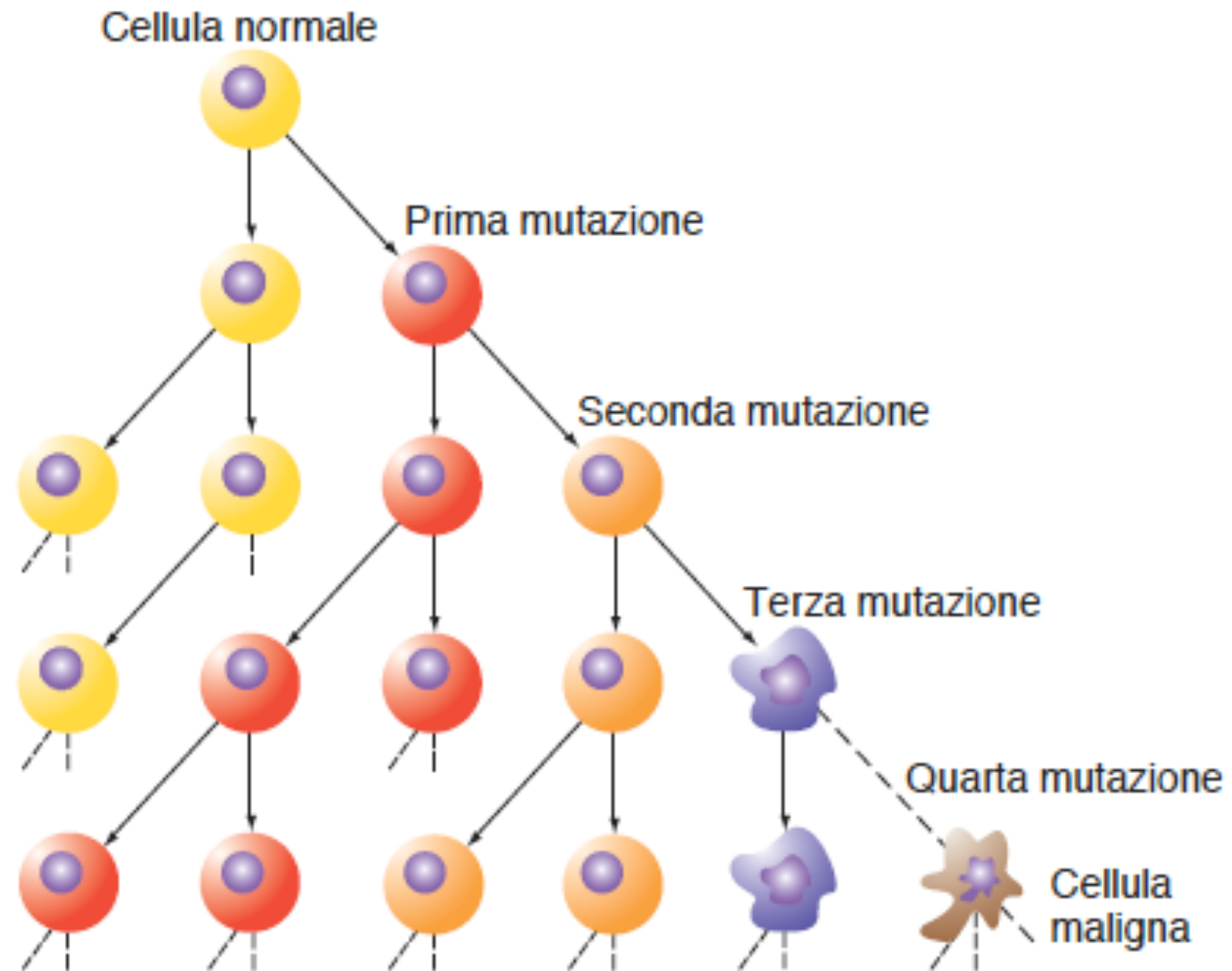


Figura 18.21 Il cancro si origina dall'accumulo di mutazioni in un clone di cellule in proliferazione.

Il cancro è definitivamente una malattia genica

I fenotipi multipli, ai quali collettivamente ci si riferisce in genere come al cancro, sono tutti il risultato di mutazioni nei geni che regolano il passaggio di una cellula durante il ciclo di crescita e di divisione cellulare.

Il controllo della divisione cellulare

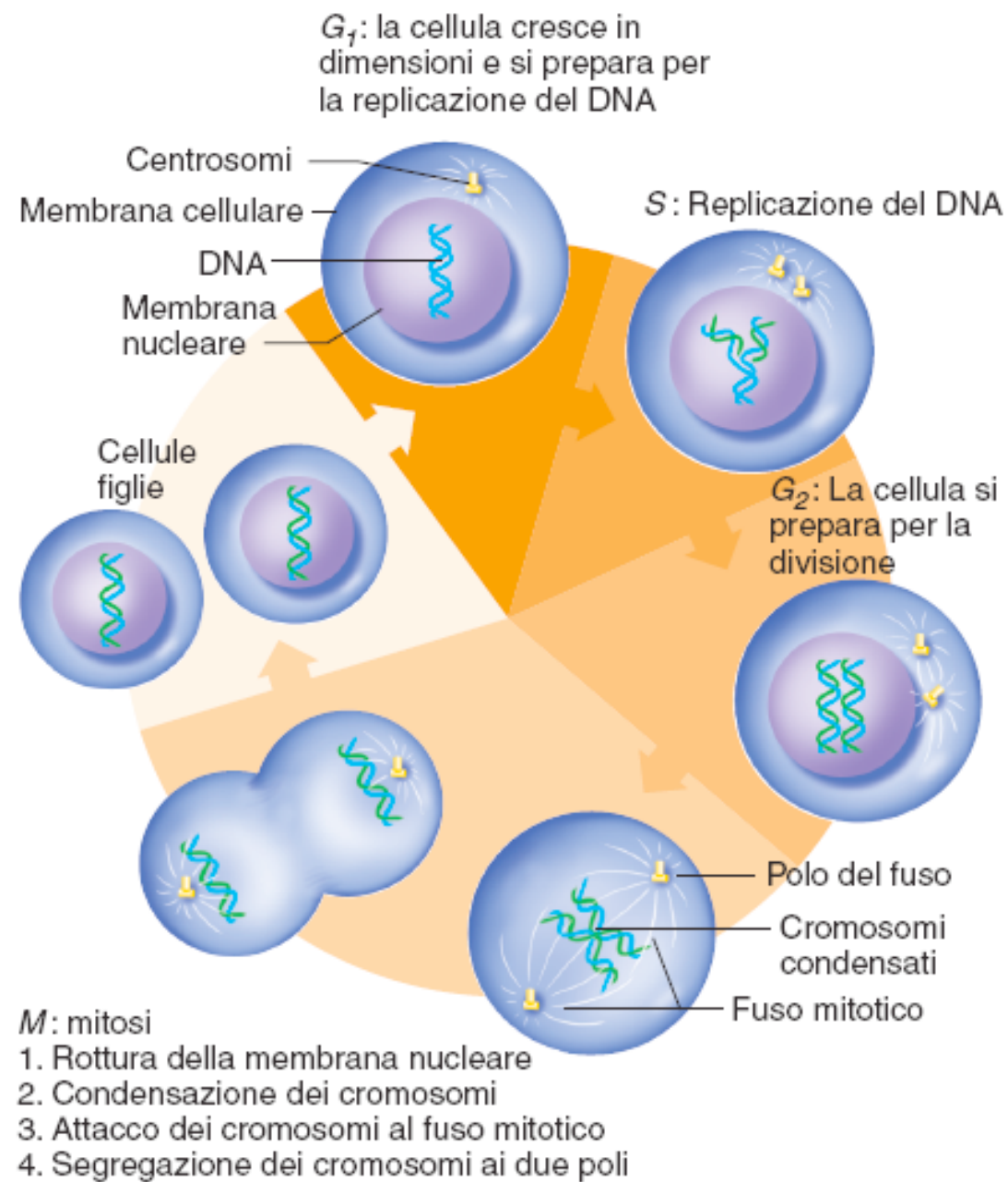
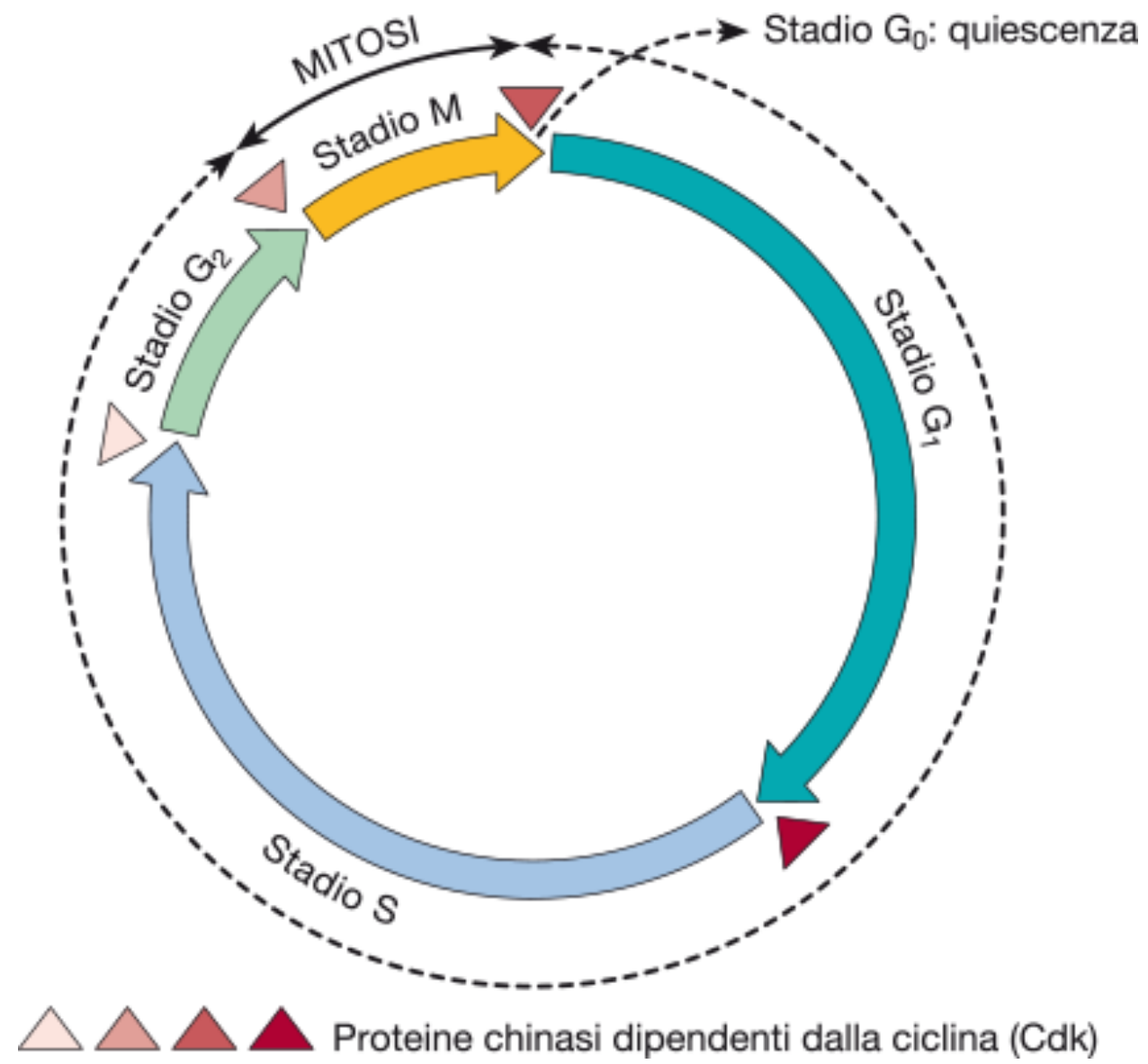


Figura 18.2 Il ciclo cellulare consiste in una serie di eventi che si verificano tra una divisione cellulare e la successiva. Dopo la divisione una cellula entra nella fase G₁, prosegue nella fase S, durante la quale si replicano i cromosomi, poi nella fase G₂ e infine nella fase M, dove i cromosomi fratelli replicati segregano nelle cellule figlie. Durante la fase M la membrana nucleare si rompe, i centrosomi formano i poli del fuso e i microtubuli costruiscono uno scheletro su cui migrano i cromosomi.



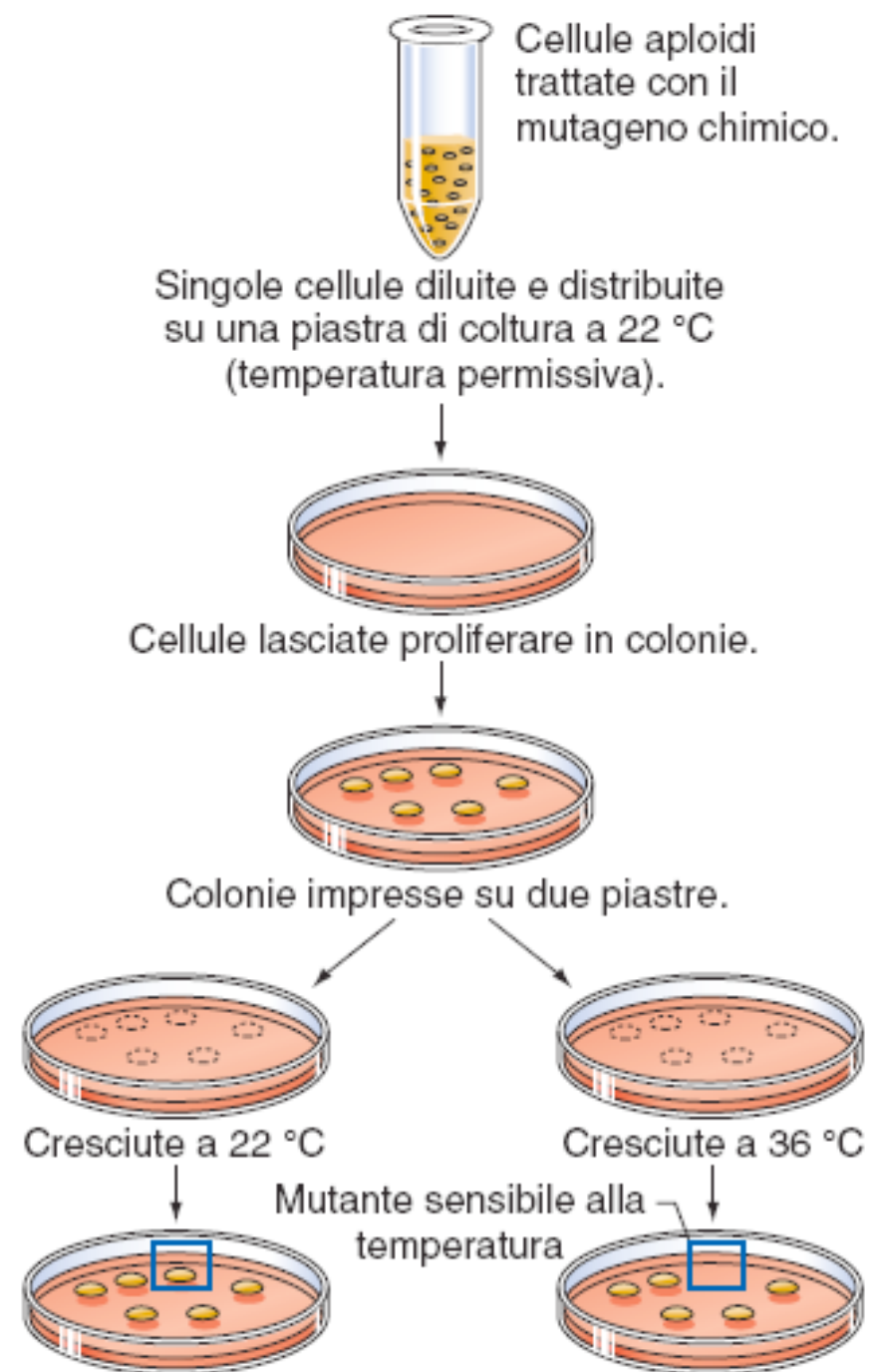


Figura 18.3 Isolamento di mutanti temperatura-sensibili in lievito. Per indurre le mutazioni una coltura di cellule aploidi di lievito viene trattata con un mutageno chimico. Le cellule trattate vengono sparse su un terreno solido, sul quale ogni cellula prolifera, trasmettendo la mutazione, e dà origine a una colonia di cellule (clone). Le colonie vengono replicate su due piastre di terreno solido. Una replica è cresciuta alla temperatura permissiva (22 °C), l'altra alla temperatura restrittiva (36 °C). Le colonie che crescono alla temperatura permissiva, ma non a quella restrittiva, contengono una mutazione sensibile alla temperatura.

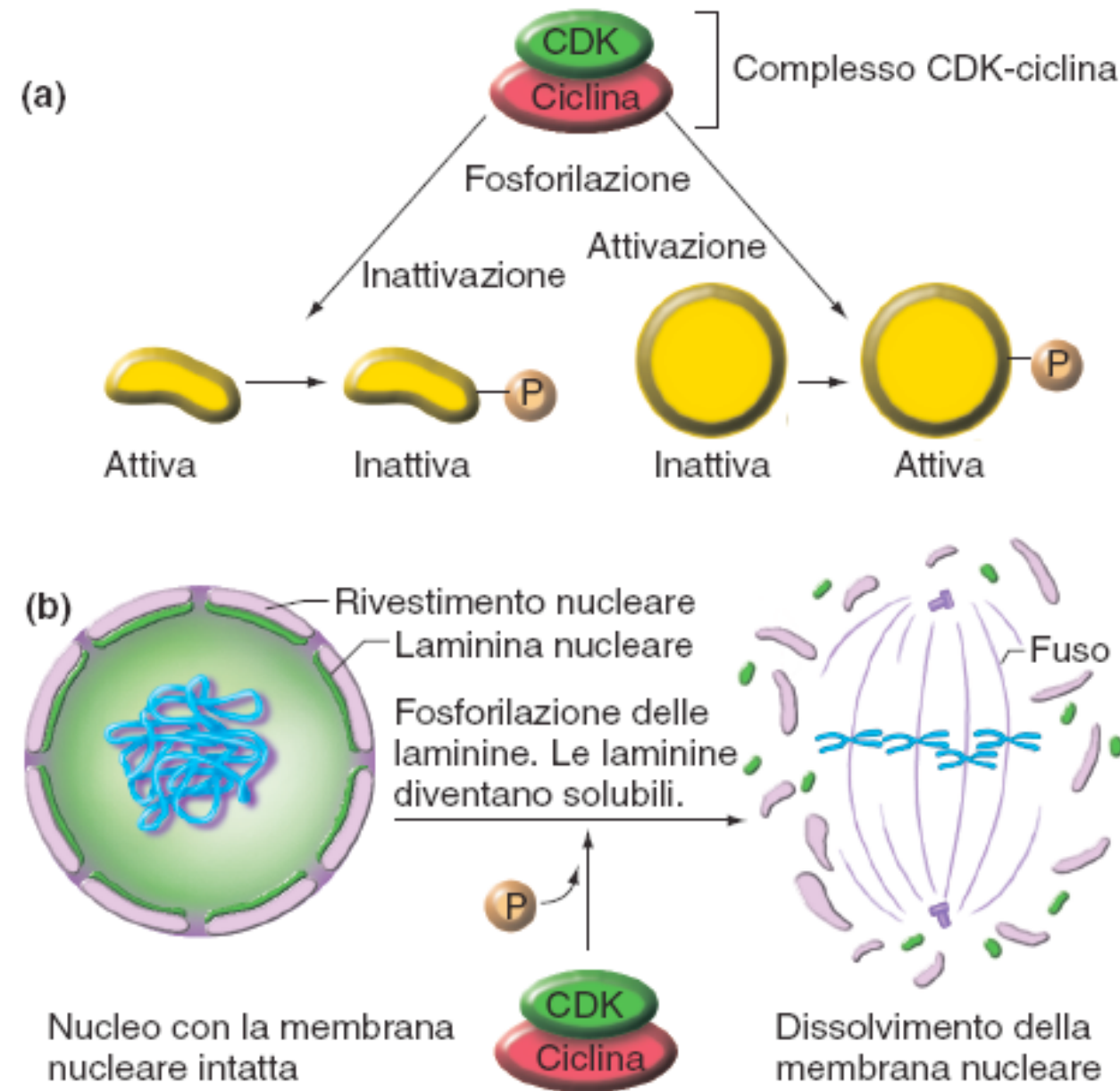


Figura 18.5 Le chinasi ciclina-dipendente (CDK) controllano il ciclo cellulare fosforilando altre proteine. **(a)** Una CDK si associa a una ciclina e acquisisce la capacità di fosforilare altre proteine. La fosforilazione può attivare o disattivare una proteina. **(b)** La fosforilazione, da parte delle CDK, delle proteine della struttura nucleare, le laminine, è responsabile del dissolvimento della membrana nucleare durante la mitosi.

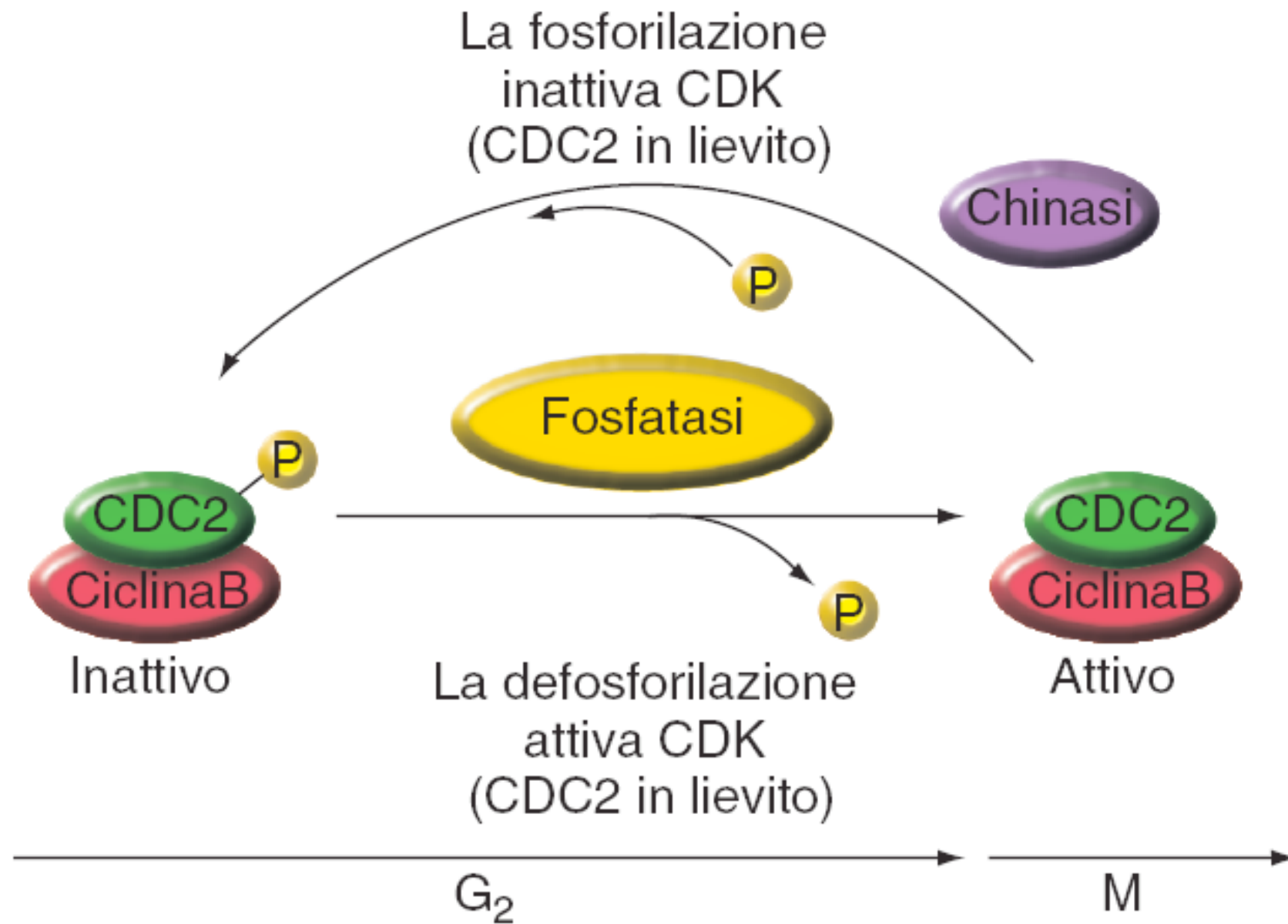
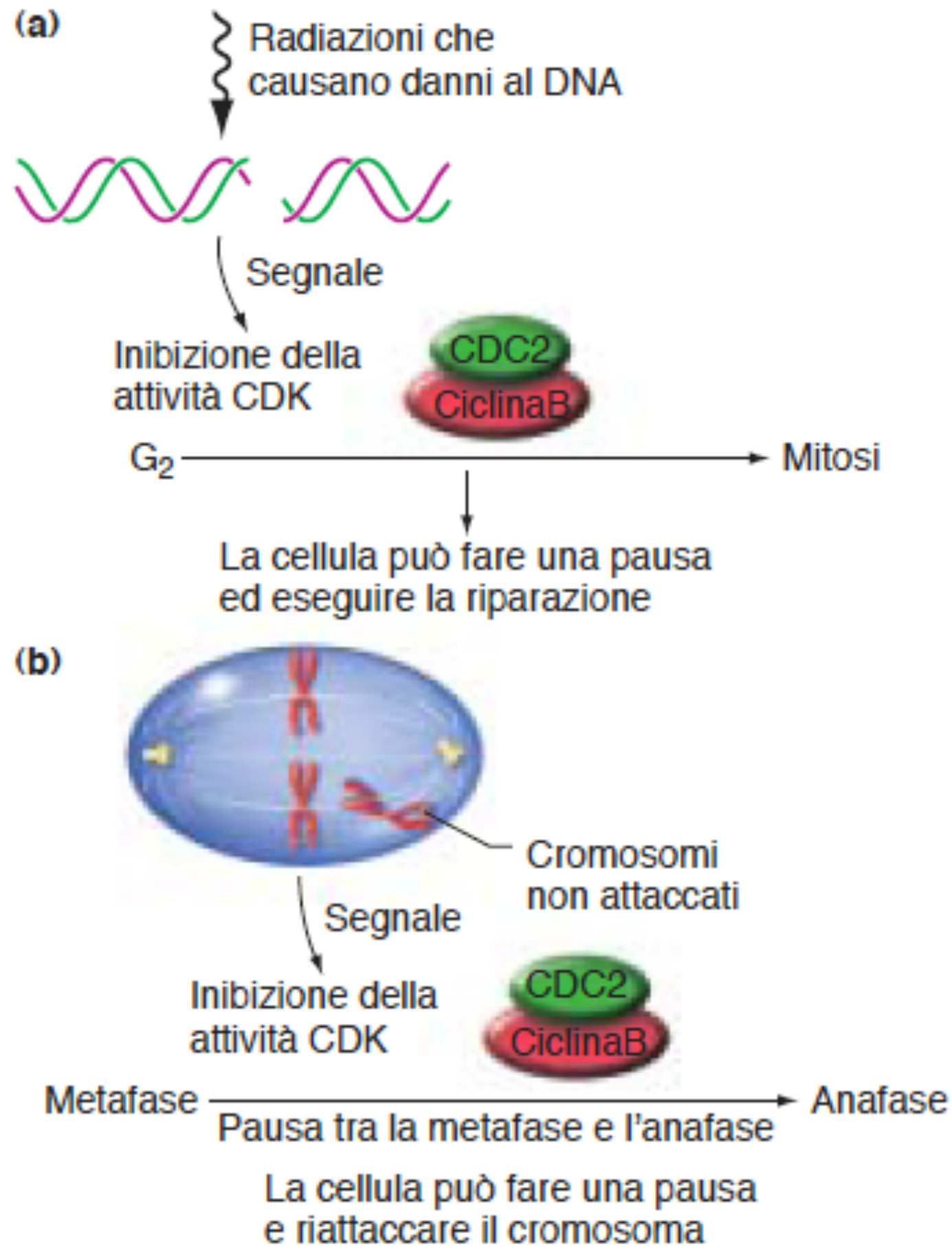


Figura 18.8 L'attività CDK in lievito è controllata da fosforilazione e defosforilazione. La proteina CDC2 quando è legata in un complesso con la ciclinaB, prima della mitosi, è inattivata dalla fosforilazione da parte una chinasi specifica, mentre all'inizio della mitosi viene attivata attraverso la defosforilazione da parte di una specifica fosfatasi.

Riassumendo

1. L'attivazione e la disattivazione dei complessi CDK-ciclina innescano le transizioni del ciclo cellulare.
2. Una gran varietà di controlli regola la successione di questi eventi
 - la fosforilazione e la defosforilazione in un sito specifico inattiva e attiva le CDK.
3. La regolazione trascrizionale della sintesi delle cicline e la rapida degradazione delle stesse cicline al completamento dei loro compiti specifici, fa apparire e scomparire queste proteine al momento appropriato.



Destini di una cellula somatica normale

- Differenziamento
- Proliferaazione
- Quiescenza
- Morte

Come fa la cellula a sapere quando si deve dividere?

Per funzionare in risposta alle necessità del corpo nel suo insieme, le cellule dipendono da segnali inviati da un tessuto all'altro.

Questi segnali informano loro quando dividersi, quando metabolizzare (cioè produrre i metaboliti che sono programmate a fare), oppure quando morire.

- In linea di massima le mutazioni oncogeniche a carico dei geni stimolatori della proliferazione cellulare sono del tipo “acquisizione di funzione” e sono dominanti, anche quando è mutata una sola copia la cellula mostrerà un fenotipo tumorale;
- Le mutazioni nei geni inibitori sono del tipo “perdita di funzione” e sono recessive, entrambe le copie devono essere mutate perché la cellula diventi tumorale

Le mutazioni che producono il cancro

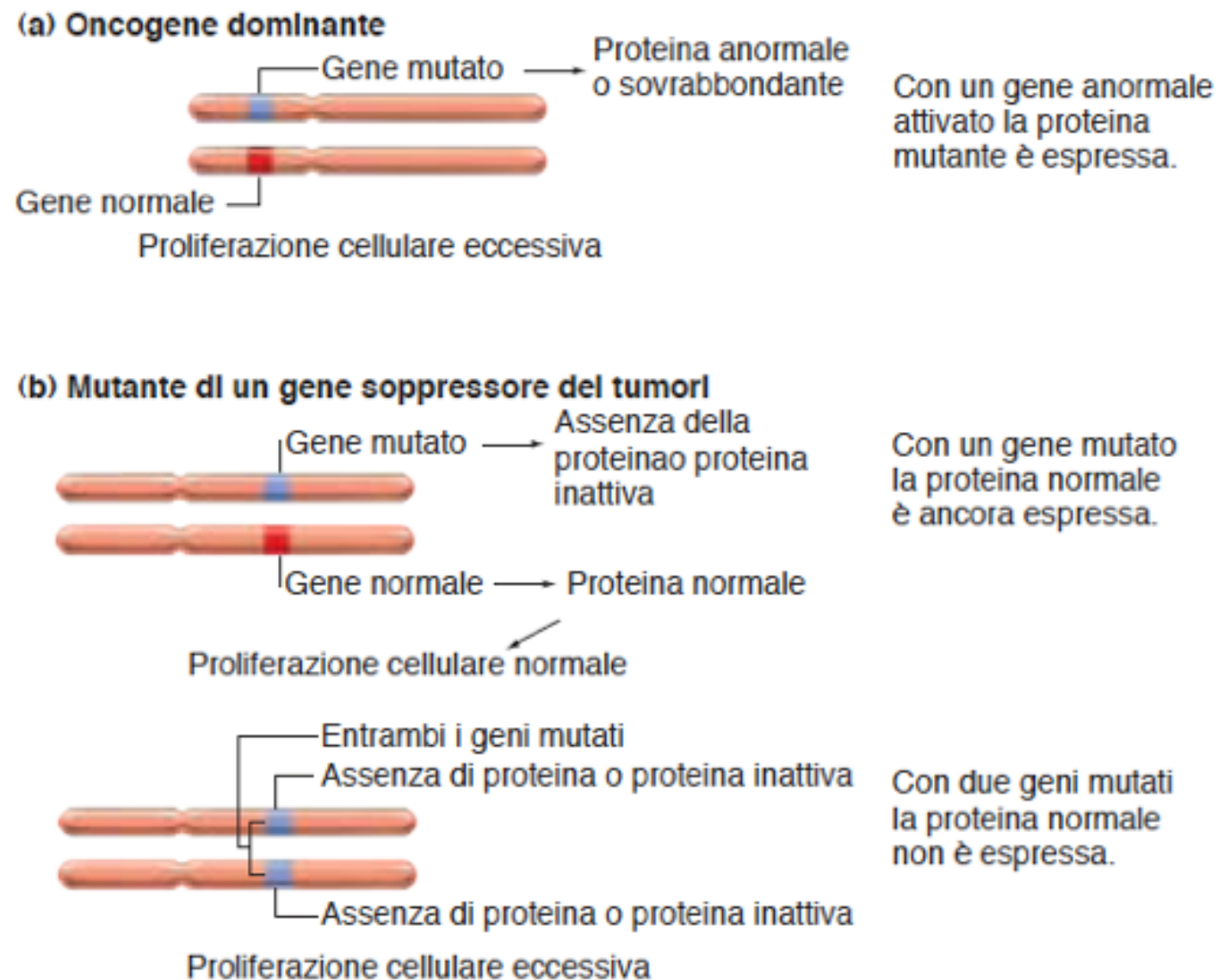


Figura 18.22 Le mutazioni che producono il cancro si verificano in due forme. (a) Le mutazioni dominanti generano oncogeni che presentano un'attività anormale o producono un'eccessiva quantità di proteina. **(b)** Le mutazioni recessive producono soppressori tumorali alterati, che di solito non generano alcun fenotipo, oppure solo un fenotipo lieve, quando sono in eterozigosi con un allele selvatico, ma alterano la proliferazione cellulare quando una seconda mutazione inattiva l'allele selvatico.

Gli oncogeni

- Fattori di crescita cellulare
- Recettori di fattori di crescita
- Proteine citoplasmatiche coinvolte nella trasduzione del segnale
- Fattori di trascrizione nucleari
- Cicline, proteine con andamento ciclico che regolano la progressione del ciclo cellulare

Funzioni dei proto-oncogeni cellulari

1. Fattori di crescita secreti



2. Recettori per i fattori di crescita

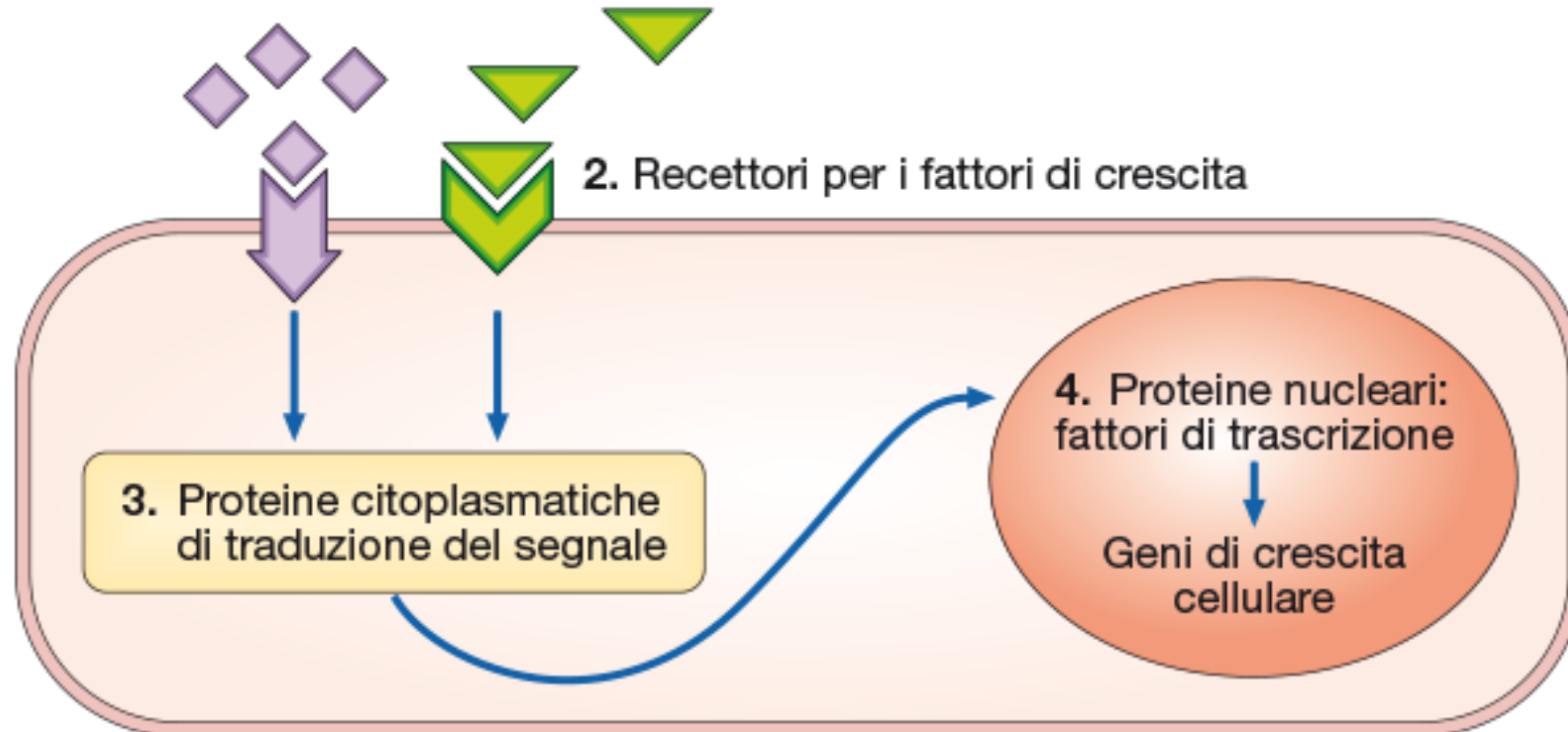


3. Proteine citoplasmatiche di traduzione del segnale



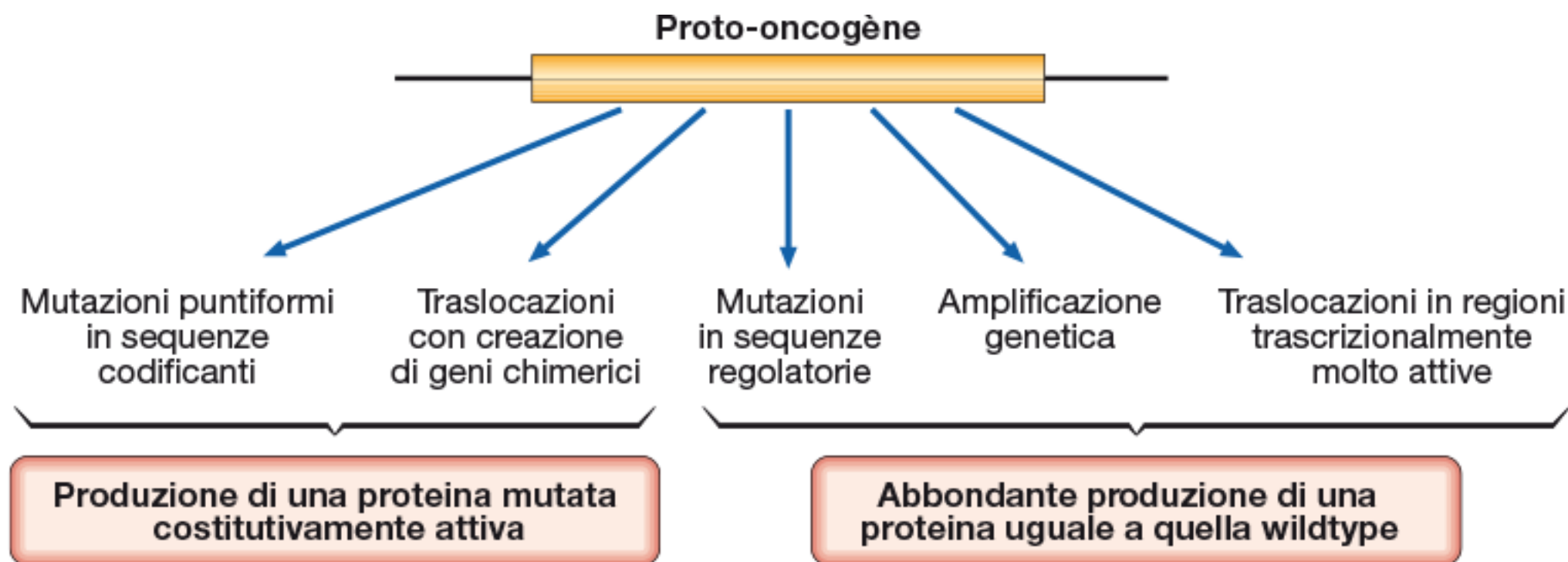
4. Proteine nucleari: fattori di trascrizione

Geni di crescita cellulare



Mutazioni geniche e cromosomiche trovate nei tumori

- Mutazioni puntiformi in regioni codificanti
- Traslocazioni cromosomiche con creazione di geni chimerici
- Mutazioni puntiformi in regioni regolative
- Amplificazione genica
- Traslocazioni di geni in regioni trascrizionalmente molto attive



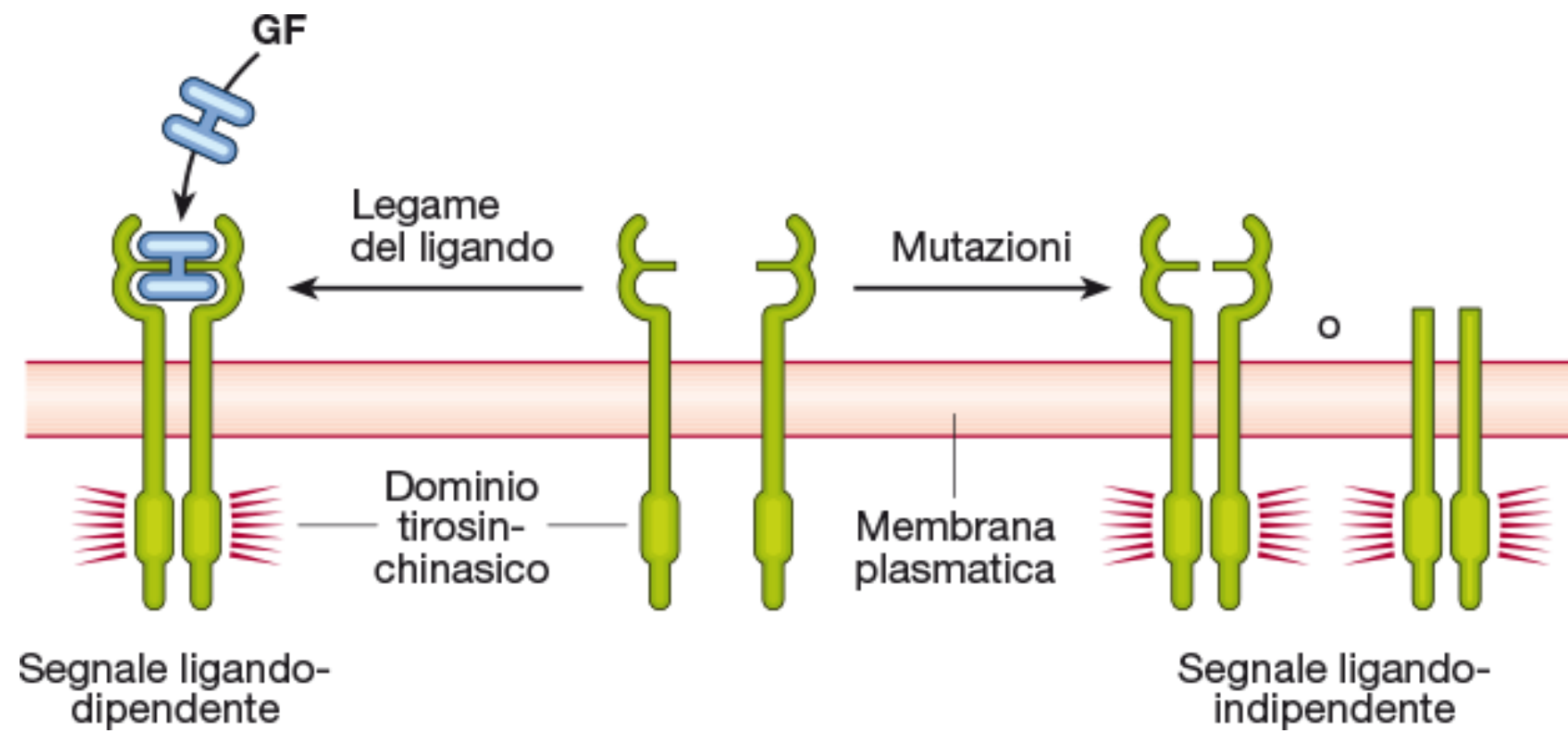
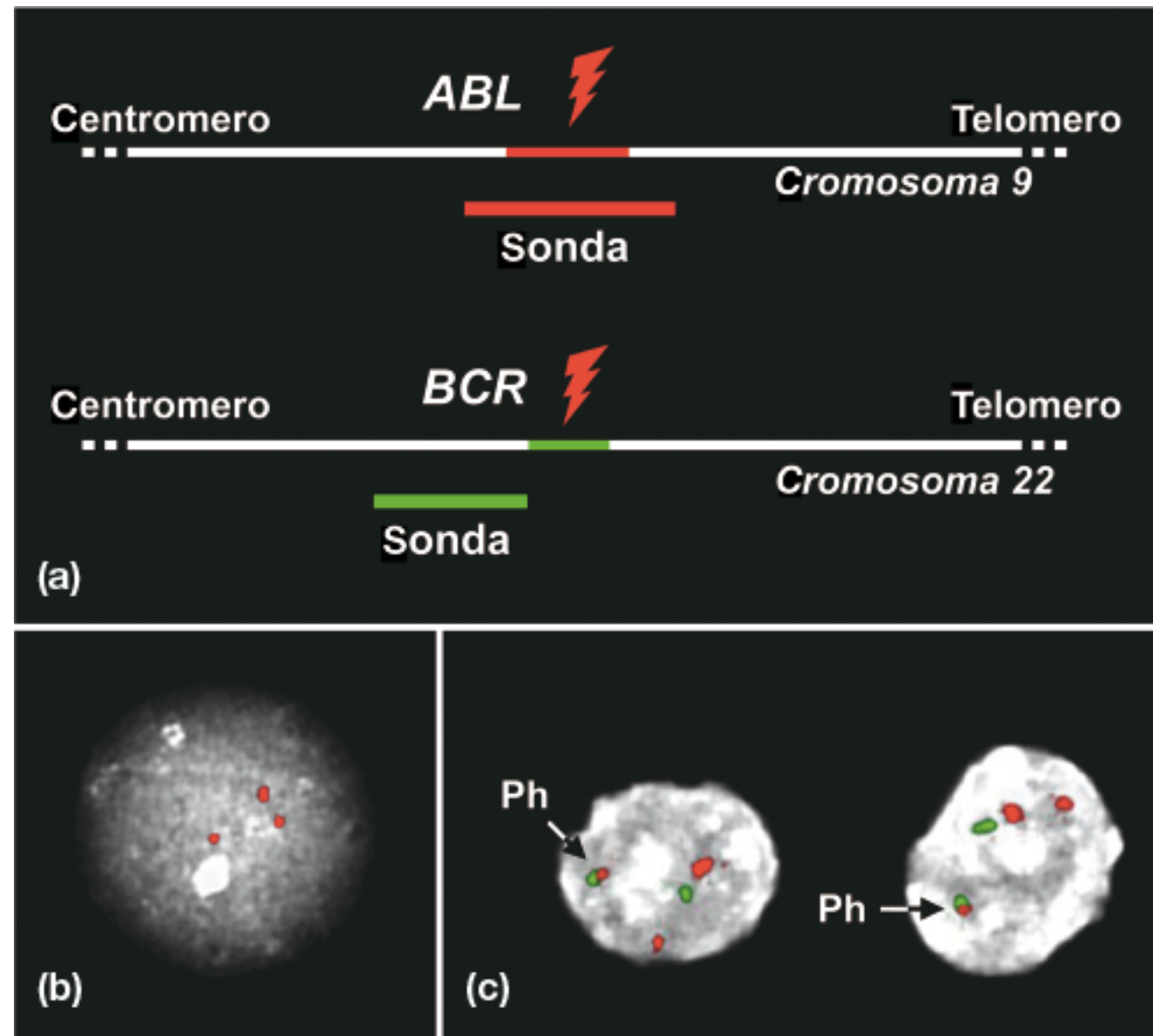


Tabella 18.4 Gli oncogeni sono membri dei sistemi di trasduzione del segnale*

Nome dell'oncogene	Associazione tumorale	Meccanismo di attivazione	Proprietà del prodotto genico
<i>hst</i>	Carcinoma dello stomaco	Riarrangiamento cromosomico	Fattore di trascrizione
<i>erb-B</i>	Carcinoma mammario, glioblastoma	Amplificazione genica	Recettore di un fattore di crescita
<i>trk</i>	Carcinoma papillare della tiroide	Riarrangiamento cromosomico	Recettore di un fattore di crescita
<i>Ha-ras</i>	Carcinoma della vescica	Amplificazione genica	Proteine del segnale di legame a GDP/GTP
<i>raf</i>	Carcinoma dello stomaco	Riarrangiamento cromosomico	Serina/treonin chinasi citoplasmatica
<i>myc</i>	Linfomi, carcinomi	Amplificazione genica, traslocazione cromosomica	Fattore di trascrizione nucleare

*Sono mostrati i ruoli di molti dei prodotti degli oncogeni che sono membri delle vie di trasduzione del segnale e i modi in cui vengono attivati nelle cellule umane.



Il cromosoma Philadelphia è causa della leucemia mieloide cronica

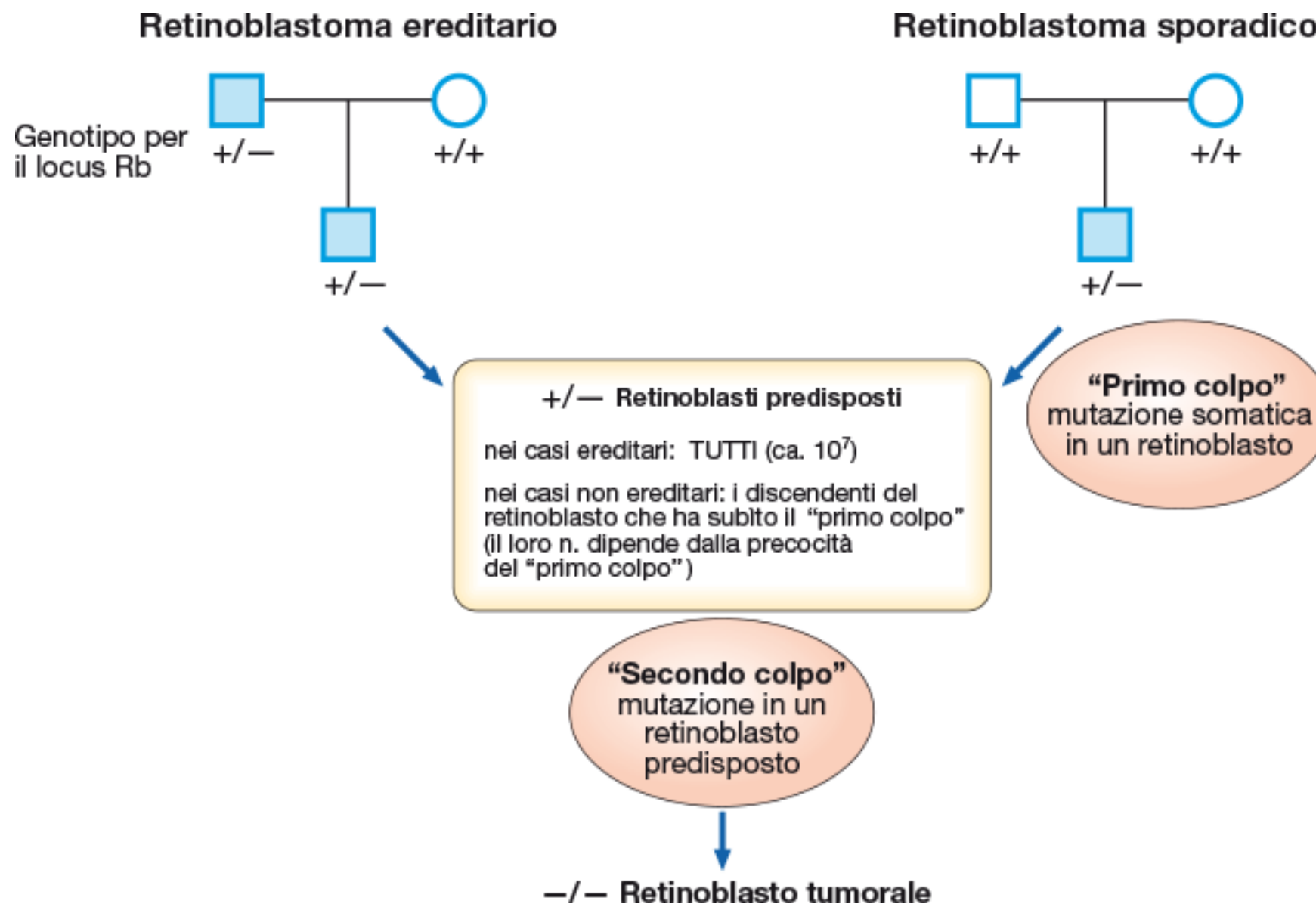
Onco-soppressori

- I geni onco-soppressori producono fattori direttamente coinvolti con funzione inibitoria nel controllo del ciclo cellulare:
- Fattori pro-apoptotici
- Fattori coinvolti nel riparo del danno al DNA

Tabella 18.5 Gli alleli mutanti di questi geni soppressori dei tumori diminuiscono l'accuratezza della riproduzione cellulare*

Gene	Normale funzione del gene (se nota) o malattia derivante dalla mutazione	Funzione del normale prodotto proteico
<i>p53</i>	Controllo del checkpoint G ₁ -S	Fattore di trascrizione
<i>RB</i>	Controllo della transizione G ₁ -S	Inibitore di un fattore di trascrizione
<i>p21</i>	Controllo della transizione G ₁ -S	Inibitore di CDK
<i>ATM</i>	Controllo della fase G ₁ -S e del checkpoint G ₂ -M	Protein chinasi DNA-dipendente
<i>BS</i>	Riparazione ricombinazionale del danno al DNA	Ligasi del DNA o dell'RNA
<i>XP</i>	Escissione del danno al DNA	Vari enzimi
<i>hMSH2, hMLH1</i>	Correzione degli errori d'appaiamento (mismatch)	Vari enzimi
<i>FA</i>	Anemia di Fanconi	Sconosciuta
<i>BRCA1</i>	Riparazione delle rotture del DNA	Sconosciuta
<i>BRCA2</i>	Riparazione delle rotture del DNA	Sconosciuta

*Molti geni soppressori dei tumori sono stati associati a funzioni specifiche nel ciclo cellulare, necessarie per l'accuratezza della divisione cellulare.



Tumori sporadici ed ereditari

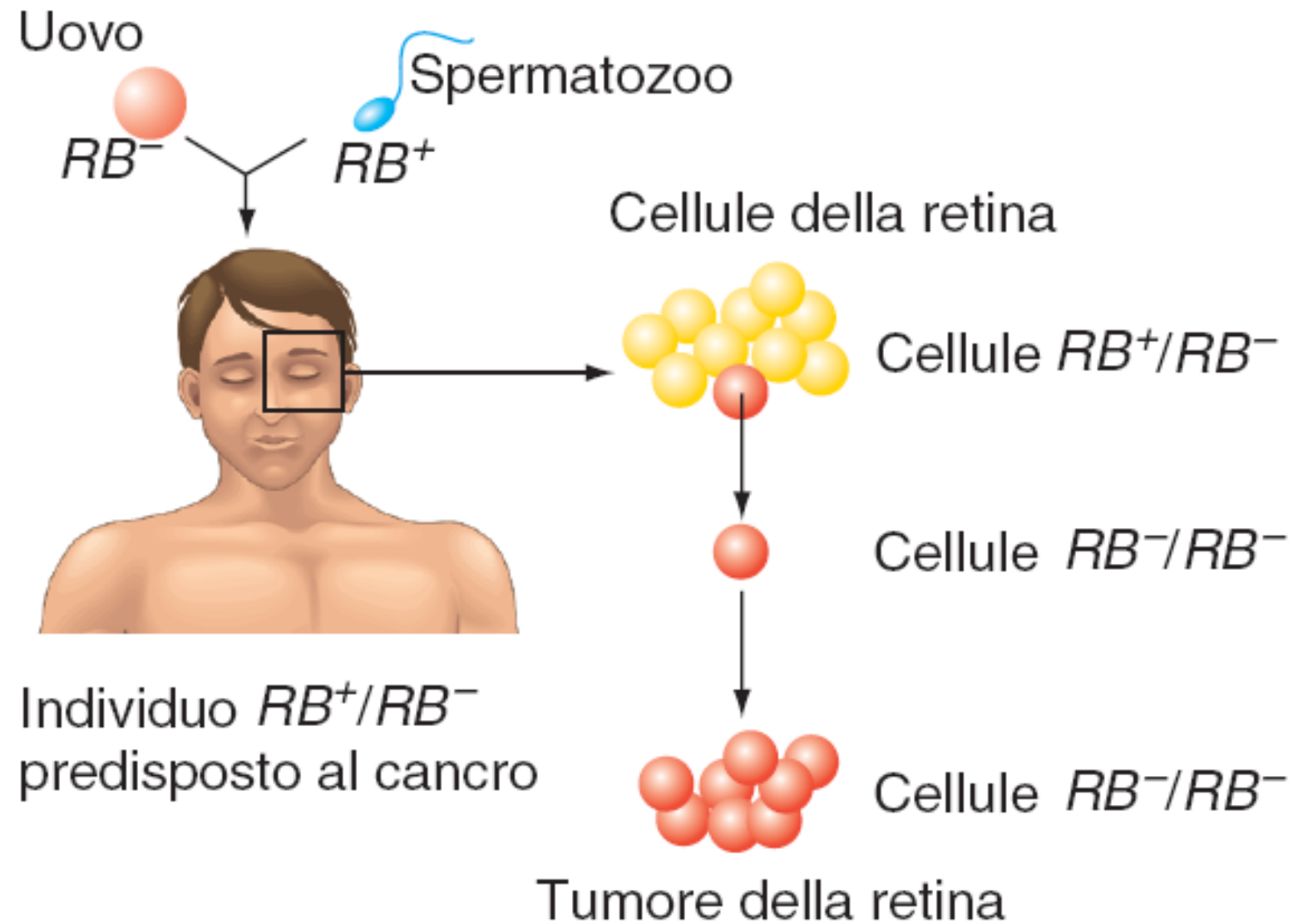
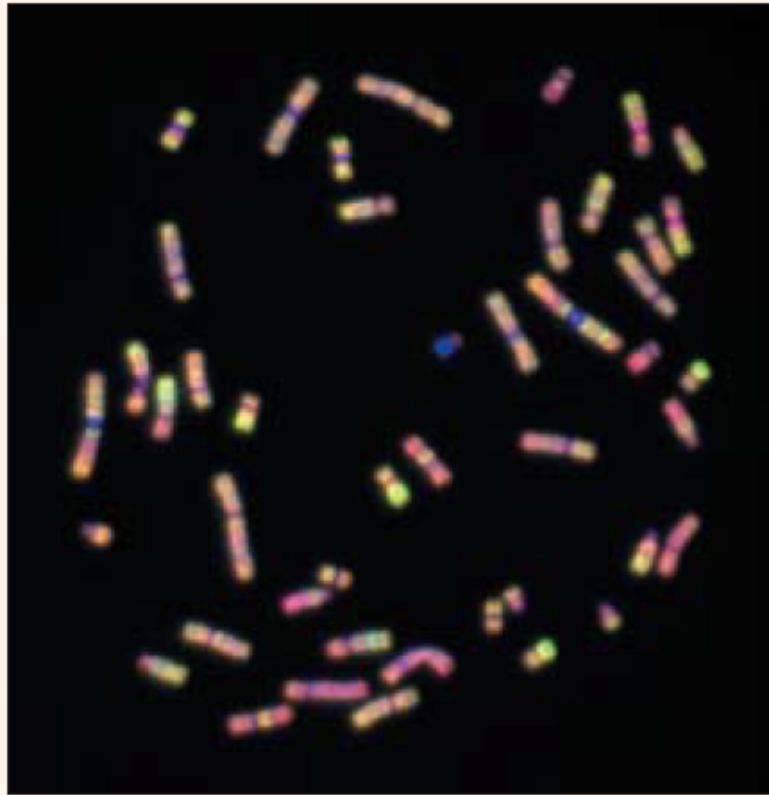


Figura 18.15 Gli individui che ereditano una copia dell'allele RB^- sono predisposti al cancro alla retina. Durante la proliferazione delle cellule della retina l'allele RB^+ viene perso o muta e il tumore cresce nei cloni di cellule RB^-/RB^- .

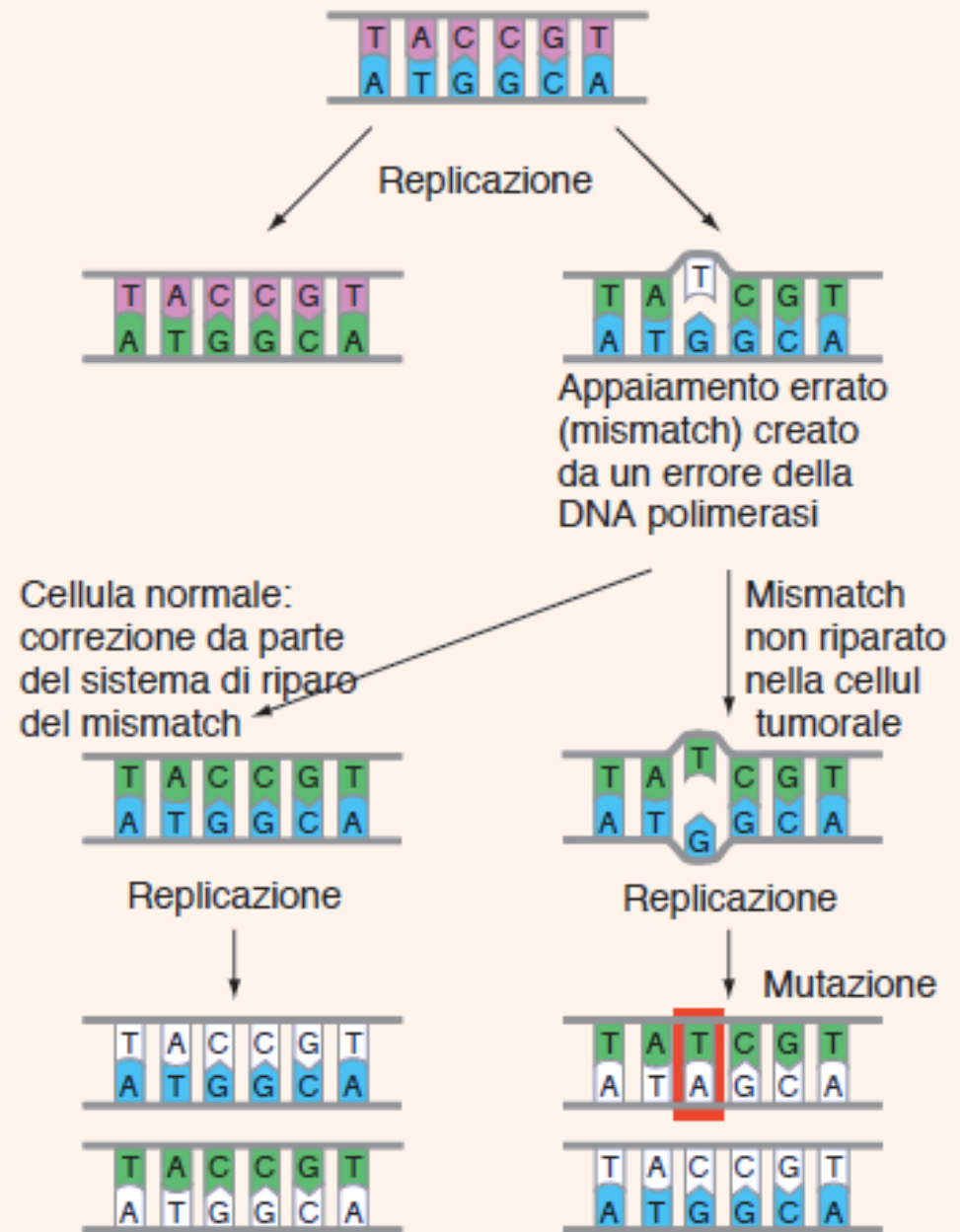
Caratteristica 	Forma Sporadica (Non Ereditaria)	Forma Ereditaria
Frequenza	~60% dei casi	~40% dei casi
Occhi colpiti	Quasi sempre uno solo (unilaterale)	Spesso entrambi (bilaterale)
Letalità infantile (tumore primario)	Bassa (<5%) con cure tempestive	Bassa (<5%) con cure tempestive
Rischio tumori secondari futuri	No (pari alla norma)	Elevato (sarcomi, melanomi, ecc.)

Cambiamenti che producono instabilità genomica e cariotipica

(b.2)



(b.1)



1. Difetti nei meccanismi delle replicazione del DNA

2. Aumento delle aberrazioni cromosomiche

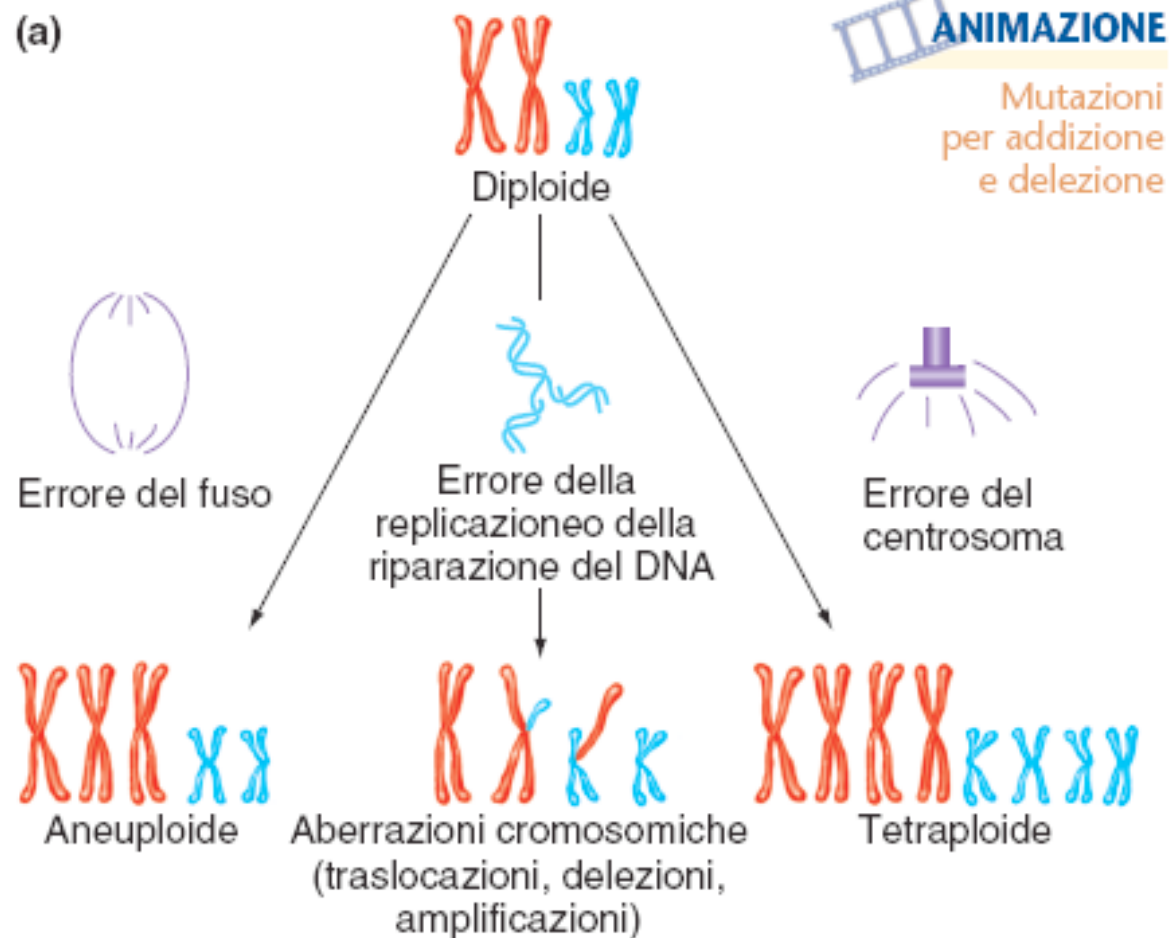
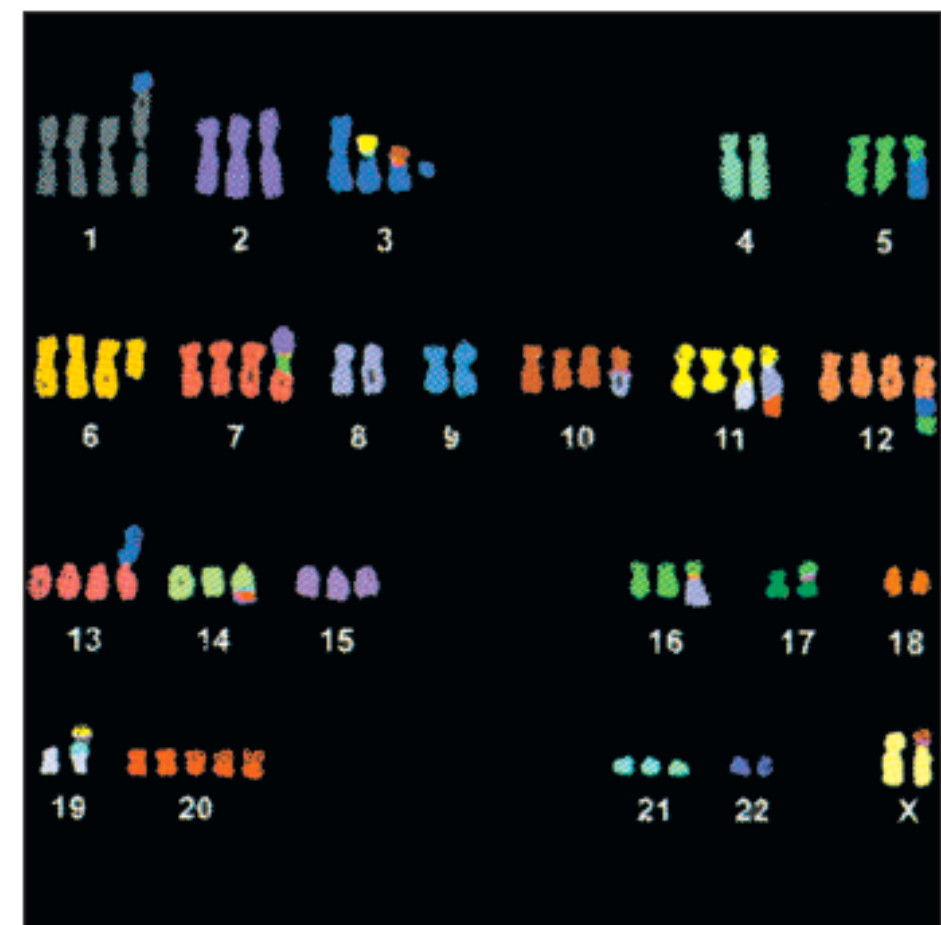
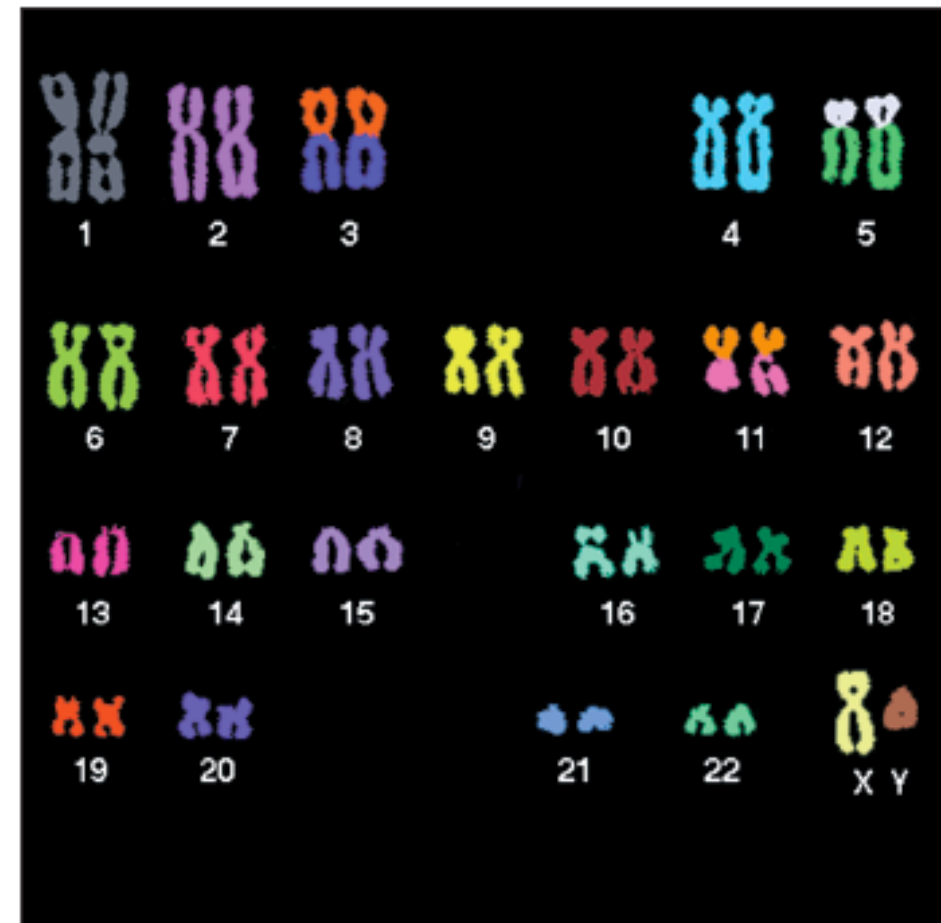


Figura 18.9 Tre classi di errori che conducono all'aneuploidia nelle cellule tumorali. **(a)** Gli errori nel fuso mitotico possono causare una segregazione scorretta dei cromosomi determinando l'aneuploidia di un intero cromosoma; i danni durante la replicazione del DNA e/o la riparazione del DNA possono portare ad aberrazioni cromosomiche; gli errori del centrosoma possono dare origine a cambiamenti nella ploidia della cellula. **(b)** Le diagnosi di aneuploidia nei tumori è stata migliorata notevolmente dalle tecniche di "painting dei cromosomi" che utilizzano una serie di coloranti fluorescenti attaccati alle sequenze di DNA dei cromosomi. Una scelta appropriata di coloranti e sonde può fare in modo che ogni cromosoma normale appaia di un unico colore relativamente omogeneo (*in alto*), mentre i cromosomi delle cellule tumorali presentano molti riarrangiamenti e l'intero cromosoma può presentare più colorazioni (*in basso*).

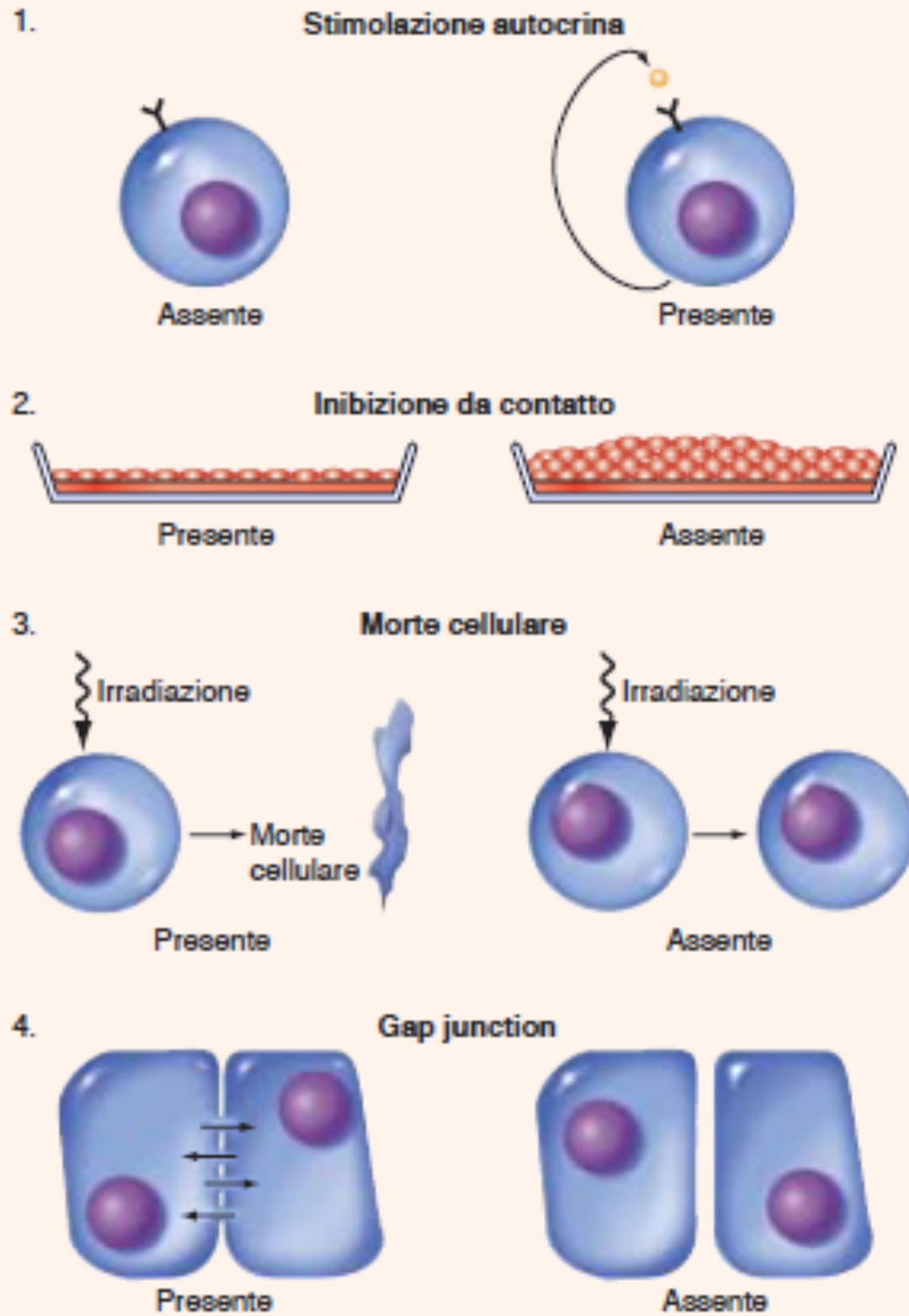
(b) © Michael R. Speicher e David C. Ward, "The Coloring of Cytogenetics." *Nature Genetics*, 2:1046-1048, 1996, figure 2 e 3. Cortesia di David C. Ward.

(b)



(a) LA MAGGIOR PARTE
DELLE CELLULE NORMALI

MOLTE CELLULE TUMORALI



Cambiamenti che producono
crescita cellulare incontrollata

1. Stimolazione autocrina
2. Perdita dell'inibizione da contatto.
3. Resistenza alla morte cellulare
4. Perdita delle giunzioni delle gap (gap junction).

Cambiamenti che producono una potenziale immortalità

1. Perdita delle limitazioni della divisione cellulare
2. Capacità di crescere in coltura.
3. Ripristino dell'attività telomerasica

Cambiamenti che permettono al tumore di distruggere i tessuti circostanti e di invadere i tessuti distanti

1. La capacità di formare metastasi
2. Angiogenesi
3. Elusione della sorveglianza immunologica

