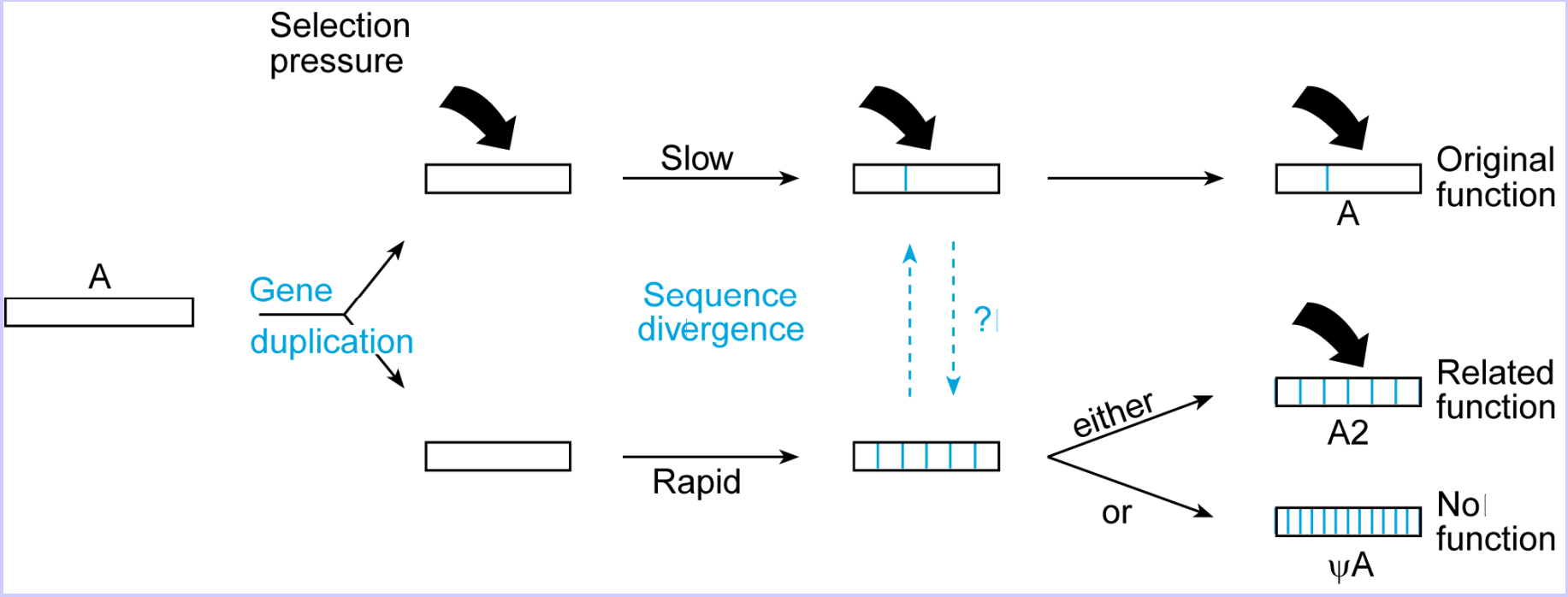
Le mutazioni

www.fisiokinesiterapia.biz

Il DNA del genoma umano è soggetto a cambiamenti

Il DNA del genoma umano,
come quello di tutti i genomi,
non è un'entità stabile ma è soggetto a una serie di cambiamenti ereditabili ("mutazioni")

Le mutazioni costituiscono uno dei principali meccanismi evolutivi ma possono anche essere patogene.



La duplicazione genica può portare all'acquisizione di nuove funzioni
o alla formazione di uno pseudogene

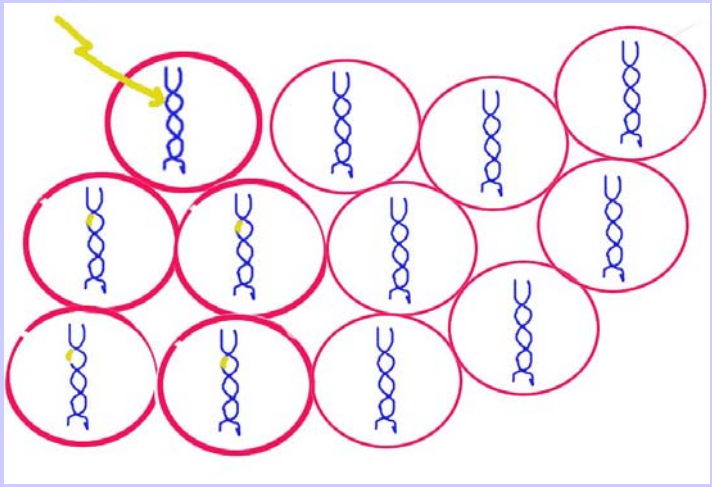
L'aumento di geni durante l'evoluzione avviene per duplicazione dei geni già esistenti.

Alcuni dei geni duplicati assumono nuove funzioni grazie all'acquisizione di mutazioni

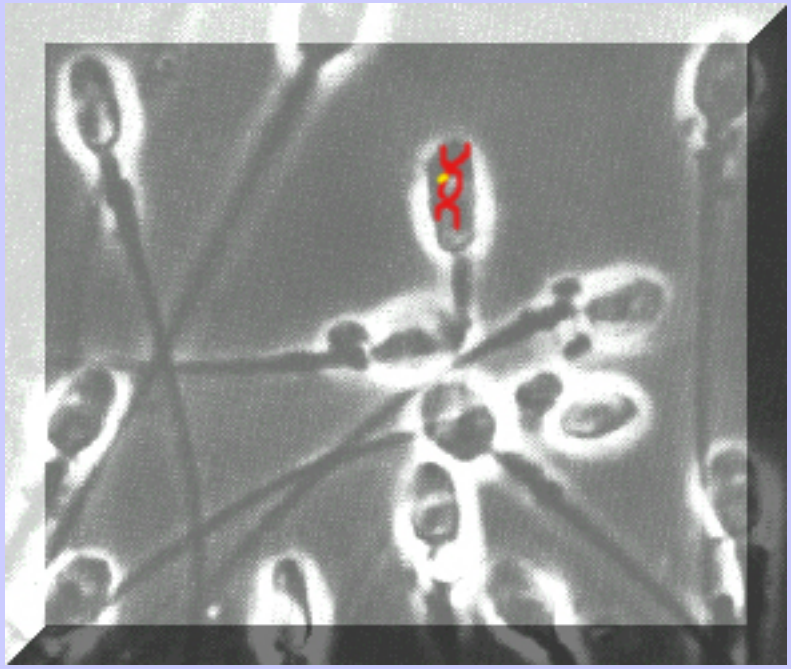
Le mutazioni possono essere classificate in base al:

1- Tipo cellulare in cui hanno origine

In ciascun individuo nuove mutazioni possono insorgere sia nelle cellule somatiche che nella linea germinale

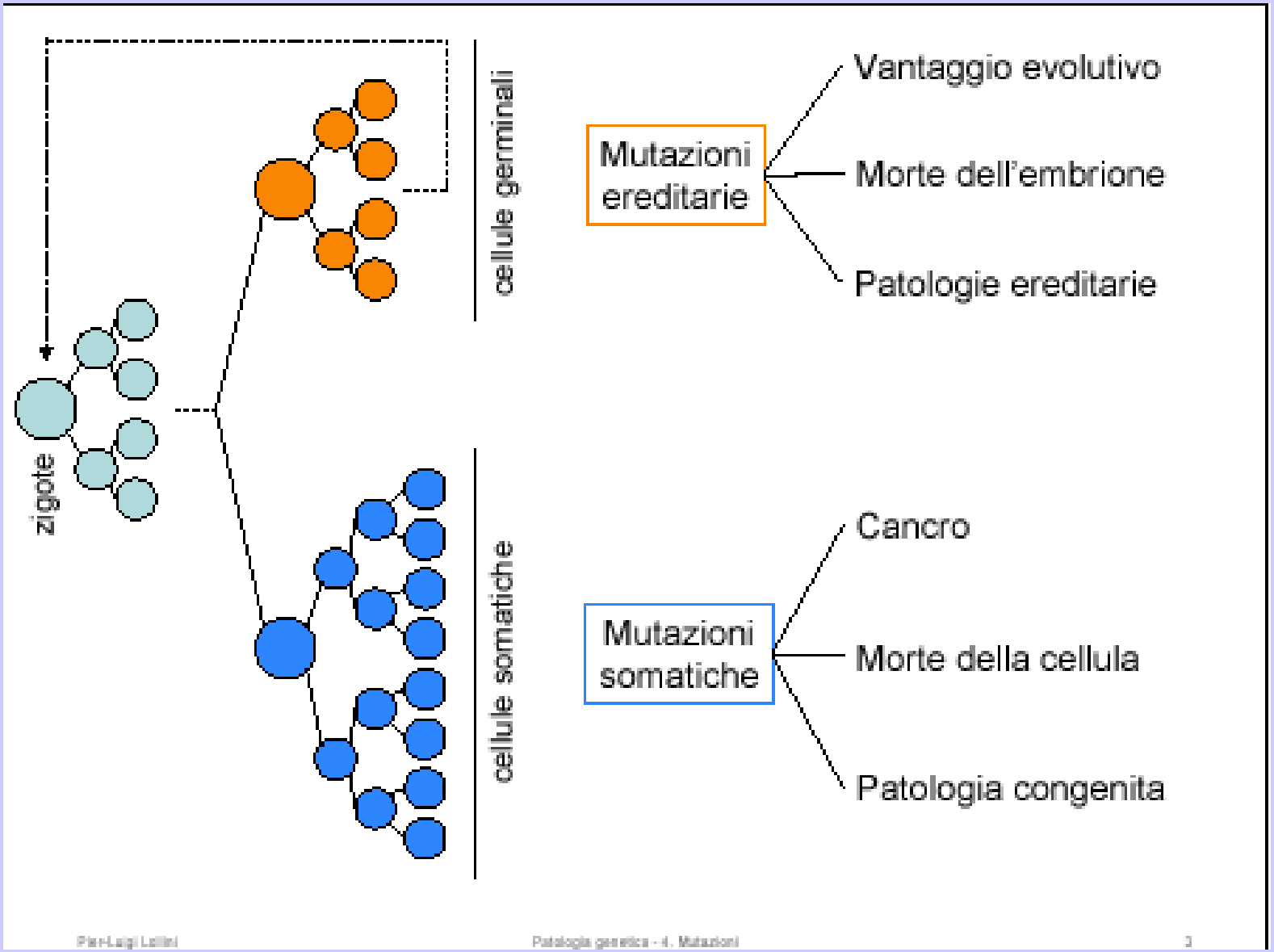


Le mutazioni delle cellule somatiche possono propagarsi alle cellule figlie



Le mutazioni nella linea germinale possono propagarsi ad altri membri della popolazione

Conseguenze

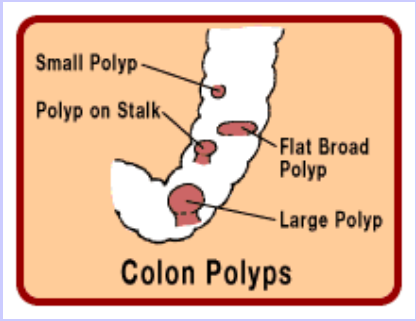


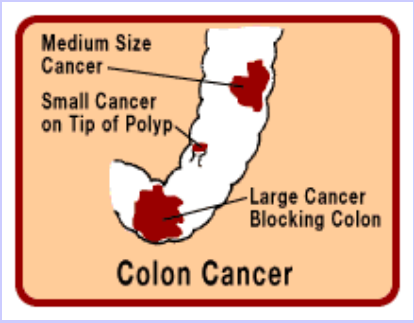
Le mutazioni possono essere la causa diretta di un'anomalia fenotipica o possono determinare una maggiore suscettibilità a malattie (I)

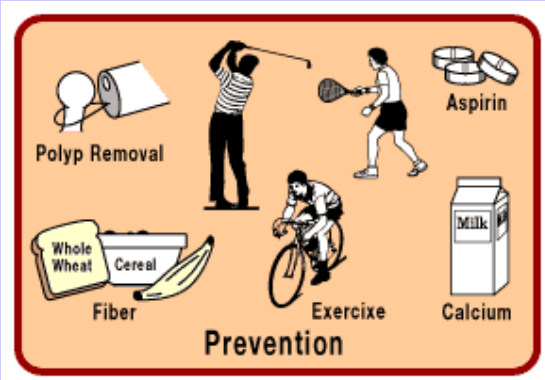
Acondroplasia:
Arti corti rispetto al tronco
Fronte prominente
Radice nasale bassa
Pelle ridondante agli arti

Le mutazioni possono essere la causa diretta di un'anomalia fenotipica o possono determinare una maggiore suscettibilità a malattie (II)

Tumore del colon







2- in base all'estensione della regione bersaglio

- **Geniche o puntiformi**
- **Cromosomiche**
- **Genomiche**

www.fisiokinesiterapia.biz

Le mutazioni cromosomiche :

Cambiamenti nella struttura dei cromosomi

1. **Delezioni**
2. **Duplicazioni**
3. **Inversioni**
4. **Traslocazioni**

Le mutazioni genomiche:

Cambiamenti nel numero dei cromosomi

-Aneuploidia : perdita o aggiunta di uno o pochi cromosomi

-Poliploidia : il numero cromosomico diventa multiplo di quello normale

Le mutazioni geniche

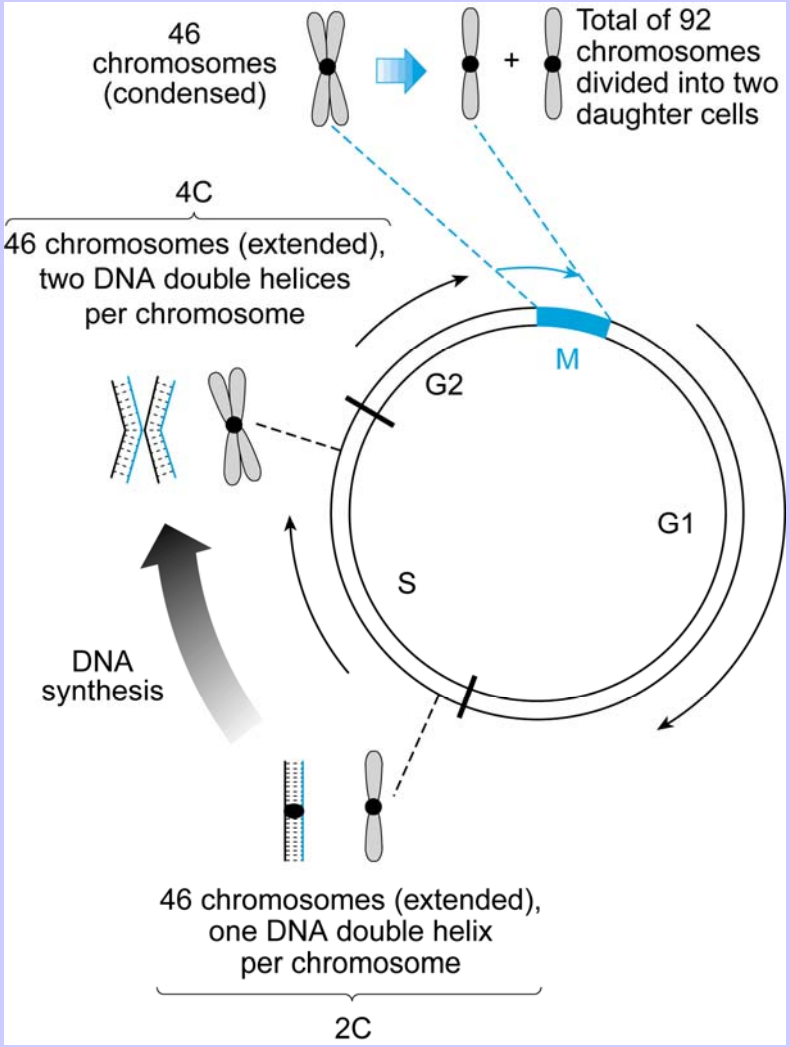
Modificazioni chimiche della molecola del DNA

Sostituzioni di basi

Delezioni o inserzioni di basi

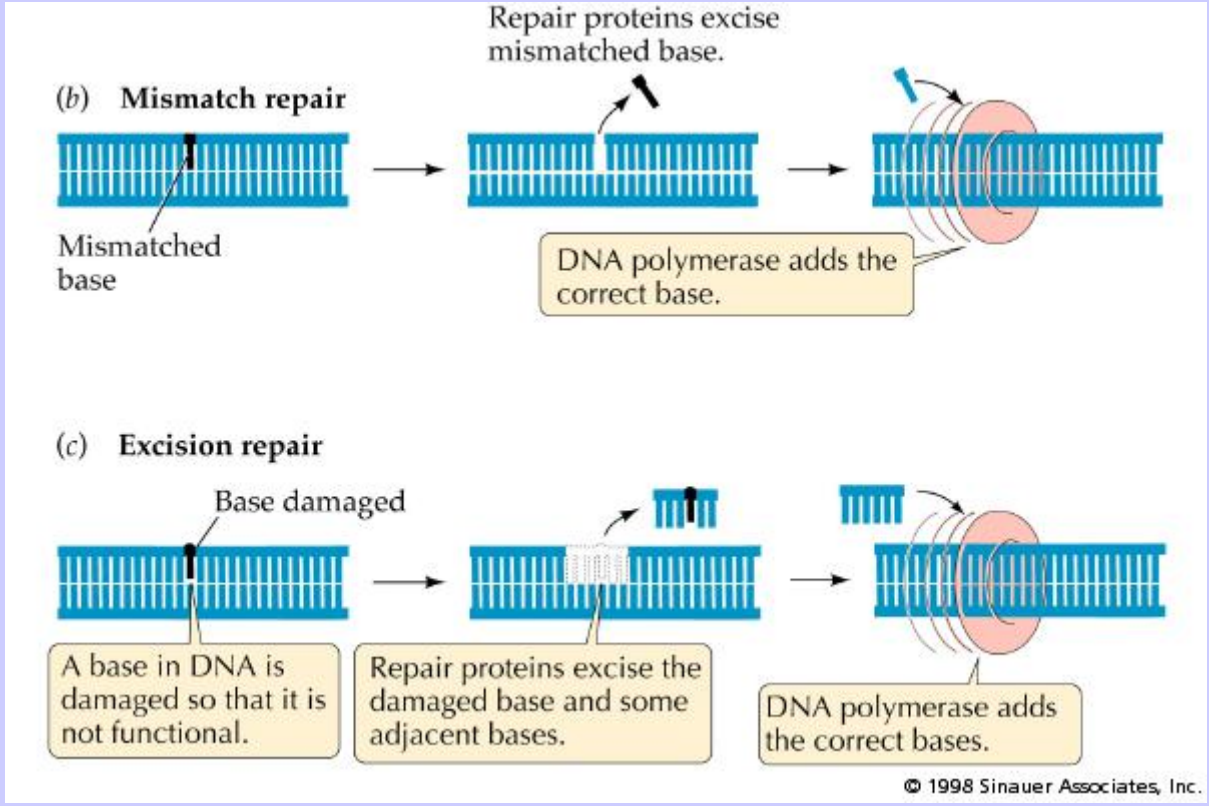
3- In base alla loro natura molecolare

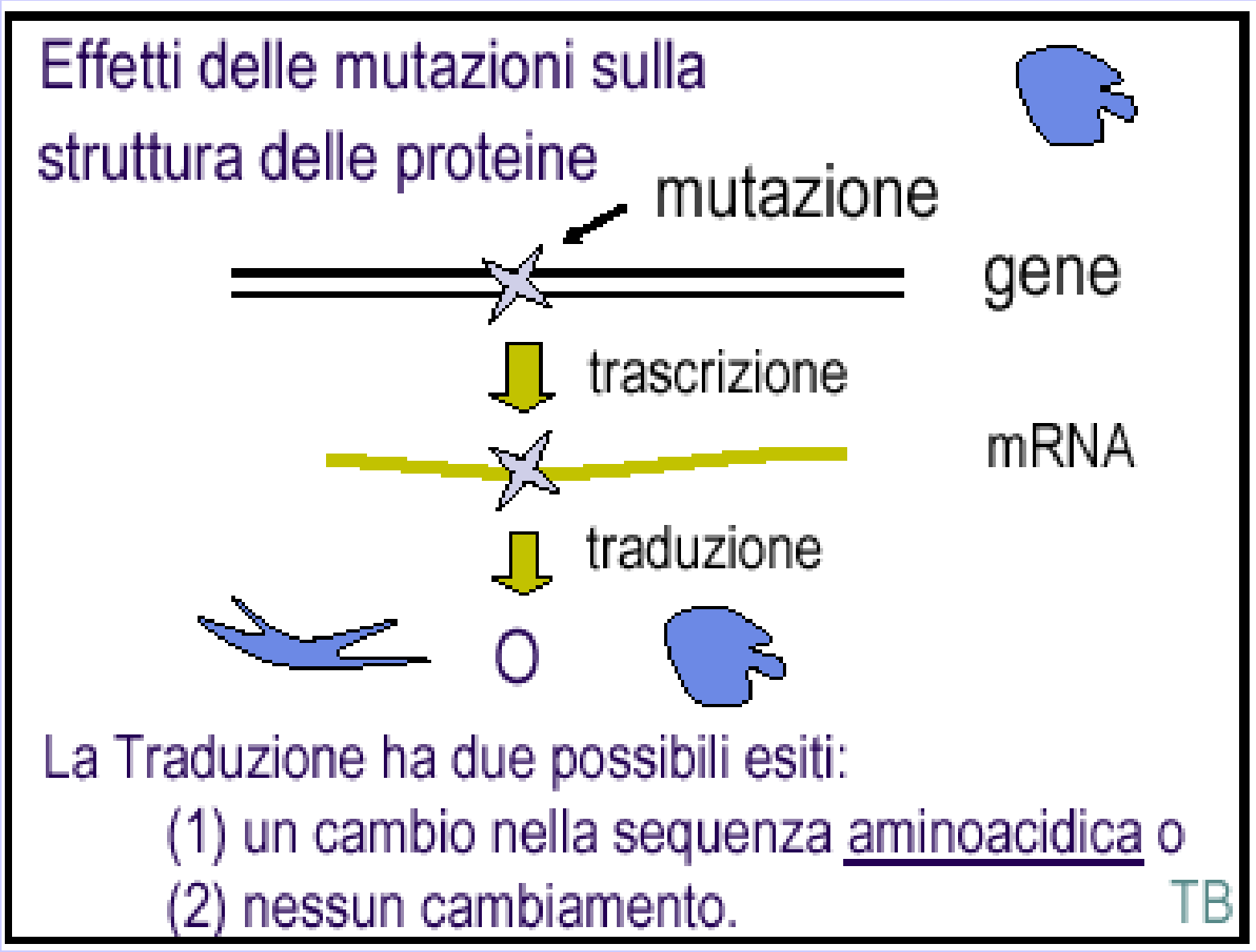
La maggior parte delle mutazioni insorge in seguito a errori di copia durante la duplicazione del DNA



Ogni volta che una cellula umana si moltiplica deve essere replicata una sequenza di oltre tre miliardi di nucleotidi

Il tasso di errore della DNA polimerasi è significativamente ridotto dalla presenza di una sua subunità che svolge la funzione di correttore di bozze





4- In base all'effetto che provocano sulla proteina

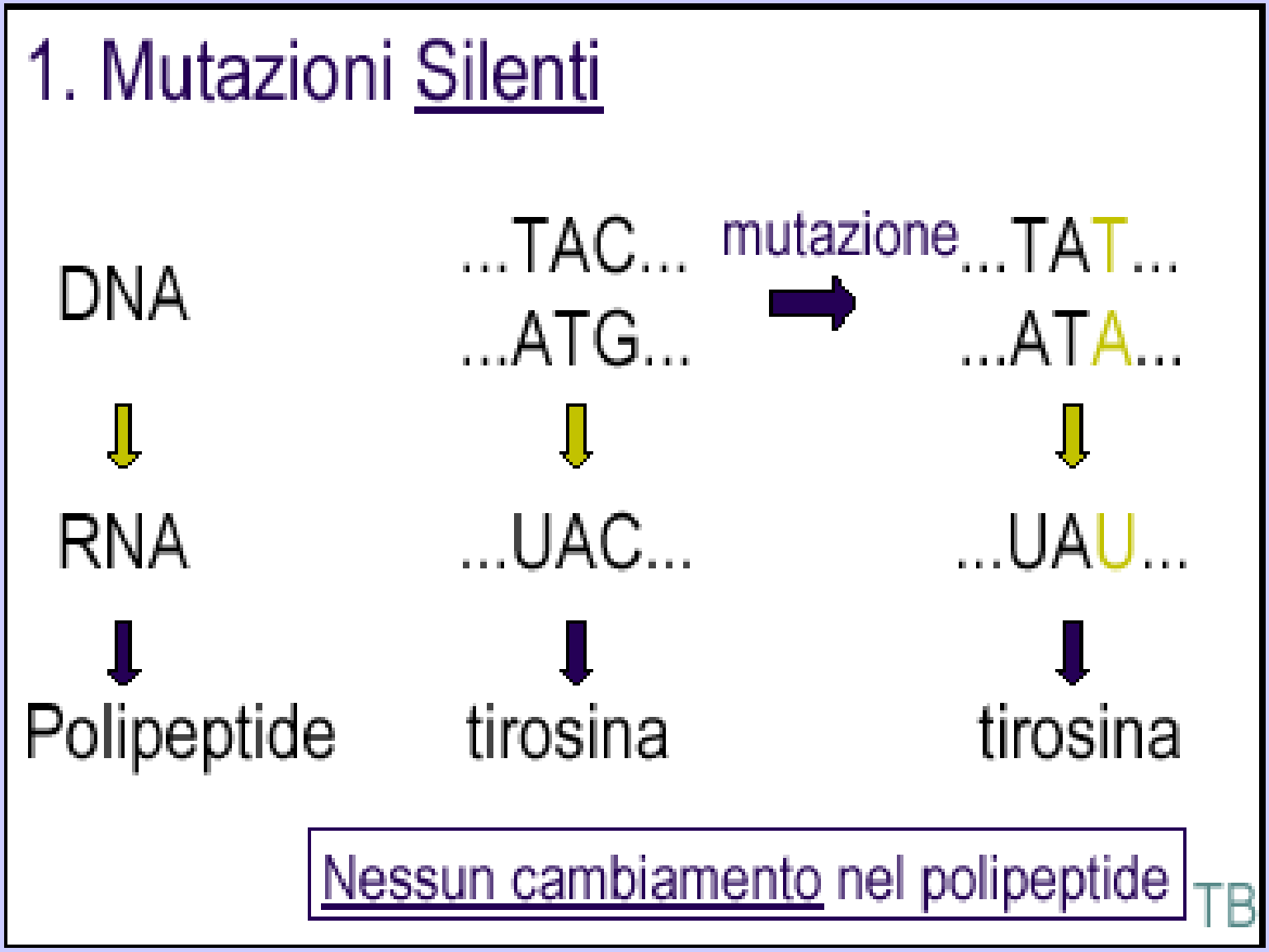
Mutazioni geniche: sostituzione di una singola base

A. Cambiamenti di una singola base

Un cambiamento in una singola base di DNA:

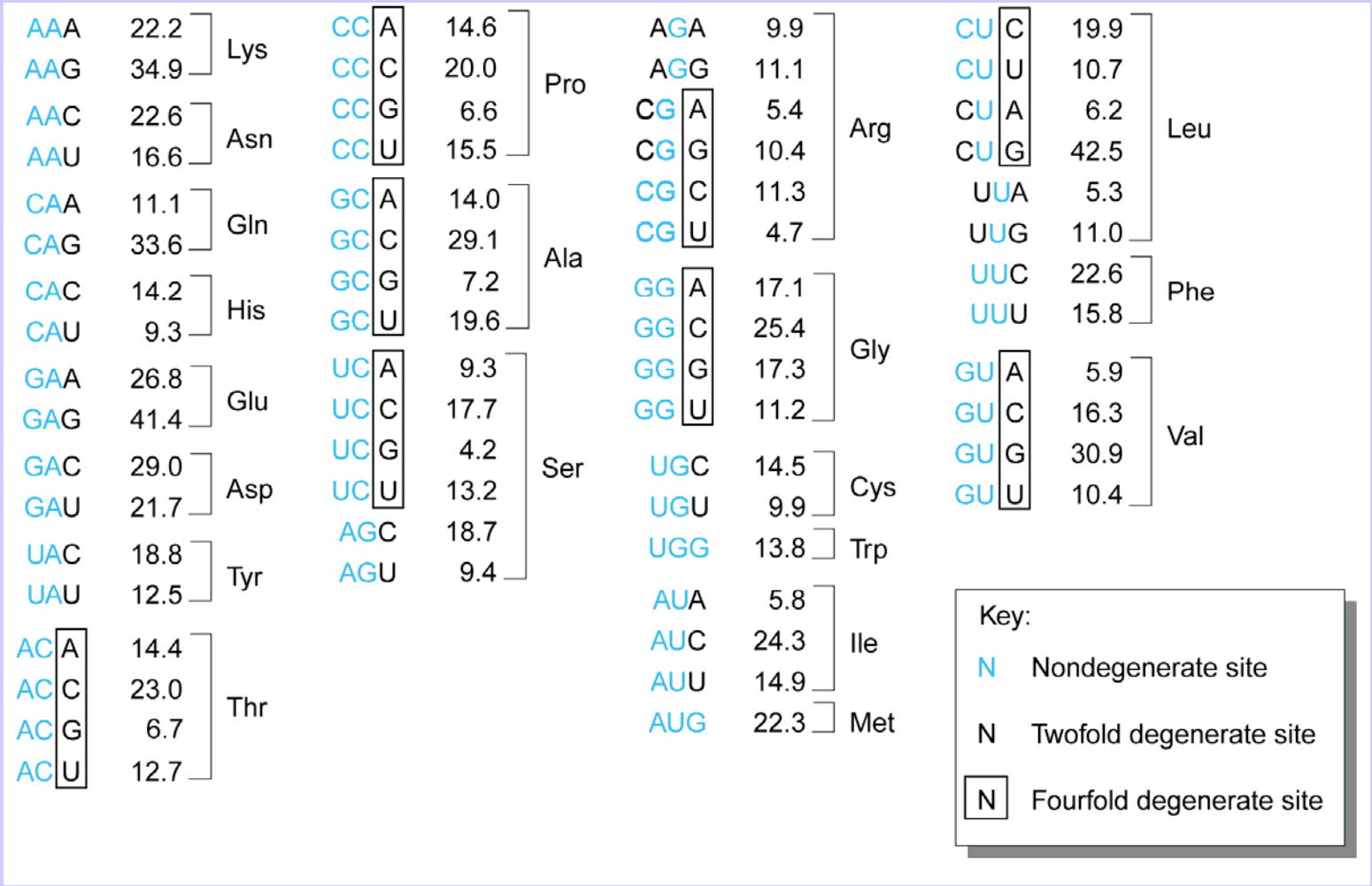
1. Mutazioni silenti
2. Mutazioni missenso
3. Mutazioni nonsenso

Mutazioni silenti: una tripletta muta in un'altra che codifica per lo stesso aminoacido



Non tutte le sostituzioni provocano un cambiamento del prodotto genico

Il codice genetico



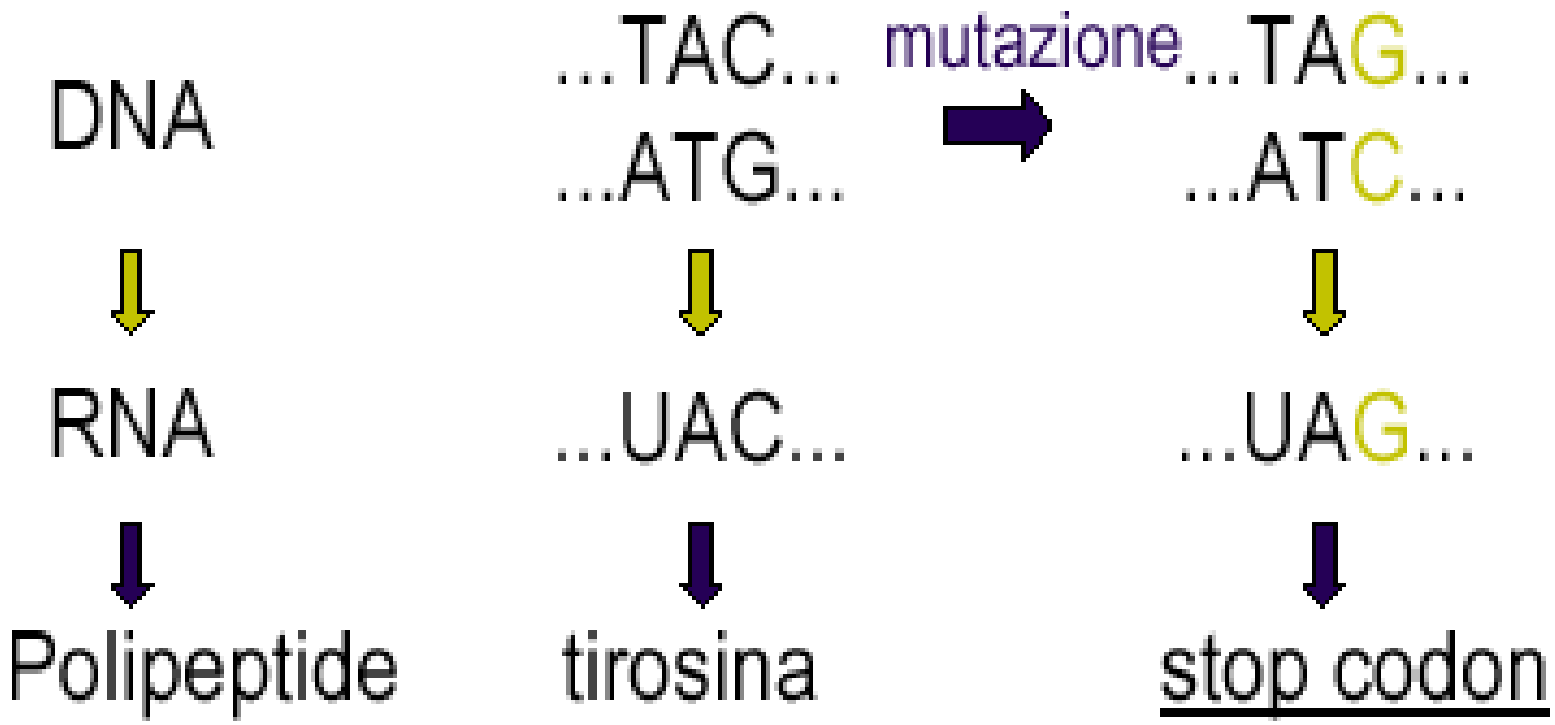
Mutazioni missenso: una tripletta muta in un'altra che codifica per un aminoacido diverso

Proteina non funzionale

Proteina funzionale perche' il nuovo aminoacido ha caratteristiche simili all'originario e non influisce sulla funzionalita' della proteina

3. Mutazioni Nonsenso

(la mutazione resulta in un codone di stop)



Si produce un polipeptide troncato.

TE

Codoni di stop

UAG, UAA, UGA

Delezione di una o piu' basi

Spostamento della lettura del codice con produzione di una proteina diversa dall'originaria

B. Delezioni

Una o più basi vengono perse

ATGAAAGAG....

ATGGAG....

Risultati possibili

a. aminoacidi o polipeptidi possono essere persi

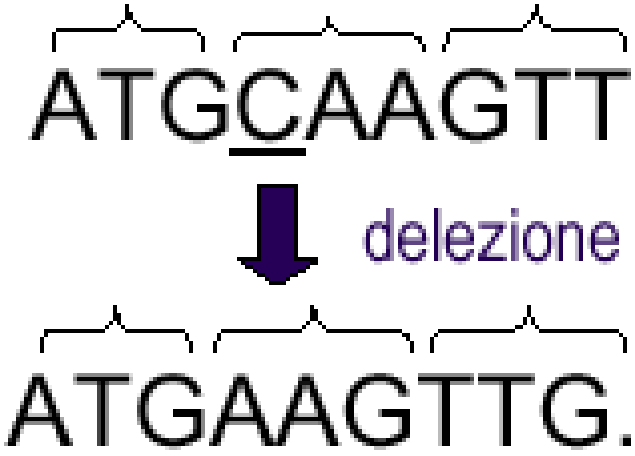
b. frameshifts può avvenire

TB

Inserzione di una o piu' basi

D. Frameshift mutazioni

Inserzioni o delezioni che cambiano il frame di lettura



Due cambiamenti nel polipeptide sono possibili:
(1) tutti gli aminoacidi a valle della mutazione cambiati,
(2) una proteina troncata (più breve) viene prodotta.

TB

5- in base alla causa scatenante

Mutazioni spontanee:

Duplicazione
3 miliardi di coppie di basi devono essere replicate ad ogni divisione cellulare, in un periodo di 2-3 ore.
Con una velocità di circa 100.000 bp/sec.
Avvengono casualmente degli errori

Ricombinazione.
Processo fondamentale per generare "diversità biologica", a causa della struttura di particolari regioni genomiche, è un'altra fonte di possibili errori.

Segregazione
Processo finale della mitosi e della meiosi.
Avvengono casualmente degli errori che portano ad una errata ripartizione dei cromosomi nelle cellule figlie.

Mutazioni indotte

Agenti esogeni:
calore, mutageni chimici, ionizzanti, radiazioni UV

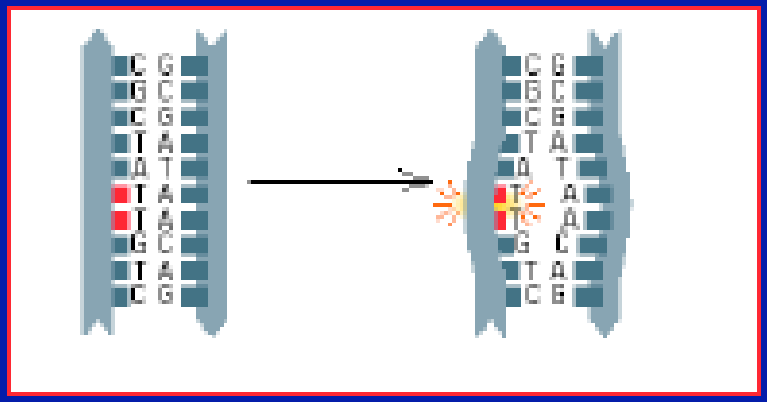
www.fisiokinesiterapia.biz

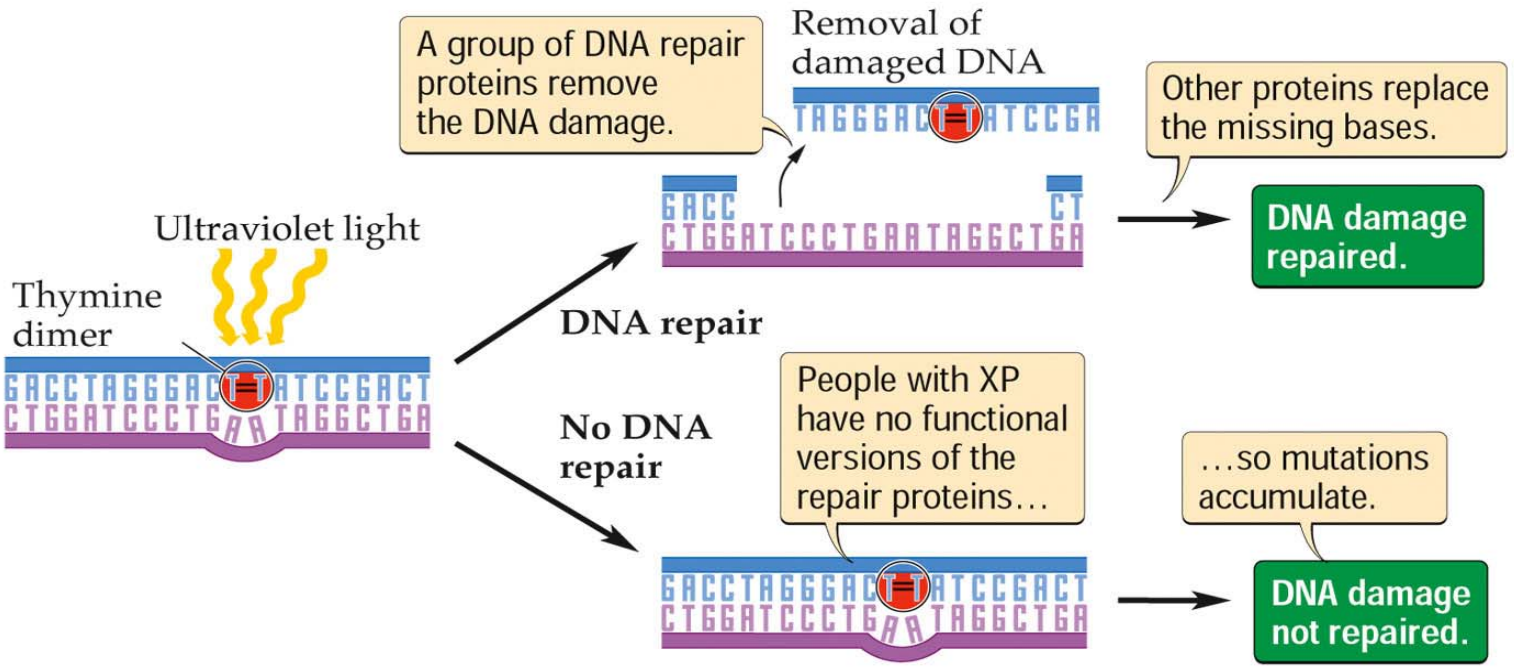
Mutazioni Indotte

- È possibile classificare gli agenti Mutageni in due classi: fisici e chimici
- Un esempio di agenti Mutageni Fisici sono i raggi X (γ) e i raggi UV
- I raggi X e γ hanno la capacità di penetrare nei tessuti generando ioni e radicali liberi i quali sono in grado di rompere i legami chimici che costituiscono il DNA
- Quindi le radiazione ionizzanti possono indurre rotture dei cromosomi, riarrangiamenti cromosomici e danni al DNA, tra cu mutazioni puntiformi
- Generalmente i raggi X e γ sono usati a scopo terapeutico grazie alla loro caratteristica di penetrare i tessuti.
- Importante sapere che le radiazioni di questi raggi sono cumulative e che vi è una relazione tra il tempo di esposizione alle radiazioni e la frequenza di mutazioni

Mutazioni Indotte

- I raggi ultravioletti (UV) non sono ionizzanti, cioè non hanno energia sufficiente per ionizzare un atomo
- Nonostante ciò gli UV sono un potente agente mutageno perché le basi puriniche e primidiniche del DNA assorbono luce ultravioletta alla lunghezza d'onda di 254-260 nm.
- Uno degli effetti delle radiazioni UV sul DNA è la formazione di legami chimici anomali tra molecole di primidina adiacenti sulla stessa elica o poste su eliche opposte ⇒ DIMERI DI TIMINA





DISCOVER BIOLOGY, **Second Edition, Figure 14.8** © 2002 Sinauer Associates, Inc., and W. W. Norton and Company

Lo **Xeroderma pigmentoso** è una malattia ereditaria dovuta a mutazioni di geni preposti alla riparazione del DNA. I pazienti affetti da tale patologia non sono in grado di riparare i danni che le radiazioni ultraviolette inducono nel DNA, e sono predisposti all'insorgenza di tumori maligni della pelle

Riparazione del DNA nell'uomo

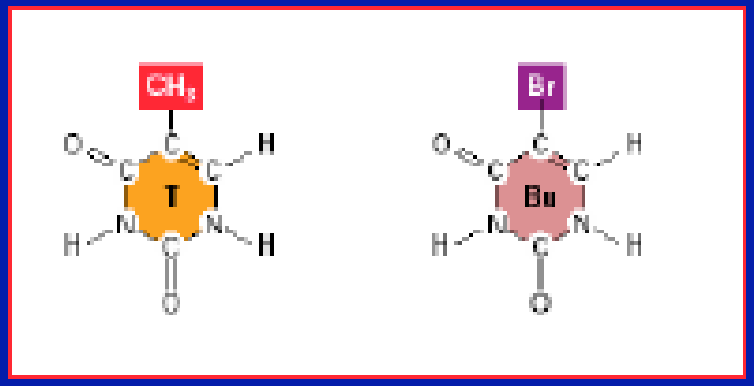
Xeroderma pigmentosum: malattia autosomica recessiva,
estrema sensibilità della pelle ai raggi UV ed elevata incidenza di carcinomi della pelle e melanomi.
Causa: incapacità di riparare i danni al DNA provocati dai raggi UV per l'inabilità ad operare il taglio iniziale che porta alla eliminazione del dimero di timina ed alla sua riparazione.

Fotografía 9. Xeroderma pigmentoso y carcinoma basocelular y melanoma maligno.

Mutazioni Indotte

Mutageni chimici

- Gli Analoghi di Base sono sostanze chimiche che hanno una struttura molecolare estremamente simile a quella delle normali basi che si trovano nel DNA
- Un esempio di analogo di base è il 5-bromuracile



TIMINA 5-BROMO-URACILE

Si intercalano tra le basi azotate e provocano durante la duplicazione appaiamenti errati

I mutageni chimici agiscono in due modi differenti e, in base a questi, sono classificati in:

- analoghi delle basi, che possono prendere il posto delle basi canoniche del DNA;

- mutageni che alterano basi già inserite come l'acido nitroso (in grado di deaminare l'adenina in ipoxantina, la citosina in uracile, la guanina in xantina), l'idrossilamina (che aggiunge OH in posizione 4 della citosina spingendola ad appaiarsi con l'adenina), agenti alchilanti.

Mutazioni recessive e dominanti

Recessive: ambedue gli alleli non producono la corrispondente proteina
o producono una proteina incapace a svolgere quella certa funzione

!!!!! Per la maggior parte dei prodotti genici, la quantità esatta non è cruciale e si sopravvive adeguatamente anche con metà del prodotto normale !!!!!!!!

Dominanti:

-la presenza di un solo allele che produce un prodotto normale è insufficiente a svolgere quella certa funzione

La proteina continua a svolgere la sua funzione, ma lo fa in maniera eccessiva o non regolata

-l'allele dominante produce una proteina con una nuova funzione che ha un effetto negativo

Mutazioni diverse dello stesso gene possono associarsi a sindromi diverse

Es: distrofia muscolare di Duchenne e di Becker (Xp21)

Le delezioni che causano slittamento del modulo di lettura (e quindi totale perdita di funzione della proteina) causano la **distrofia muscolare di Duchenne** mentre le delezioni che non alterano il modulo e preservano parzialmente la funzione della proteina causano la forma più lieve di **distrofia di Becker**

Il gene mutato nella DMD e nella BMD è il gene della Distrofina localizzato in Xp21.2

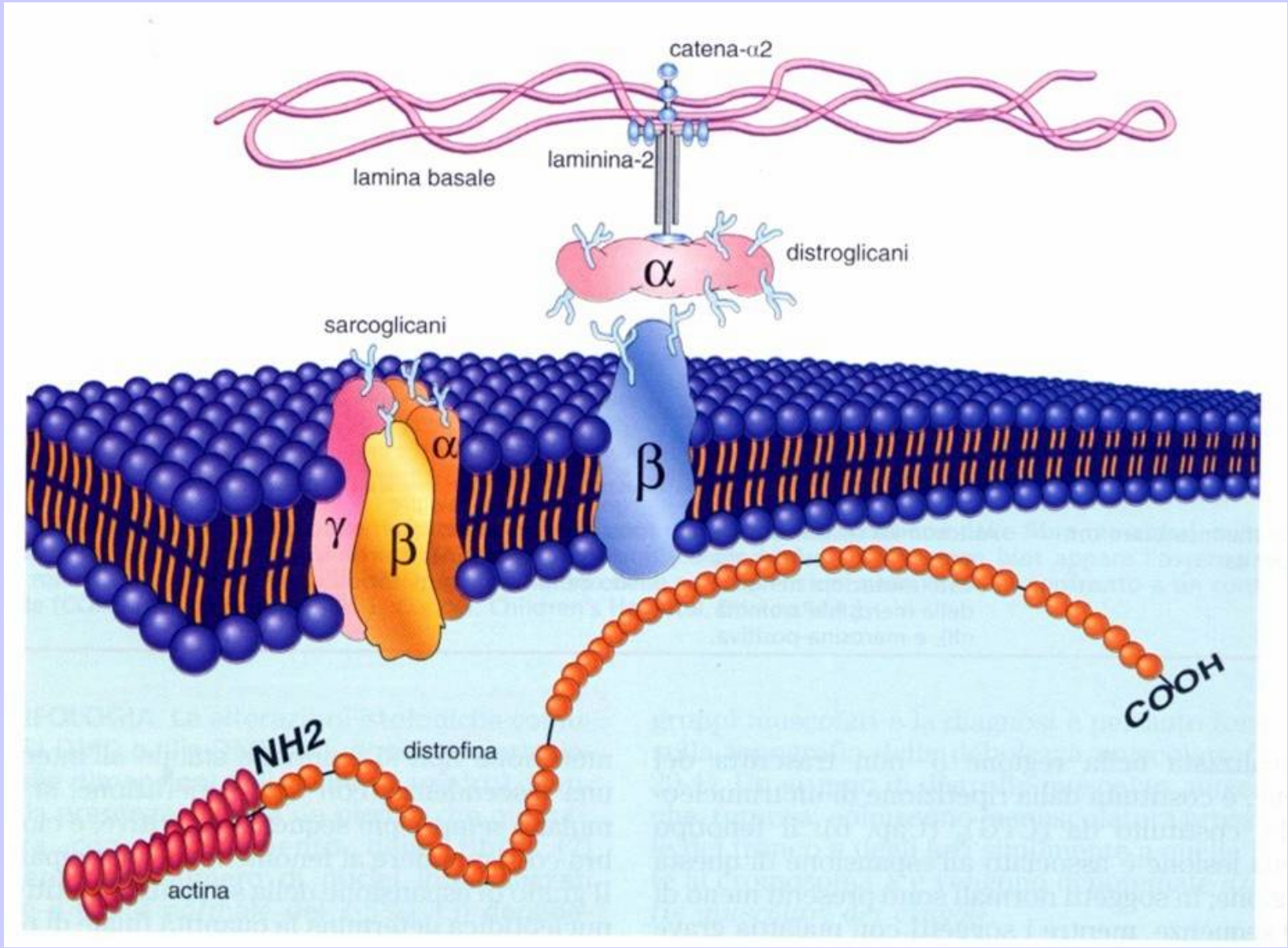
E' il più grande gene associato a malattia (2400 kb, 85 esoni, impiega 24 hr ad essere trascritto)
Trascitto di 14 kb codifica per una proteina di 400 kDa e 3685 aa detta

DISTROFINA

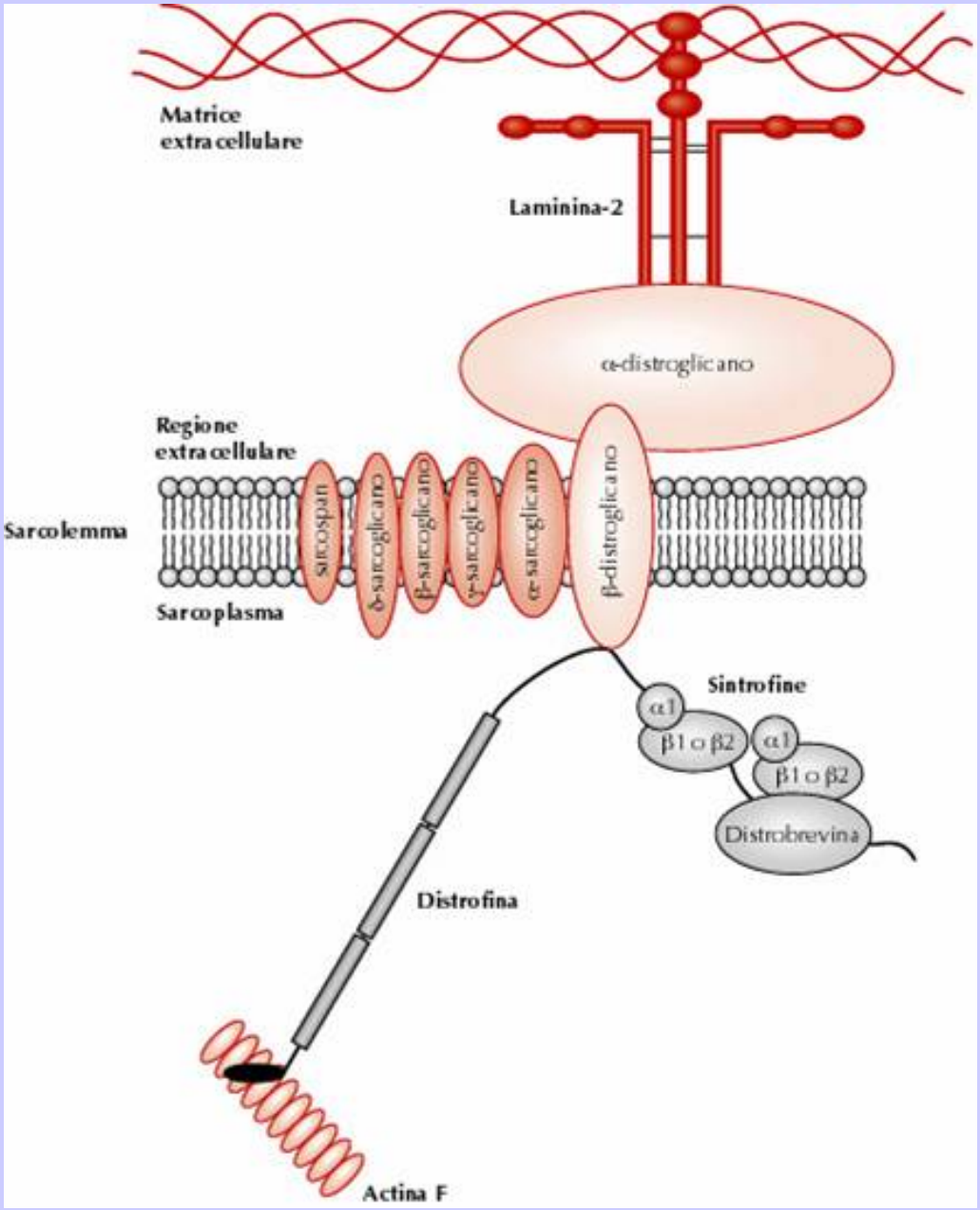
Espressa in:

-Muscolo scheletrico
-Muscolo liscio
-Muscolo cardiaco
-Cervello

Immunoistochimica rivela che la distrofina è una proteina muscolare sarcoplasmatica subsarcolemmale


catena-α2
lamina basale
laminina-2
distroglicani
α
sarcoglicani
α
γ
β
β
COOH
NH2
distrofina
actina

La distrofina e le proteine ad essa associate formano un ponte tra citoscheletro interno e la matrice extracellulare per impedire fratture del sarcolemma indotte da sforzo meccanico durante la contrazione delle cellule muscolari



La mancanza della proteina nella DMD facilita la lacerazione delle fibre al ripetersi della contrazione → entrata di Ca2+ → NECROSI

Mutazioni dinamiche

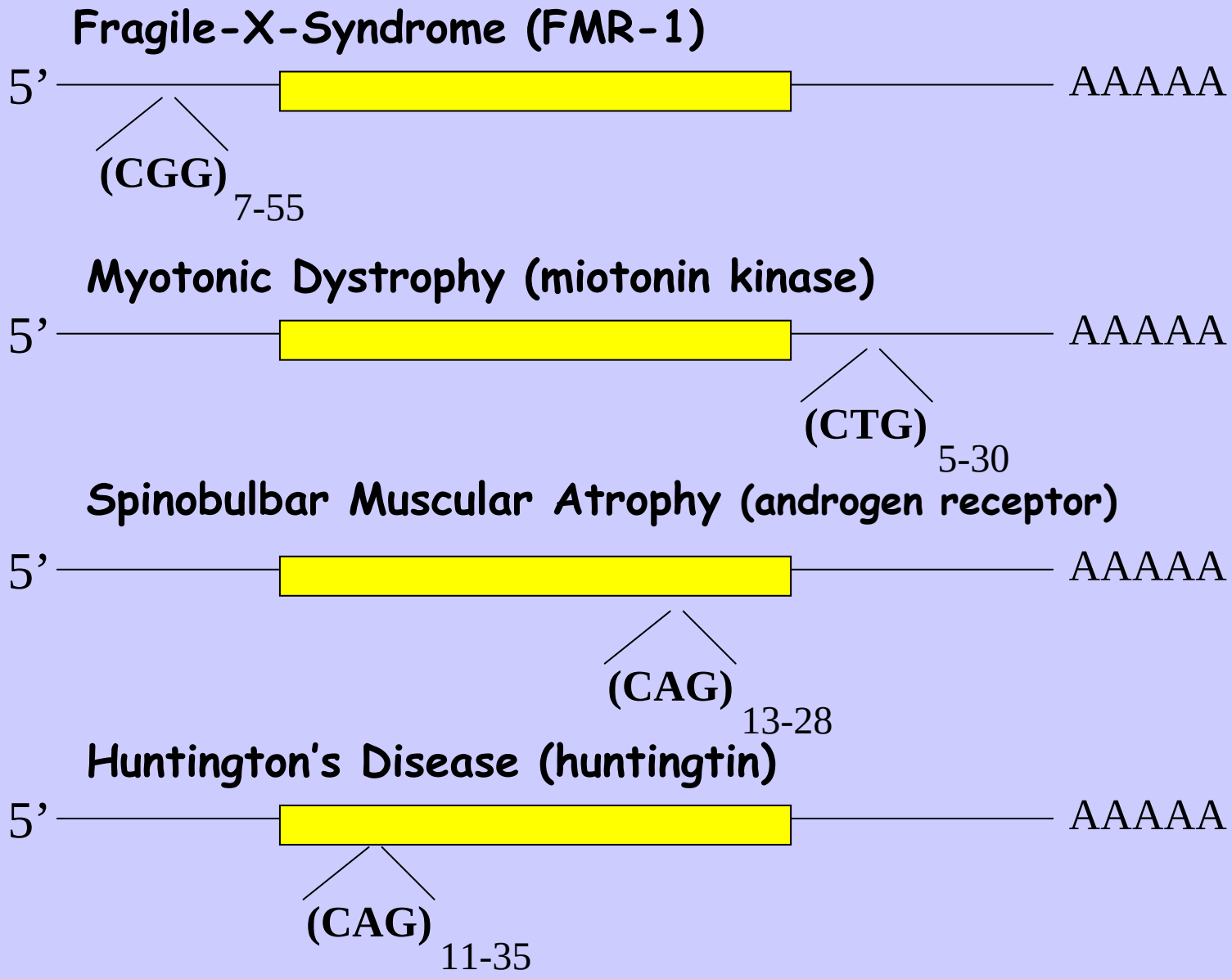
1. **Espansioni di repeats trinucleotidici**

- All'esterno della regione codificante(sindrome dell'X-fragile, distrofia miotonica)
- All'interno delle sequenze codificanti(corea di Huntington, sindrome di Kennedy, Atassie spinocerebellari)

2. **Anticipazione**

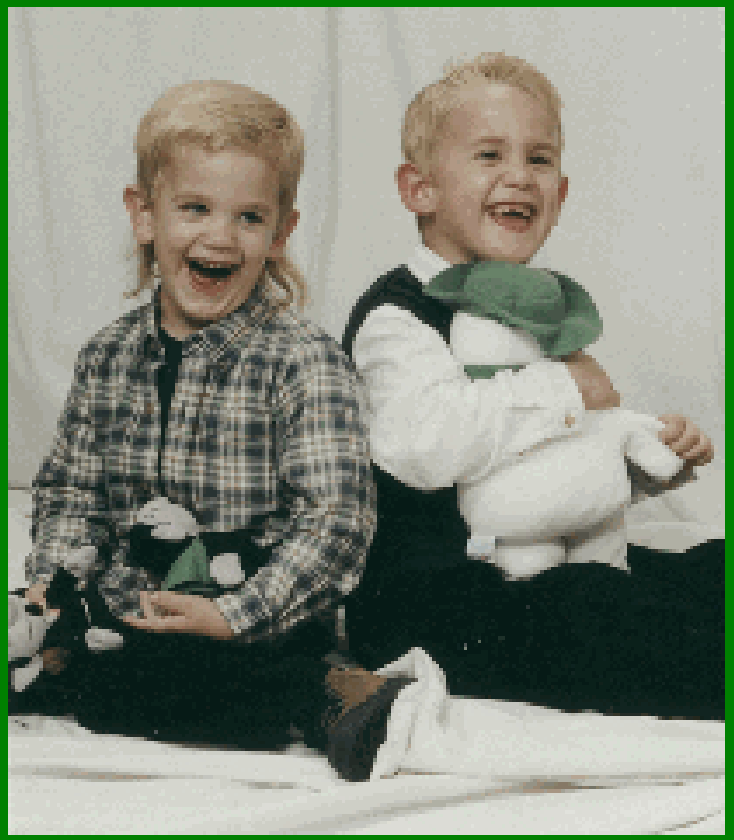
- la severita' aumenta nelle generazioni successive (si passa da sintomi lievi nella prima generazione a sintomi severi nelle generazioni successive)
- dovuto ad un'espansione instabile delle triplette ripetute
- il primo passo e' la formazione di una "premutazione" che ha un fenotipo normale, ma e' instabile
- la premutazione poi si espande nella successiva generazione con una lunghezza molto piu' grande e ulteriore instabilita'

Mutazioni dinamiche



Fragile X syndrome

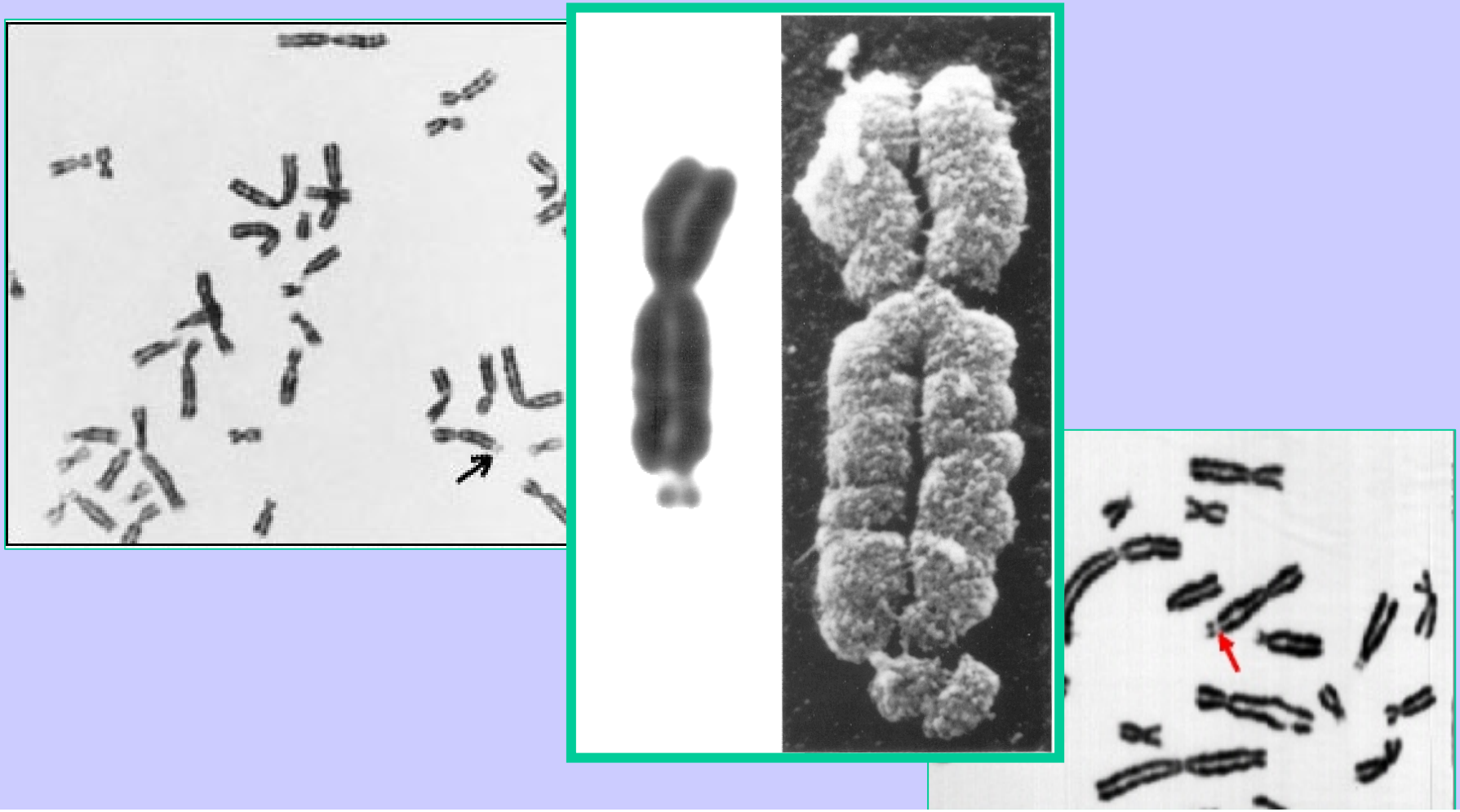
Fragile X
is the world's leading cause
of inherited mental impairment



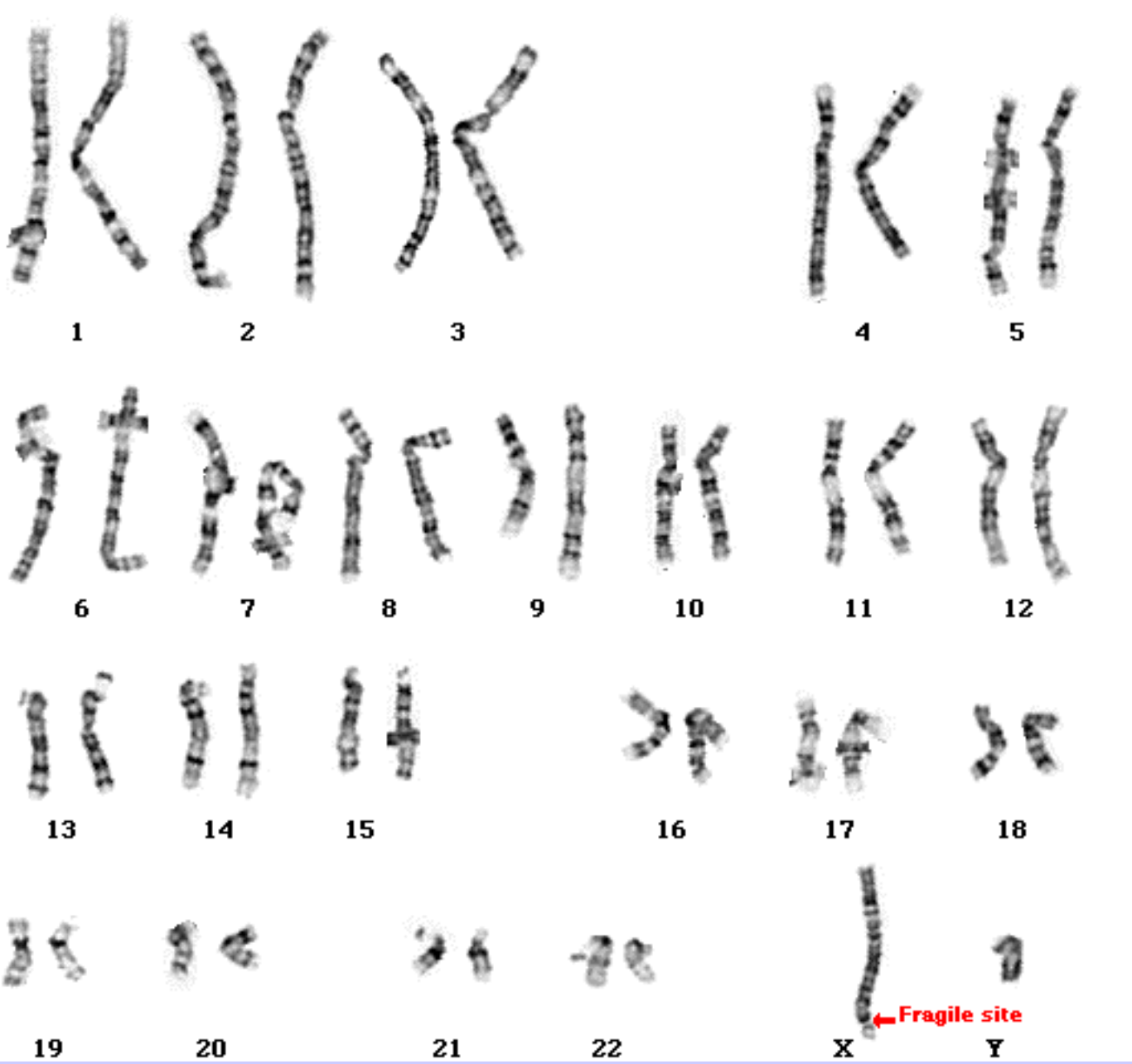
The National Fragile X Foundation

La sindrome dell'X fragile è causata da un gene in Xq27.3

The gene that causes the condition is found at the end of the X chromosome (marked by arrow), and shows as a "fragile" site - it looks as if the tip of the chromosome is broken off but not quite separated.
This fragile site gives the syndrome its name.

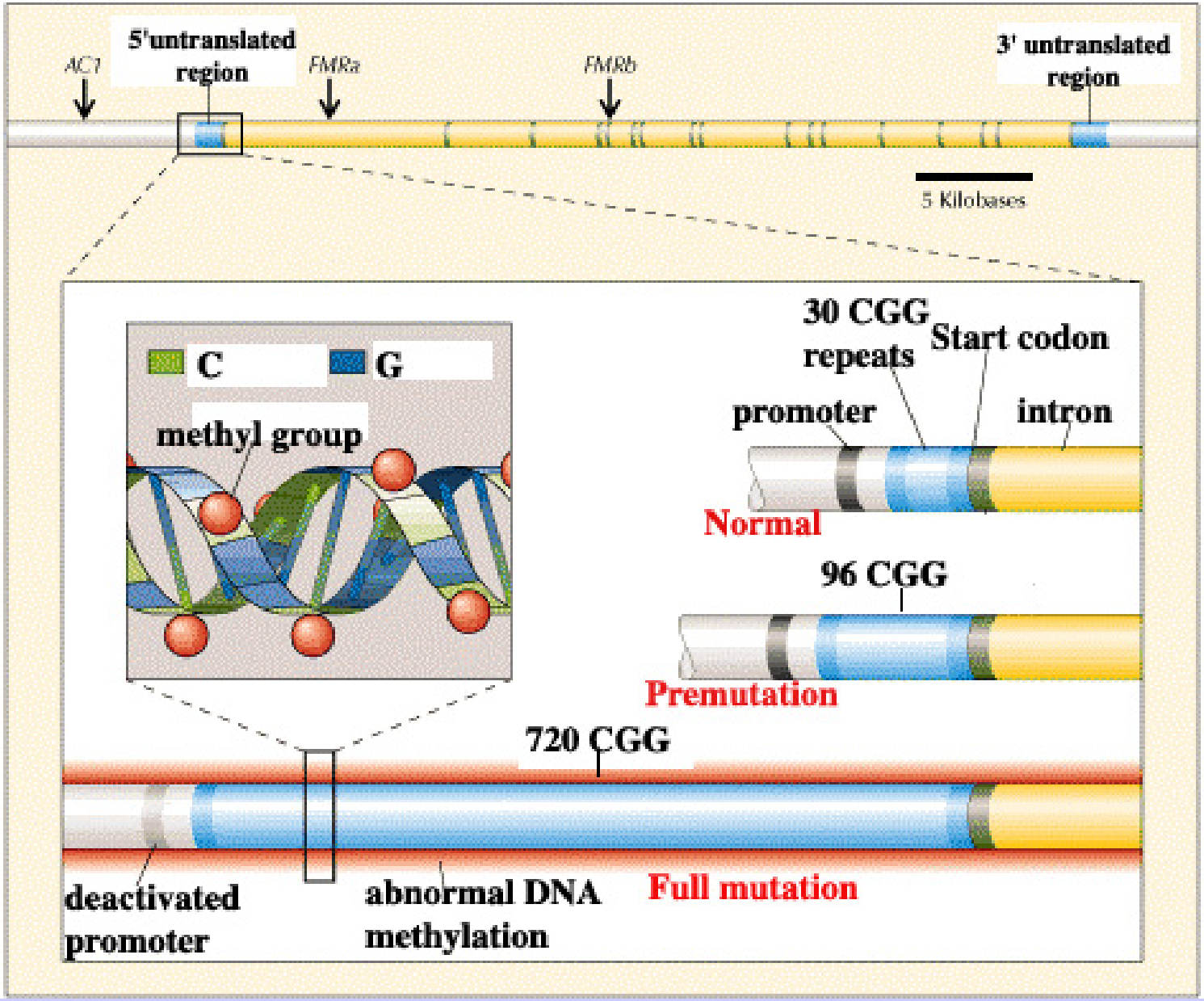


Cariotipo maschile con sito fragile Xq27.3



Fragile X male subjects

Ideogramma del gene FMR1 (Xq27.3)



Fatti chiave sulla sindrome dell'X fragile

La più comune delle forme monogeniche di ritardo mentale (1/4000 maschi e, in forma meno grave, 1/7000 femmine)

La malattia è causata da espansione instabile di un repeat *CGG* alla regione 5'UTR (untranslated region) del gene FMR1.

I pazienti con X fragile hanno un'espansione di >200 *CGG* che è metilata in modo anomalo. La metilazione si estende all'adiacente regione del promotore. Ciò dà una conformazione inattiva alla cromatina e impedisce la trascrizione del gene FMR1.

Le espansioni non metilate di ~60-200 repeats ("premutazioni") sono presenti in femmine e maschi senza manifestazioni cliniche ovvie ma che sono a rischio di avere rispettivamente figli e nipoti affetti.

www.fisiokinesiterapia.biz

Myotonic dystrophy

- autosomal dominant disease
- characterized by myotonia and progressive muscle weakness
- the most common form of adult-onset muscular dystrophy
- skeletal, cardiovascular, and ocular (cataracts) manifestations
- associated with cognitive changes, including mental retardation
- disease shows "anticipation"
  - late onset of mild symptoms in the first generation to neonatal onset (only inherited from the mother) associated with mental retardation in a later generation (within 3-4 generations)
- caused by mutations in the DM-1 or myotonin protein kinase gene which is expressed in brain, heart, and muscle
- normal gene has a 3'-UTR CTG repeat that is polymorphic in the population and that ranges from 5-30 repeats
- patients have expanded numbers of repeats, up to many hundreds, that lead to decreased mRNA levels

Anticipazione

- la severità della patologia aumenta di generazione in generazione
- i sintomi passano da lievi nella prima generazione a severi nelle generazioni più avanzate
- è dovuta all'espansione, a step successivi, delle ripetizioni trinucleotidiche
- nella popolazione normale, la lunghezza della ripetizione è polimorfica, ma stabile
- il primo step è la formazione di una "premutazione" con normale fenotipo, ma instabile
- la premutazione quindi si espande nella successiva generazione a una Lunghezza molto maggiore e una ulteriore instabilità
- l'anticipazione è tipica dell'espansione delle ripetizioni trinucleotidiche

La malattia di Huntington

Huntington's Disease.

- An autosomal dominant neurodegenerative disorder first clinically described by Huntington in 1872.
- It is rare, with death rates of 1.6 per million, and is commonest among white Europeans.
- Initial symptoms occur in those aged 30 – 50.
- Sometimes it can strike in the 20's, when suicide is often the result.
- Death comes on average 12 years after the onset.

Soggetto affetto da chorea di Huntington

www.fisiokinesiterapia.biz

Huntington's disease

- autosomal dominant disease
- juvenile to late adult onset
- associated with involuntary movements (chorea), behavioral disturbances, and cognitive impairment
- caused by mutations in the IT15 gene (whose function is unknown)
- normal gene has a CAG repeat that is polymorphic in the population and that ranges from 11-35 repeats
- patients have expanded numbers of repeats (>35 repeats)
- CAG repeat is translated into a polyglutamine tract in the protein
- disease shows anticipation, but the severity of the illness does not always correlate strictly with the degree of expansion
  - affected children of affected fathers have an age of onset 8-10 years earlier than their fathers
  - affected children of affected mothers have an age of onset similar to their mothers'

Cancro, oncogeni, oncosoppressori

Cancro

Processo patologico multiplo a piu' stadi (neoplasia) che differisce da paziente a paziente e puo' coinvolgere qualsiasi tessuto del corpo

Sostanzialmente e' caratterizzato da crescita cellulare anomala in conseguenza della perdita dei meccanismi di controllo responsabili della divisione e del differenziamento cellulare

Quali sono le caratteristiche delle cellule cancerose?

- le cellule cancerose si dividono molto frequentemente

- le cellule cancerose non sono inibite dal contatto con altre cellule

- le cellule cancerose possono invadere altri tessuti, un processo chiamato metastasi

Nelle cellule tumorali non c'e' inibizione da contatto

I. Typical assay for oncogenes: measure dominant transforming activity.

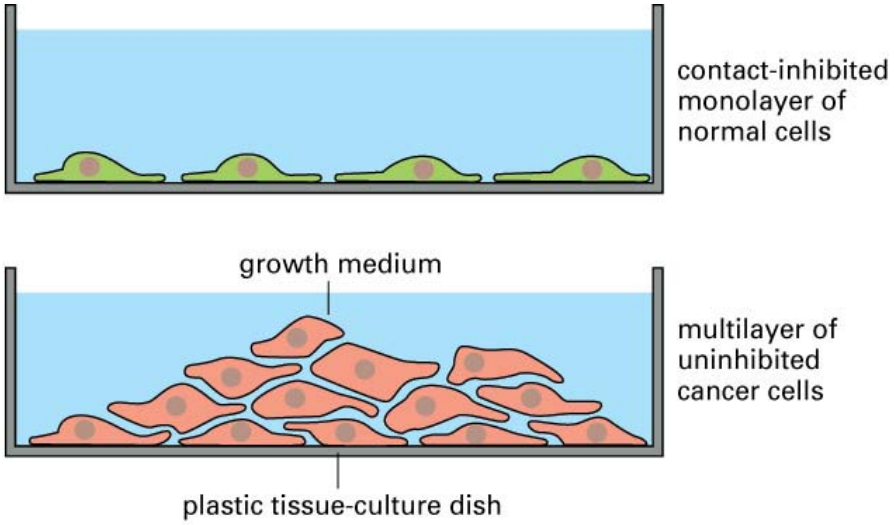
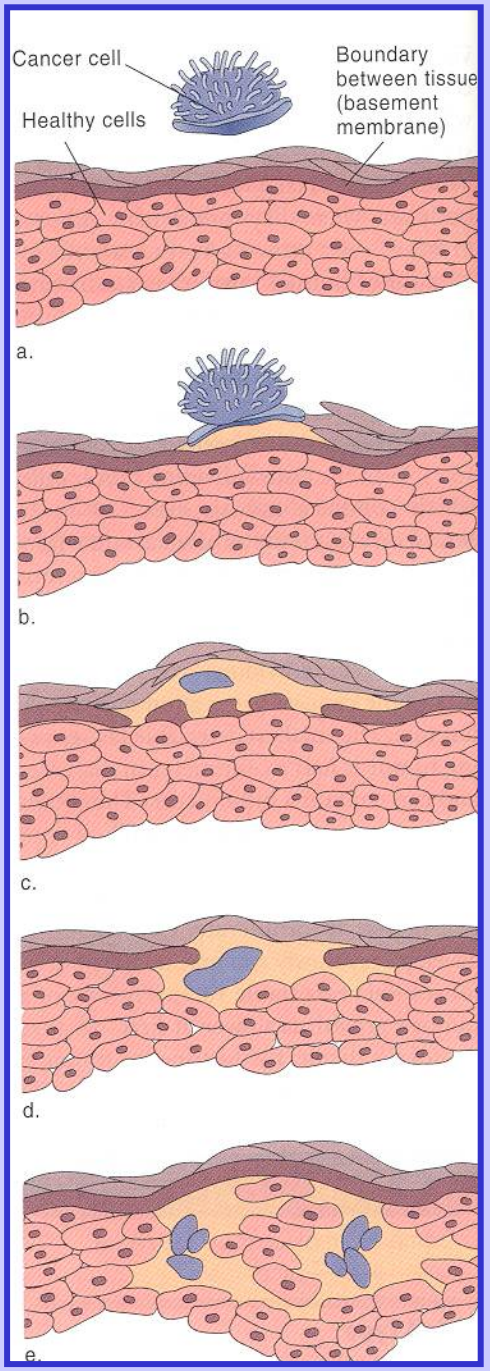


Figure 23–25. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Normal cells divide 20-50 times; cancer cells immortal



Metastasi: invasione di altri tessuti

Cellule normali e cancerose

CELLULE NORMALI

☺ INIBIZIONE DA CONTATTO

☺ INCAPACI DI CRESCERE IN SOSPENSIONE (ECCEZIONE I LINFOCITI)

☺ DIPENDENTI DAI FATTORI DI CRESCITA

☺ MORTALI

CELLULE CANCEROSE

☹ PERDITA INIBIZIONE DA CONTATTO

☹ CRESCONO IN SOSPENSIONE

☹ INDIPENDENTI DA FATTORI DI CRESCITA

☹ IMMORTALI

Molte neoplasie sono ad eziologia **multifattoriale**, causate quindi dall'interazione tra fattori genetici ed ambientali

Il cancro e' una malattia genetica della **cellula somatica** perche' riguarda alterazioni del genoma riscontrabili soltanto nelle cellule cancerose di un individuo e derivate, probabilmente, dall'interazione tra geni e ambiente

La maggior parte dei tumori non viene ereditata dalle successive generazioni poiche' queste mutazioni non sono trasmesse per via ereditaria

Quali geni sono coivolti nella tumorigenesi??

Tre principali classi di geni sono coinvolti nella tumorigenesi:

1. Oncogeni
2. Geni soppressori della tumorigenesi
3. Geni mutatori

Geni coinvolti nei tumori

GENI MUTATORI: responsabili del mantenimento dell'integrita' del genoma durante le replicazione cellulare. La perdita di funzione di entrambi gli alleli espone la cellula a commettere errori (mutazioni recessive);

ONCOGENI: derivano da mutazione di proto-oncogeni cioe' geni la cui azione promuove positivamente la proliferazione cellulare. Un singolo allele mutante puo' influenzare il fenotipo dell'intera cellula (mutazioni dominanti)

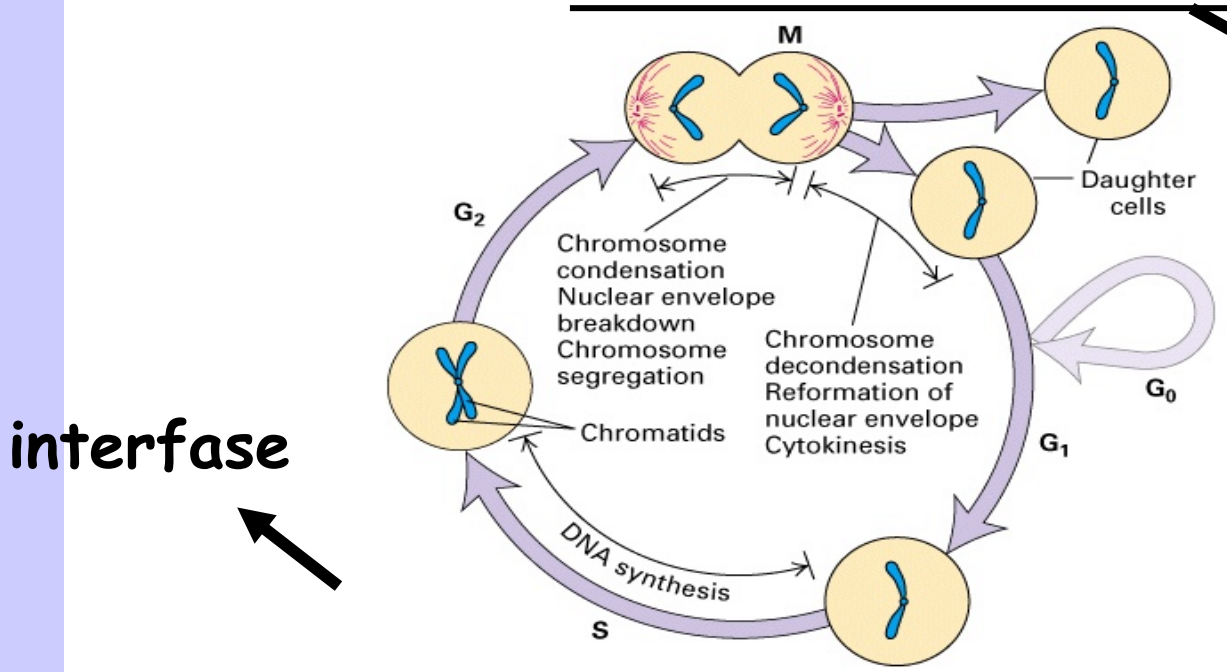
ONCOSOPPRESSORI (TS): i prodotti di tali geni inibiscono la proliferazione cellulare. Per cambiare il comportamento di una cellula devono essere inattivati entrambi gli alleli (mutazioni recessive).

Oncogeni

La forma non mutata di questi geni, i **proto-oncogeni** codificano proteine che promuovono la divisione cellulare e fanno parte di un normale meccanismo che regola la progressione attraverso il ciclo cellulare

Se mutati (**oncogeni**), risultano nella produzione di proteine completamente funzionanti, ma sregolate, che possono spingere la cellula attraverso le varie fasi del ciclo in maniera incontrollata

13.1 The cell cycle is an ordered series of events leading to the replication of cells



mitosi

interfase

Figure 13-1

Copyright (c) by W. H. Freeman and Company

www.fisiokinesiterapia.biz

I proto-oncogeni possono essere attivati attraverso:

- mutazioni puntiformi
- fusione con altri geni con produzione di proteine di fusione (LMC)
- amplificazione genica
- modificazione del promotore
- inserimento di sequenze tipo enhancer in seguito ad eventi di riarrangiamento cromosomico

Geni oncosoppressori

Geni soppressori della tumorigenesi: sono geni che controllano e prevengono la formazione dei tumori

- L'inattivazione di entrambe le copie e' richiesta per lo sviluppo di una neoplasia.

- L'inattivazione di entrambe le copie puo' essere costituzionale (presente quindi in ogni cellula del corpo, comprese quelle germinali) oppure acquisita somaticamente in un clone cellulare specifico

Esempi:

1. Mutazioni nel gene p53, che promuove l'apoptosi se la cellula ha danneggiato il proprio DNA, si riscontrano in piu' del 50% dei tumori

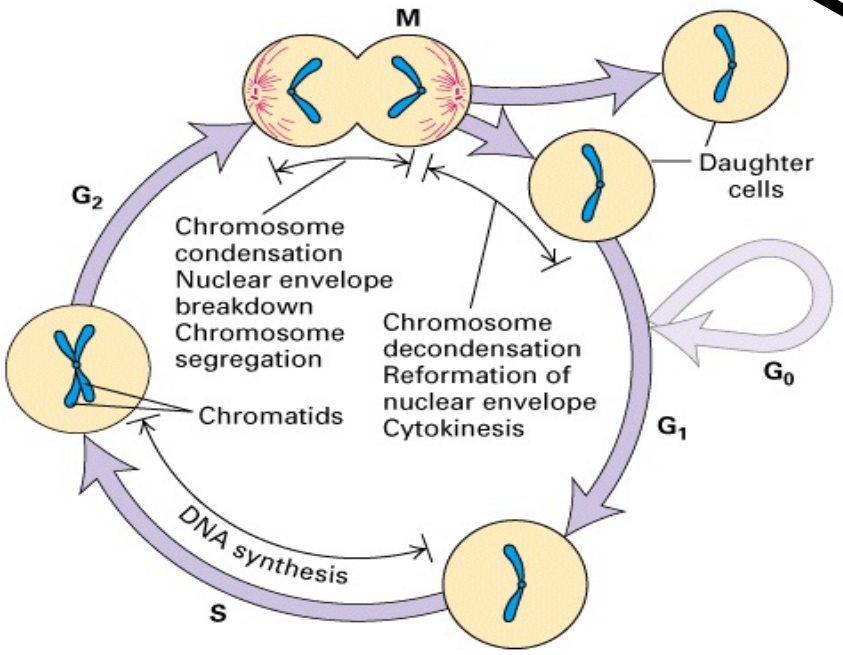
2. Mutazioni in BRCA1, coinvolto nella soppressione dei tumori e nel riparo del DNA, si riscontrano nei tumori al seno

3. Mutazioni in un gene che controlla il passaggio G1-S, causa il retinoblastoma

Il ciclo cellulare è controllato dai checkpoint. Questi ultimi, nelle cellule sane, assicurano la corretta alternanza delle diverse fasi del ciclo, mentre in caso di emergenza rallentano la progressione del ciclo fino a quando le anomalie non sono state riparate o rimosse.

13.1 The cell cycle is an ordered series of events leading to the replication of cells

mitosi



interfase

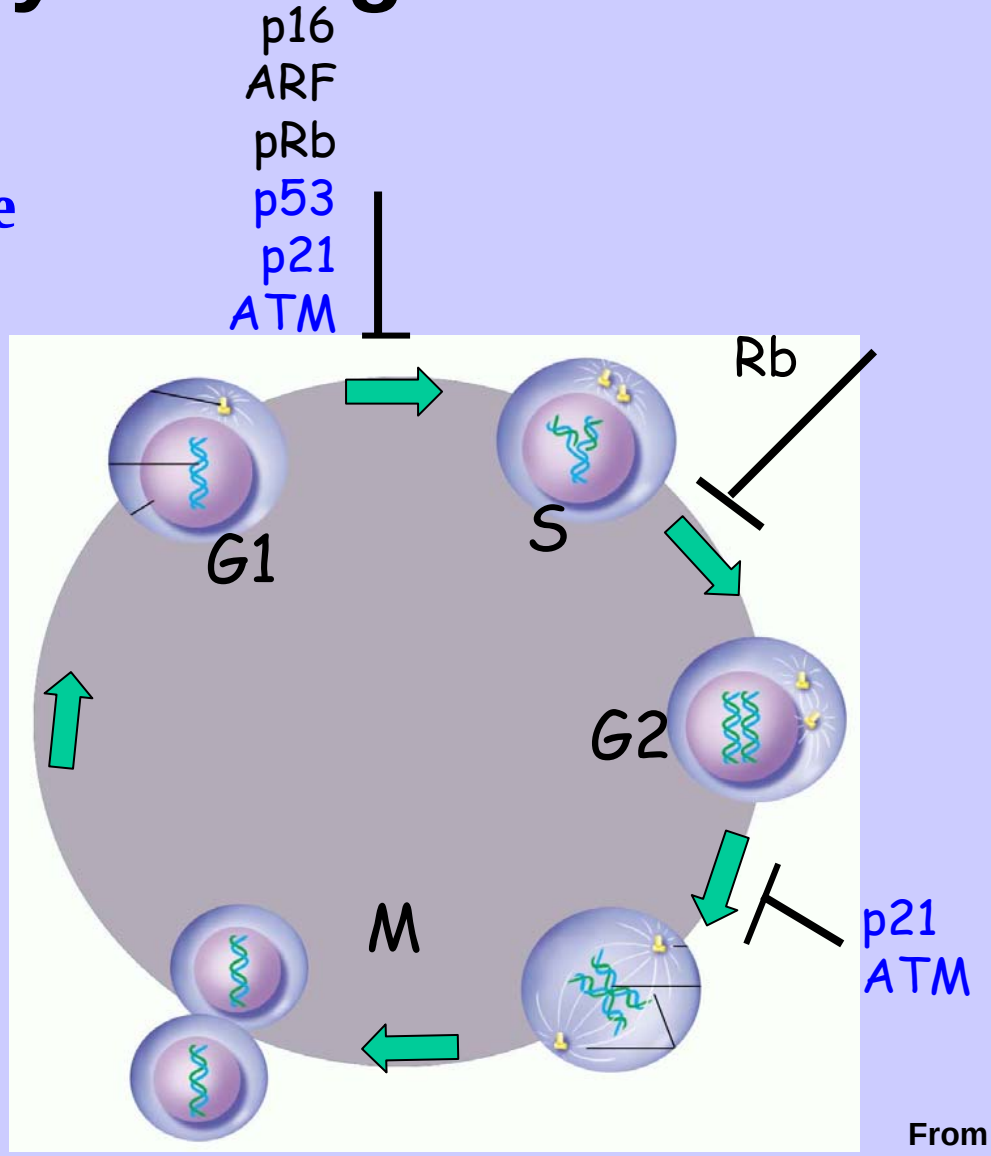
Figure 13-1

Copyright (c) by W. H. Freeman and Company

www.fisiokinesiterapia.biz

Most Tumor Suppressors are Negative Cell Cycle Regulators

Some Tumor Suppressors Block the Cell Cycle in the Presence of DNA Damage or Incomplete DNA Repl.



In their absence, cells with damaged DNA keeps generating new cells without fixing the damage

From Mark Winey
MCDB2150

Oncogenes; Activated by Dominant, GOF Mutations
Tumor Suppressors; Inactivated by Recessive, LOF Mutations

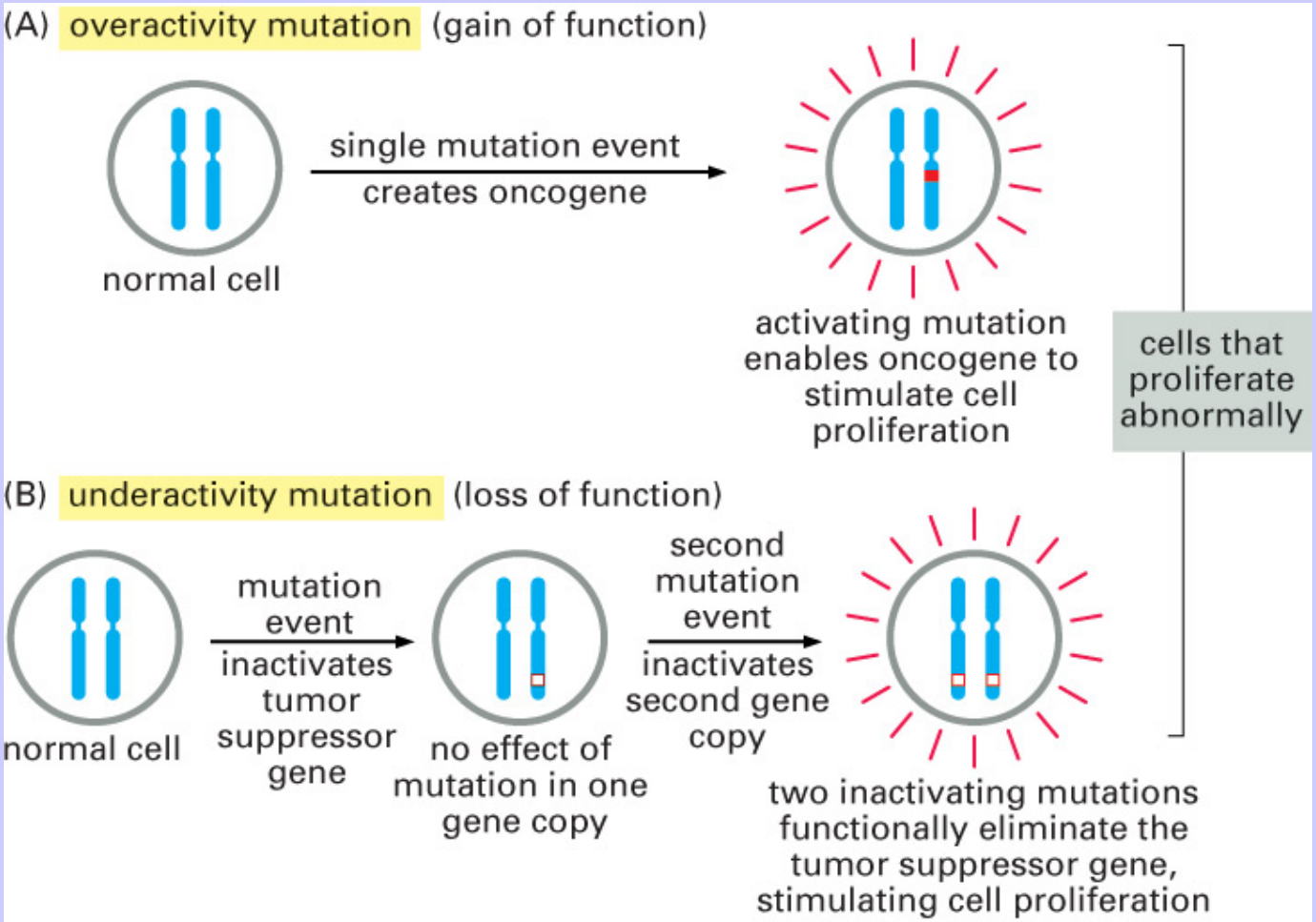


Figure 23–24. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.