

Prof. Giorgio Sartor
Corso di Laurea Specialistica in Scienze per l'Ambiente e il Territorio



Misure con biomarcatori

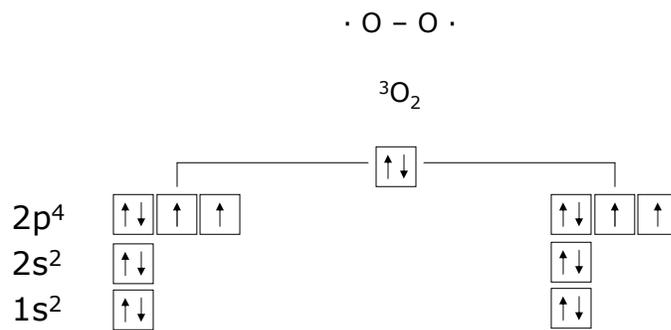
IV. Biomarkers di genotossicità

Copyright © 2001-2006 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 3.0 - gennaio 2006

Stress ossidativo

Ossigeno tripletto

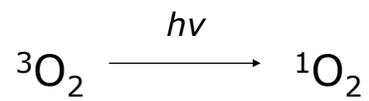


gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

3

Fornendo energia

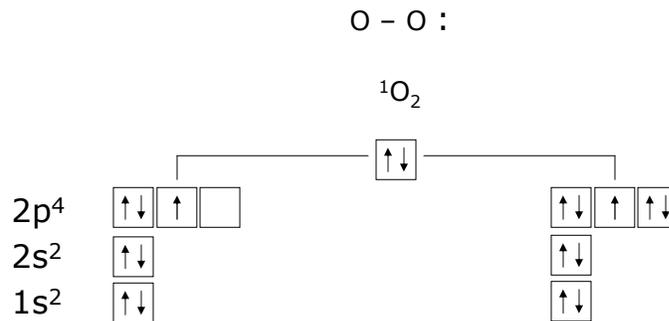


gs © 2001-2006 ver 3.0

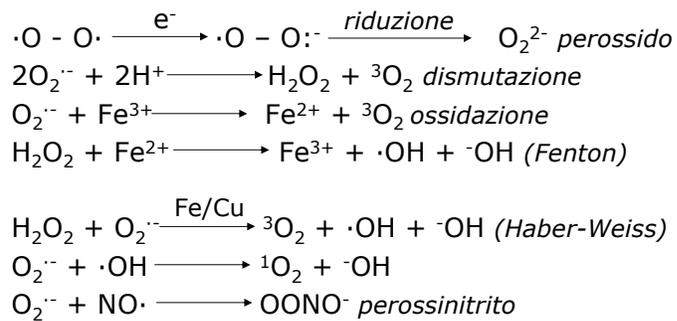
Misure con biomarcatori IV

4

Ossigeno singoletto

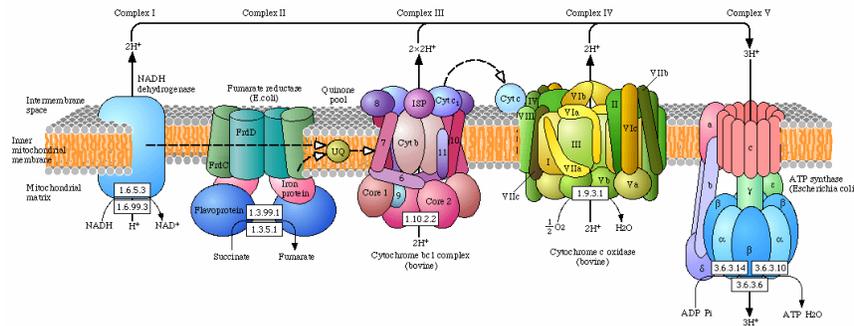


Anione superossido



Specie radicaliche dell'Ossigeno (ROS)

- Prodotte anche dalla catena respiratoria



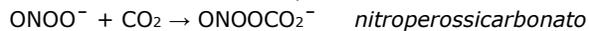
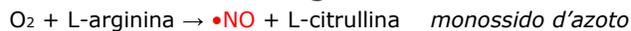
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

7

Specie radicaliche dell'Azoto (RNS)

- Prodotte prevalentemente dallo smog fotochimico
- All'interno dell'organismo vengono prodotte da reazioni dell'ossigeno molecolare



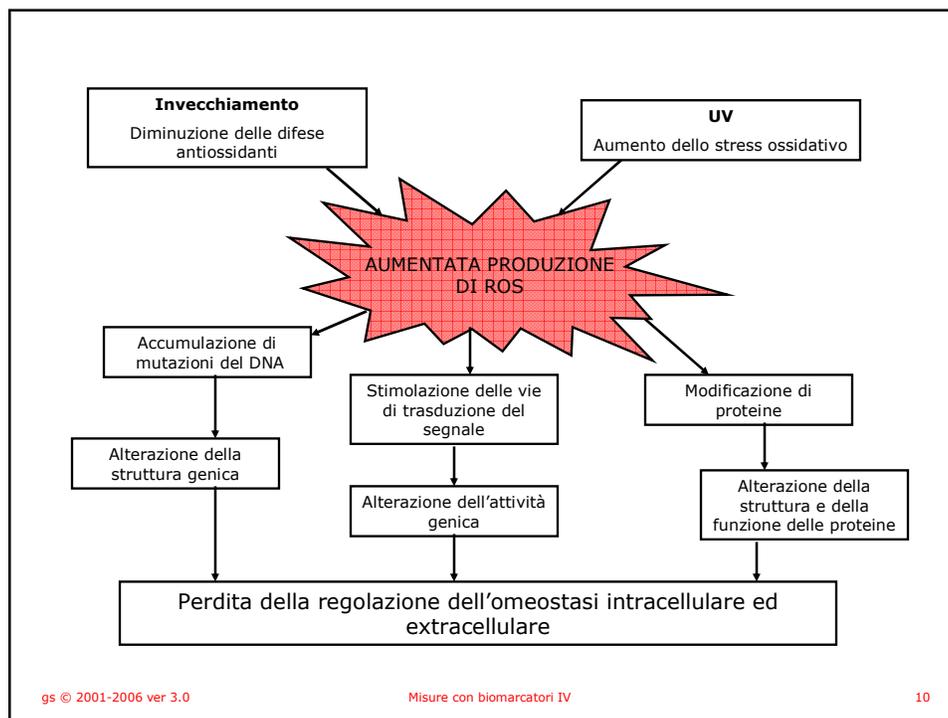
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

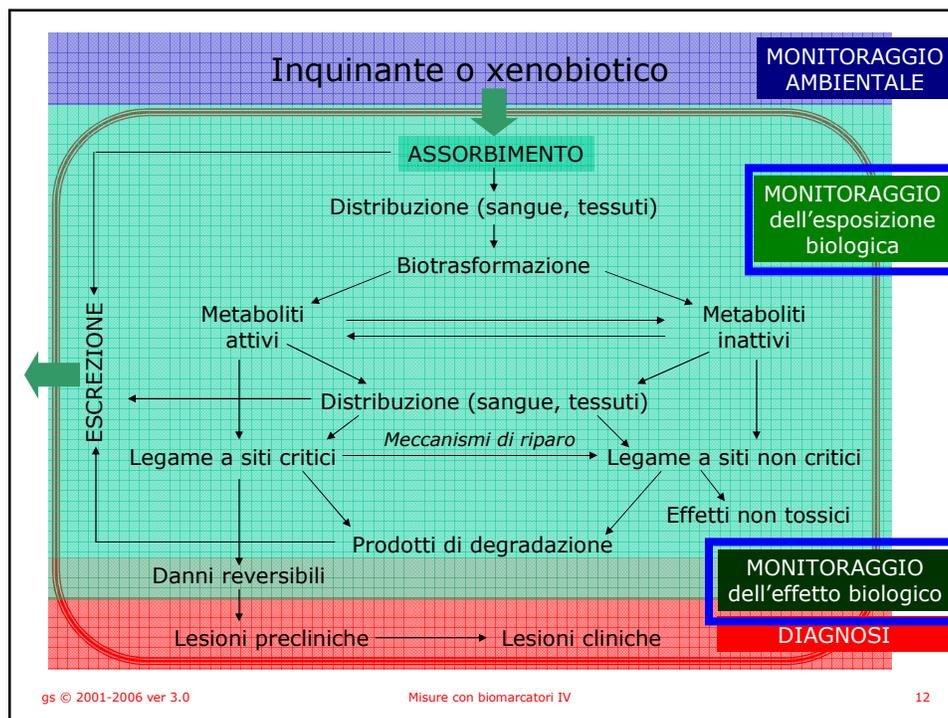
8

Fonti di Radicali

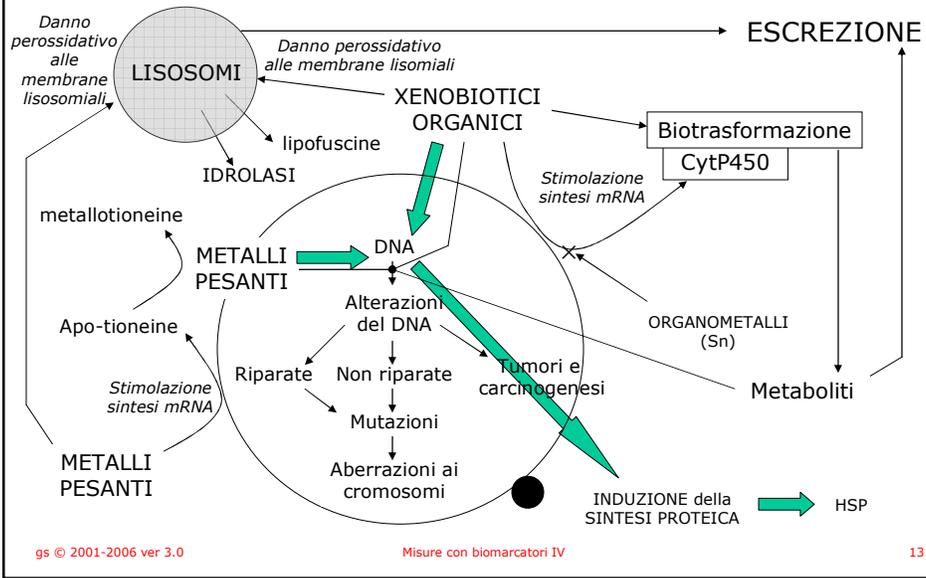
- Sorgenti endogene:
 - catena respiratoria, fotosintesi, prostaglandine, perossisomi, autossidazione, fagociti, ossiemoglobina, enzimi ossidativi
- Sorgenti esogene:
 - xenobiotici, radiazioni (ionizzanti e UV), calore, infezione, iperossia, inquinamento



Biomarkers di genotossicità e loro significato



Effetto sinergico di inquinanti



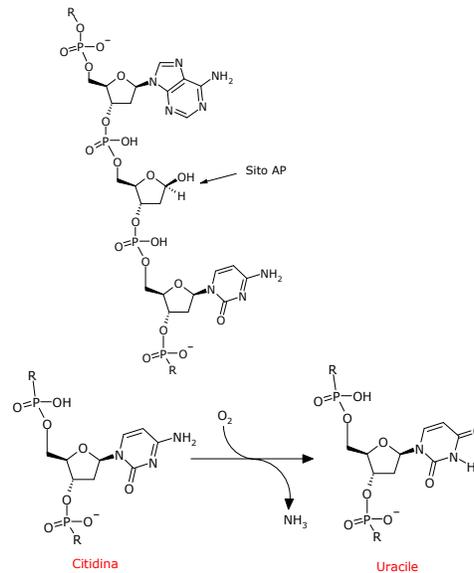
Danni al DNA

Tipi di danni al DNA

- Danni naturali
 - Mutazioni spontanee
- Danni fisici
 - Da radiazioni ionizzanti e UV
- Danni chimici
 - Da ROS e inquinanti organici

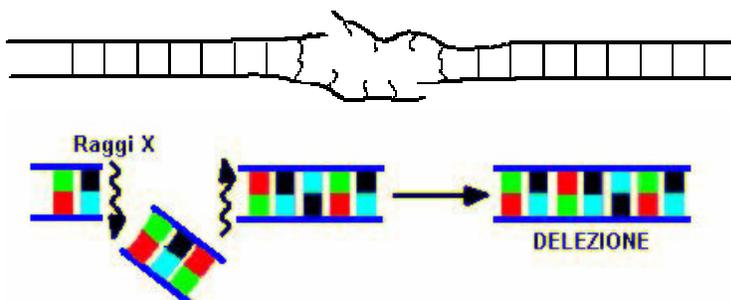
Danni Naturali

- Perdita di basi: il legame glicosidico è labile sotto condizione fisiologiche (formazione di un sito AP).
- Deamminazione: i gruppi amminici primari sono a volte instabili e possono venire convertiti in chetoni.



Danni Fisici: Radiazioni Ionizzanti

- Danni diretti: *Single Strand Break, Double Strand Break, mismatched bases.*
- Danni indiretti: produzione di ROS.



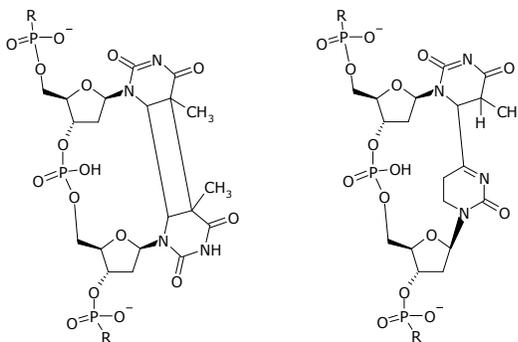
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

17

Danni Fisici: Radiazioni UV

- Stress ossidativo: foto-carcinogenesi e foto-invecchiamento (UV-B)
- Foto-dimerizzazione: formazione di CPD e 6-4PP (UV-C).



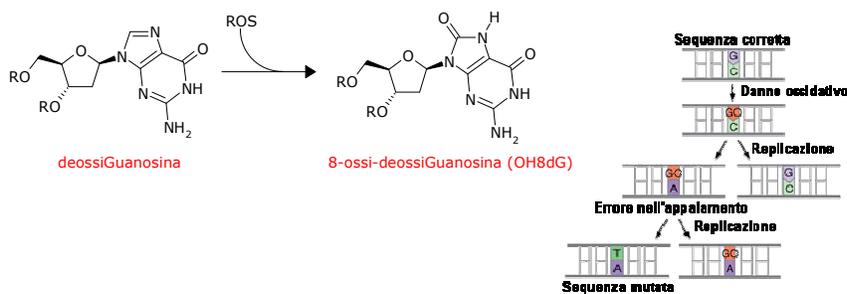
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

18

Danni chimici: ROS

- Causano ossidazione delle basi e **amplificano** deaminazioni e depurinazioni.
 - o Un esempio di composto ossidato è OH8dG: causa trasversioni delle basi GC → TA



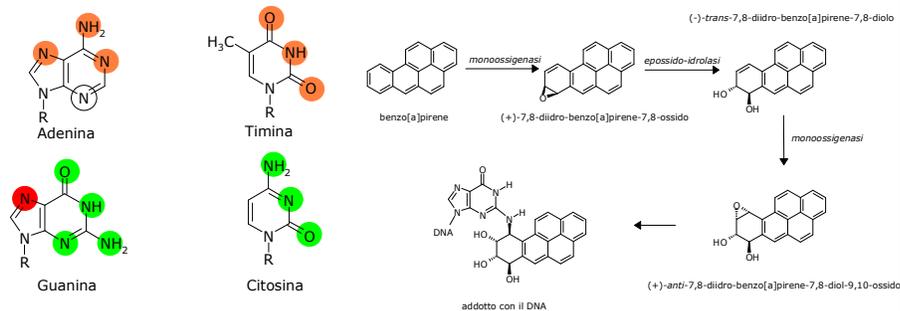
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

19

Danni chimici: inquinanti Organici

- Genotossici: danno diretto al DNA tramite formazione di addotti (alchilanti in posizioni nucleofile).
- Epigenetici: danno indiretto al DNA attraverso stress ossidativo o l'attivazione di composti pericolosi. Es. IPA.



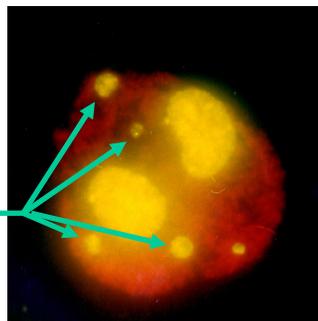
gs © 2001-2006 ver 3.0

Misure con biomarcatori IV

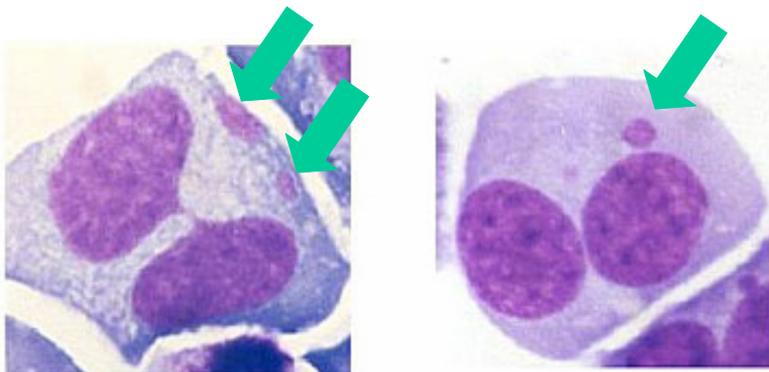
20

Formazione di micronuclei

- Durante la divisione cellulare i cromosomi sono trascinati verso i due poli da fibrille. Se il DNA è rotto il cromosoma non ha centromero in grado di attaccarsi alle fibre. Il DNA danneggiato rimane quindi al di fuori del nucleo principale e forma uno o più micronuclei.
- I micronuclei si formano sia per rottura del singolo strand (chimica) che per rottura del doppio strand (radiazioni).



Formazione di micronuclei

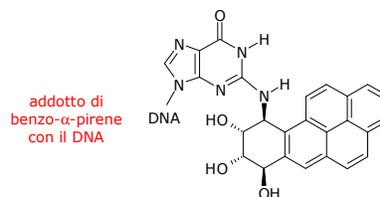
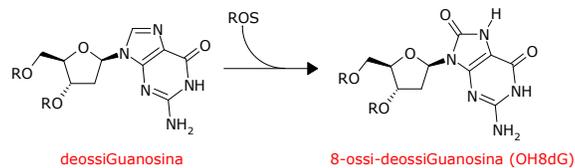


Test dei micronuclei

- Blocco del ciclo cellulare.
- Calcolo della % dei micronuclei indotti (separazione incorretta di frammenti cromosomici durante l'anafase).
- Vengono considerati positivi i campioni con correlazione dose-risposta che mostrano una % almeno doppia del bianco.
- Spesso utilizzato come bioindicatore di genotossicità in ambiente marino con applicazione in mitili.

Addotti al DNA

- Sono prodotti dall'azione dei ROS e/o degli IPA sul DNA



OH8dG

- Biomarker clinico del danno ossidativo al DNA.
- Non è assimilata dalla dieta, tutta l'OH8dG urinaria è conseguenza diretta delle lesioni cellulari.
- Facilmente distinguibile da G con tecniche analitiche.
- Problema: OH8dG ha un potenziale di ossidazione più basso di G, quindi diventa il sito preferenziale di ossidazione, e forma la guanidinoidantoina.

Referenze sul WEB ...

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici:
<http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database):
<http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry
<http://www.atsdr.cdc.gov>

...e naturalmente

- Questo ed altro materiale può essere trovato visitando il sito: <http://www1.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:
- **Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor**
Università di Bologna a Ravenna
Corso di Laurea in Scienze Ambientali