



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL' AMBIENTE

CORSO DI LAUREA:

SCIENZE BIOLOGICHE

*Regolazioni molecolari del ritmo circadiano e implicazioni nella fisiologia
e malattie*

*Molecular regulations of circadian rhythm and implications for
physiology and diseases*

Tesi di laurea di:
Campanella Claudio

Docente referente:
Prof. **Daniele Di Marino**

*Sessione Autunnale
Anno accademico 2021/2022*

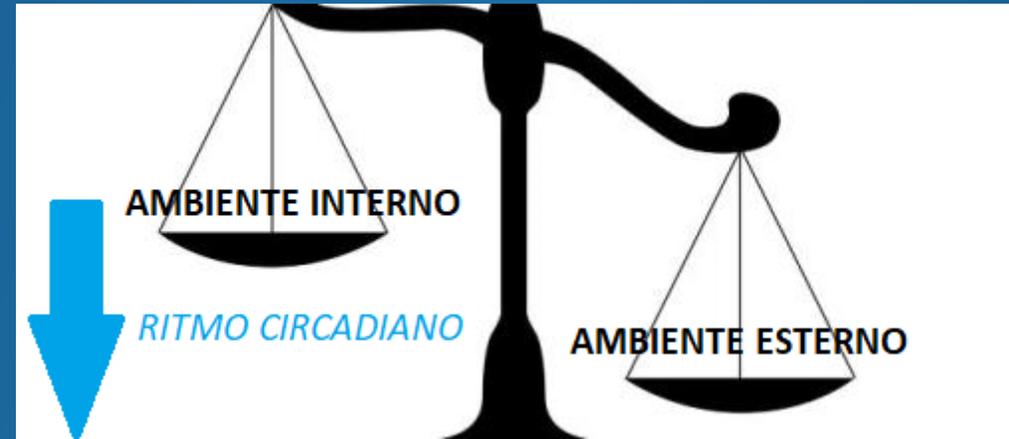
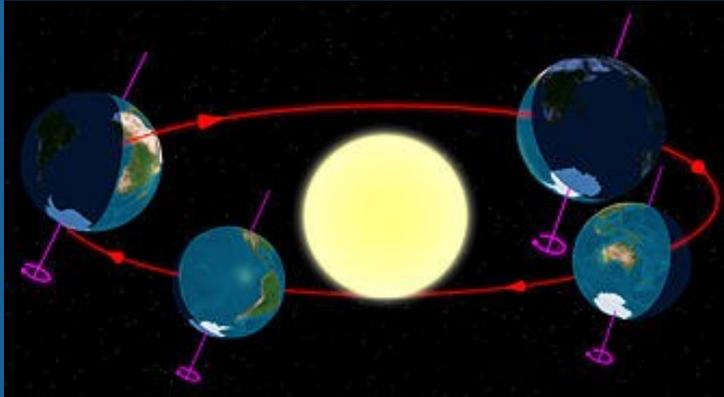
La vita si è evoluta in un contesto ambientale ciclico e ripetitivo

in risposta

tutti gli organismi hanno evoluto i **RITMI CIRCADIANI**

permettendo

omeostasi



Il ritmo circadiano è generato attraverso un sistema gerarchico di **oscillatori biologici**:

- l'oscillatore principale (MASTER CLOCK), situato nel nucleo ipotalamico soprachiasmatico;
- Gli oscillatori periferici, in vari organi e tessuti (cuore, polmoni...).

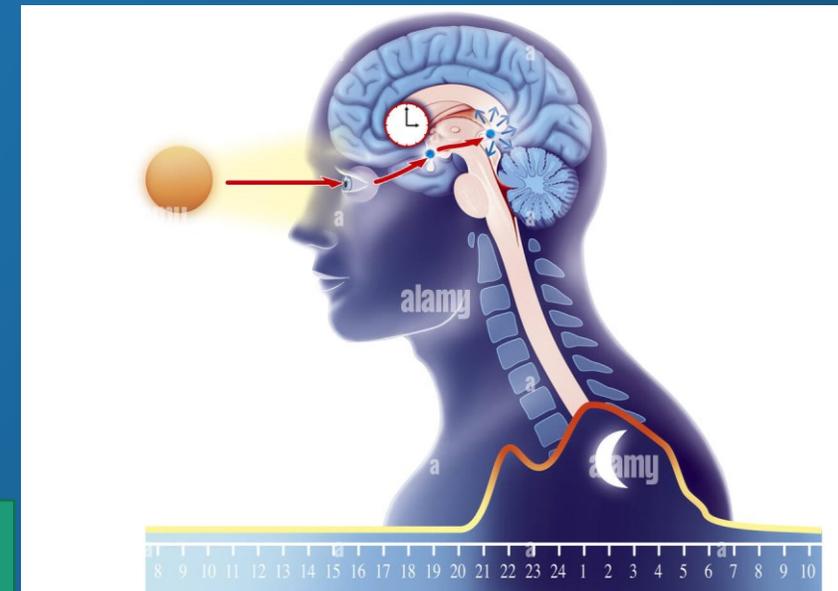
LUCE

MASTER CLOCK
(S.N.C.)

S.N.P.

OSCILLATORI
PERIFERICI

segnali metabolici e
nutrizionali



Un **oscillatore biologico** è rappresentato da meccanismi generati da numerosi fattori di trascrizione coinvolti in circuiti di feedback di trascrizione e traduzione autoregolati.

Questo circuito è costituito da 2 braccia:

Braccio positivo

Rappresentato dai fattori di trascrizione **BMAL1** e **CLOCK** che dimerizzano (BMAL1/CLOCK) e regolano l'attività trascrizionale di vari geni



Braccio negativo

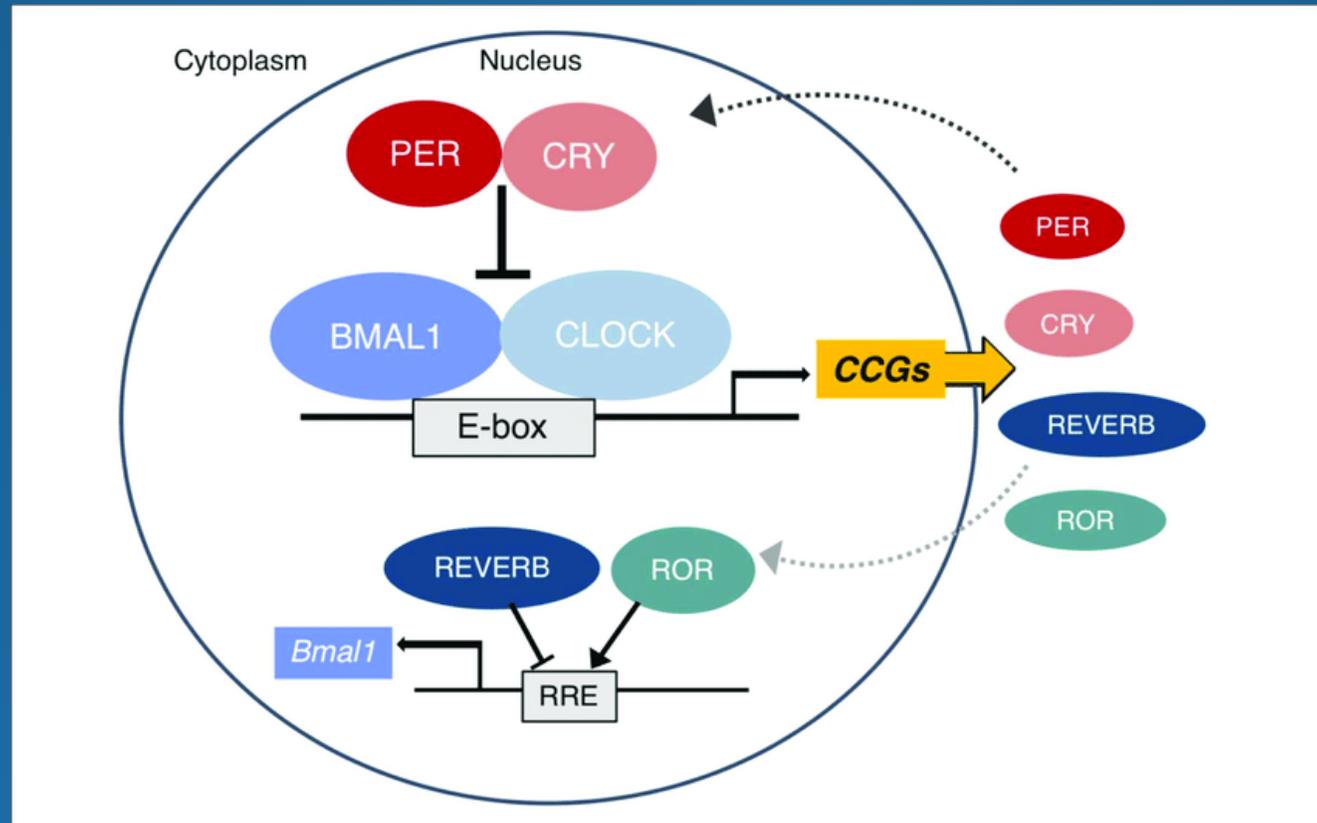
Rappresentato dai fattori di trascrizione **PER** e **CRY** che dimerizzano (PER/CRY) e sopprimono l'espressione di **BMAL1** e **CLOCK**



Il complesso dell'ubiquitina ligasi **SCF** permette la degradazione di **PER** e **CRY**



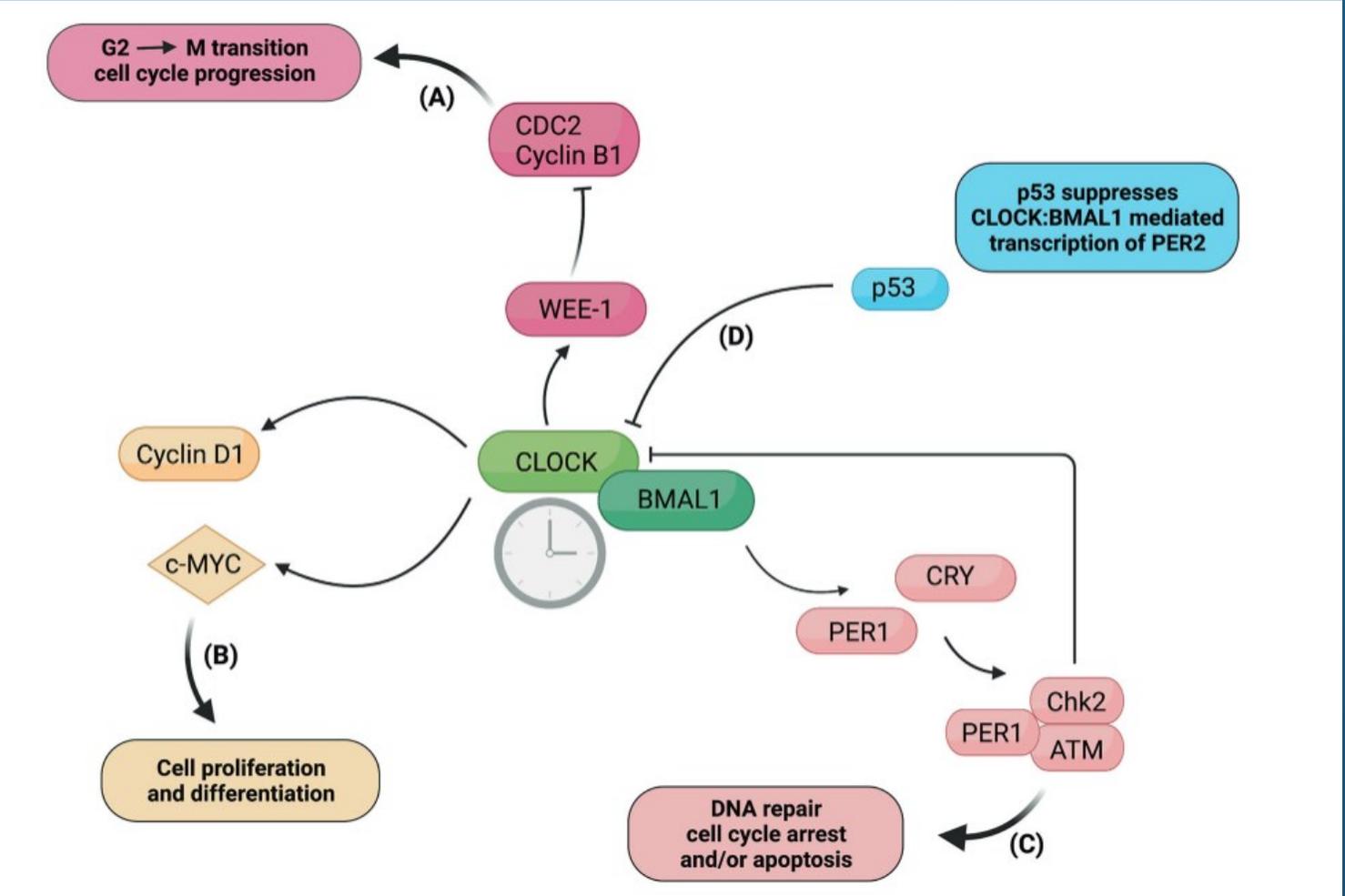
- **REV-ERBs**, regolano negativamente l'espressione di **BMAL1**;
- **RORs**, regolano positivamente l'espressione di **BMAL1**.



Gli **attori molecolari** dell' orologio biologico possono influenzare numerosi processi intracellulari:

1) CICLO CELLULARE

- L' eterodimero **BMAL1/CLOCK** impedisce la progressione dalla fase **G2→M**;
- L' eterodimero **BMAL1/CLOCK** promuove la progressione dalla fase **G1→S** e la proliferazione e differenziazione cellulare;
- L' elemento **PER1** promuove l' arresto del ciclo cellulare, riparazione del DNA o apoptosi;
- p53 e **BMAL1/CLOCK** competono per il promotore del gene **PER2**;
- L' elemento **PER2** può impedire la degradazione di p53 mediata da MDM2.



2) ANGIOGENESI E RISPOSTA ALL' IPOSSIA

L' orologio molecolare

Influenza l' attività

- **VEGF**(fattore di crescita dell' endotelio vascolare)
- **HIF1 α** (fattore 1-alfa inducibile dall' ipossia)

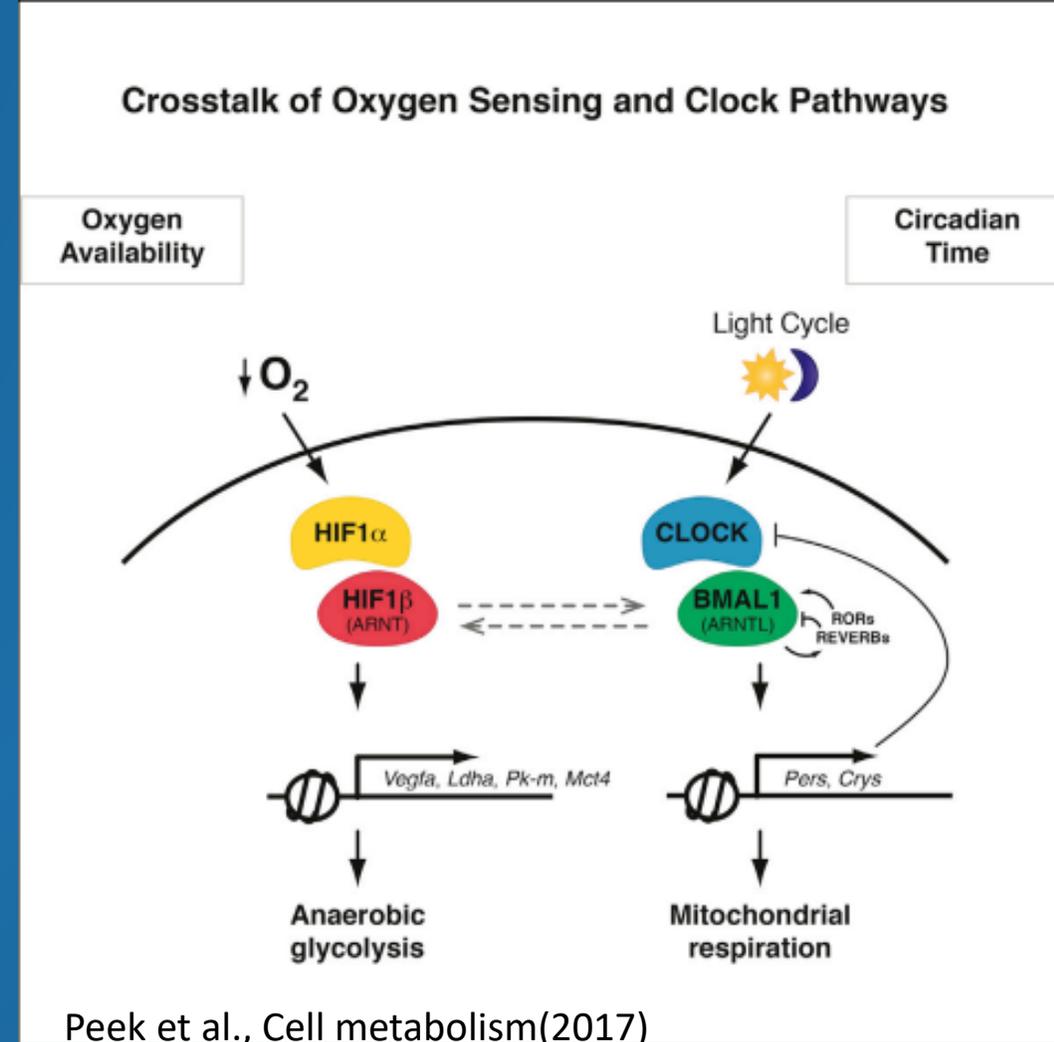
- **BMAL1** regola positivamente l' espressione di **VEGF**;
- **PER2, CRY1** regolano negativamente l' espressione di **VEGF**;
- L' orologio molecolare regola positivamente l' espressione di **HIF1 α** .

BIDIREZIONALE

- **HIF1 α** regola positivamente l' espressione di geni circadiani;

L' orologio molecolare influenza l' attività di **HIF1 α** in modo tessuto-specifico:

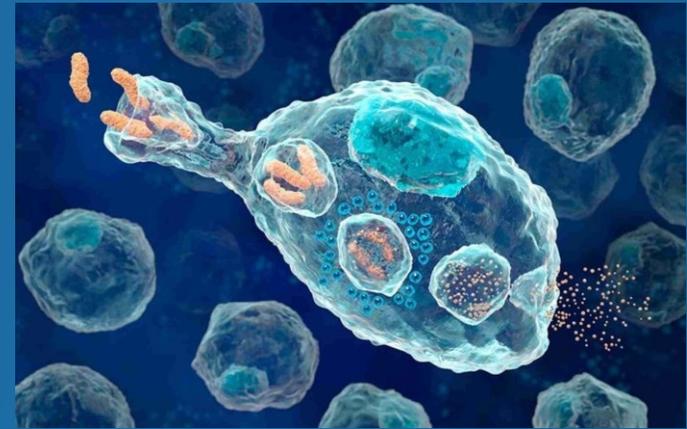
- La delezione di **BMAL1** nel fegato ha promosso glicolisi anaerobica potenziata;
- La delezione di **BMAL1** nei miotubi ha portato ad una riduzione della glicolisi anaerobica.



3) SISTEMA IMMUNITARIO

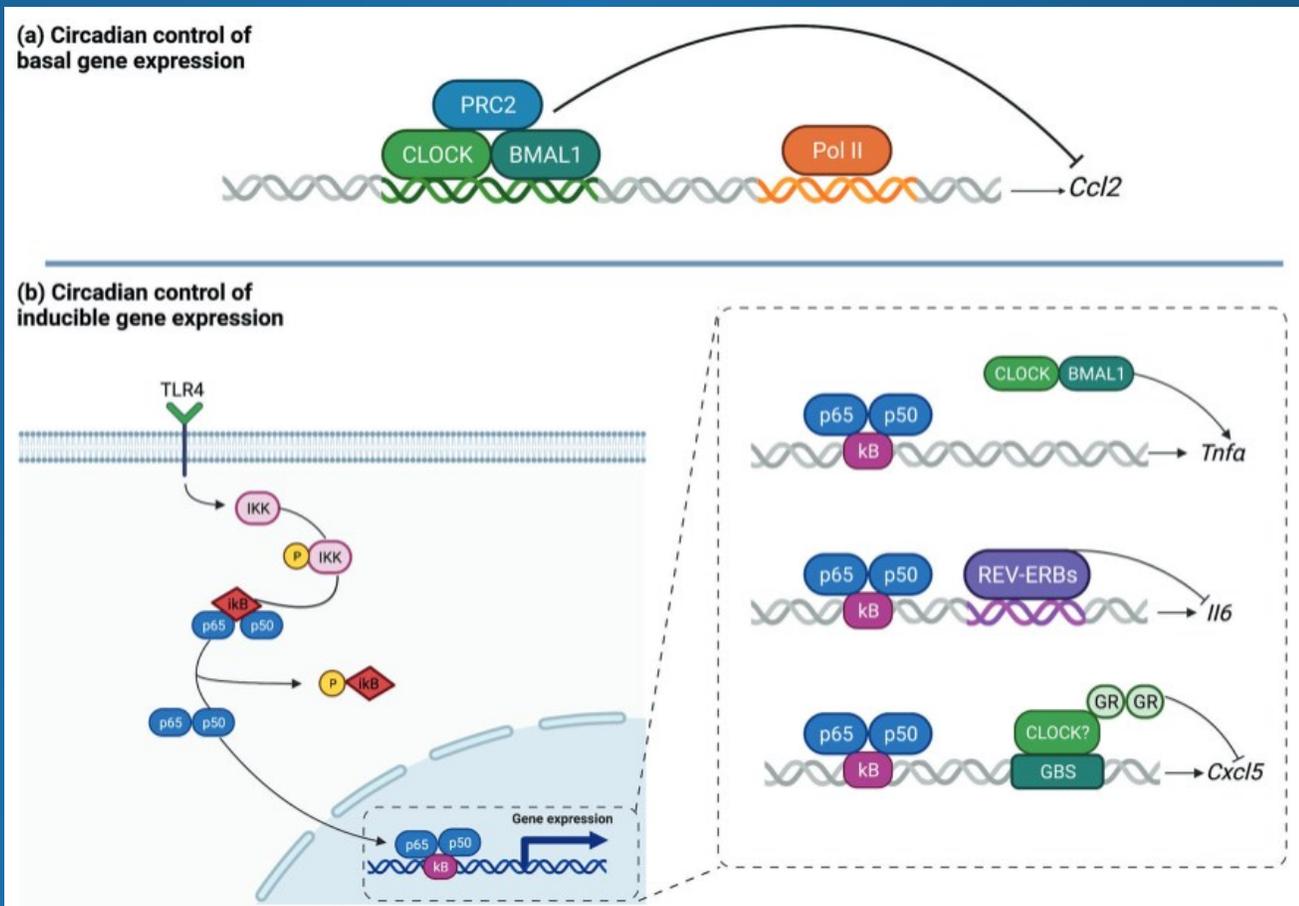
Alcuni elementi dei S. I. hanno mostrato ritmicità nella loro attività:

- Migrazione delle cellule staminali ematopoietiche;
- Attività di macrofagi o cellule NK.



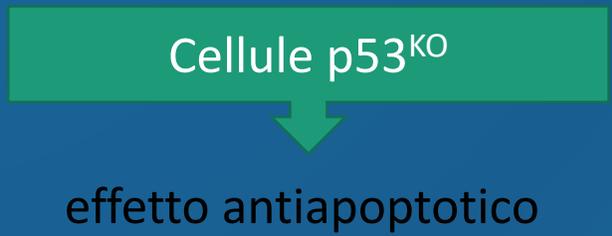
L'orologio molecolare influenza le vie infiammatorie:

- **BMAL1/CLOCK** recluta la proteina **polycomb2**(PRC2) sul DNA reprimendo l'espressione della chemochina **Ccl2**;
- **REV-ERBs** reprime l'espressione dell'interleuchina **IL6**;
- Elementi del braccio positivo (**CLOCK**) possono regolare la via di segnalazione dei **GR**(recettore per i glucocorticoidi).

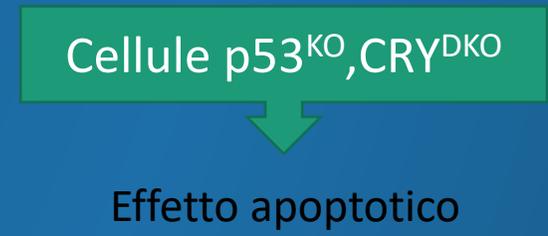




L' **apoptosi estrinseca** è promossa dalla citochina **TNF α** (fattore di necrosi tumorale) e il seguente esperimento è stato condotto per studiare l' influenza dell' orologio sul fenomeno:



entrambe stimulate con TNF α ed esposte a mutageni fisici

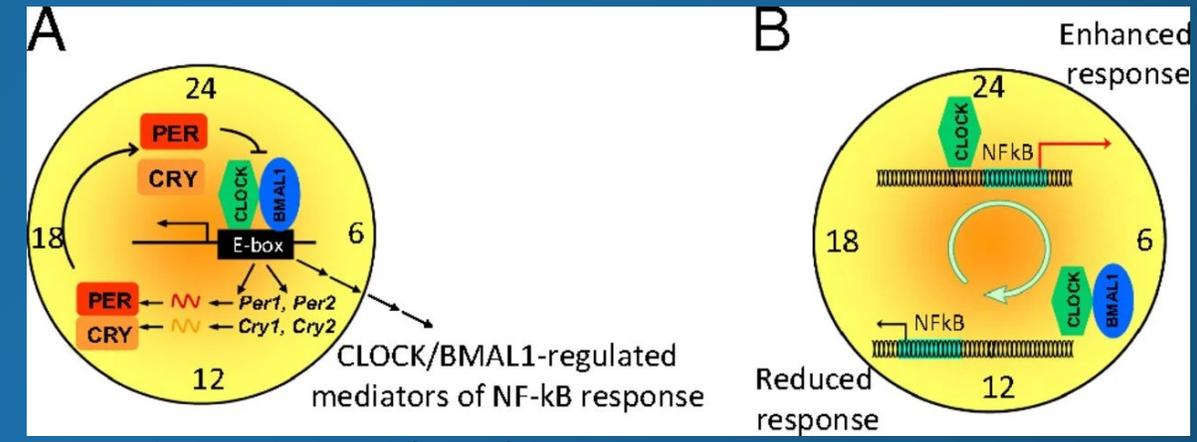


Questo fenomeno non è controllato da **CRY**, bensì da:

- **BMAL1**, che interferisce con la via di segnalazione di NF- κ B;
- **CLOCK**, che promuove l' attività di NF- κ B.

Anche NF- κ B può influenzare l' orologio molecolare:

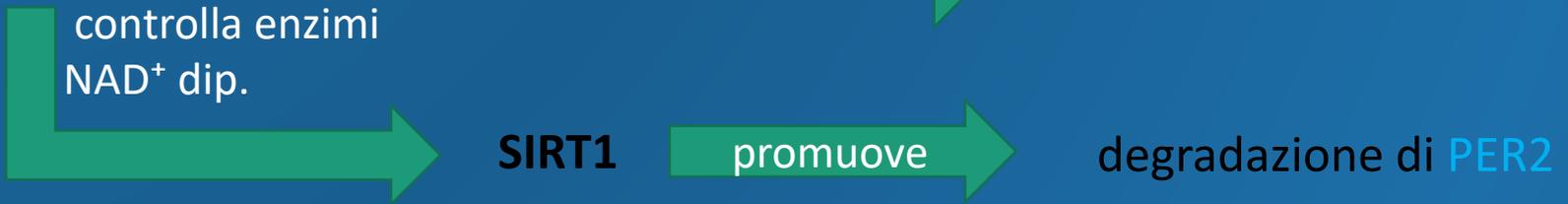
- In topi obesi la delezione di IKK (attiva NF- κ B) ha ripristinato l' orologio molecolare;
- Nel S.N.C. di topi la delezione di IKK ha portato ad una deregolazione circadiana.



Spengler et al., PNAS(2012)

4) METABOLISMO E OMEOSTASI REDOX

1) Lo stato redox di **NAD(H)** e **NADP(H)** influenza le interazioni tra **BMAL1/CLOCK** e DNA:



DEREGOLAZIONE CIRCADIANA E IMPLICAZIONI PER LA SALUTE E LE MALATTIE UMANE

Il **disallineamento circadiano** può essere provocato da:

- Fattori ambientali;
- Comportamenti sociali(luce artificiale, irregolarità alimentari, lavoro a turni..);
- Condizioni patologiche preesistenti.

Cancro/Obesità/Aterosclerosi/Artrosi

Il **cancro** presenta le seguenti caratteristiche:

- Proliferazione cellulare incontrollata;
- Resistenza all' apoptosi;
- Angiogenesi;
- Capacità di eludere il sistema immunitario;
- Riprogrammazione del metabolismo energetico.

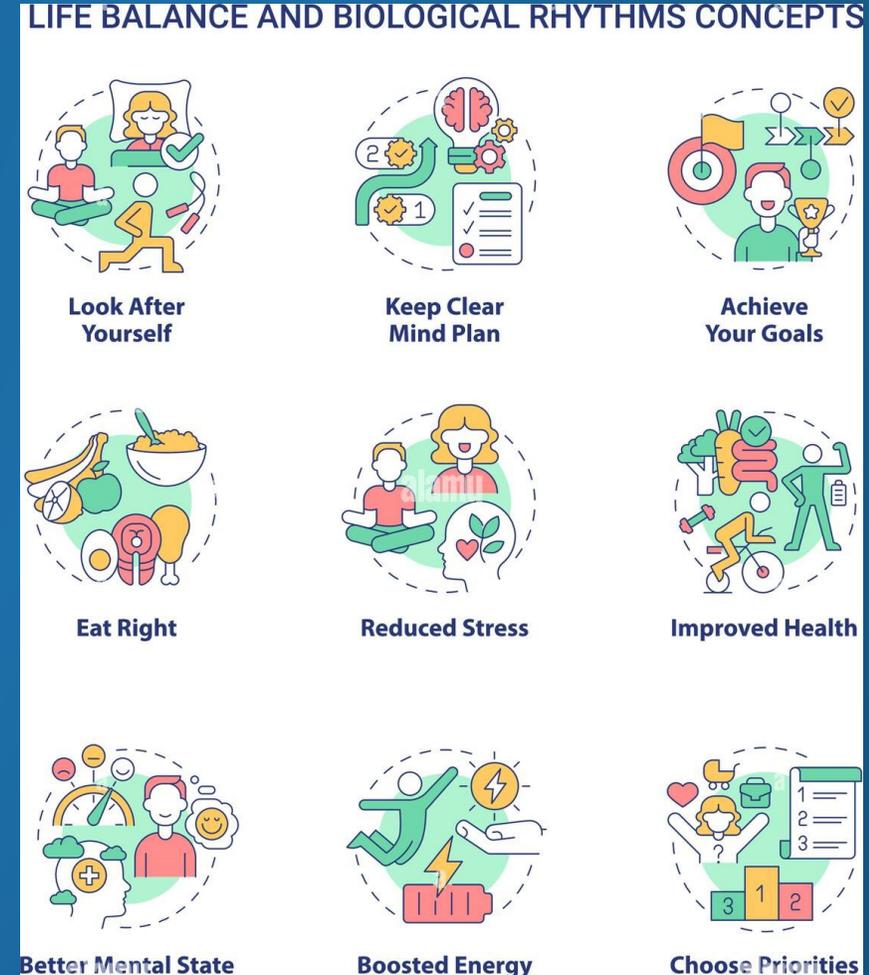
Varie patologie con manifestazione ritmica dei sintomi:

- *Artrite reumatoide;*
- *Ictus e infarto del miocardio;*
- *Asma.*

CORRELATO

promosse

deregolazione circadiana



CONCLUSIONI

Abbiamo visto come l' orologio molecolare influenza numerosi percorsi intracellulari:

- Crescita cellulare
- Riparazione DNA
- Apoptosi
- Metabolismo
- Angiogenesi
- Risposte immunitarie

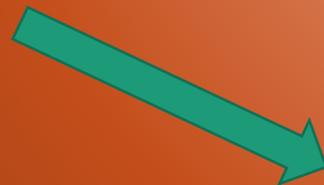


CONDIZIONI PATOLOGICHE

Approfondire le nostre conoscenze sull' orologio biologico permetterebbe



stabilire una medicina di precisione circadiana per il trattamento di malattie



sintetizzare molecole capaci di bersagliare l' orologio molecolare

