



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*

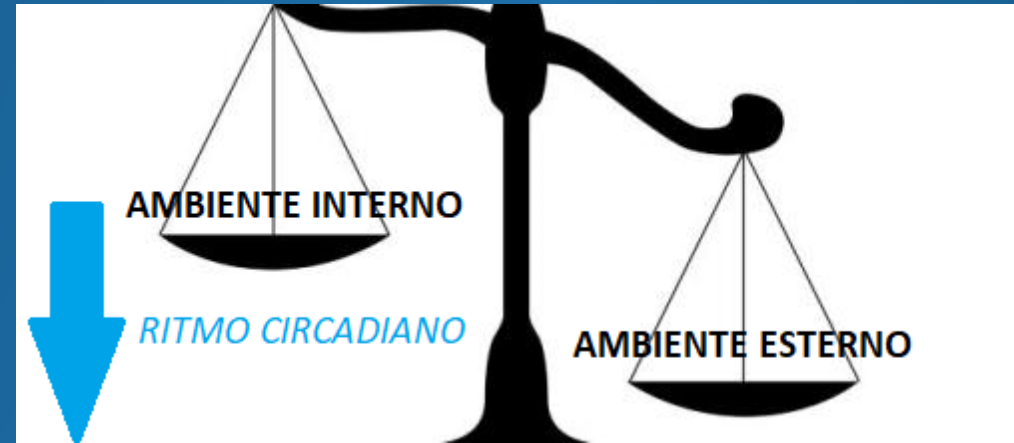
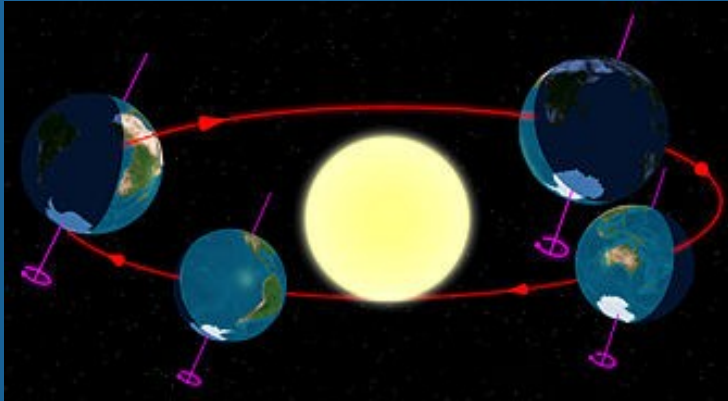
La vita si è evoluta in un contesto ambientale ciclico e ripetitivo

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...).

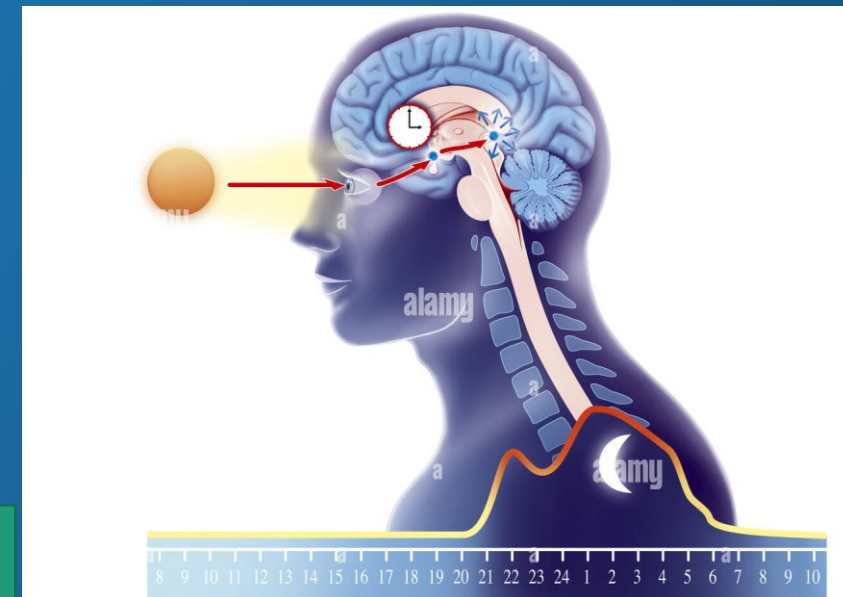
LUCE

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



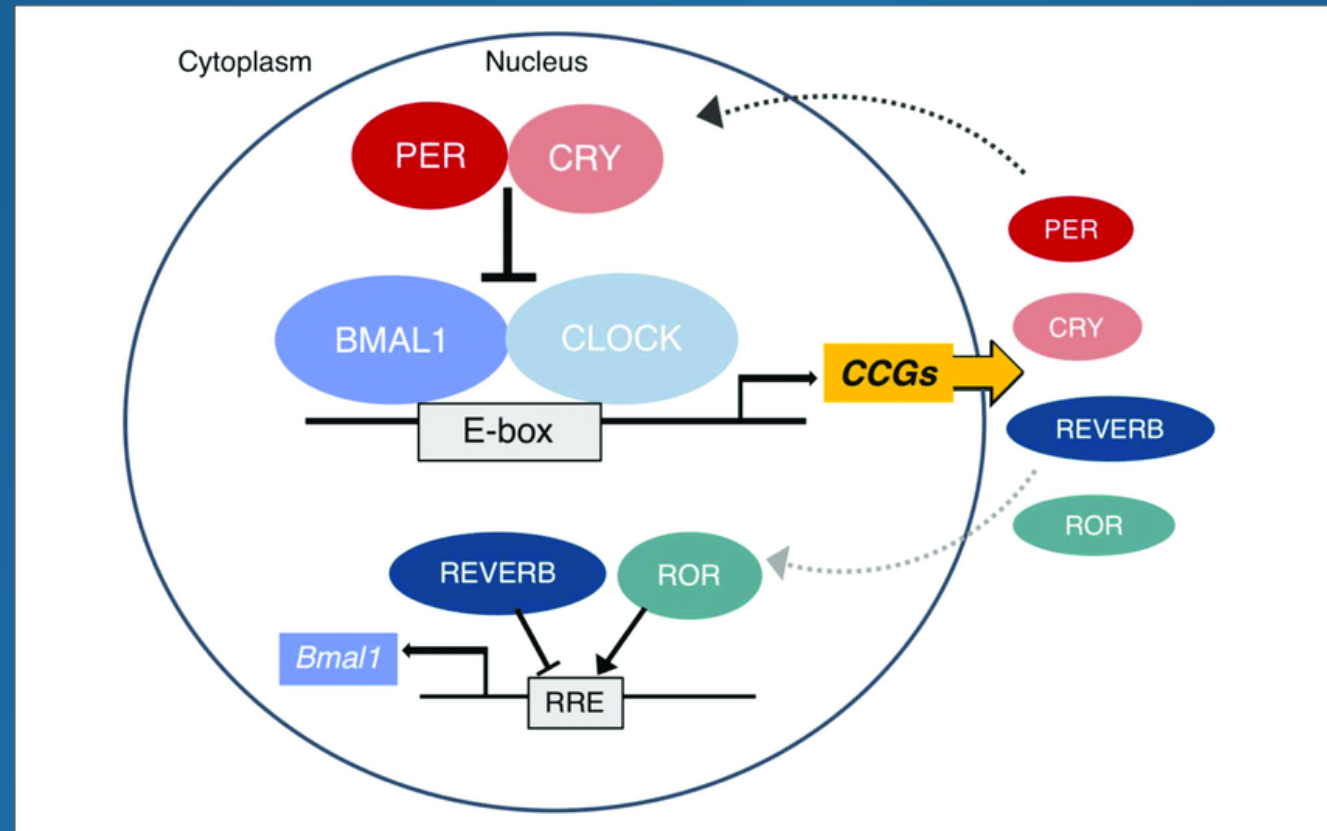
- **REV-ERBs**, regolano negativamente l'espressione di BMAL1;
- **RORs**, regolano positivamente l'espressione di BMAL1.

### Braccio negativo

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



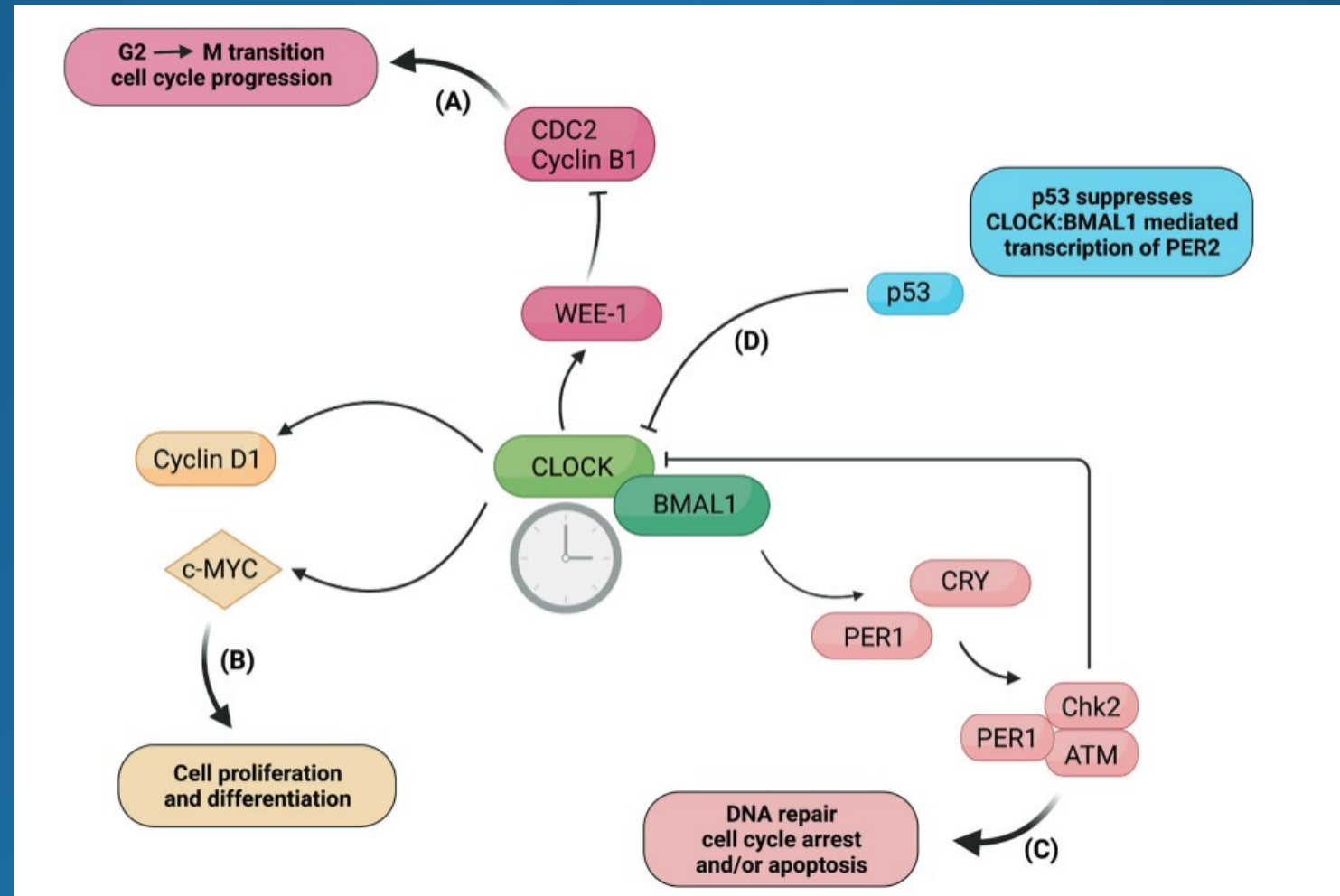
Il complesso dell'ubiquitina ligasi **SCF** permette la degradazione di **PER** e **CRY**



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 $\alpha$** (fattore 1-alfa inducibile dall' ipossia)

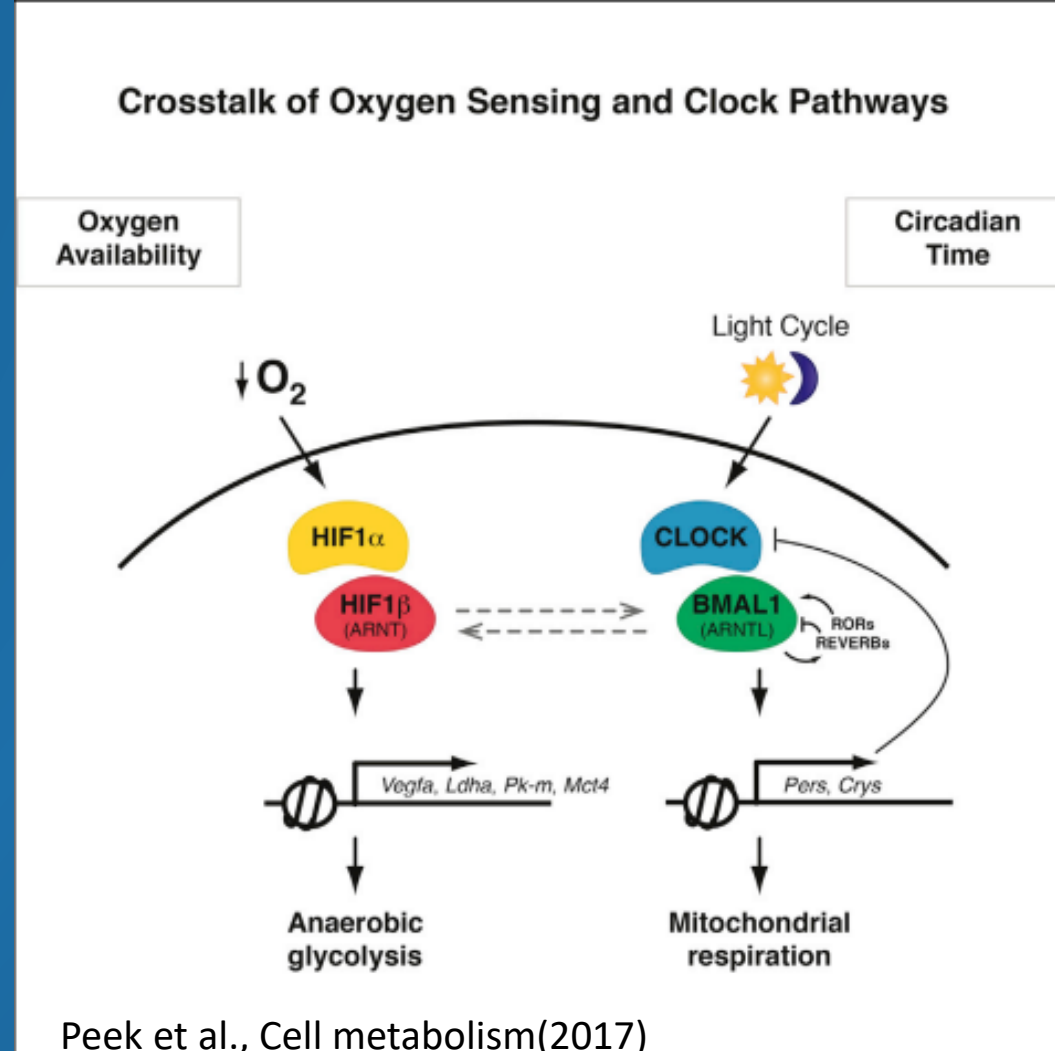
- **BMAL1** regola positivamente l' espressione di **VEGF**;
- **PER2**, **CRY1** regolano negativamente l' espressione di **VEGF**;
- L' orologio molecolare regola positivamente l' espressione di **HIF1 $\alpha$** .

BIDIREZIONALE

- **HIF1 $\alpha$**  regola positivamente l' espressione di geni circadiani;

L' orologio molecolare influenza l' attività di **HIF1 $\alpha$**  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.

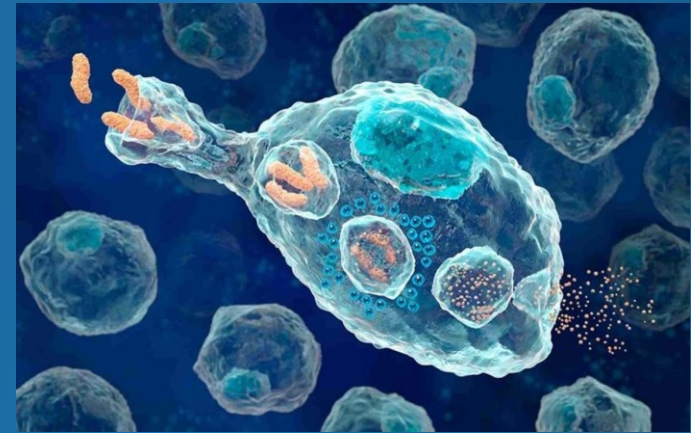




### 3) SISTEMA IMMUNITARIO

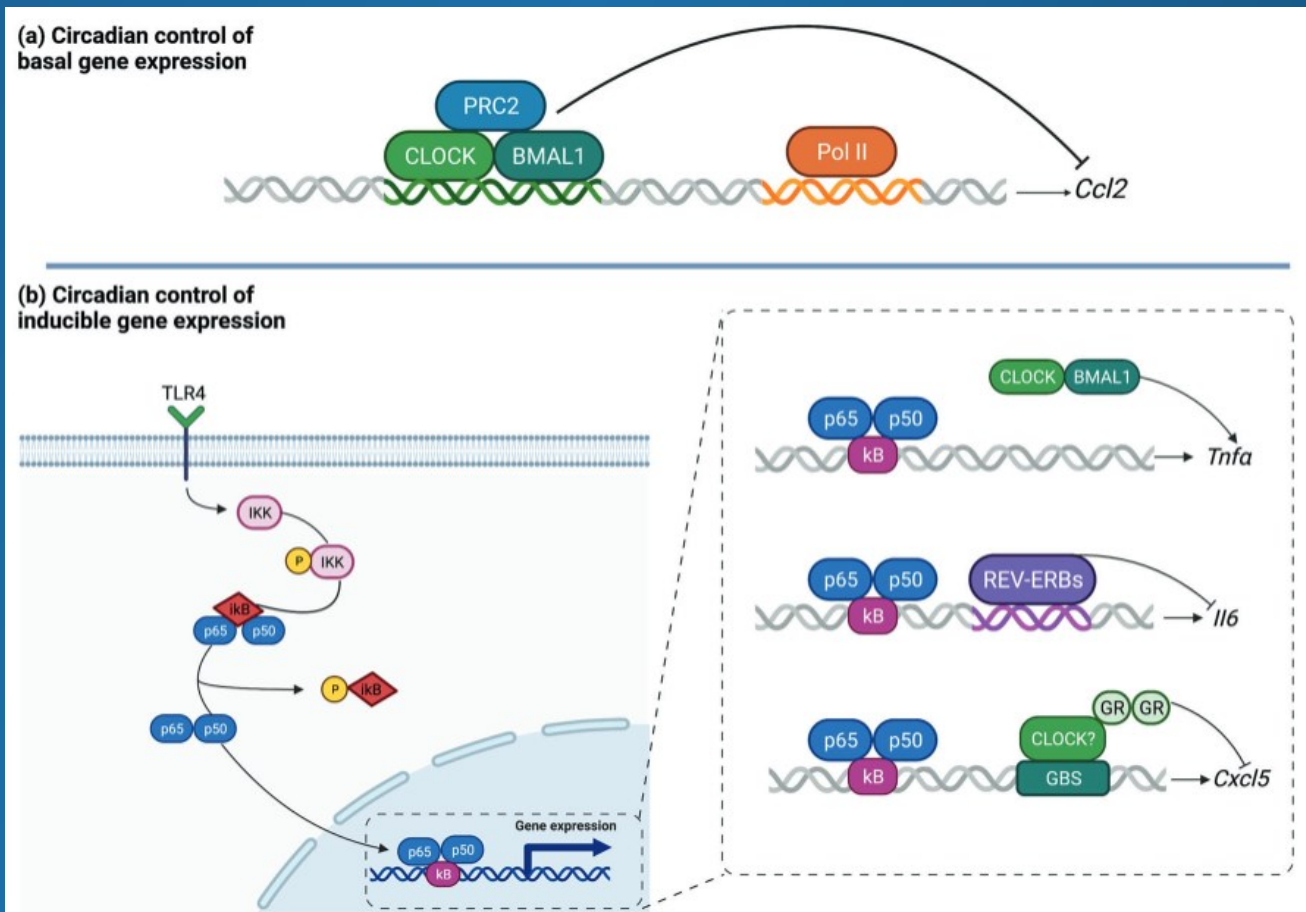
Alcuni elementi dei S. I. hanno mostrato ritmicità nella loro attività:

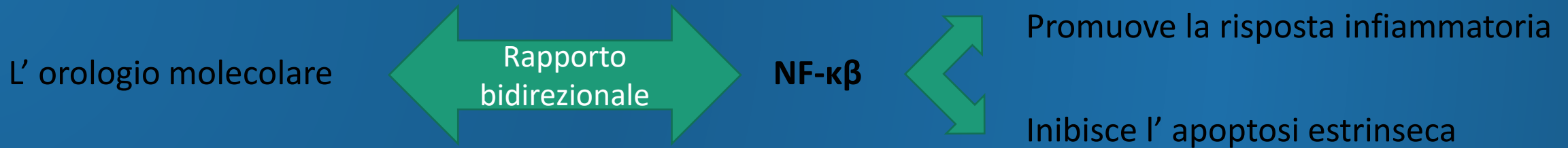
- Migrazione delle cellule staminali ematopoietiche;
- Attività di macrofagi o cellule NK.



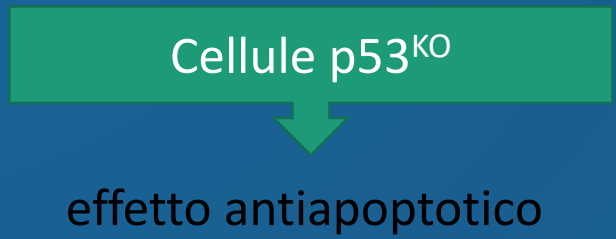
L'orologio molecolare influenza le vie infiammatorie:

- **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).

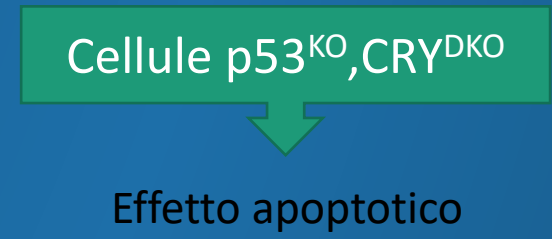




L' **apoptosi estrinseca** è promossa dalla citochina **TNFα** (fattore di necrosi tumorale) e il seguente esperimento è stato condotto per studiare l' influenza dell' orologio sul fenomeno:



entrambe stimulate con TNFα ed esposte a mutageni fisici

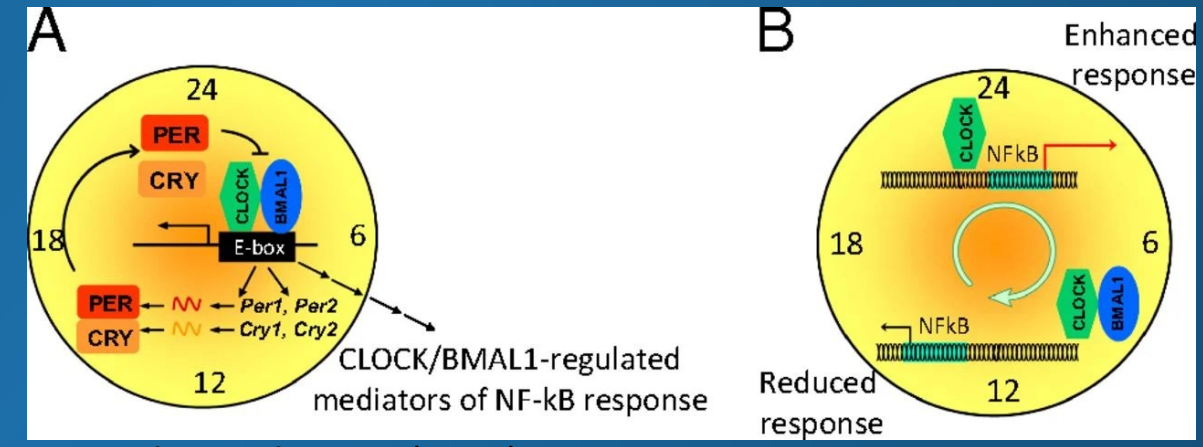


Questo fenomeno non è controllato da **CRY**, bensì da:

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

Anche NF-κβ può influenzare l' orologio molecolare:

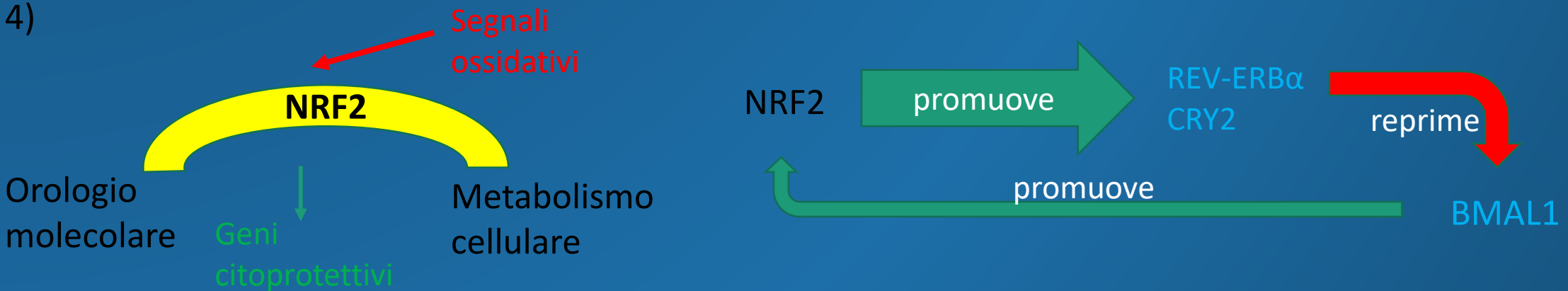
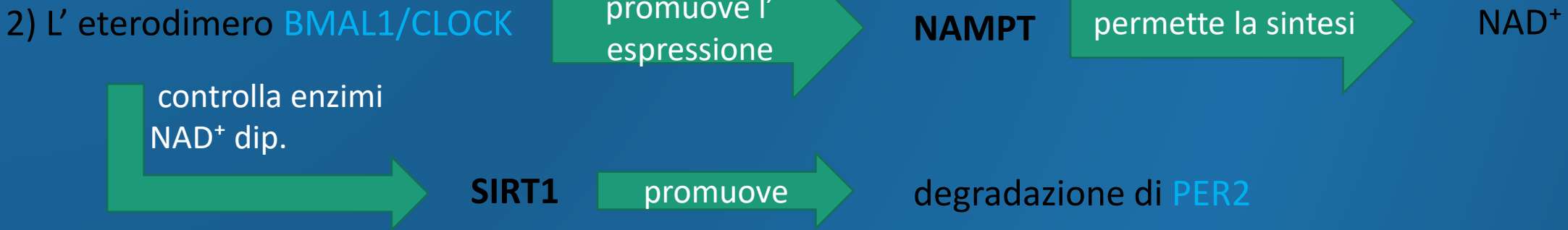
- In topi obesi la delezione di IKK (attiva NF-κβ) ha ripristinato l' orologio molecolare;
- Nel S.N.C. di topi la delezione di IKK ha portato ad una deregolazione circadiana.



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.

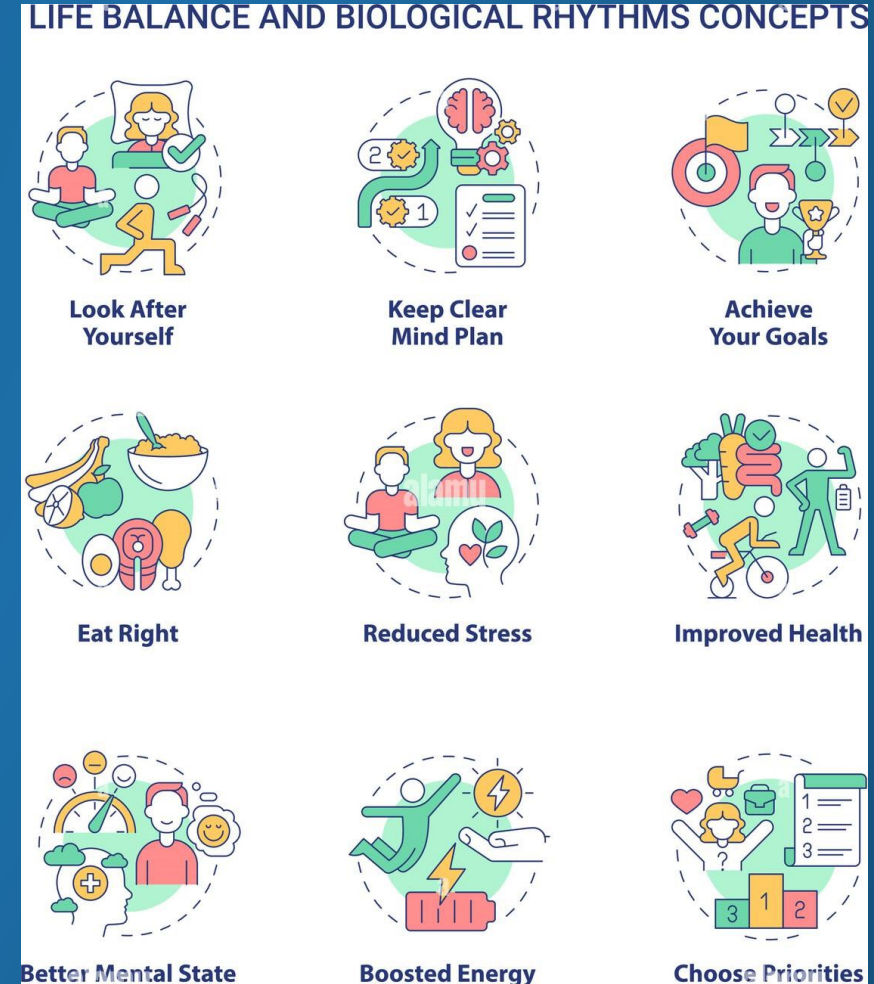
Varie patologie con manifestazione ritmica dei sintomi:

- *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

