

# Indice generale

Prefazione alla seconda edizione	XIII	Errori nella replicazione	17
Prefazione alla prima edizione	XIV	Errori nella ricombinazione	17
Introduzione alla prima edizione	XV	Errori nella riparazione	17

## PARTE I

### Le conoscenze di base

#### Capitolo 1

#### **La mutazione genica** 2

*Lucia Migliore*

<b>Introduzione</b>	2
<b>Mutazioni</b>	2
Mutazioni negli eucarioti: mutazioni somatiche e mutazioni germinali	2
Tipi di mutazioni	3
<b>Mutazioni geniche</b>	3
Effetti fenotipici delle mutazioni	4
Mutazioni silenti e neutre	5
Tipi di mutanti	6
Reversione e soppressione	6
<b>Mutazioni spontanee</b>	7
Mutazione spontanea nei batteri	8
Mutazione spontanea nell'uomo	13
<b>Cause esogene ed endogene delle mutazioni spontanee</b>	15
Cause chimiche	15
Danno ossidativo e formazione di metaboliti endogeni mutageni	16

<b>► SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Variabilità genetica e patologie umane</i>	20

<b>Mutazioni indotte</b>	22
<i>Riferimenti bibliografici</i>	23

#### Capitolo 2

#### **La mutazione cromosomica** 25

*Pasquale Mosesso*

<b>Introduzione</b>	25
<b>Mutazioni cromosomiche strutturali</b>	25
Classificazione delle mutazioni cromosomiche strutturali	25
Ciclo cellulare ed espressione delle mutazioni cromosomiche strutturali	26
Cinetica e meccanismi principali di formazione delle mutazioni cromosomiche strutturali	27
<b>► SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Classificazione delle più comuni mutazioni cromosomiche strutturali rilevabili con i test citogenetici convenzionali</i>	28
Descrizione delle mutazioni cromosomiche strutturali	31
Scambi tra cromatidi fratelli	34
Siti fragili	35
Fragilità cromosomica e processi di invecchiamento	36
<b>Mutazioni cromosomiche numeriche</b>	36
Aneuploidia	36
Meccanismi che portano all'aneuploidia	36
Cause e conseguenze della non-disgiunzione	38

Poliploidia	39
Cause che portano alla poliploidia	40
<i>Riferimenti bibliografici</i>	41

## Capitolo 3

### Le modificazioni epigenetiche 43

*Fabio Coppedè, Lucia Migliore*

Introduzione	43
Metilazione del DNA	43
Modificazioni delle code istoniche	44
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Malattie epigenetiche</i>	46
Interventi di RNA non codificanti	48
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Modificazioni epigenetiche correlate a specifiche esposizioni ambientali</i>	49
Conclusioni	51
<i>Riferimenti bibliografici</i>	51

## Capitolo 4

### I mutageni fisici 53

*Caterina Tanzarella, Ion Udroui*

Introduzione	53
Struttura della materia	53
► <b>SCHEDA TECNICA</b>	
<i>Classificazione dello spettro delle OEM e unità di misura</i>	54
Natura delle radiazioni	54
Interazione delle radiazioni con la materia	55
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO ONLINE</b>	
<i>Fonte di esposizione alle radiazioni</i>	
► <b>SCHEDA TECNICA</b>	
<i>Unità di misura delle radiazioni</i>	55
Radiazioni ionizzanti	57
Azione diretta o indiretta delle radiazioni	57
Radiolisi dell'acqua	57
Energia assorbita	58
Effetti biologici	59
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Particelle cariche di alta energia: dallo spazio alla terapia</i>	62
Induzione di mutazioni in cellule somatiche	65
Cancerogenesi indotta da radiazioni	67
Effetti genetici delle radiazioni sulle cellule germinali	68

<b>Radiazioni non ionizzanti</b>	70
Campi elettrici e magnetici a basse frequenze	71
Radiofrequenze e microonde	71
Radiazioni ultraviolette	72
Ultrasuoni	74
<i>Riferimenti bibliografici</i>	74

## Capitolo 5

### Il metabolismo delle sostanze esogene 76

*Sofia Pavanello, Anna Maria Rossi*

Introduzione	76
Destino degli xenobiotici nell'organismo	76
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Cinetica delle sostanze esogene</i>	77
Metabolismo degli xenobiotici	78
Enzimi di fase I	79
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Metabolismo del benzene e degli idrocarburi policiclici aromatici</i>	82
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Monoossigenasi citocromo P450-dipendenti (CYP)</i>	85
Enzimi di fase II	86
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Il metabolismo delle ammine aromatiche</i>	87
Fattori che influenzano il metabolismo	90
Suscettibilità genetica e cancerogenesi	91
Metabolismo degli xenobiotici nel microbiota intestinale	91
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Polimorfismi metabolici</i>	92
<i>Riferimenti bibliografici</i>	95

## Capitolo 6

### I mutageni chimici 96

*Annamaria Buschini, Carlo Rossi*

Introduzione	96
Mutageni diretti	96
Analoghi di basi	97
Agenti che reagiscono con il DNA	99
Agenti intercalanti	104
Promutageni	105
Ammine aromatiche	105
Idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e nitroderivati	105

Micotossine	107
<i>N</i> -Nitrosammine	109
4-Nitrochinolina 1-ossido (4-NQO)	110
Carbammati	111
Idrocarburi alogenati	111
<b>Mutageni indiretti</b>	111
Mutageni ossidativi	111
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Metalli e genotossicità</i>	112
Antimetaboliti	114
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Xenobiotici che modificano l'epigenoma</i>	115
Inibitori mitotici e del ciclo cellulare	116
<b>Mutageni mitocondriali</b>	116
<i>Siti internet di interesse</i>	117
<i>Riferimenti bibliografici</i>	117

## Capitolo 7

### I sistemi di riparazione del DNA 118

*Margherita Bignami, Eugenia Dogliotti  
e Miria Stefanini*

Introduzione	118
Riparazione per excisione di nucleotidi	119
Riparazione per excisione di basi	123
Reversione diretta del danno	126
Riparazione degli appaiamenti errati delle basi del DNA	128
Riparazione delle rotture a doppia elica	130
Sistemi di tolleranza del danno al DNA	134
Difetti nella risposta cellulare al danno sul DNA: conseguenze sulla salute umana	136
<i>Riferimenti bibliografici</i>	137

## Capitolo 8

### Alterazioni del genoma nelle cellule somatiche e il processo di cancerogenesi 139

*Lucia Migliore, Silvia Viaggi*

Introduzione	139
Cancerogenesi a tappe multiple	139
<b>Bersagli molecolari del processo di cancerogenesi</b>	141
Geni oncosoppressori	142

### ► SCHEDA DI APPROFONDIMENTO ONLINE

*Ciclo cellulare, checkpoint e loro controllo*



Oncogeni	143
Telomeri e telomerasi nei tumori	143
<b>Alterazioni genetiche ed epigenetiche nel processo di cancerogenesi</b>	144
Mutazioni geniche	144
Instabilità dei microsattelliti (MIN)	145
Riarrangiamenti cromosomici e amplificazioni geniche	146
Cromotripsis e altri eventi catastrofici	147
► <b>SCHEDA TECNICA</b>	
<i>Tecniche di citogenetica molecolare per lo studio dei tumori</i>	148
Modificazioni epigenetiche	149
<b>Progressi nello studio dei tumori: i profili di espressione genica (la firma molecolare del tumore)</b>	151
<b>Tumori ereditari e tumori sporadici</b>	152
<b>Fattori ambientali e cancro</b>	154
<i>Riferimenti bibliografici</i>	158

## Capitolo 9

### Alterazioni del genoma nelle cellule germinali 160

*Francesca Pacchierotti, Eugenia Cordelli  
e Antonella Russo*

Introduzione	160
<b>Gametogenesi nei mammiferi</b>	161
Spermatogenesi	161
Oogenesi	163
Fecondazione e inizio dello sviluppo embrionale	163
<b>Incidenza e meccanismi di origine delle alterazioni del genoma nelle cellule germinali</b>	164
Incidenza e trasmissione di alterazioni genetiche <i>de novo</i> nelle cellule germinali	164
Meccanismi di origine delle alterazioni genetiche <i>de novo</i>	165
<b>Meccanismi e conseguenze delle modificazioni epigenetiche nelle cellule germinali</b>	167
Metilazione del DNA	168
Modificazioni della cromatina	169
RNA non codificanti	171
Effetti dei mutageni fisici e chimici nelle cellule germinali	171
Effetti genetici	171

► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Stime di rischio genetico nell'uomo</i>	172
Effetti epigenetici transgenerazionali	175
<i>Riferimenti bibliografici</i>	176

## PARTE II

### Le metodologie

#### Capitolo 10

##### Test *in vitro* con microrganismi 180

*Roberto Scarpato*

Introduzione	180
Test di mutazione genica nei batteri	181
Test di reversione in <i>Salmonella typhimurium</i>	
(test di Ames)	182
► <b>SCHEDA TECNICA</b>	
<i>Test di Ames: il disegno sperimentale</i>	185
Test di reversione in <i>Escherichia coli</i> WP2	187
Test di riparazione nei batteri	188
SOS/cromo test in <i>Escherichia coli</i>	188
SOS/ <i>umu</i> test e SOS/ <i>sulA</i> test in <i>Salmonella typhimurium</i>	189
Test di reversione, ricombinazione mitotica e malsegregazione cromosomica negli eucarioti unicellulari	189
Mutazione genica, ricombinazione mitotica e malsegregazione cromosomica nel lievito	189
Test di ricombinazione mitotica, conversione genica e reversione in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ceppo D7)	190
Test di malsegregazione cromosomica in <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ceppo D61.M)	192
<i>Riferimenti bibliografici</i>	195

#### Capitolo 11

##### Test *in vitro* con cellule di mammifero 196

*Claudia Bolognesi, Lucia Migliore e Silvana Simi*

Introduzione	196
Colture cellulari	197
Linee primarie e stabilizzate	197

Linee ingegnerizzate	197
Mantenimento delle colture cellulari	198
Risposta ad agenti mutageni	199

##### ► SCHEDA TECNICA ONLINE

*Parametri quantitativi impiegati nei test di mutagenesi in cellule di mammifero in coltura per la determinazione della citotossicità*



Risposta cellulare	199
Risposta mutazionale	199
Test per l'analisi della mutazione genica	199

##### ► SCHEDA TECNICA ONLINE

*Protocollo sperimentale per un test di mutazione genica*



Test HPRT	200
Test XPRT	200
Test TK	200
Test per l'analisi cromosomica	200
Analisi in metafase	201
Analisi in interfase	203
Ibridazione <i>in situ</i> fluorescente (FISH)	207
Test per l'analisi del danno al DNA	210
Test della cometa ( <i>comet assay</i> )	210
Fosforilazione dell'istone H2AX	211
Test della sintesi di DNA non programmata (UDS, <i>Unscheduled DNA Synthesis</i> )	212
Interpretazione ed elaborazione dei dati di genotossicità	212
Test di trasformazione cellulare (CTA, <i>Cell Transformation Assay</i> )	212
<i>Riferimenti bibliografici</i>	214

#### Capitolo 12

##### Test *in vivo* 215

*Francesca Pacchierotti, Eugenia Cordelli e Antonella Russo*

Introduzione	215
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Note storiche sull'utilizzo dei test di mutagenesi in vivo</i>	216
Test in cellule somatiche	219
Test di danno al DNA	219
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Determinazione della frequenza di sostituzioni nucleotidiche de novo in topi di laboratorio mediante tecniche di sequenziamento</i>	220

Test di mutazione genica	223
Test di mutazione cromosomica	225
<b>Test in cellule germinali</b>	228
Metodi di indagine nella spermatogenesi	228
Metodi di indagine nell'oogenesi e nei primi stadi di segmentazione embrionale	232
Test intergenerazionali	233
<b>Riferimenti bibliografici</b>	234

## Capitolo 13

### **Analisi genomiche e post-genomiche** 235

*Alessandra Pulliero*

<b>Introduzione</b>	235
<b>Biotecnologie per la valutazione dei biomarcatori</b>	235
Analisi degli addotti al DNA mediante post-marcatura con <sup>32</sup> P	237
<b>Metodi per l'identificazione di mutazioni geniche (pyrosequencing)</b>	238
<b>Metodi di citogenetica molecolare per l'identificazione di mutazioni cromosomiche (Array CGH)</b>	238
Analisi del danno ossidativo al DNA	240
Analisi del trascrittoma mediante cDNA microarray	243
Analisi post-trascrizionali di microRNA circolanti	245
Analisi del proteoma mediante microarray ad anticorpi	246
<b>Tecnologie di sequenziamento di nuova generazione: nuovi approcci per l'analisi dei genomi</b>	247
<b>Conclusioni</b>	249
<b>Riferimenti bibliografici</b>	249

## Capitolo 14

### **Analisi di marcatori epigenetici** 250

*Fabio Coppedè*

<b>Introduzione</b>	250
<b>Tecniche per l'analisi di metilazione del DNA</b>	250
Analisi dei livelli di metilazione globale del DNA	250
<b>Tecniche per l'analisi di metilazione gene-specifica</b>	254
MSP (PCR metilazione-specifica)	254

PCR seguita da sequenziamento o pirosequenziamento	255
COBRA (COmbined Bisulfite Restriction Analysis)	255
PCR e analisi di curve di melting ad alta risoluzione	256
Altre metodiche	256
<b>Tecniche per l'analisi delle modificazioni istoniche</b>	257
Metodi basati sull'utilizzo di anticorpi	257
Spettrometria di massa per l'analisi delle PTM	258
<b>Considerazioni generali e prospettive future dell'analisi di biomarcatori epigenetici</b>	259
<b>Riferimenti bibliografici</b>	260

## PARTE III

### Le applicazioni

## Capitolo 15

### **Inquinanti genotossici nell'aria** 262

*Roberto Barale e Sofia Pavanello*

<b>Introduzione</b>	262
<b>Inquinamento atmosferico</b>	262
Fonti di inquinamento	262
Classificazione degli inquinanti	262
Black Carbon (BC)	264
Idrocarburi policiclici aromatici	264
Inquinanti monitorati	264
Vie di esposizione	264
<b>Effetti correlati all'esposizione a inquinanti dell'aria</b>	264
Effetti acuti	265
Effetti cronici	266
<b>Meccanismi d'azione degli inquinanti atmosferici</b>	267
<b>Studi di cancerogenesi atmosferica</b>	267
<b>Cancro polmonare ed esposizione a IPA: meccanismi genotossici ed epigenetici</b>	268
Effetti acuti	271
Gruppi suscettibili alle esposizioni a PM	271
Metodi di analisi	272
<b>Applicazioni del condensato dell'aria espirata</b>	274
Test di mutagenicità atmosferica	274
<b>Riferimenti bibliografici</b>	278

## Capitolo 16

### Inquinanti genotossici nell'acqua 280

*Claudia Bolognesi, Annamaria Buschini e Paola Venier*

Introduzione	280
Inquinanti dell'ambiente acquatico	280
Controllo della qualità delle acque	281
Regolamenti nazionali ed europei	281
Determinazione analitica degli inquinanti e identificazione delle componenti mutagene	284
Uso di animali acquatici come sentinelle	284
Bioaccumulo e biomagnificazione	284
Effetti indotti e risposte biologiche	285
Induzione di tumori	285
Effetti sulla riproduzione	286
Effetti sulla biodiversità	286
Organismi sentinella	287
Analisi di effetti genotossici in animali acquatici	288
Addotti al DNA	288
Rotture del DNA	290
Aberrazioni cromosomiche	290
Micronuclei	290
Cambiamenti funzionali su scala genomica	291
Inquinanti genotossici nelle acque potabili	293
Riferimenti bibliografici	295

## Capitolo 17

### Inquinanti genotossici nel suolo 297

*Annamaria Buschini*

Introduzione	297
Contaminazione del suolo	298
Fonti	298
Classi principali di inquinanti	298
Effetti	302
Valutazione della genotossicità del suolo	304
Test di mutagenesi	304
Esempi di monitoraggio eco-geno-tossicologico	306
► <b>SCHEMA TECNICA</b>	
<i>Esempio di strategia di monitoraggio: il forno inceneritore di Parma</i>	309
Riferimenti bibliografici	314

## Capitolo 18

### Biomonitoraggio di popolazioni umane 315

*Lucia Migliore, Claudia Bolognesi*

Introduzione	315
Biomarcatori di esposizione	316
Biomarcatori di dose interna	317
Biomarcatori di dose biologica efficace	318
► <b>SCHEMA TECNICA</b>	
<i>Disegno sperimentale di un monitoraggio</i>	319
Biomarcatori di effetto	321
Mutazioni nel gene <i>HPRT</i>	321
Mutazioni negli eritrociti	321
Mutazioni in proto-oncogeni o geni soppressori tumorali	322
Test del danno e della riparazione del DNA	322
Test citogenetici	323
Fonti di materiale biologico per lo studio di biomarcatori di effetto	326
Biomarcatori di suscettibilità	328
Valutazione degli studi di biomonitoraggio	329
Fattori di confondimento	329
Correlazione tra biomarcatori	330
Prospettive di applicazione degli studi di biomonitoraggio	330
Esposoma	332
Riferimenti bibliografici	333

## Capitolo 19

### Il ruolo dei test di genotossicità nella valutazione del rischio 335

*Riccardo Crebelli, Francesca Marcon*

Valutazione del rischio secondo il paradigma del <i>risk assessment</i>	335
Principi e finalità dei test di genotossicità	335
Stima del rischio di effetti trasmissibili	337
Predizione degli effetti cancerogeni	338
Cancerogeni genotossici e non genotossici	340
Metodi non sperimentali per la predizione e valutazione del rischio di effetti genotossici	342
Prospettive future	343
Riferimenti bibliografici	344

## PARTE IV

### Le applicazioni in contesti specifici

#### Capitolo 20

#### Applicazioni della genomica e della mutagenesi ambientale in medicina preventiva e in sanità pubblica 346

*Silvio De Flora, Alberto Izzotti*

Alterazioni genetiche e genomiche in patologia umana e in periodi critici della vita	346
Prevenzione dei tumori e di altre malattie associate con alterazioni genetiche e genomiche	346
Chemioprevenzione come strumento della medicina preventiva	348
Classificazione dei meccanismi degli inibitori di mutagenesi e cancerogenesi	349
Inibizione della mutagenesi in sede extracellulare	349
Inibizione della mutagenesi in sede intracellulare	350
Inibizione di fasi tardive della cancerogenesi	352
Agenti protettivi ad azione pleiotropica e chemioprevenzione combinata	352
Metodi sperimentali per la valutazione degli effetti degli inibitori della mutagenesi e della cancerogenesi	353
Valutazione dell'efficacia	353
Valutazione della sicurezza	355
Chemioprevenzione nei soggetti a elevato rischio di malattia	357
<i>Riferimenti bibliografici</i>	358

#### Capitolo 21

#### Applicazioni della genomica e della mutagenesi ambientale per le scienze motorie 360

*Alberto Izzotti e Alessandra Pulliero*

Biomarcatori molecolari nell'analisi della prestazione sportiva	360
---	-----

Attività fisica ed equilibrio ossidativo	360
Variazione dei microRNA muscolari in risposta all'esercizio fisico	363
Biomarcatori post-genomici e attività fisica	364
Polimorfismi genetici nell'identificazione della risposta individuale all'attività motoria	366
Analisi genomica per la definizione dell'attitudine alla prestazione motoria	369
MicroRNA circolanti prodotti dal muscolo scheletrico durante l'attività fisica come marker di prevenzione al cancro	371
<i>Riferimenti bibliografici</i>	372

#### Capitolo 22

#### Applicazioni della genomica e della mutagenesi ambientale nei luoghi di lavoro 373

*Sofia Pavanello*

Introduzione	373
Biomonitoraggio in ambienti lavorativi	374
Valutazione e gestione del rischio in ambienti lavorativi e di vita	374
Disponibilità di biomarcatori per valutare l'esposizione professionale	377
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Sistema REACH</i>	378
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Valutazione dell'esposizione professionale a idrocarburi policiclici aromatici mediante l'analisi dei livelli urinari di 1-pirenolo</i>	380
► <b>SCHEDA DI APPROFONDIMENTO</b>	
<i>Monitoraggio dell'esposizione a benzene</i>	381
Disponibilità di biomarcatori per valutare gli effetti dell'esposizione professionale a cancerogeni	382
Indicatori di suscettibilità all'esposizione professionale a cancerogeni	385
Disponibilità di altri biomarcatori per valutare gli effetti dell'esposizione professionale a cancerogeni	385
Natura dell'esposizione e concetto di esposoma	387
Sviluppo della tecnologia esposomica	387
Misure di esposizione esterna generale e specifica	389
Misure di esposizione interna	389
Dalla teoria dell'esposoma alla sua applicazione	391
<i>Riferimenti bibliografici</i>	393

**Capitolo 23****Applicazioni della genomica e della mutagenesi ambientale per le nanotecnologie** 394*Andrea Stoccoro*

Introduzione	394
Sintesi e caratteristiche dei nanomateriali	395
Applicazioni dei nanomateriali	396
Vie di esposizione ai nanomateriali	397
Interazione delle nanoparticelle con le cellule	398
Modalità di azione tossica dei nanomateriali	399
Effetti delle proprietà fisico-chimiche dei nanomateriali nell'induzione della tossicità	399
Principali meccanismi di tossicità dei nanomateriali	400
Modulazione dei meccanismi epigenetici da parte dei nanomateriali	402
Metodiche per lo studio degli effetti genotossici dei nanomateriali	402
Modelli <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	402
Condizioni che influenzano i risultati degli studi di genotossicità	403
Biomonitoraggio da esposizione a nanomateriali	405
Riferimenti bibliografici	407

**Capitolo 24****Applicazioni della genomica e della mutagenesi ambientale per le industrie** 408*Serena Cinelli*

Introduzione	408
Richieste regolatorie e sistema di qualità BPL	408
Linee guida OECD	409
Batterie di saggi, interpretazione e analisi ponderata dei risultati	412
Applicazioni nell'industria farmaceutica per la valutazione della sicurezza del farmaco	413
Impiego dei test di genotossicità per la registrazione delle sostanze chimiche	417
Applicazione dei test di tossicologia genetica nella valutazione della sicurezza alimentare	420
Riferimenti bibliografici	421
Glossario	 423
Indice analitico	423

## Indice delle figure a colori

Le figure elencate sono disponibili all'indirizzo [online.universita.zanichelli.it/migliore](http://online.universita.zanichelli.it/migliore) 

**Capitolo 2**

Figura 2.6

**Capitolo 4**

Figura 1 della Scheda di approfondimento 4.2

**Capitolo 8**

Figura 8.7 ■ Figura 8.9

**Capitolo 11**

Figura 11.9 ■ Figura 11.10

**Capitolo 13**

Figura 13.3 ■ Figura 13.4 ■ Figura 13.5 ■ Figura 13.7

**Capitolo 14**

Figura 14.7 ■ Figura 14.9

**Capitolo 16**

Figura 16.5 ■ Figura 16.6

**Capitolo 20**

Figura 20.3

**Capitolo 21**

Figura 21.2