

VALUTAZIONE DEI RISCHI MUTAGENO/CANCEROGENI:

TOSSICOLOGIA GENETICA
↓
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

Igiene e Sanità Pubblica (Canale B) - Dr. Massimo Moretti

PREMESSA

◆ Metodi molecolari in sanità pubblica ...

ovvero

... associare al disegno dello studio epidemiologico il contributo del laboratorio di biologia molecolare.



PREMESSA

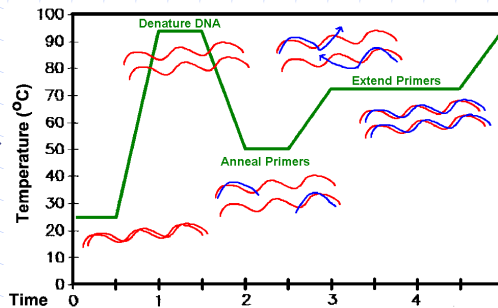
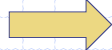
- ◆ Il ricorso a metodologie molecolari di laboratorio, ad ogni modo, non è nuovo in epidemiologia / sanità pubblica.
- ◆ Nell'ambito della epidemiologia delle malattie infettive, infatti, il contributo del laboratorio di biologia molecolare è ormai routinario.

Agente patogeno



PREMESSA

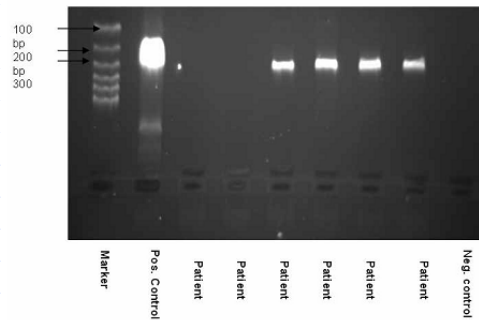
- ◆ Nella alla evoluzione delle tecniche utilizzate nell'ambito della epidemiologia delle malattie infettive basta citare il contributo della PCR ...



PREMESSA

◆ ... nell'accertamento diagnostico di agenti patogeni non coltivabili o di difficile isolamento:

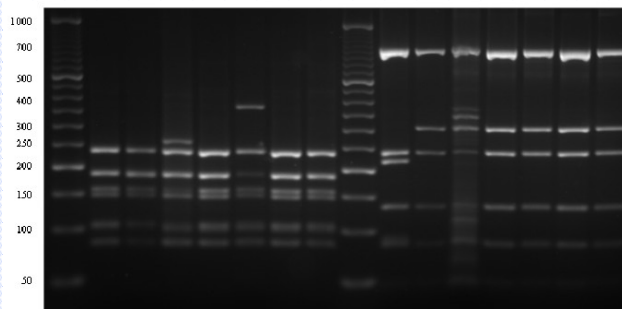
- HIV
- HCV
- HBV
- HPV
- CMV



Prodotti di amplificazione mediante PCR di HCV-RNA dopo elettroforesi su gel di agarosio.

PREMESSA

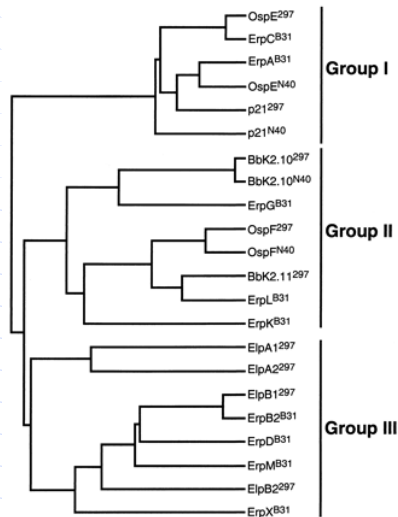
◆ ... nella tipizzazione batterica:



Prodotti di amplificazione mediante PCR-ArDRA (*Amplified rDNA Restriction Analysis*) di DNA di Micoplasmi dopo elettroforesi su gel di agarosio.

PREMESSA

◆ ... nella tipizzazione batterica:



Esempio di albero filogenetico basato sulla "similarità" a livello del genoma.

PREMESSA

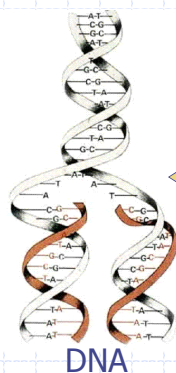
◆ Se da un lato il contributo del laboratorio di biologia molecolare è stato subito ed universalmente riconosciuto per quanto riguarda l'epidemiologia e la prevenzione delle malattie infettive ...

Levin B.R., Lipsitch M. & Bonhoeffer S. (1999) Population biology, evolution, and infectious disease: Convergence and synthesis. *Science*; 283:806-809.

"... l'epidemiologia molecolare delle malattie infettive identifica gli agenti responsabili di malattie infettive e determina la loro sorgente, le loro relazioni biologiche, le vie di trasmissione, i geni responsabili per la loro virulenza, gli antigeni rilevanti per la profilassi vaccinale, i fenomeni di resistenza ai farmaci".

PREMESSA

- ◆ ... dall'altro, nell'ambito della epidemiologia e prevenzione delle malattie cronic-degenerative (in particolare dei tumori), fin da subito non sono mancate critiche agli approcci di epidemiologia molecolare ...



← Igiene



PREMESSA

- ◆ La principale critica che veniva mossa agli approcci di **epidemiologia molecolare** riguardava l'attenzione posta principalmente sugli **individui** (ad esempio, per quello che riguarda la suscettibilità genetica individuale) anziché sulla **collettività**.
- ◆ Questo atteggiamento critico verso l'epidemiologia molecolare tradisce l'esistenza, di fatto, di due diverse concezioni dei determinanti di salute e di malattia:
 - orientamento biologico-organico;
 - orientamento sociale.



PREMESSA

- ◆ La principale critica che veniva mossa agli approcci di **epidemiologia molecolare** riguardava l'attenzione posta principalmente sugli **individui** (ad esempio, per quello che riguarda la suscettibilità genetica individuale) anziché sulla **collettività**.
- ◆ Questo atteggiamento critico verso l'epidemiologia molecolare tradisce l'esistenza, di fatto, di due diverse concezioni dei determinanti di salute e di malattia:
 - **orientamento biologico-organico;**
 - **orientamento sociale.**

PREMESSA

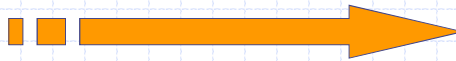
- ◆ L'**approccio sociale** è basato su un modello, a suo tempo proprio della teoria *miasmatica*, che è stato definito della «**scatola nera**» (*black box*), ovvero:
 - ai fini della prevenzione spesso è irrilevante conoscere nel dettaglio i meccanismi o addirittura gli agenti patogeni, mentre è essenziale conoscere le modalità sociali di trasmissione della malattia.



EPIDEMIOLOGIA TRADIZIONALE: LIMITI

◆ **Limiti degli studi di epidemiologia classica** (in particolare nel caso delle patologie cronic-degenerative):

- si limitano a studiare il nesso causale tra una determinata esposizione e l'insorgenza di una malattia;
- i risultati ottenuti non tengono conto della interazione tra esposizione a genotossici e suscettibilità genetica dell'ospite;

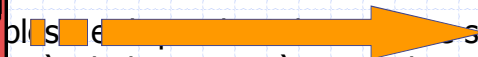


EPIDEMIOLOGIA TRADIZIONALE: LIMITI

◆ **Limiti degli studi di epidemiologia classica** (in particolare nel caso delle patologie cronic-degenerative):

- si limitano a studiare il nesso causale tra una determinata esposizione e l'insorgenza di una malattia;
- i risultati ottenuti non tengono conto della interazione tra esposizione a genotossici e suscettibilità genetica dell'ospite;

■ spesso la stima dell'esposizione è affidata alle risposte di un questionario (spesso è difficile verificare la



polis è se
a è di lieve entità o se la ma
a frequente.

EPIDEMIOLOGIA TRADIZIONALE: BLACK BOX

Esposizione

Malattia

Black box

THE MORTALITY OF DOCTORS IN RELATION TO THEIR SMOKING HABITS
 A PRELIMINARY REPORT
 BY
RICHARD DOLL, M.D., M.R.C.P.
Member of the Statistical Research Unit of the Medical Research Council
 AND
A. BRADFORD HILL, C.B.E., F.R.S.
Professor of Medical Statistics, London School of Hygiene and Tropical Medicine; Honorary Director of the Statistical Research Unit of the Medical Research Council

NCI

EPIDEMIOLOGIA TRADIZIONALE: BLACK BOX

◆ Epidemiologia analitica:

Esposizione

Malattia

Esposizione

Malattia

Retrospektivi (caso-controllo)

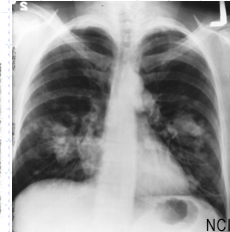
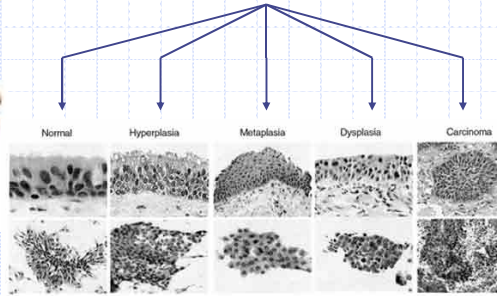
Prospettivi (coorte)

Tempo

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: GLASS BOX

Esposizione

Malattia

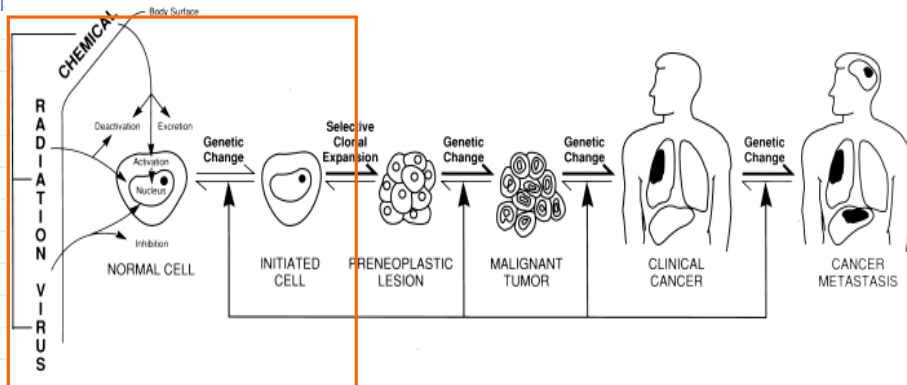


EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: GLASS BOX

Esposizione

Malattia

Initiation Promotion Conversion Progression



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: PREVENZIONE

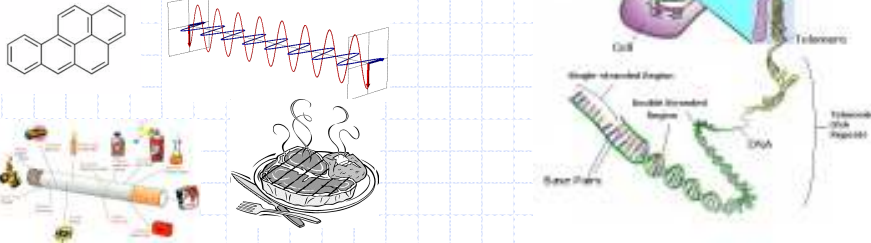
Processo multistadi/multifattoriale della cancerogenesi:

Esposizione Fase di latenza Fase preclinica Malattia



Fattori di rischio

1 n



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: PREVENZIONE

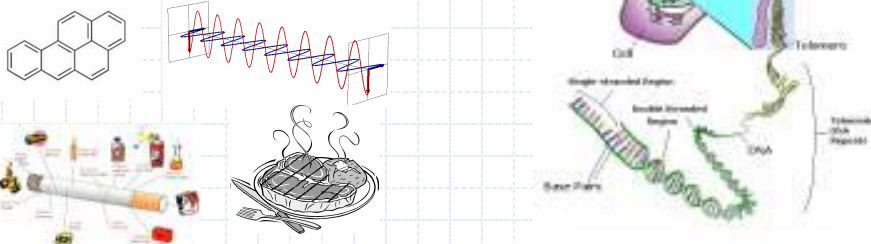
Processo multistadi/multifattoriale della cancerogenesi:

Esposizione Fase di latenza Fase preclinica Malattia



Fattori di rischio

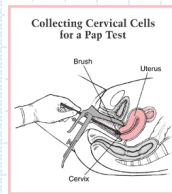
1 n



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: PREVENZIONE

Processo multistadi/multifattoriale della cancerogenesi:

Esposizione Fase di latenza Fase preclinica Malattia

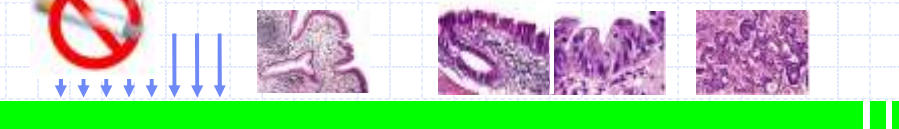


Prevenzione secondaria:
- diagnosi precoce (*screening*)
- anticipazione diagnostica
- aumento sopravvivenza

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

Processo multistadi/multifattoriale della cancerogenesi:

E e Fase di latenza Fase preclinica Malattia



Epidemiologia molecolare:
- caratterizzazione degli inquinanti
- valutazione dell'esposizione
- *risk assessment*

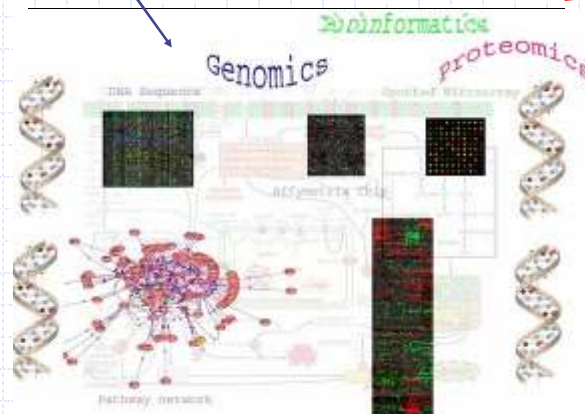
EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

- ◆ Nell'ambito delle malattie neoplastiche, gli scopi principali degli approcci di **epidemiologia molecolare**, finalizzati a superare alcune lacune dell'epidemiologia tradizionale, sono:
 - aumentare l'accuratezza della stima dell'esposizione e ridurre gli errori di classificazione;
 - monitorare la risposta biologica ("biomarcatori") piuttosto che la malattia, identificando precocemente gli effetti delle esposizioni con una maggiore potenza statistica;
 - identificare fattori di suscettibilità individuali (genetici o acquisiti) e definire sottogruppi a maggiore rischio;
 - studiare i meccanismi patogenetici;
 - predire l'insorgenza delle patologie.

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

Esposizione

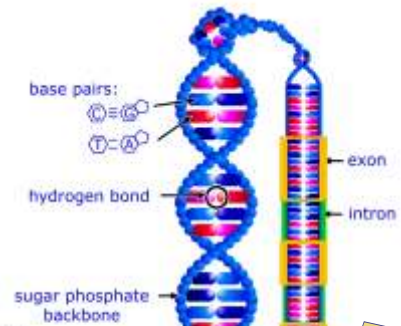
Malattia



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: ... "-OMICA"

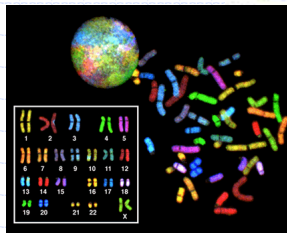
◆ Dogma centrale della biologia:

■ DNA
 ↓
 RNA
 ↓
 PROTEINA

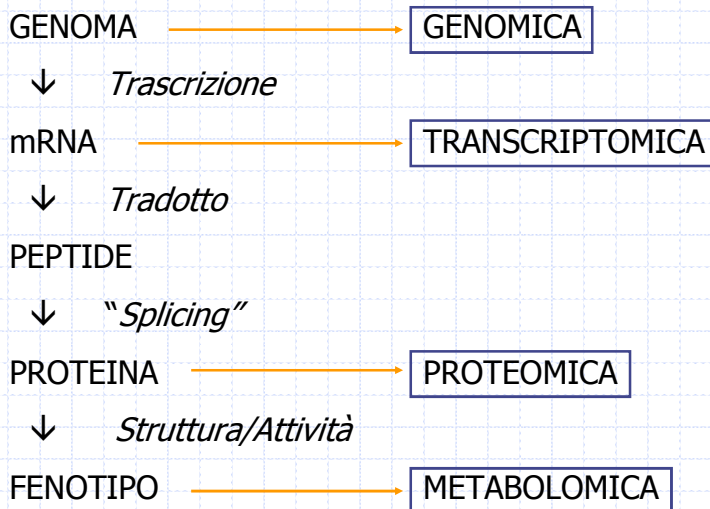


$\sim 3 \times 10^9$ bp

~ 30.000 geni



EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: ... "-OMICA"



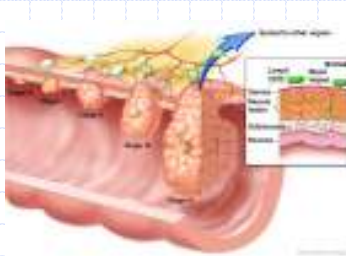
TRANSCRIPTOME



PROTEOME

EPIDEMIOLOGIA ... MOLECOLARE VS. TRADIZIONALE

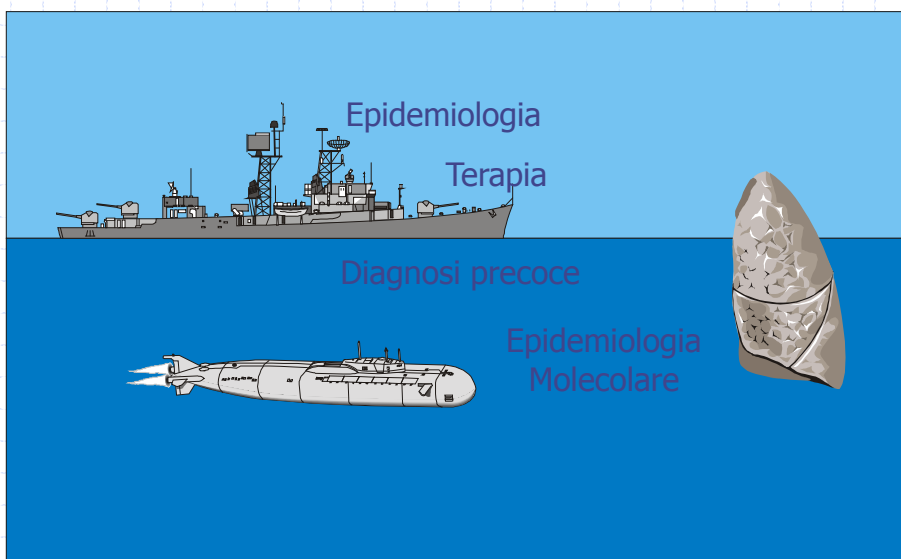
- ◆ La parte visibile dell'iceberg è l'oggetto di studio della **epidemiologia tradizionale** (morbosità o mortalità per determinate malattie).
- ◆ La parte invisibile è invece oggetto di studio della **epidemiologia molecolare**.



Evidenza clinica

Soggetti
asintomatici

EPIDEMIOLOGIA ... MOLECOLARE VS. TRADIZIONALE



EPIDEMIOLOGIA ... MOLECOLARE VS. TRADIZIONALE

EPIDEMIOLOGIA OSSERVAZIONALE

DATI AGGREGATI

DATI INDIVIDUALI

EPIDEMIOLOGIA
DESCRITTIVA

STUDI
TRASVERSALI

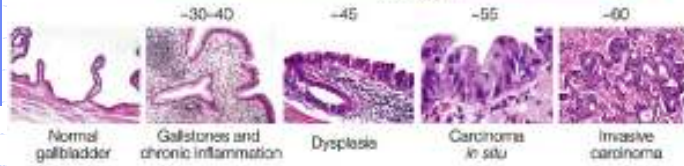
EPIDEMIOLOGIA
ANALITICA

EPIDEMIOLOGIA
MOLECOLARE

EPIDEMIOLOGIA ... MOLECOLARE VS. TRADIZIONALE

Early Intermediate Late Tumour-specific

Age (years)



Epidemiologia

TP53 mutations
miDNA mutations
CDX2 overexpression
Methylation of TSG promoters

Epidemiologia
Molecolare

Loss of heterozygosity
at 3p and 8p

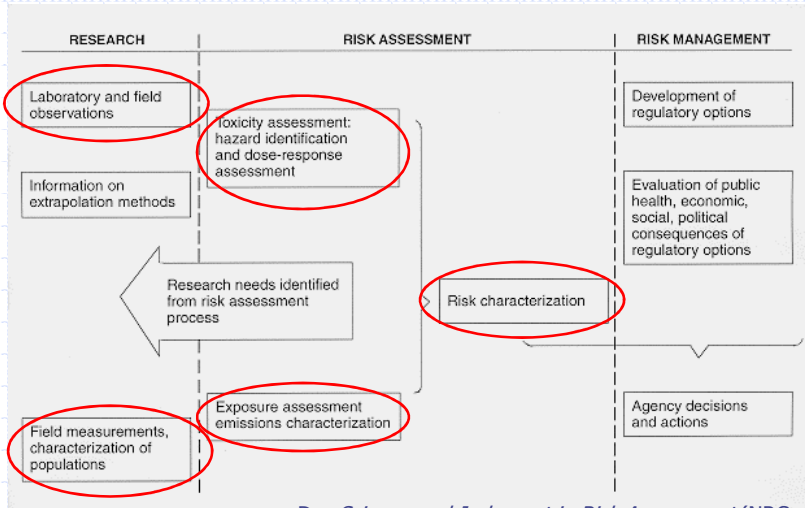
Mutations in FHIT
and CDKN2A
Loss of heterozygosity
at 9q, 18q and 22q

KRAS mutations

Nature Reviews | Cancer

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE: HAZARD/RISK

◆ Hazard Identification → Risk Assessment



Da: *Science and Judgment in Risk Assessment* (NRC, 1994)