

LA GENETICA E LE MALATTIE

Ogni individuo ha un proprio codice genetico, che è alla base della sua unicità.

I geni possono presentare delle mutazioni, che possono essere

- *mononucleotidiche*
- *polinucleotidiche*

Inoltre possiamo distinguere

- *mutazioni nonsense*: il nuovo codone codifica per un segnale di stop, cosicché la proteina risulta più corta del normale e solitamente non esplica la sua funzione.
- *mutazioni silenti*: crea un nuovo codone che tuttavia codifica per lo stesso aminoacido codificato in partenza: non c'è alcun cambiamento fenotipico (degenerazione del codice genetico).
- *mutazioni missenso*: la sostituzione di un nucleotide con un altro può causare l'inserimento di un aminoacido diverso nella proteina. L'effetto sulla funzione della proteina dipende da quale aminoacido andrà a sostituire quello originario.
- *mutazioni frameshit*: la perdita o l'inserzione di uno o due nucleotidi fa sì che il codone interessato e tutti i codoni a valle di esso siano letti scorrettamente rispetto alla condizione "wild-type". Il risultato è una proteina molto diversa dall'originaria o addirittura non funzionale
- *mutazioni non coding*: la mutazione interessa una regione intronica per cui non modifica la proteina.

In gergo queste mutazioni sono chiamate **SNIPS** (single nucleotide polymorphisms). Possono essere isolate o anche combinate. Spesso le mutazioni sono trasmesse in modo dipendente le une dalle altre; tale fenomeno è chiamato linkage disequilibrium. Combinazioni di SNIPS sono dette aplotipi, e spesso alcune patologie sono collegate a specifici aplotipi.

Esistono due tipi di patologie genetiche:

1. *semplici o mendeliane*: dovute alla mutazione di un singolo gene, poco influenzate dall'ambiente. Possono esserci altri geni modificatori della gravità della patologia (ad esempio che influenzano l'età di insorgenza). In questo caso la situazione si complica sia dal punto di vista della ricerca sia da quello della diagnostica (cioè, come utilizzare queste informazioni per la diagnosi?)
2. *complesse*: i geni che influenzano la suscettibilità a tali patologie sono tanti, e interagiscono tra di loro e con l'ambiente.

Per riassumere:

MALATTIE MONOGENICHE	MALATTIE COMPLESSE
Rare	Comuni
Un solo gene interessato	Mutazioni multiple, spesso senza una chiara correlazione funzionale
Penetranza molto alta	Penetranza bassa
Scarsa influenza dell'ambiente	Scatenate da fattori ambientali
	Alta variabilità tra le popolazioni

ANALISI DEL GENOTIPO

Fino a pochi anni fa si lavorava al buio. Oggi si può prendere il sangue di un soggetto e "scannarlo" fino a 1,5 milioni di polimorfismi e ciò ha un costo irrisorio. Questo è possibile perché è stato sequenziato il genoma umano ed è stata fatta una mappa di tutte le mutazioni. Oggi sono venduti dei chip su cui sono riportate queste informazioni.

Per i disordini complessi esistono due possibilità:

1. una patologia comune può essere legata a mutazioni comuni
2. una patologia comune può essere legata a mutazioni rare (cioè tante mutazioni diverse tra loro e rare potrebbero influenzare il fenotipo in modo simile).

Ovviamente questa seconda possibilità complica molto la ricerca e anche l'eventuale diagnosi.

Il genoma umano è composto da:

3 miliardi e 500 milioni di basi

30.000 geni.

Noi conosciamo 10 milioni di polimorfismi.

Sulla base di queste informazioni sono stati fatti studi di popolazioni, comparando una popolazione malata con una sana, e si è visto come questi polimorfismi cosegregano.

I risultati di questi studi sulle malattie genetiche non sono utilizzati nella pratica clinica, in quanto questi polimorfismi, seppure individuati in un dato soggetto, spostano il rischio di malattia di pochissimo. Ad esempio nell'Alzheimer c'è sicuramente un'associazione con l'APO-E.

L'APO-E ha tre isoforme

- Isoforma 2: protettiva, riduce il rischio CV;
- Isoforma 3: neutra;
- Isoforma 4: aumenta il rischio CV e riduce l'aspettativa di vita.

Si è visto che i centenari esprimono più frequentemente l'isoforma 2 rispetto alla 4.

Queste informazioni però non possono influenzare la pratica clinica, perché non c'è modo di agire nei soggetti APO-E4.

NUTRIGENOMICA

Ci sono due modi di intendere la nutrigenomica:

1. Il nostro codice genetico influenza il modo in cui metabolizziamo i cibi. Per esempio, le mutazioni del recettore dell'LDL determinano un iperaccumulo di grassi, per cui i soggetti che hanno questa mutazione dovrebbero eliminare i grassi.
2. Gli alimenti possono influenzare l'attività di alcuni geni

Anche per queste conoscenze non esiste per ora una applicazione reale.

FARMACOGENOMICA

Lo studio del genotipo potrebbe essere usato per indirizzare il paziente verso una determinata terapia. Ad esempio le mutazioni del recettore per l'EGF rendono i pazienti non responsivi ad una terapia tumorale con anticorpi antiEGF. L'analisi del genotipo del paziente con carcinoma polmonare ci ha permesso di capire le differenti risposte. Lo screening preCT indirizza il paziente verso la giusta terapia.

MALATTIE MONOGENICHE

Per quanto riguarda invece le malattie monogeniche, alcune si trasmettono dai genitori ai figli (ES, demenza frontotemporale), altre no perché il pz non raggiunge l'età della riproduzione (Es distrofia muscolare di Duchenne). Esse ci hanno permesso di capire il ruolo delle proteine nella patogenesi delle malattie, anche nelle forme non genetiche (vd Alzheimer).

Una buona anamnesi familiare è importantissima nell'individuazione delle malattie genetiche. Ad esempio, alcuni tumori della mammella sono legati alla mutazione di due geni, BRCA1 e BRCA2. Una volta identificata una famiglia in cui c'è questa mutazione, è necessario controllare tutti i componenti, anche i maschi.

RICADUTE IN MEDICINA DELLE MUTAZIONI GENICHE NELLE MALATTIE MONOGENICHE

1. *Diagnosi prenatale.* Ad esempio possono anche esserci donne sane portatrici del gene della Distrofia Muscolare di Duchenne (la donna è un mosaico per quanto riguarda il gene X, per cui il carattere patologico può non esprimersi, ma è comunque trasmesso ai figli)
2. *Diagnosi molecolare.*, fondamentale per indirizzare i pazienti verso la giusta terapia.
3. *Possibile terapia ad hoc.*
4. *Applicazioni in farmacodinamica.*

L'INVECCHIAMENTO

È un concetto complesso, di difficile descrizione. È associato a:

- ↑ rischio CV
- ↑ rischio di cancro
- ↑ rischio di malattie degenerative.

I fattori genetici ovviamente non si modificano durante l'invecchiamento, però i fattori ambientali prendono il sopravvento sui geni che così non riescono più a svolgere la propria funzione.

Esiste una familiarità nella longevità che si manifesta sia nell'uomo che negli animali. Studiando dei modelli animali si è visto che esistono alcuni pathway, alcune cascate proteiche coinvolte nel processo di invecchiamento e nella longevità. Uno di questi è quello dell'asse GH → IGF → recettori per l'insulina.

Inoltre si è visto che se nei topi si toglie il grasso sottomentale e viscerale si ha un allungamento della vita e lo stesso avviene se si inibisce l'espressione del IGF receptor (topi knockout). Questo correla bene col fatto che nell'uomo il grasso addominale favorisce l'invecchiamento precoce.

Da un altro studio è emerso che la costruzione nei topi di fibre muscolari striate di tipo 2 determina un aumento del release di *miokina* che a sua volta determina un aumento della massa magra e una riduzione della massa grassa. La massa muscolare è cioè importante per ridurre il grasso, e visto che il grasso, soprattutto quello addominale, è associato a invecchiamento

precoce, è consigliabile conservare una certa massa muscolare (che tra l'altro con l'età tende a ridursi).

Le LDL e le HDL hanno una dimensione e questa influenza il rischio di aterosclerosi. Pare che addirittura la dimensione sia più importante della quantità, per cui la correlazione tra livelli di colesterolo e aterosclerosi è estremamente approssimativa. I longevi hanno particelle più grandi rispetto al controllo.

Nella ricerca non si studiano i centenari, ma i loro figli perché hanno un fenotipo comparabile con il resto della popolazione. Sui centenari invece si esegue lo studio del codice genetico. I figli dei longevi hanno l'80% in meno di incidenza di rischio CV. Studiandoli si possono identificare i biomarkers della longevità.

Gli aspetti da valutare sono tre:

1. *Genetica*

C'è un enzima che si chiama E-NOS, regolato da un recettore di membrana. Il gene di tale enzima si trova modificato nei centenari rispetto agli ipertesi. Un regime dietetico di forte restrizione calorica normalizza i valori di PA. Gli studiosi hanno osservato che il regime di restrizione calorica induce l'espressione di E-NOS. È risaputo da anni che una riduzione dell'apporto calorico attraverso una dieta bilanciata prolunga la vita media, qualche volta addirittura raddoppiandola in varie specie animali, dai moscerini alle scimmie. La restrizione calorica raggiunge questo traguardo riducendo in modo significativo l'incidenza di malattie, come il cancro, l'aterosclerosi con tutte le sue conseguenze cardiovascolari, il diabete, le patologie neurodegenerative, patologie molto più frequenti nell'obeso. Un'ipotesi diffusa suggeriva che la riduzione dell'apporto calorico, rallentando il metabolismo, riducesse il lavoro dei mitocondri (gli organelli deputati alla respirazione delle cellule) e la conseguente produzione di radicali liberi responsabili di danni cellulari. Recentemente studi in organismi molto semplici come i lieviti hanno messo in discussione questa ipotesi. Lo studio dei ricercatori milanesi condotto non più su microorganismi ma su animali superiori dimostra che il lavoro dei mitocondri è determinante per la salute e la longevità. I ricercatori hanno messo a dieta un gruppo di topi, consentendone l'alimentazione a giorni alterni (uno schema alimentare che, protratto nel tempo, riduce l'apporto calorico del 30-40%). Gli studiosi hanno osservato che il regime di restrizione calorica induce l'espressione dell'enzima eNOS, necessario alla produzione di ossido nitrico. L'aumentata produzione dell'ossido nitrico favorisce la nascita di nuovi mitocondri, che si traduce in un incremento della respirazione cellulare, con consumo di ossigeno e produzione di energia sotto forma di ATP. Che l'ossido nitrico svolgesse una funzione favorente la mitocondriogenesi era già stato dimostrato dallo stesso gruppo di ricerca su *Science* nel 2003. Il nuovo studio è stato condotto sottoponendo a restrizione calorica un gruppo di topi geneticamente modificati, che non essendo in grado di produrre l'enzima eNOS, hanno un difetto nella sintesi di ossido nitrico. Gli effetti benefici della restrizione calorica sono risultati fortemente attenuati in questi animali. Anche la sintesi della sirtuina 1 (una proteina che in molte specie di mammiferi è implicata nell'allungamento della vita) risulta ridotta in questo ceppo di topi. Ne consegue la dimostrazione che l'ossido nitrico prodotto tramite l'enzima eNOS, inducendo la biogenesi mitocondriale e modulando l'espressione della sirtuina 1, sembra essere un elemento cruciale nell'efficacia che la restrizione calorica esercita nel contrastare le patologie legate all'invecchiamento.

2. *Demografia*

La durata della vita delle popolazioni occidentali è incrementata di tre mesi ogni anno durante gli ultimi sedici anni. L'aumento di aspettativa di vita è correlato con l'aumento dell'altezza.

3. *Ambiente*

Nel tempo abbiamo sostituito i carboidrati alle proteine, aumentato gli acidi grassi saturi, gli $\omega 6$, i trans esogeni e ridotto gli $\omega 3$ e i micronutrienti come folati, Zn e K.

La dieta mediterranea, protettiva per la salute, è ricca di grassi monoinsaturi (olio di oliva). Un'alimentazione ricca di MUFA e PUFA (es. noci e mandorle) riduce l'incidenza di malattie CV fino al 50%. Gli acidi grassi entrano nella composizione delle membrane cellulari, e modifiche della loro

composizione influenza le proprietà fisiche della membrana(permeabilità e fluidità).Gli acidi grassi delle membrane sono più o meno perossidabili a seconda della percentuale di MUFA e PUFA,infatti i MUFA non sono perossidabili.Il danno a livello delle membrane si trasmette con un effetto domino sulle altre strutture cellulari.

Gli acidi grassi trans sono isomeri a livello del doppio legame.Sono rigidi e difficilmente eliminabili dalla membrane. Costituiscono per la cellula un modo per resistere allo stress ossidativo,per cui quelli endogeni,prodotti in piccole quantità non sono dannosi;sono inoltre deputati al signalling in seguito a stress ossidativo.Quelli esogeni sono invece dannosi,soprattutto in grandi quantità,in quanto non eliminabili dalla membrana.

PROFILO LIPIDICO DEI FIGLI DEI CENTENARI

- ↓ acido arachidonico e linoleico
- ↑acido palmitico
- ↑acidi trans esogeni

PROFILO LIPIDICO DEI FIBRILLANTI

- ↑PUFA
- ↓MUFA

Precursori degli ω 3(acido α -linoleico) siono ingrado di determinare rescue(cioè un recupero)del fenotipo in modellianimalidi CMP ipertrofica:Questo non è spiegabile se non con il fatto che la mancanza di un pathway porta ad uno scompenso che può però essere ripristinato da una alimentazione forzata.

PROSPETTIVE

- Personalizzazione della diete sulla base del profilo lipidico(*Liponutrigenomica*).I dermatologi spesso prescrivono delle capsule lipidiche,però lo fanno al buio,seza fare prima il profilo lipidico.
- Ottimizzare lo stato di salute cellulare seguendo le indicazioni degli studi sulla longevità.