

Epigenetica e salute umana

di *Liborio Stuppia*,

*Genetica Medica , Dipartimento di Scienze Psicologiche, della Salute
e del Territorio - Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara*

Sommario

La cosiddetta “rivoluzione epigenetica” ha portato alla luce il tema degli effetti dell’ambiente sulla espressione genica e delle conseguenze sulla salute umana. Vengono qui riassunti i principali campi della medicina in cui gli studi epigenetici offrono nuovi strumenti diagnostici, prognostici e terapeutici, in un’ottica sistemica che vede geni e ambiente interagire attivamente nella patogenesi di diverse malattie umane.

Parole chiave

Epigenetica, geni, ambiente, effetti transgenerazionali, patologie umane

Summary

The so called “epigenetic revolution” has brought to the light the topic of the environmental effects on gene expression and their consequences on human health. Here we review the main fields of medicine in which epigenetics provide novel diagnostic, prognostic and therapeutic tools, in a systemic view of active interplay between genes and environment in the pathogenesis of human diseases.

Keywords

Epigenetics, genes, environment, transgenerational effects, human diseases.

La storia della scienza è fatta di conquiste che si raggiungono attraverso piccoli passi e progressi quasi impercettibili, ma anche di grandi rivoluzioni improvvise in grado di cambiare di colpo gli scenari classici delle nostre conoscenze. Proprio in questi anni, la comunità scientifica internazionale sta vivendo uno di questi improvvisi cambiamenti, sotto forma di quella che da più parti è stata definita come la “rivoluzione epigenetica”.

La epigenetica viene definita come “la scienza che studia le modificazioni trasmissibili della funzione dei geni non associate a cambiamenti della sequenza del DNA”. Tali modificazioni, indotte da diversi tipi di agenti ambientali, fanno sì che in determinate circostanze alcuni geni funzionino in maniera diversa, o non funzionino affatto, smentendo uno dei dogmi centrali della genetica, ossia quello per cui le differenze funzionali tra l’assetto genetico di diversi individui fossero dovute alle differenze nelle sequenze nucleotidiche dei loro geni, ossia nei loro genotipi.

In che modo le modificazioni epigenetiche possono cambiare la funzione del DNA senza modificarne la sequenza? Esistono svariati meccanismi di modificazione

epigenetica, ma i più conosciuti sono quelli legati alla metilazione del DNA, la modificazione degli istoni e la produzione di micro RNA (miRNA).

La metilazione del DNA consiste nel legame di un gruppo metilico CH₃ sulla citosina in alcune specifiche sequenze di DNA che sono i “promotori”. I promotori sono dei veri e propri interruttori capaci di “spegnere” o “accendere” un gene, impedendone o favorendone la attività di trascrizione e di produzione delle proteine. Quanto più un promotore è metilato, tanto meno il gene sarà attivo, e viceversa. Un meccanismo simile è quello che vede coinvolta la modificazione istonica. Gli istoni sono proteine che si legano al DNA all’interno del nucleo della cellula configurando la cosiddetta “cromatina”. Alcune modifiche chimiche degli istoni sono in grado di aumentare la condensazione della cromatina, che a sua volta comporta un blocco della attività trascrizionale dei geni, con un meccanismo simile a quello che accade nel caso della metilazione del DNA. Infine, un terzo meccanismo di controllo della espressione genica è dato dalla produzione dei cosiddetti miRNA, piccole molecole di RNA che non producono proteine ma sono in grado di interferire con la attività di altri RNA messaggeri.

Un esempio recentissimo degli effetti epigenetici è stato recentemente riportato nel caso di due gemelli monovulari (portatori quindi di un genotipo identico) uno dei quali è un astronauta che ha trascorso circa un anno nello spazio, in condizioni ambientali e alimentari totalmente diverse da quelle del gemello rimasto sulla terra. Al rientro dal suo viaggio nello spazio, il DNA del gemello astronauta è stato analizzato ed è stata verificata la presenza di variazioni epigenetiche simili a quelle che normalmente si verificano sulla terra in particolari condizioni di stress, variazioni poi rientrate nella norma dopo poche settimane dal rientro sulla terra.

L’ambiente, dunque, è in grado di modificare la attività dei nostri geni, ma non è questa l’unica novità. E’ stato infatti verificato che qualora le alterazioni epigenetiche dovute alla esposizione ambientale di un individuo avvengano a carico degli spermatozoi o delle ovocellule, gli effetti di tali alterazioni possano manifestarsi nella prole di quell’individuo, configurando una diversa suscettibilità a diversi tipi di patologie della età adulta quali obesità, ipertensione, diabete. In altre parole, la aumentata suscettibilità a queste patologie, in alcuni casi, sarebbe da ricercare non solo nello stile di vita dell’individuo, ma anche in quello dei suoi genitori.

Aumenta dunque il livello di complessità della già difficoltosa ricerca dei fattori genetici e ambientali capaci di aumentare o diminuire la nostra suscettibilità a diverse patologie. Che ricadute può avere questa rivoluzione concettuale sulla salute umana in termini di identificazione dei meccanismi eziopatogenetici di una patologie, di prevenzione e di trattamento?

Di seguito faremo alcuni esempi dei diversi campi della medicina in cui le nuove scoperte sui meccanismi epigenetici di controllo della espressione genica permetteranno verosimilmente nei prossimi anni di identificare nuovi protocolli diagnostici e strategie terapeutiche.

Epigenetica e sviluppo embrionale

La visione classica della genetica della riproduzione sessuata nell'uomo prevede che nella nostra specie l'atto della fecondazione si basi sulla fusione di due cellule aploidi con corredo genetico di 23 cromosomi (uova e spermatozoi) allo scopo di generare un novo individuo portatore di un corredo diploide, a 46 cromosomi. La combinazione casuale durante la meiosi dei cromosomi che verranno trasferiti in ogni gamete darà luogo ad un numero enorme di possibili diversi corredi genetici, tali da poterci permettere di dire che ogni individuo è geneticamente unico (con la sola eccezione dei gemelli monovulari). La presenza di un numero diverso di cromosomi nella ovocellula o nello spermatozoo darà luogo a patologie cromosomiche come la Sindrome di Down, mentre la presenza di alterazioni nella sequenza del DNA in specifici geni sarà responsabile di malattie mendeliane come la Fibrosi Cistica, la Talassemia o la Distrofia Muscolare di Duchenne. A questa visione classica della riproduzione umana, si sovrappone adesso la visione epigenetica, che non smentisce il dogma sopra esposto, ma aggiunge una variante importante: uomini e donne portano nei loro gameti (spermatozoi e le ovocellule) modificazioni epigenetiche, causate dalle loro esperienze di vita, che possono trasmettersi all'atto della fecondazione al prodotto del concepimento, la cui salute alla nascita o nel corso della vita potrà essere influenzata da tali modificazioni. Nasce dunque il concetto della Developmental Origin of Adult Diseases (DOAD), che suggerisce che le basi di suscettibilità di una serie di malattie della età adulta, tra cui le patologie dismetaboliche e i disturbi del comportamento, vada ricercata nella vita prenatale e, addirittura, nella fase preconcezionale (Fukuoka H., 2015).

Quali evidenze sperimentali giustificano questa ipotesi? Mediante analisi su modelli animali, è stato possibile verificare come la alimentazione materna possa incidere sul contenuto lipidico delle ovocellule, sulla loro funzionalità mitocondriale e sulla metilazione dei promotori di alcuni geni. Considerando che dopo la fecondazione è proprio l'ovocellula a fornire il materiale citoplasmatico che permetterà lo sviluppo dell'embrione nelle prime fasi, è evidente come queste modificazioni possano creare condizioni diverse di sviluppo, esponendo fin dalle prime settimane di vita il prodotto del concepimento a situazioni ambientali sfavorevoli (Lane M., 2014). Anche lo stile di vita paterno gioca un ruolo importante. L'alimentazione del padre, la sua esposizione a sostanze tossiche, a stress o a interferenti endocrini, l'obesità, rappresentano fattori di rischio per la induzione di alterazioni epigenetiche che possono compromettere la vita dell'embrione o esporlo dopo la nascita a patologie dell'età infantile o di quella adulta, soprattutto sotto forma di maggiore rischio di condizioni dismetaboliche (Stuppia L. et al., 2015).

Una ulteriore variabile è rappresentata dalla possibilità che la fecondazione avvenga non in modo naturale, ma attraverso tecniche di Procreazione Medicalmente Assistita (PMA). Questa forma di riproduzione si è diffusa in maniera esponenziale nei paesi industrializzati negli ultimi anni, e prevede alcuni passaggi che rappresentano importanti finestre di possibili esposizioni a modificazioni epigenetiche. La più importante di queste finestre è quella rappresentata dallo sviluppo dell'embrione in

laboratorio dopo la fecondazione, prima dell'impianto nell'utero materno. Questa fase di sviluppo avviene in genere durante il passaggio dell'embrione nelle tube uterine per raggiungere l'utero, ed è fortemente influenzata da una serie di fattori ambientali di origine materna, quali la presenza di infezioni, di stati infiammatori o di una alimentazione scorretta. Questa stessa fase nella riproduzione assistita si svolge invece in provetta, ed è quindi influenzabile da altri fattori, quali la composizione del terreno di coltura, il pH dello stesso o la presenza di particolari sostanze chimiche. Come conseguenza, i dati della letteratura registrano un effetto epigenetico dannoso che si traduce nella presenza di differenze statisticamente significative nel rischio di sviluppare patologie metaboliche in età giovanile nei figli nati da PMA (Lane M. et al., 2014).

Epigenetica e cancro

Un altro campo della salute umana in cui è emerso prepotentemente negli ultimi anni il ruolo della epigenetica è quello relativo allo sviluppo delle neoplasie. Mentre fino a qualche anno fa si era convinti che la genesi e la progressione di un processo tumorale fossero collegati prevalentemente alla presenza di mutazioni genetiche, è adesso chiaro che anche le alterazioni epigenetiche svolgono un ruolo chiave in tali processi. In particolare, la metilazione del DNA e la espressione dei miRNA appaiono essere coinvolti fin dalle prime fasi dello sviluppo di un tumore. Riguardo al primo meccanismo, è stato verificato che la ipermetilazione specifica a carico dei promotori di alcuni geni onco-soppressori porta progressivamente ad una loro inattivazione con conseguente perdita della attività di controllo e repressione dello sviluppo tumorale. Dall'altra parte, processi di ipometilazione globale portano alla riattivazione incontrollata di geni che sono normalmente silenziati dopo lo sviluppo embrionale, quali gli oncogeni, che a loro volta, quando riattivati, generano un aumento della proliferazione cellulare e quindi della crescita tumorale (Sandoval J, Esteller M., 2012). Un fenomeno simile appare verificarsi a carico della espressione dei miRNA, che viene squilibrata in favore di quelli la cui attività favorisce la proliferazione tumorale. E' stato recentemente proposto che le modificazioni epigenetiche precedano quelle genetiche nel corso del processo di sviluppo di un cancro. Questo dato è di estrema importanza, se si tiene conto che le modificazioni epigenetiche, al contrario di quelle genetiche, sono reversibili. La identificazione precoce delle modificazioni epigenetiche in un tessuto, infatti, potrebbe permettere interventi precoci che blocchino fin dall'inizio lo sviluppo di un processo tumorale. Un modello di questa possibilità è rappresentato dal processo di progressione del carcinoma dell'endometrio secondario a infezione da HPV, in cui il passaggio da una fase displastica a quella cancerosa è mediata dalla insorgenza di anomalie del livello di metilazione di specifici geni e della espressione dei miRNA, che rappresentano pertanto dei biomarker preziosi di progressione della malattia, al punto che i test per la evidenziazione di queste alterazioni vanno progressivamente a sostituire i classici studi di citologia (Steenbergen et al., 2014).

La reversibilità delle alterazioni epigenetiche, come detto, fa sì che esse possano essere bersaglio di specifiche terapie basate sulla capacità, ad esempio, di operare sui livelli di metilazione (DNA-metil-trasferasi) oppure sulla organizzazione cromatinica (istone-deacetilasi). A riprova dell'interesse per queste nuove forme di terapia, va registrato l'incremento esponenziale di investimenti economici da parte dell'industria del farmaco per la messa a punto di molecole in grado di agire sulle modificazioni epigenetiche connesse allo sviluppo del cancro, con un giro di affari che è passato da 800 milioni di dollari nel 2011 a 8 miliardi di dollari nel 2017.

Epigenetica e comportamento

Uno degli aspetti più interessanti del coinvolgimento della epigenetica nella salute umana è quello che riguarda gli effetti che le modificazioni epigenetiche possono avere sul comportamento. Già da diversi anni era noto come patologie legate al fenomeno del "genomic imprinting", basato sulla inattivazione di alleli di provenienza materna o paterna mediante meccanismi di metilazione genere-specifica, fossero caratterizzate da peculiari disturbi del comportamento. La sindrome di Prader Willi, causata da una delezione del cromosoma 15 di origine paterna, presenta, tra gli altri segni, una incontrollabile bulimia dopo lo svezzamento, capace addirittura di portare a morte i pazienti per eccessiva ingestione di cibo. Al contrario, quando la stessa regione è coinvolta sul cromosoma di origine materna, si manifesta la sindrome di Angelman, che presenta una diversa caratteristica comportamentale, ossia la presenza di risate continue e immotivate (la malattia è anche definita "happy puppet syndrome", ossia la sindrome della marionetta felice, per la presenza del riso continuo associato ad una tipica camminata incerta).

L'epigenetica, dunque, può influenzare il comportamento umano. A conferma di ciò, successive evidenze sperimentali si sono aggiunte alle osservazioni derivate dallo studio della sindrome di Prader Willi e di quella di Angelman. È stato infatti dimostrato che, se si sottopongono a stress dei ratti appena nati, la attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrene porta ad una produzione di cortisolo capace di indurre, in strutture quali l'ipotalamo o la corteccia prefrontale, modificazioni epigenetiche a carico di geni coinvolti nello sviluppo del sistema nervoso (es. BDNF). Come conseguenza, da adulti questi ratti mostrano alterazioni dell'apprendimento e della memoria, e maggiori livelli di ansia che configurano una risposta adattativa allo stress (Vialou V. et al., 2012).

In particolare, grande interesse è stato suscitato dagli studi che hanno dimostrato come la assenza di cure materne in cuccioli di ratto induca delle modificazioni della struttura della cromatina capaci di alterare l'espressione di geni correlati con il comportamento, e che questa forma di alterazione epigenetica sia a sua volta responsabile di un atteggiamento di trascuratezza nei riguardi della prole da parte delle femmine di ratto una volta cresciute (Vialou V. et al., 2012).

Questi studi hanno quindi dimostrato sui modelli animali la presenza di una precisa successione di eventi: alterazioni epigenetiche indotte subito dopo nascita producono i

loro effetti nel corso della vita adulta, mentre alterazioni epigenetiche indotte durante la vita adulta, agendo sulla gametogenesi, possono produrre effetti transgenerazionali in cui gli stress vissuti dai genitori mostrano i loro effetti anche sui figli, benchè questi non siano stati esposti. Passando dai modelli animali all'uomo, questo meccanismo è stato recentemente invocato per quanto riguarda l'aumentata incidenza di Disturbo Post-Traumatico da Stress nei figli di sopravvissuti ai campi di concentramento nazisti, che pur non avendo vissuto in prima persona l'orrore dell'olocausto hanno ereditato il trauma subito dai genitori (Kellerman N.P., 2013).

Si sviluppa quindi progressivamente l'idea che le esperienze di vita preconcezionali (gametogenesi), prenatali e postnatali contribuiscano a formare, attraverso una serie di variazioni epigenetiche, le caratteristiche comportamentali di un individuo sia all'interno della normale variabilità fisiologica che in quella che sconfinata in quadri francamente patologici.

Lo schema che viene proposto è il seguente: ogni individuo nasce con un carico epigenetico che è rappresentato dalle esperienze di vita paterne e materne che si raccolgono in modificazioni chimiche del DNA dei gameti. Lo zigote, dopo la fecondazione, va incontro ad altre esperienze ambientali positive o negative nell'utero materno, modulate dalla alimentazione materna, dalla presenza di infezioni, dal consumo eccessivo di alcool o tabacco e dallo stress. Dopo la nascita, le esperienze ambientali consistono in una corretta nutrizione e nella presenza di adeguate cure parentali, ivi compresa l'educazione, mentre le infezioni, la malnutrizione, l'essere trascurati e il maltrattamenti rappresentano fattori negativi. L'insieme di tutti i fattori protettivi e di rischio manifesta la sua azione attraverso la modulazione della espressione di geni coinvolti nello sviluppo del sistema nervoso centrale, della migrazione neuronale, della sinaptogenesi, della trasmissione di segnali attraverso l'asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrene. Come conseguenza, una disregolazione di questi processi può portare alla comparsa di patologie connesse al comportamento che, quanto più sarà stata precoce la esposizione ai fattori ambientali nocivi, tanto più si manifesterà precocemente. L'ipotesi, pertanto, è che patologie apparentemente diverse quali autismo, schizofrenia, depressione e demenza, siano in realtà tutte il risultato di una disregolazione epigenetica che si manifesta in età diverse e con sintomatologie diverse (Millan M.J. et al., 2013).

I fattori ambientali responsabili di modificazioni epigenetiche

Il progressivo estendersi degli studi sul ruolo svolto dai fattori epigenetici sulla salute umana ha permesso di identificare un numero sempre maggiore di agenti ambientali capaci di indurre modificazioni epigenetiche, sotto forma di anomalie delle metilazione del DNA, della organizzazione cromatinica o della produzione di miRNA. Il principale di questi fattori è sicuramente rappresentato dalla alimentazione. Un famoso esempio di questo ruolo svolto dalla alimentazione è rappresentato dalla vicenda dell'embargo nazista sulla città di Amsterdam alla fine della II° Guerra mondiale. A causa della

carestia susseguente a tale embargo, migliaia di persone persero la vita, ma il governo olandese organizzò un razionamento dei viveri di cui venne meticolosamente tenuto un registro. A sessanta anni dal termine della guerra, un gruppo di ricercatori recuperò tali registri e rintracciò i soggetti che erano stati generati nel periodo di carestia, ossia quelli i cui genitori avevano subito le conseguenze della malnutrizione nel momento della fecondazione. Lo studio di questi soggetti dimostrò alterazioni nei livelli di metilazione del DNA del sangue rispetto ai soggetti generati al di fuori del periodo di carestia. Inoltre, fu osservato che il primo gruppo di soggetti mostrava una maggiore predisposizione a patologie quali il diabete o la schizofrenia (Heijmans B.T. et al., 2008).

Diversi studi hanno successivamente confermato un ruolo della alimentazione durante la gametogenesi nel determinare attraverso meccanismi epigenetici la suscettibilità a patologie croniche da parte dei figli generati con tali gameti. Un ruolo importante è però svolto anche dagli inquinanti ambientali, dal fumo, dallo stress, e addirittura dal cosiddetto “shiftwork”, ossia lo svolgere delle professioni che costringono a regolare il ritmo sonno veglia in maniera diversa da quello che sarebbe il fisiologico ritmo circadiano.

Come si vede, pertanto, la cosiddetta “rivoluzione epigenetica” rappresenta realmente un cruciale punto di svolta nelle nostre convinzioni riguardo al ruolo svolto dagli agenti ambientali sulla salute umana, in particolare attraverso l’ipotesi della DOAD e la rivelazione degli effetti transgenerazionali dello stile di vita dei genitori. Tali conoscenze potranno in breve tempo diventare cruciali per fornire indicazioni utili al perseguimento di un corretto stile di vita che influisca sul rischio di patologie non solo dell’individuo, ma anche della prole.

E del resto, questo concetto era già stato intuito da Eschilo, il padre della tragedia greca, che scriveva:

“L’uomo non deve essere “ubristès” – “smodato/tracotante”, perché questo è un atteggiamento che dispiace molto agli dèi, i quali puniscono tale uomo, e può passare anche molto tempo, prima che giunga la punizione, ma bisogna tenere sempre ben presente che Zeus punisce, anche se tardi. Per questo motivo le colpe dei padri ricadono sui figli.”

Bibliografia

Fukuoka H., 2015. DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) and Birth Cohort Research. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo). 61 Suppl: S2-4.
Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, Lumey LH., 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans.

- Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Nov 4; 105(44):17046-9.
- Kellermann NP., 2013. Epigenetic transmission of Holocaust trauma: can nightmares be inherited? *Isr J Psychiatry Relat Sci.*; 50(1):33-9.
- Lane RH., 2014. Fetal programming, epigenetics, and adult onset disease. *Clin Perinatol.* 2014 Dec; 41(4):815-31.
- Lane M, Robker RL, Robertson SA., 2014. Parenting from before conception. *Science.* 2014 Aug 15;345(6198):756-60.
- Millan MJ., 2013. An epigenetic framework for neurodevelopmental disorders: from pathogenesis to potential therapy. *Neuropharmacology.* 2013 May; 68:2-82.
- Sandoval J., Esteller M., 2012. Cancer epigenomics: beyond genomics. *Curr Opin Genet Dev.* 2012 Feb; 22(1):50-5.
- Steenbergen RD, Snijders PJ, Heideman DA, Meijer CJ., 2014. Clinical implications of (epi)genetic changes in HPV-induced cervical precancerous lesions. *Nat Rev Cancer.* 2014 Jun;14(6):395-405.
- Stuppia L, Franzago M, Ballerini P, Gatta V, Antonucci I., 2015. Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clin Epigenetics.* 2015 Nov 11; 7:120. doi: 10.1186/s13148-015-0155-4. eCollection 2015.
- Vialou V, Feng J, Robison AJ, Nestler EJ., 2012. Epigenetic mechanisms of depression and antidepressant action. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* Epub 2012 Sep 27.