

ASPETTI BIOLOGICI GENETICI ED EPIGENETICI DELLE MALATTIE NEUROPSICHIATRICHE

Roberto Dominici MD

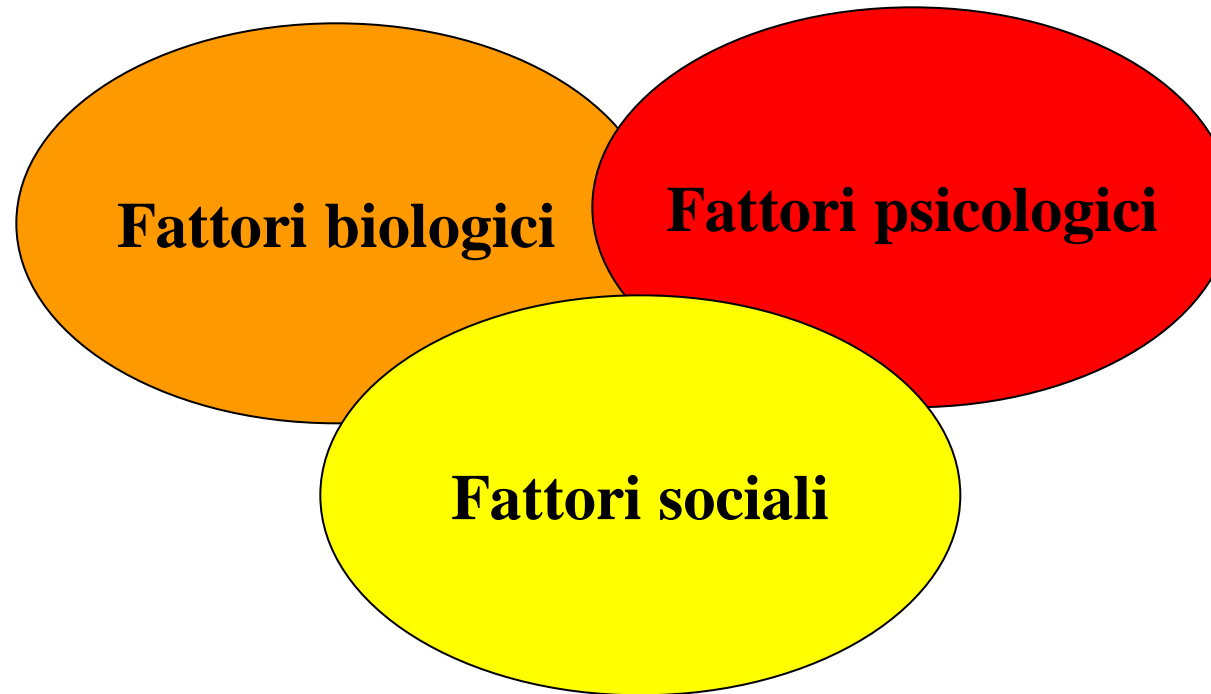
Laboratorio Biochimica Clinica ASST Ovest milanese

Ospedale di Magenta

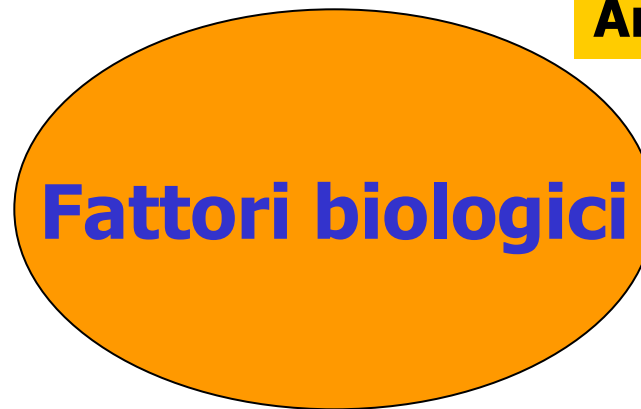
Presidente Fondazione RSA Agostoni Lissone



Eziopatogenesi dei disturbi mentali (1)



Eziopatogenesi dei disturbi mentali (2)



Alterazioni funzionali SNC

Anomalie dei neurotrasmettitori

Alterazioni strutturali SNC

Macroscopiche

Microscopiche

Fattori genetici

Invecchiamento

Genere

Noxae infettive (precoci 2° trim gravidanza)

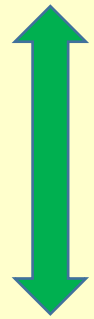
Fattori perinatali (traumi)

Endocrinopatie

Periodo post partum

Abuso di sostanze

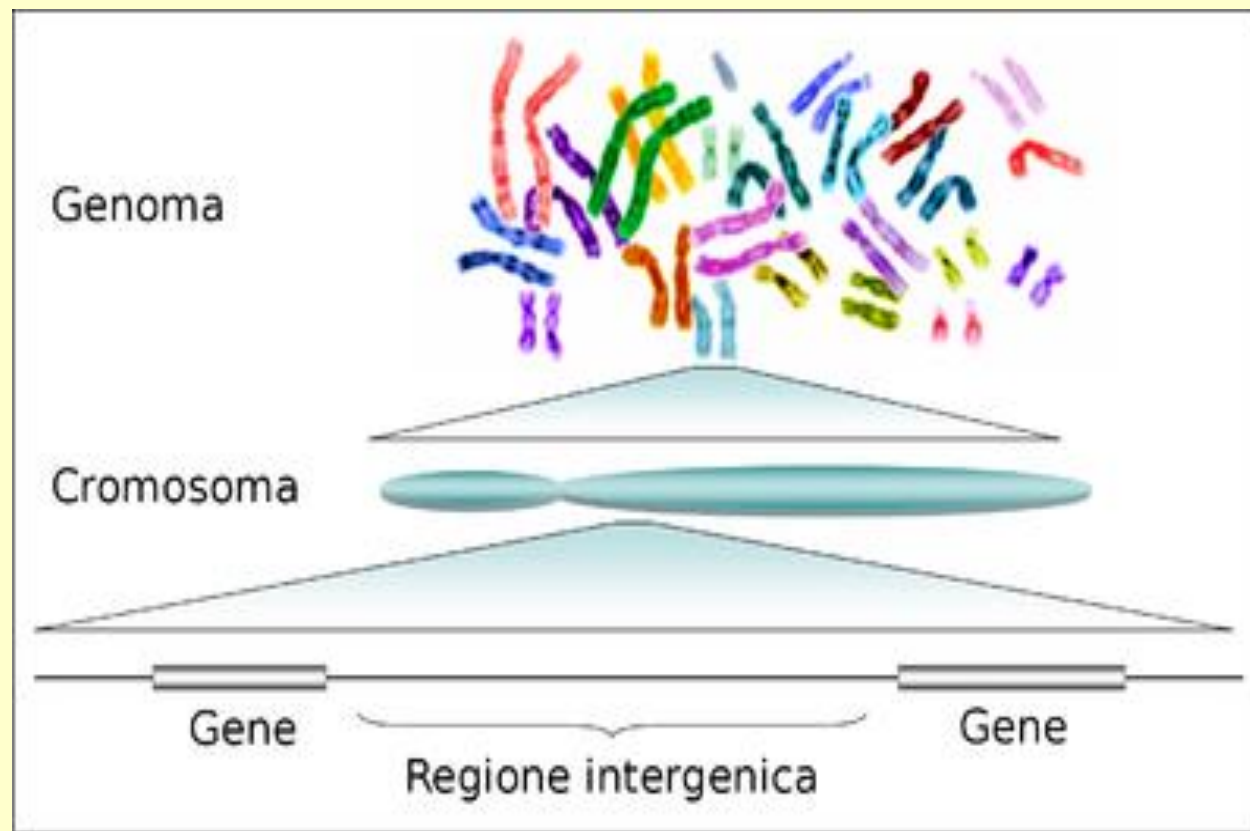
Dal genoma ...
20.000-25.000 geni
 3.2×10^9 coppie di basi



All'Epigenoma:
un salto di complessità biologica

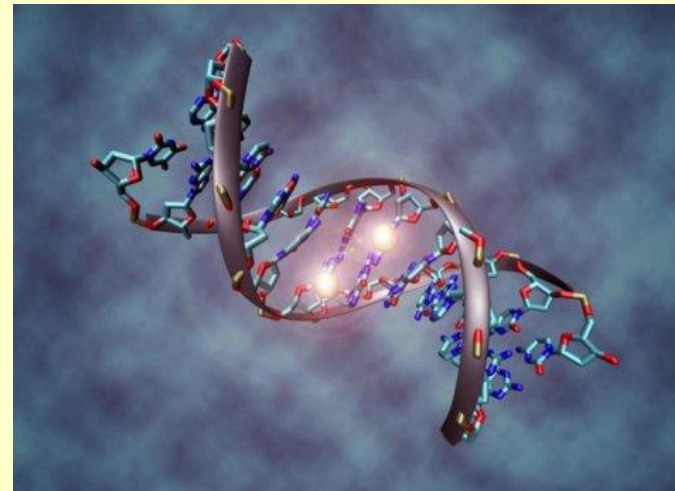
Epigenetica:

Studia le modificazioni ereditabili che variano l'espressione dei geni pur non alterando la sequenza del DNA



Nelle cellule umane vi sono normalmente 23 coppie di cromosomi (46 in totale), ognuno dei quali contiene centinaia di geni separati da regioni intergeniche.

Le regioni intergeniche possono contenere sequenze regolatrici e DNA non codificante.



L' identità genetica nella nostra specie

Homo sapiens sapiens

- **I vari genomi sono identici al 99.9%**
- **3.700.000 nucleotidi sono differenti (0.1%)**
- **Tra ogni coppia di individui i genomi differiscono per oltre 3 milioni di basi nucleotidiche (3×10^6 bp)**
- **Tra ogni coppia di individui i proteomi differiscono per circa 100,000 aa**

Cambiamento di Paradigma

Passaggio dalla Medicina terapeutica alla **MEDICINA di PRECISIONE (Predittiva)**

**Studia i vari
polimorfismi
genetici e la loro
interazione con
l'ambiente**



Medicina personalizzata

al fine di ...

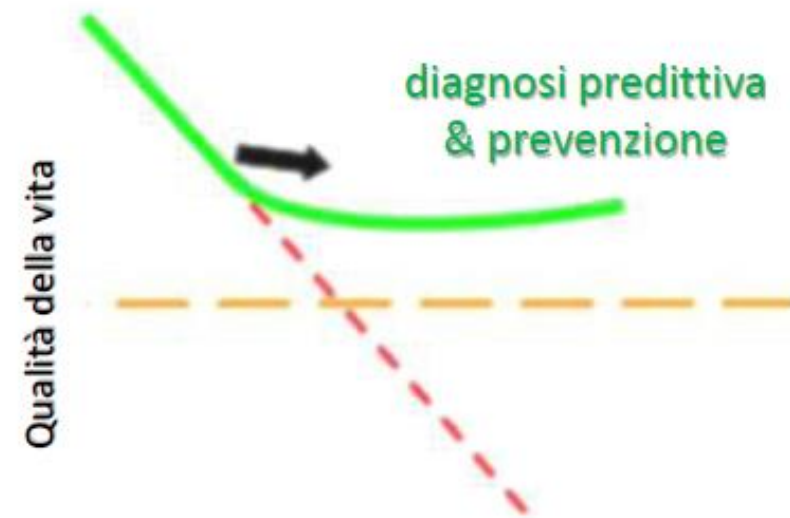
Predire il rischio di malattia (medicina predittiva)

Medicina tradizionale

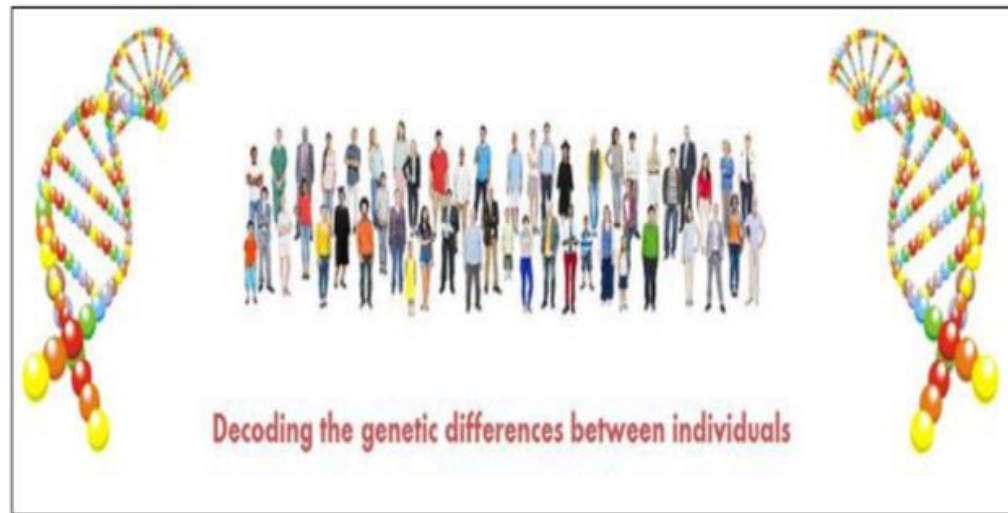


Sviluppo di malattie

Medicina genomica

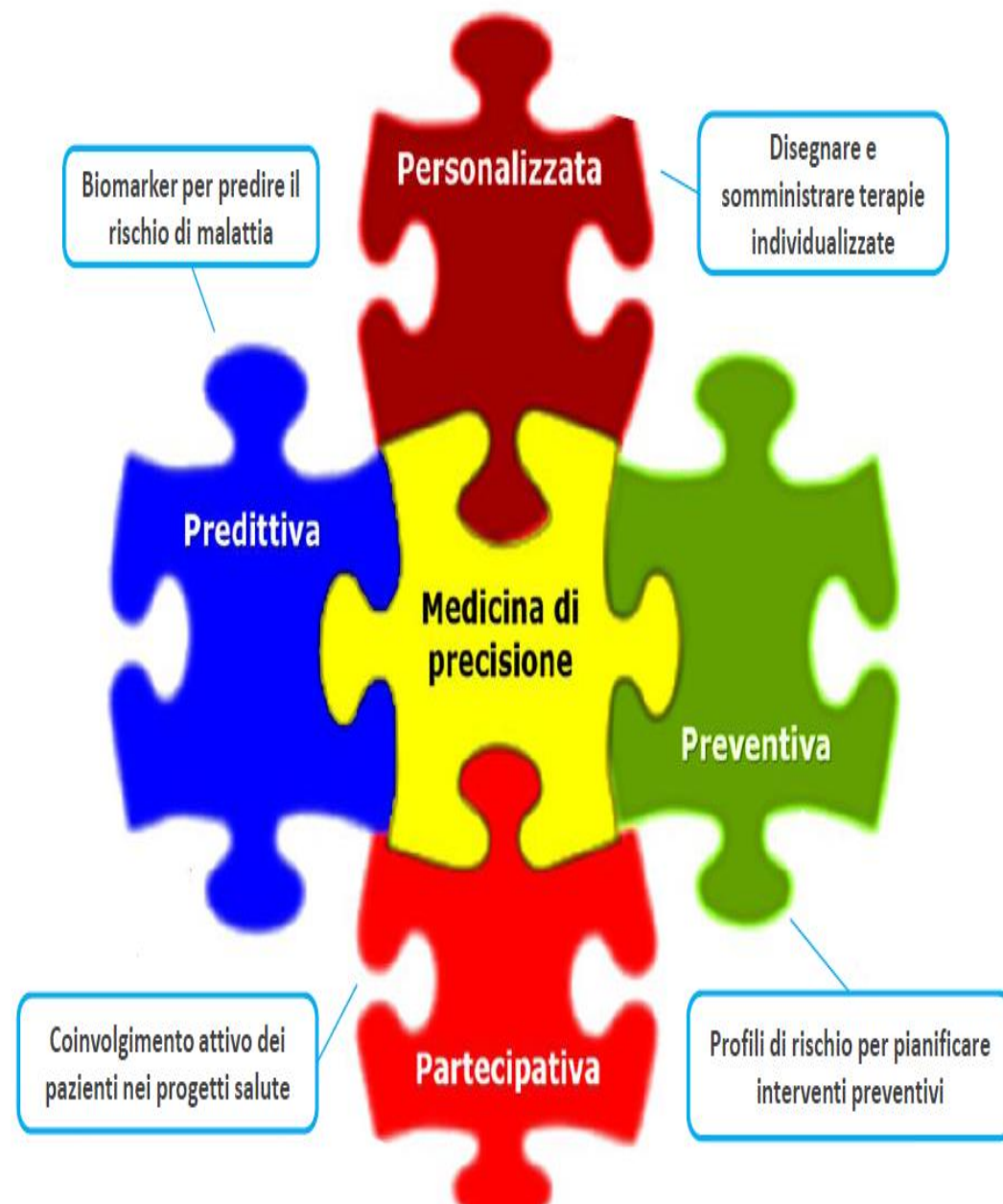


Sviluppo di malattie



il DNA di *due* individui *differisce* in media dello 0,1%

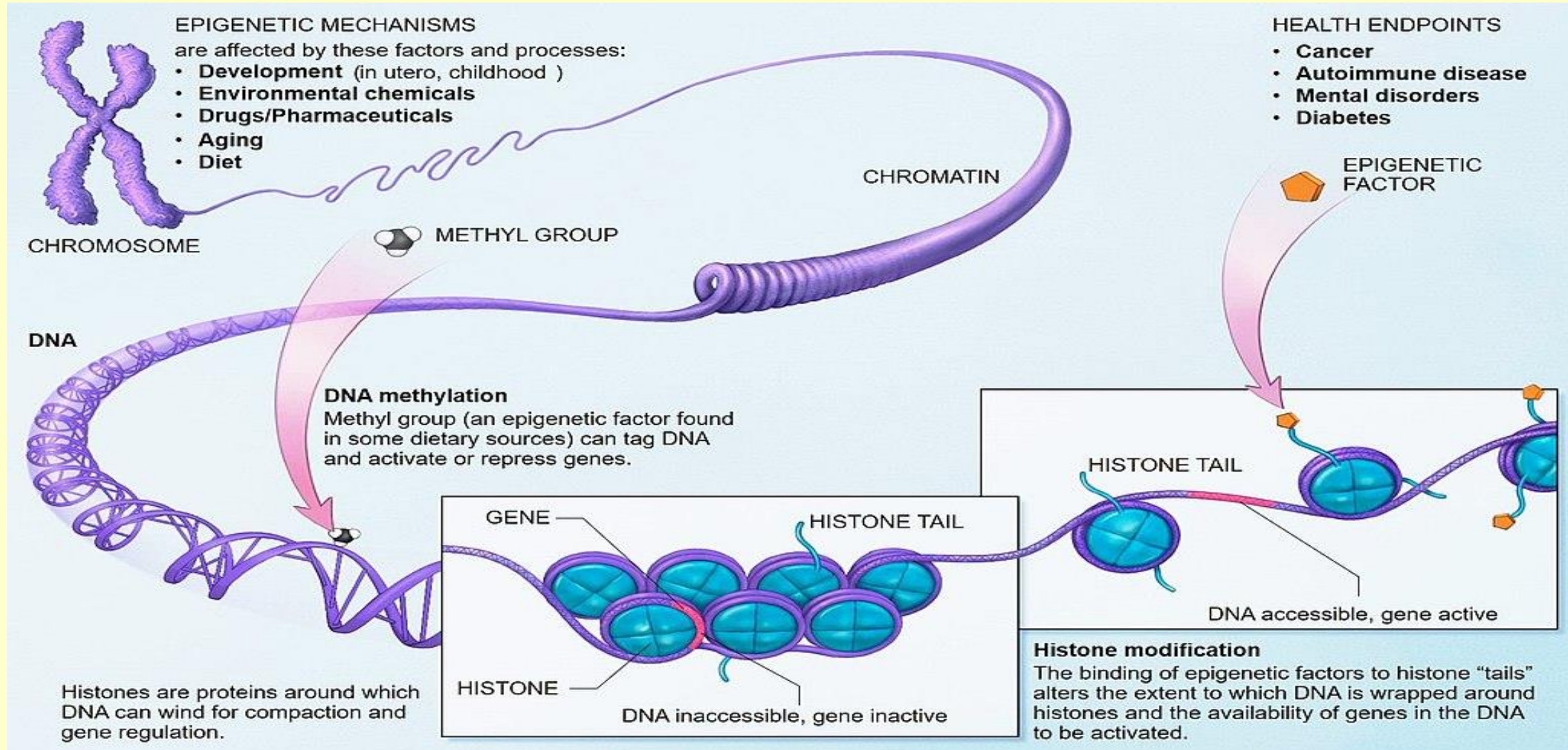
- ▶ Le persone differiscono tra loro per circa **3,7 milioni di basi**
- ▶ Una **base ogni 200** è diversa
- ▶ >2000 differenze hanno dimensioni superiori alle 2,5 kb (varianti strutturali)
- ▶ Ogni persona possiede **>1500 differenze** rispetto alla mappa umana di riferimento



EPIGENETICA

I geni sono “vestiti” da tutta una serie di molecole **organiche** cui sono uniti da legami chimici. Queste “appendici” **possono fare in modo che i geni siano più o meno attivi** e possono restare unite ai geni per lunghi periodi di tempo, a volte anche per tutta la vita ed essere persino trasmessi dai nonni fino ai nipoti. La disciplina chiamata **epigenetica** studia come sono applicati e rimossi questi componenti aggiuntivi. **Formazione e scissione dei legami epigenetici** avvengono a volte a caso, come le mutazioni, spesso però avvengono in **risposta a stimoli ambientali, cibo, inquinanti, attività fisica, interazioni sociali**, per cui si può dire che i processi epigenetici si trovano **nell'interfaccia tra l'ambiente ed i nostri geni**.

EPIGENETICA È LO STUDIO DEI FATTORI CHE DETERMINANO CAMBIAMENTI STABILI ED EREDITABILI, MA REVERSIBILI, NELL'ESPRESSIONE DEI GENI SENZA CAMBIAMENTI NELLA SEQUENZA ORIGINALE DEL DNA

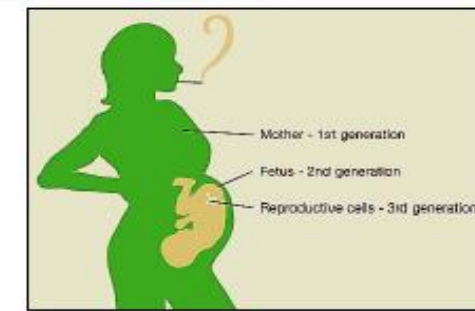
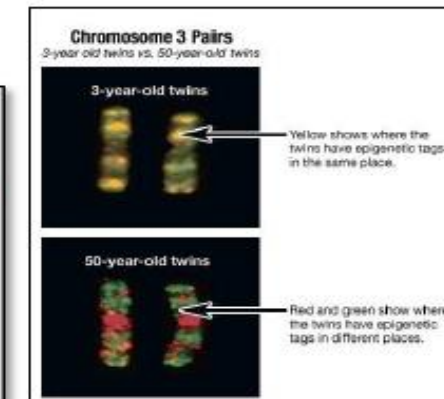




Interazione G-A
(genoma + esosoma)



Epigenetica



Epigenetica transgenerazionale

L'epigenoma è fondamentale nei processi vitali; i meccanismi epigenetici sono alla base dello sviluppo embrionale, permettono l'adattamento all'ambiente e intervengono nella regolazione delle funzioni metaboliche. Attiva e disattiva i programmi di lettura del DNA in risposta a stimoli ambientali.

Errori nei processi epigenetici concorrono all'insorgere di molte patologie, tra cui il cancro. Correggere gli errori epigenetici è difficile, ma possibile, perciò c'è grande interesse verso lo sviluppo di farmaci epigenetici per la cura e il trattamento delle malattie

Principali componenti della salute e delle malattie



Alimentazione

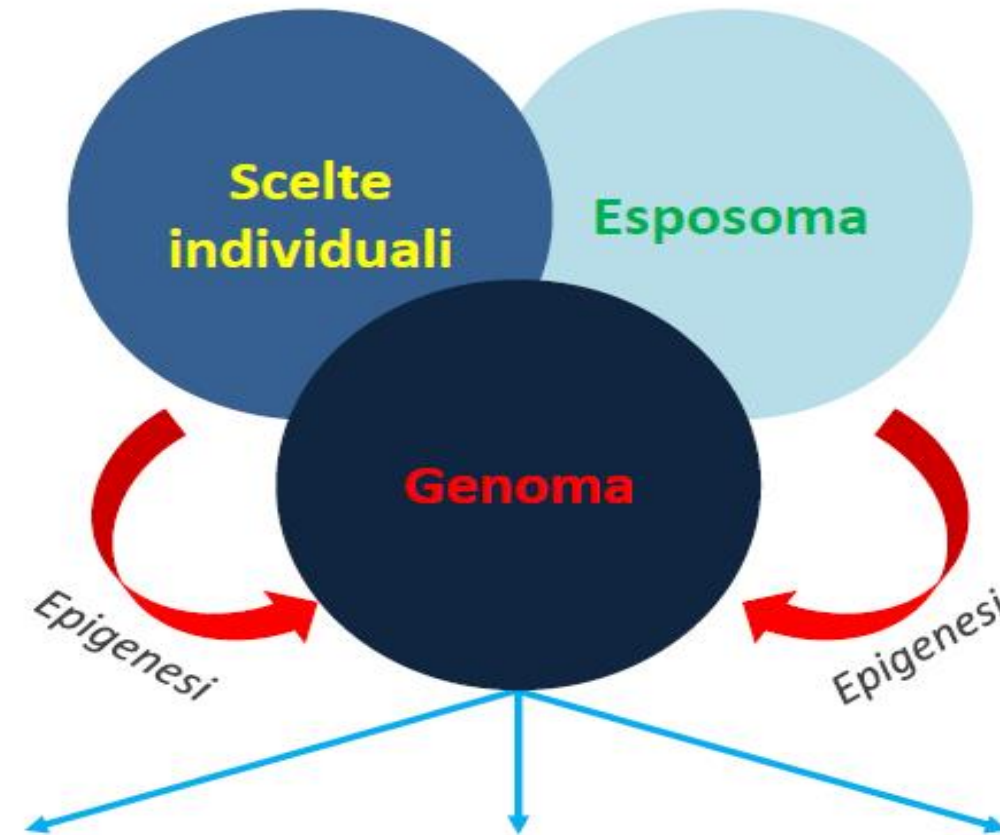


Attività fisica



Farmaci

Epigenoma

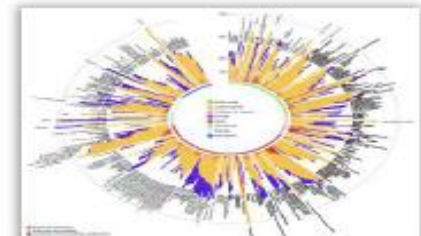


Inquinamento ambientale



Microbioma

Metaboloma



ESPOSOMA

The Exposome: Exposure to Disease



La misura di tutte le esposizioni di un individuo nella vita e come tali esposizioni riguardano la salute. L'esposizione di un individuo inizia prima della nascita e comprende insulti da varie fonti (ambientali in senso largo).

ESPOSOMICA

Capire come le interazioni tra le esposizioni del nostro ambiente (dieta, stile di vita, etc.) e le nostre caratteristiche uniche quali la genetica, la fisiologia, l'epigenetica impattano la nostra salute

Classificazione malattie genetiche

La prima grande distinzione tra le diverse malattie genetiche è legata al numero di geni coinvolti, per cui distinguiamo:

- *M. monogeniche*
- *M. poligeniche*
- *M. multifattoriali o complesse*

L'ereditarietà delle malattie complesse è multifattoriale quando il carattere biologico è controllato da un insieme di molti geni che agiscono in concorso con fattori ambientali (alimentazione, condizioni igieniche, clima, tabagismo, attività fisica etc).

Eredità Uni o multifattoriale

- L'eredità è unifattoriale (monogenica) quando il carattere biologico è determinato da un solo gene, trasmesso secondo le leggi della dominanza, della segregazione e dell'indipendenza (Mendel) (GENETICA QUALITATIVA)
- L'eredità è multifattoriale quando il carattere biologico è controllato da un insieme di molti geni che agiscono, in concorso con fattori ambientali (GENETICA QUANTITATIVA)
- Per l'evidenziazione di un carattere quantitativo, all'effetto genetico viene ad associarsi l'influenza dell'ambiente, quest'ultimo inteso nella sua più ampia accezione (alimentazione, condizioni igieniche, clima, tabagismo, attività fisica etc.)
- In una malattia monogenica, il difetto (mutazione) è sufficiente a causare il fenotipo.
- In una malattia multifattoriale si devono combinare gli effetti prodotti da più geni e da fattori esogeni/ambientali: ciascun gene contribuisce ma non è sufficiente a generare da solo il fenotipo malattia.

Esempi di malattie ad eredità multifattoriale

Difetti congeniti

Cardiopatie congenite
Difetti del tubo neurale
Labio/palatoschisi
Lussazione congenita dell'anca
Piede torto
Stenosi ipertrofica del pilo

Malattie dell'adulto

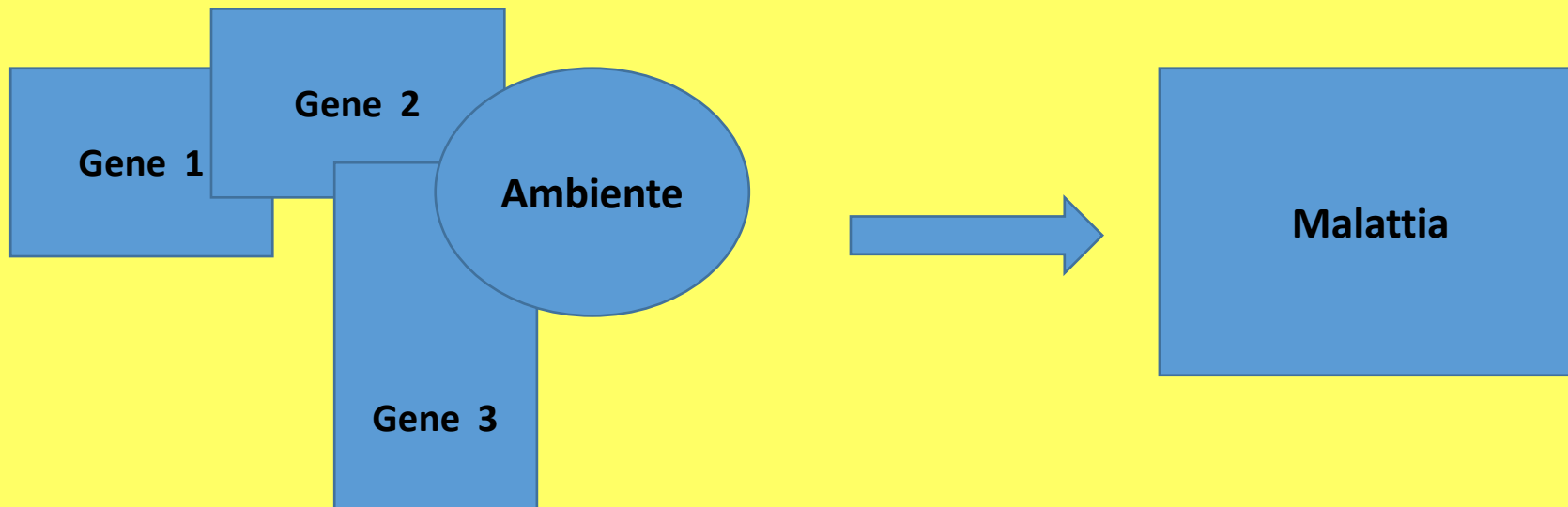
Asma
Cardiopatia ischemica
Diabete mellito
Epilessia
Glaucoma
Ipertensione
Obesità
Psicosi maniaco-depressiva
Schizofrenia
Tumori.....

MALATTIE COMPLESSE

- malattie comuni, che colpiscono milioni di persone
- sono causate dall'interazione di più geni con l'ambiente
- viene ereditata una predisposizione alla malattia (suscettibilità)



Malattie genetiche semplici e complesse



Incidenza dell'autismo e dei disturbi psichiatrici nei gemelli identici e nei fratelli di persone colpite

Disturbo	Gemelli identici	Fratelli	Popolazione generale
Autismo	90%	20%	1-3%
Disturbo bipolare	70%	5-10%	1%
Depressione	40%	< 8%	6-8%
Schizofrenia	40-50%	10-15 %	1%

Geni e malattie neuropsichiatriche

- Autismo: duplicazione regione cr.7 (CNV) mutazioni de novo (età paterna), gene VAMP2 (mutazione) regola il rilascio dei neurotrasmettitori e la comunicazione tra i neuroni
- Schizofrenia: polimorfismi gene COMT cr.22, DISC1
- Disturbo borderline: geni COMT, DAT1, GABRA1, GNB3, GRIN2B, HTR1B, HTR2A, 5HTT, MAO-A, MAO-B, NOS1, NR3C1, TPH1, e TH
- Disturbo depressivo: cr.10, SIRT1, cr 11,TH
- Disturbo d'Ansia: cr.1, polimorfismo del gene RGS2 (modulatore dello sviluppo dell'ansia, attacchi di panico)
- Rischio suicidario: regione sul cr. 2 (questa piccola regione contiene quattro geni, tra cui il polimorfismo gene ACP1 (dist. bipolare e rischio suicidio) (proteina che influenza l'assorbimento del litio usato come farmaco per ridurre il tasso di comportamento suicidario). Sembra associato ad un aumentato rischio di tentato suicidio. La clozapina interagisce con la proteina ACP1, riducendo il comportamento suicidario nei pz schizofrenici.

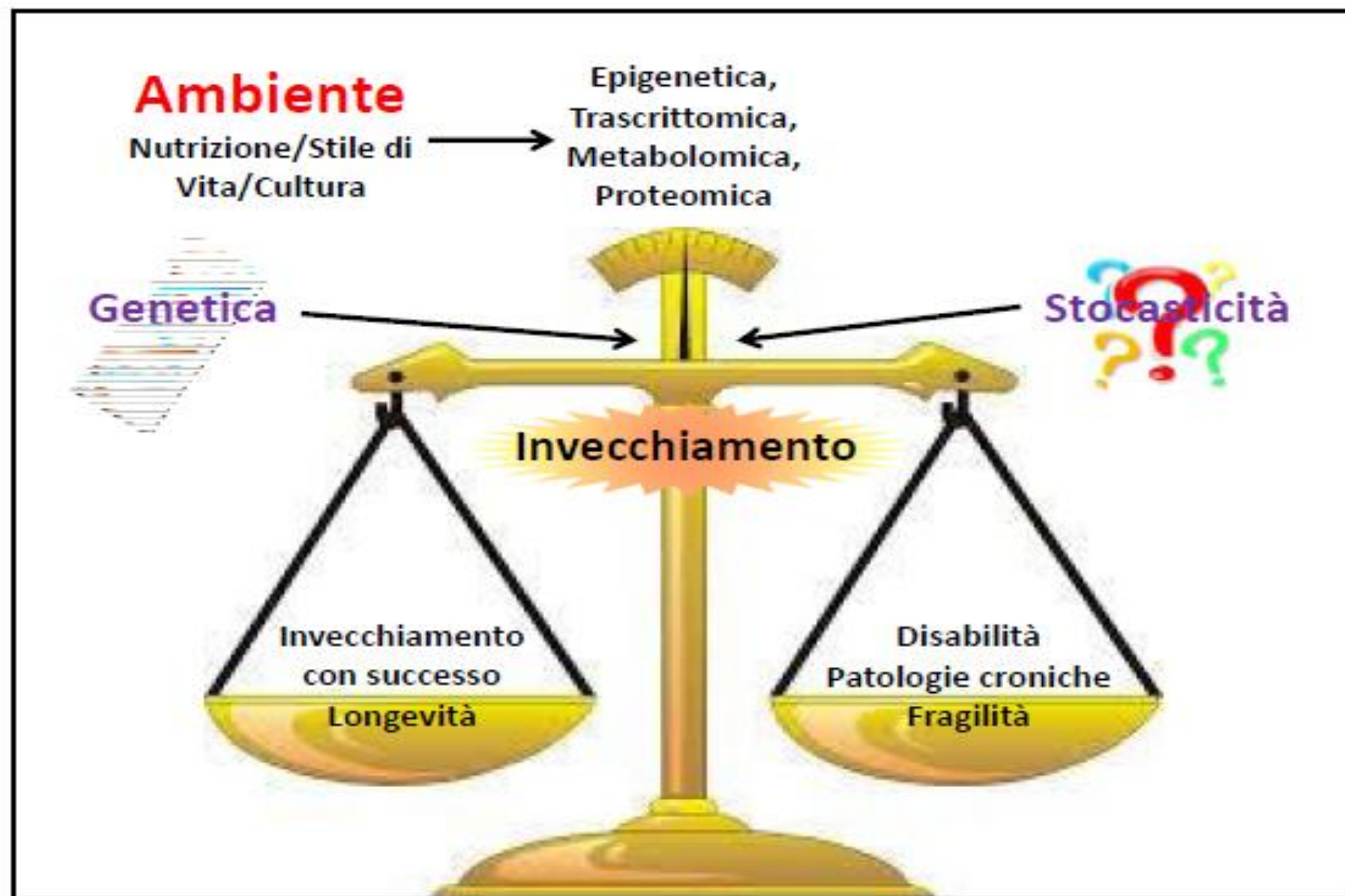
Prospettive e basi per terapie future per le malattie neuropsichiatriche

Sequenziamento di genomi interi in tutta la popolazione, per identificare i 50-100 geni coinvolti nel disturbo dello spettro autistico e in altre malattie (depressione, disturbo bipolare e schizofrenia)

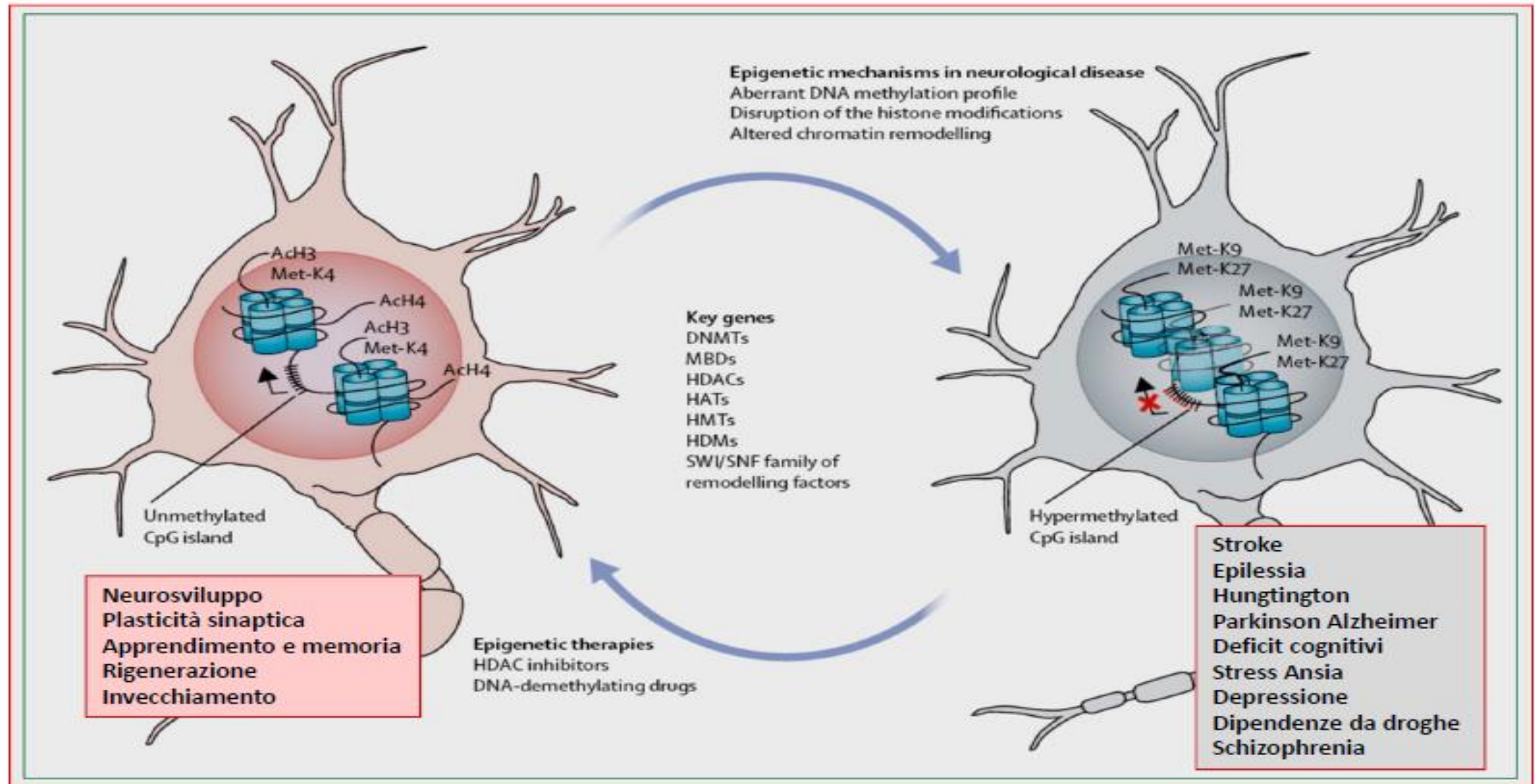
Dai geni si potrà risalire alle vie e circuiti neuronali che danno origine al cervello sociale, i geni che ci rendono gli esseri sociali che siamo;

Capire in che modo la predisposizione genetica interagisce con l'ambiente per dare origine a disturbi specifici complessi

Es. team internazionale ha analizzato un database contenente materiale genetico di 9747 persone con disturbo bipolare e 14.278 persone senza disturbo. Analizzate 2.3 milioni di regioni di DNA (bp) diverse e 5 di queste sono collegate al disturbo bipolare; in due di queste si trovano geni che predispongono al rischio, rispettivamente sul cromosoma 5 e 6. Uno di questi geni è il ADCY2 supervisiona la produzione di un enzima che regola la segnalazione neuronale che ben si adatta all'osservazione che nelle persone con disturbo bipolare il trasferimento di informazioni in alcune regione cerebrali è alterato (altri geni coinvolti NCALD, WDR60, SCN7A, SPAG16).



L'epigenetica e il cervello



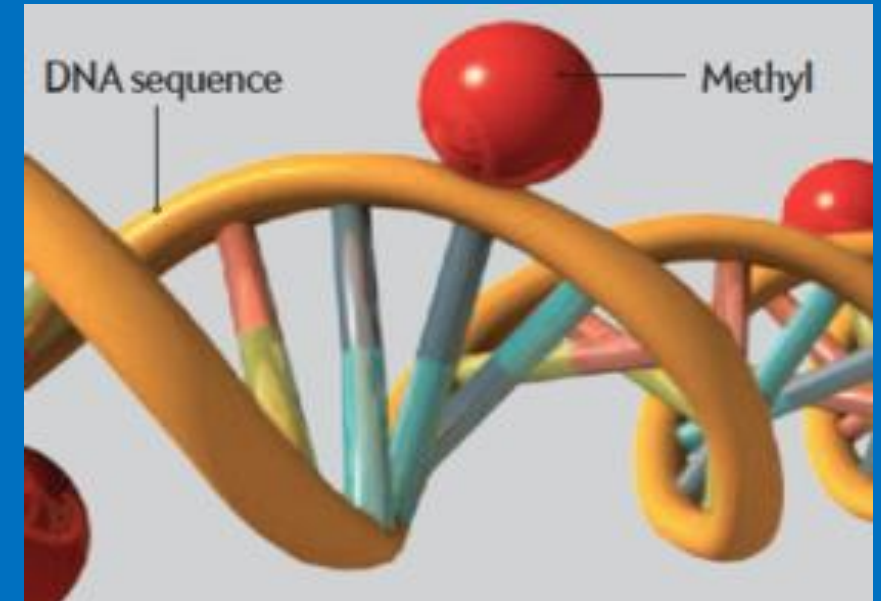
EPIGENETICA E CERVELLO

La metilazione del DNA, in cellule del sistema nervoso centrale emerge durante l'infanzia e l'adolescenza ed è conservato nell'età adulta. Ciò ha un'enorme importanza per chiarire meglio alcuni aspetti di quella capacità di cambiamento del sistema nervoso centrale che va sotto il nome di **plasticità neurale**. Questa capacità è **alla base non solo dell'apprendimento attraverso l'esperienza, ma anche di patologie psichiatriche**: recenti studi hanno ipotizzato un ruolo della metilazione nella schizofrenia, nel disturbo bipolare e nella depressione. Tenuto conto che i meccanismi epigenetici sono influenzati dall'interazione con l'ambiente, prende corpo l'ipotesi che proprio i processi di metilazione siano il tramite grazie al quale l'esperienza rimane fissata in modo permanente nel funzionamento del sistema nervoso, anche nei casi patologici.

Modificazioni epigenetiche, legate prevalentemente allo **stress** e dimostrate a livello di metilazione genetica, possono verificarsi **in utero**: “inverno della **fame**” in **Olanda nel 1944**, con aumento nell’incidenza di una serie di patologie psichiche e fisiche nei feti esposti a distanza di molti decenni: disturbi dell’umore, schizofrenia, disordini di personalità, precoce declino cognitivo, diabete, obesità, problemi cardiovascolari.

Nelle prime fasi della vita studiato l’effetto dello stress e le conseguenze epigenetiche **nei roditori** (cuccioli di madri più o meno accudenti), trasmissibili per diverse generazioni.

Nell’uomo sono stati studiati i **cervelli di oltre 3000 persone morte per suicidio** e si è rilevato che, nel caso di maltrattamenti infantili, nell’ippocampo è riscontrabile un incremento della metilazione dell’esone che è cruciale per la codifica del recettore per il cortisolo (Zhang, 2013).



The Center for
**Mind-Body
Medicine**

Epigenetica e comportamento

Studi centrati sulle relazioni materne e ambientali delle prime fasi dello sviluppo e l'assetto dell'asse dello stress dei giovani ratti oggetto delle sperimentazioni.

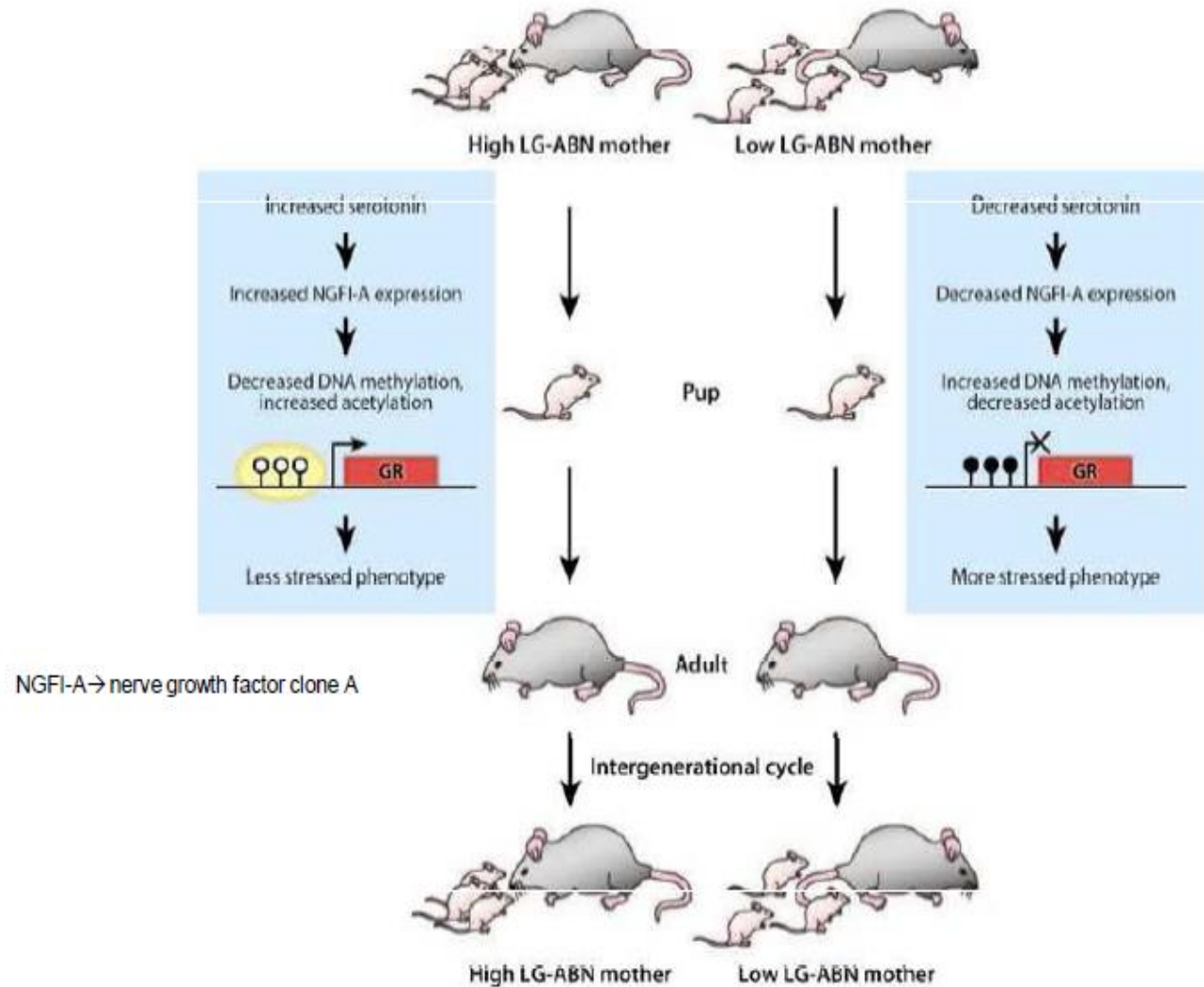
Cuccioli allevati da madri poco premurose rispetto ad altri allevati da madri premurose, presentavano un'ipermetilazione a livello della citosina e degli istoni del promotore del gene del recettore per i glucocorticoidi (GR) dell'ippocampo.



Nello sviluppo questi animali presentavano una alterazione della risposta di Stress rispetto a ratti allevati con maggiore cura, e le femmine di animali, allevati da madri poco amorevoli, presentavano lo stesso epigenoma delle madri e quindi riproducevano lo stesso comportamento poco amorevole sui loro figli.

Comportamento materno e programmazione epigenetica

*Le cure materne inducono
modificazioni epigenetiche
nella prole che persistono
per tutta la vita adulta.*



Younis NA, Whitelaw F. 2008

Alta cura → alta seratonina → alto NGFI-A → gene per cortisolo attivo → buona risp. Stress
Bassa cura → bassa seratonina → basso NGFI-A → bassa [cortisolo] → bassa risp. Stress

Prenatal Stress

Traumatic war experiences,
natural disasters, death of husband

Repeated experimental
stressors



Human evidence

Elevated
risk of
schizophrenia
in children



Animal studies

Schizophrenia-like
phenotype in the
offspring
(cognitive deficits,
disrupted social
behaviour,
hyperactivity)

Molecular changes
in the brain

- Altered DNA methylation in prefrontal cortex
- Disrupted maturation of prefrontal cortex
- Impaired HPA axis regulation
- Impaired synaptic plasticity

Altered miRNA
expression?
Other epigenetic
changes?

Are molecular
changes regulated
by epigenetic
mechanisms
that were
disrupted during
prenatal life?

Published in final edited form as:

Science. 2013 January 18; 339(6117): 335–339. doi:10.1126/science.1226931.

Adolescent Stress–Induced Epigenetic Control of Dopaminergic Neurons via Glucocorticoids

Modello animale (murino GxE) animali in isolamento, con conseguente aumento degli ormoni glucocorticoidi che influenzano epigeneticamente i neuroni dopaminergici dell'area mesocorticale in combinazione con fattori di rischio genetici

Stress ambientali infanzia/adolescenza influenzano la maturazione del cervello postnatale e gli schemi comportamentali in età adulta

Stress cronico eccessivo+ FdR genetici = m. neuropsichiatriche (depressione psicotica)

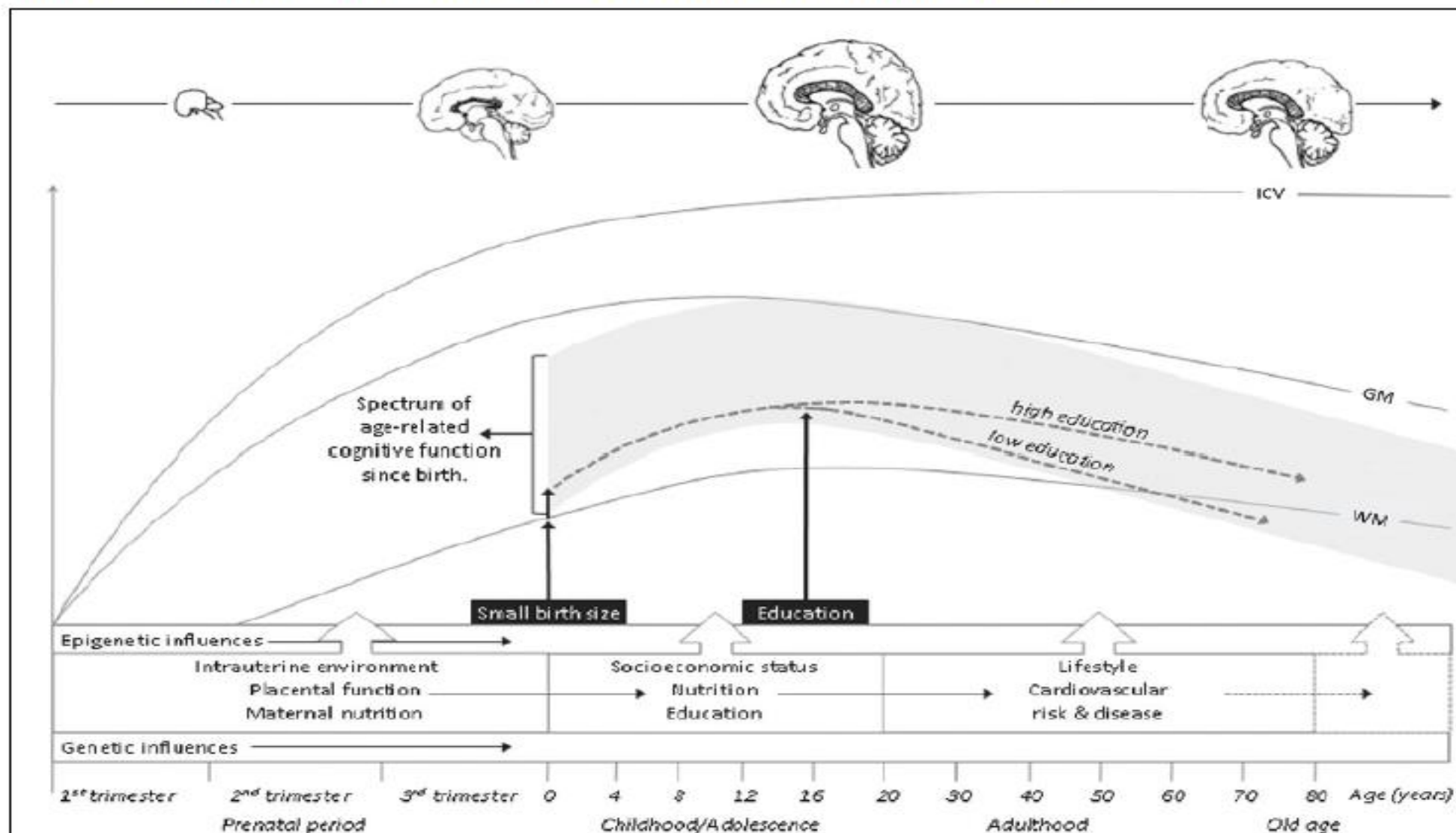
Life course approach

Birth Size and Brain Function 75 Years Later

Figure 1.1

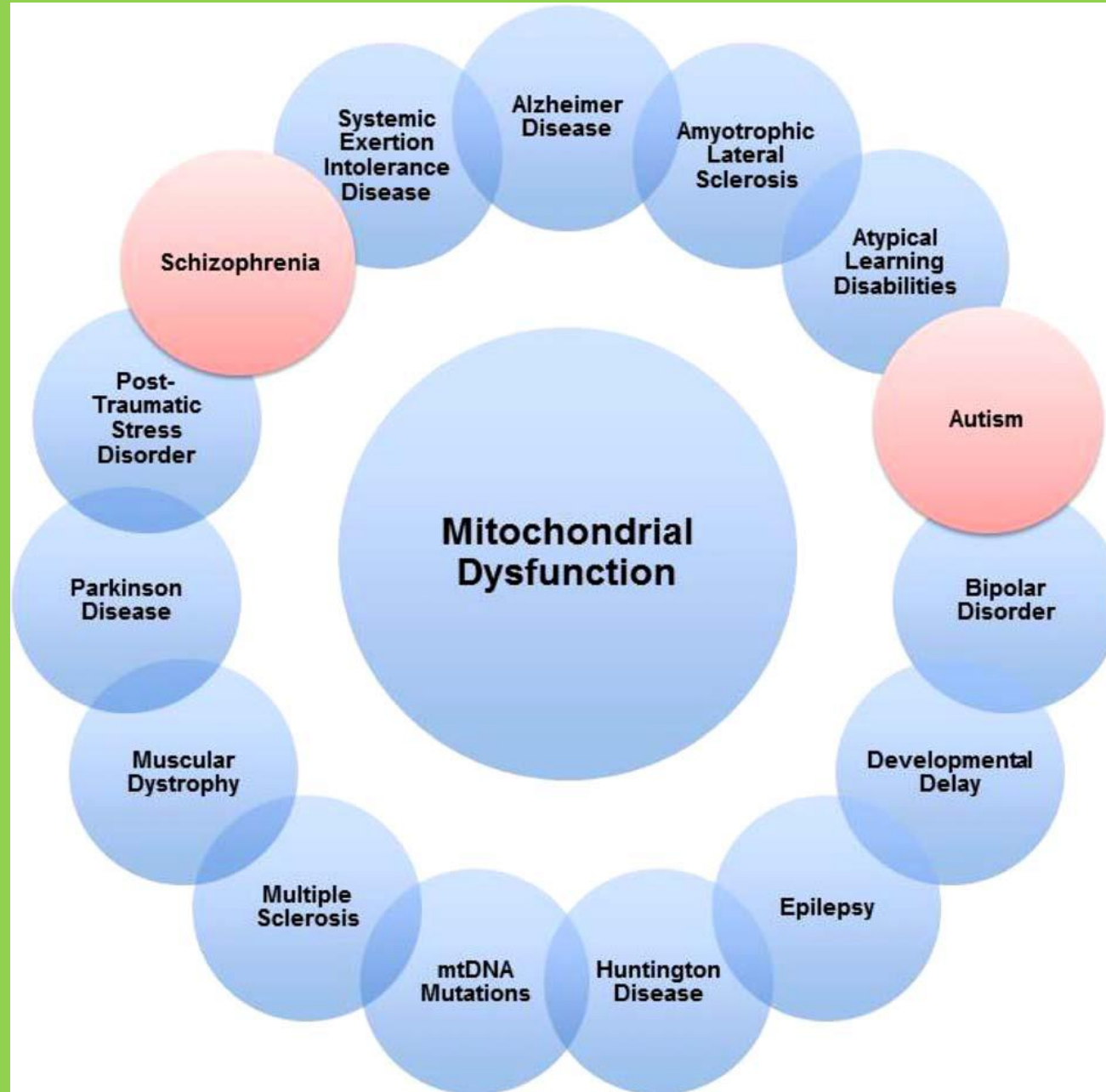
(Pediatrics Vol. 134, 2014, AGES-Reykjavik Study)

Hypothesized model of the origins and life course of brain aging – From Muller M et al. 2014



Certain risk factors may operate at critical periods with varying strength of association observed at different time periods, and that even the direction of association can vary over time,

Trattamento epigenetico delle malattie neuropsichiatriche



Strategy, Management and Health Policy				
Enabling Technology, Genomics, Proteomics	Preclinical Research	Preclinical Development Toxicology, Formulation Drug Delivery, Pharmacokinetics	Clinical Development Phases I-III Regulatory, Quality, Manufacturing	Postmarketing Phase IV

Esempi di malattie psichiatriche regolate e influenzate da meccanismi epigenetici

Schizofrenia

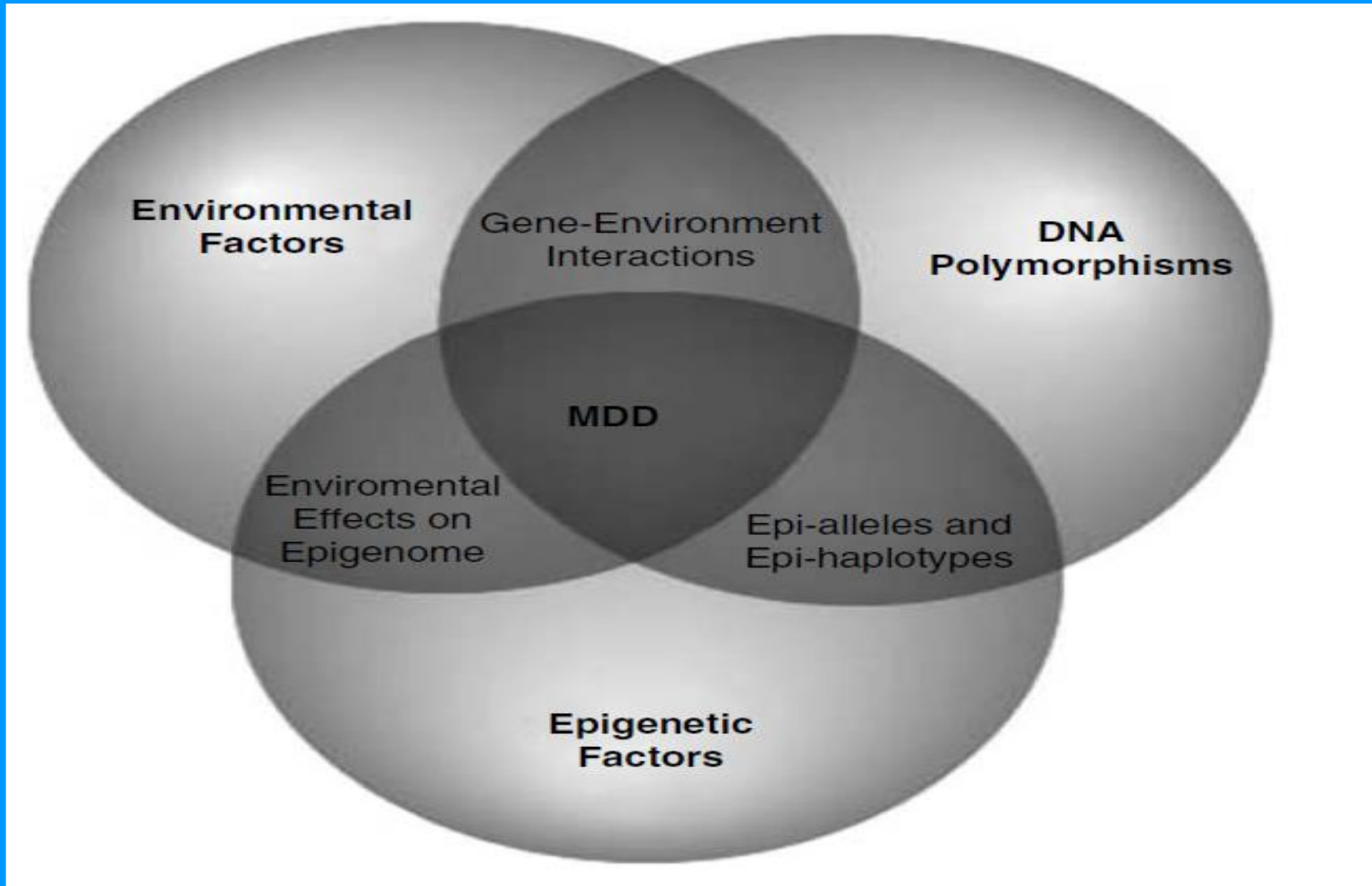
Autismo (DSA)

Disturbo bipolare

Disturbo depressivo maggiore (MDD)

Sindromi da dipendenze

Le modificazioni epigenetiche avvenute durante la vita uterina rimangono stabili per tutta la vita; questi meccanismi sono dinamicamente regolati e che rimodellamenti epigenetici possono avvenire durante la vita adulta sotto l'influenza di fattori ambientali, quali la nutrizione, i farmaci, sostanze chimiche e fisiche, fattori psicosociali e con la psicoterapia. La plasticità dei tratti epigenetici e la loro suscettibilità alle influenze ambientali ne fanno un potenziale target per gli interventi terapeutici, sia psicofarmacologici che psicoterapeutici



Disturbo maggiore depressivo risulta dalla combinazione di fattori interagenti, genetici, ambientali ed epigenetici.

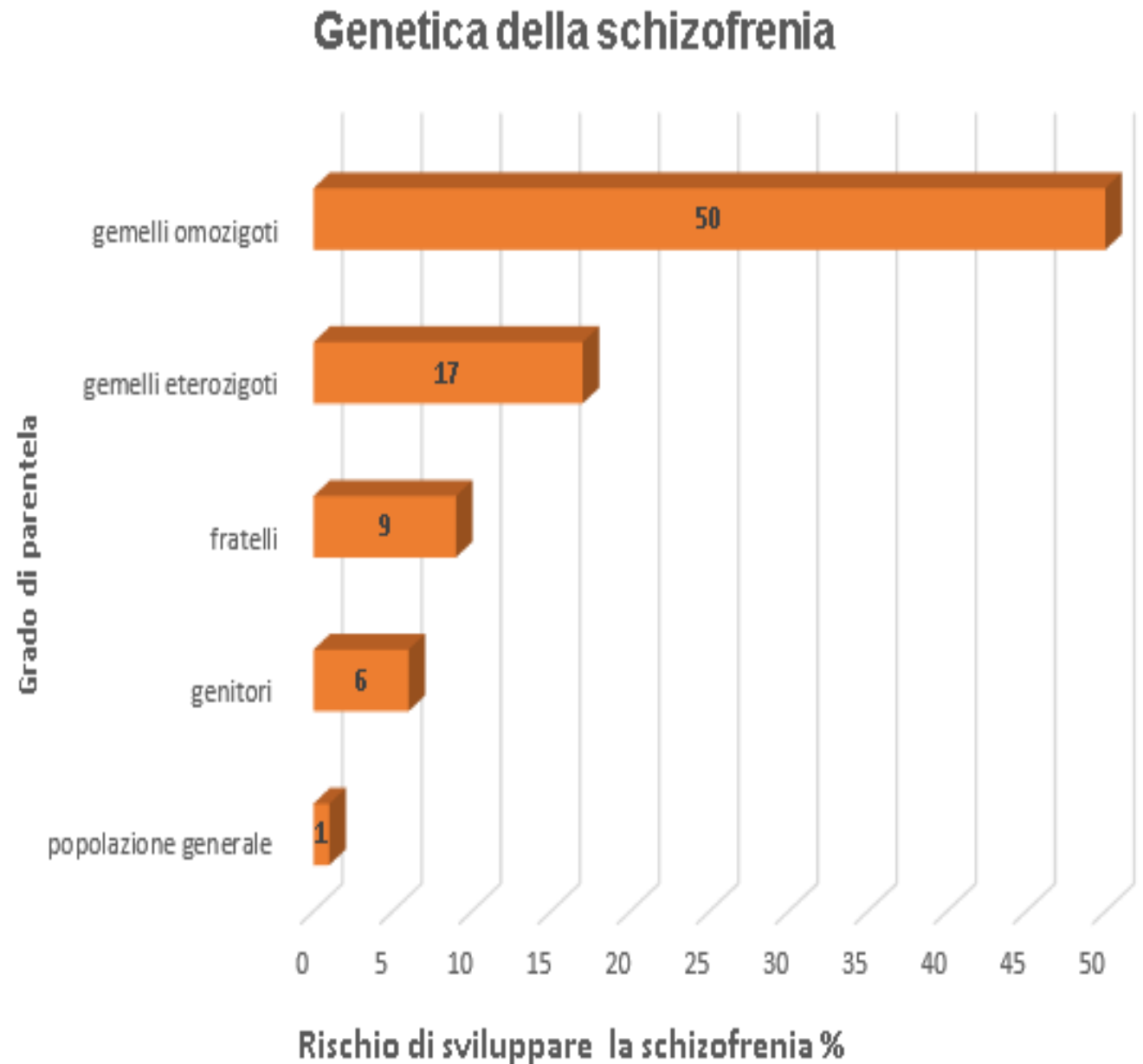
Schizofrenia:

Fattori genetici + Ambiente

- Avere una storia familiare di schizofrenia (fratelli, genitori, zii, nonni, cugini ecc.)

Fattori di rischio ambientali:

- Essere stati esposti a virus, sostanze tossiche o malnutrizione durante lo sviluppo fetale, in particolare nel primo e secondo trimestre di gravidanza
- Presentare un'attivazione significativa e persistente del sistema immunitario, come nel caso di condizioni infiammatorie croniche o di malattie autoimmuni
- Essere nati da un padre anziano al momento del concepimento
- Aver assunto droghe o sostanze eccitanti/psicotrope durante l'adolescenza o nei primi anni della vita adulta



Basi Genetiche della schizofrenia

Malattia dello sviluppo cerebrale (come l'autismo)

Sindrome da delezione 22q11 1/4000 nati, (30% degli adulti hanno disturbo bipolare e d'ansia; rischio di schizofrenia è 20-25 > del rischio nella popolazione generale)

Identificata una famiglia scozzese con alta prevalenza di disturbi mentali; a 34 membri è stata riscontrata traslocazione cromosomica (autosomica) bilanciata, il 14.7% (5 membri) diagnosi di schizofrenia o disturbo schizo-affettivo; al 20.6% (7 membri) diagnosi di depressione. Due geni DISC 1 e 2 danneggiati nella traslocazione

Studi di associazione (caso controllo) (GWAS): oltre 100 varianti geniche legate alla malattia
Studio delle variazioni dei geni comuni e rare (polimorfismi e variazioni di numero di copie (CNV))

Polimorfismo Gene COMT1

DISC1: ruolo nella segnalazione nelle cellule, espressione genica, e di particolare importanza nel cervello in sviluppo (aiuta i neuroni a migrare nella loro posizione corretta nel cervello fetale, a posizionarsi e a formare/differenziarsi in vari tipi di cellule).

Polimorfismi del gene DISC 1 cr. 1q42 associati al rischio di schizofrenia, disturbo bipolare e depressione

DISC2 ruolo nella regolazione di DISC1

C4A variante del MHC classe III, ruolo nella potatura sinaptica; più attivo è il C4A più sinapsi vengono eliminate

Fattori biologici coinvolti nella schizofrenia

Eccessiva potatura delle sinapsi della corteccia prefrontale (disturbi cognitivi e delle funzioni esecutive (capacità di regolare il comportamento) e dell'ippocampo (disturbi della memoria di lavoro)

Assottigliamento della corteccia temporo-parietale e ippocampo, dilatazione dei ventricoli laterali

Azione eccessiva della dopamina (aumento attività recettori D_2 a livello mesolimbico)

Connettoma: la totalità o mappa comprensiva delle connessioni neurali nel cervello, tra i neuroni di un sistema nervoso

doi:10.1093/brain/awz330

BRAIN 2019; 142; 3991–4002 | 3991

BRAIN
A JOURNAL OF NEUROLOGY

Evolutionary modifications in human brain connectivity associated with schizophrenia

Martijn P. van den Heuvel,^{1,2} Lianne H. Scholtens,¹ Siemon C. de Lange,¹
Rory Pijnenburg,¹ Wiepke Cahn,³ Neeltje E.M. van Haren,^{3,4} Iris E. Sommer,^{3,5}
Marco Bozzali,^{6,7} Kathrin Koch,^{8,9} Marco P. Boks,³ Jonathan Repple,¹⁰ Michela Pievani,¹¹
Longchuan Li,¹² Todd M. Preuss^{13,14,15} and James K. Rilling^{14,15,16,17,18}



Reduced interhemispheric connectivity in schizophrenia-tractography based segmentation of the corpus callosum

M. Kubicki^{a,b,*}, M. Styner^c, S. Bouix^a, G. Gerig^d, D. Markant^a, K. Smith^a, R. Kikinis^e,
R.W. McCarley^b, M.E. Shenton^{a,b,e}

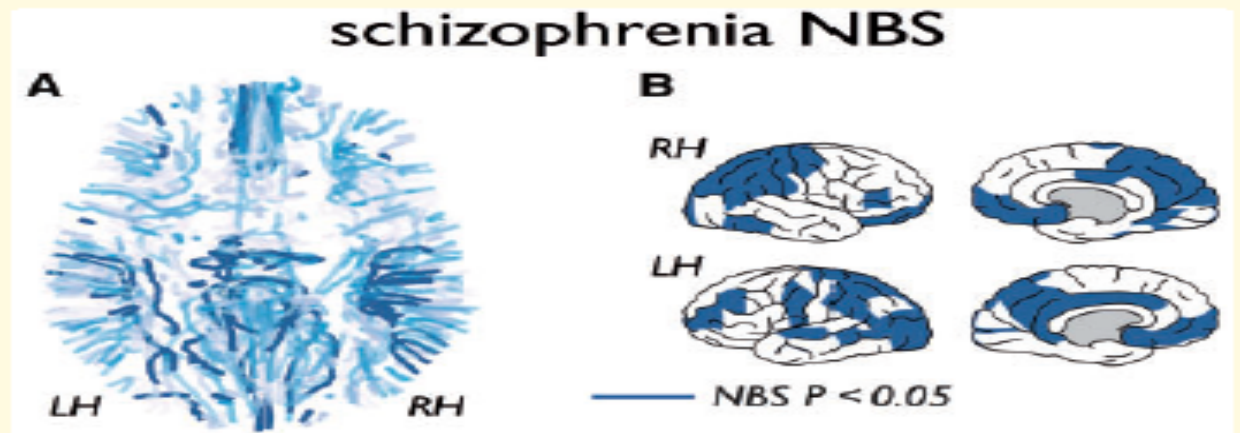
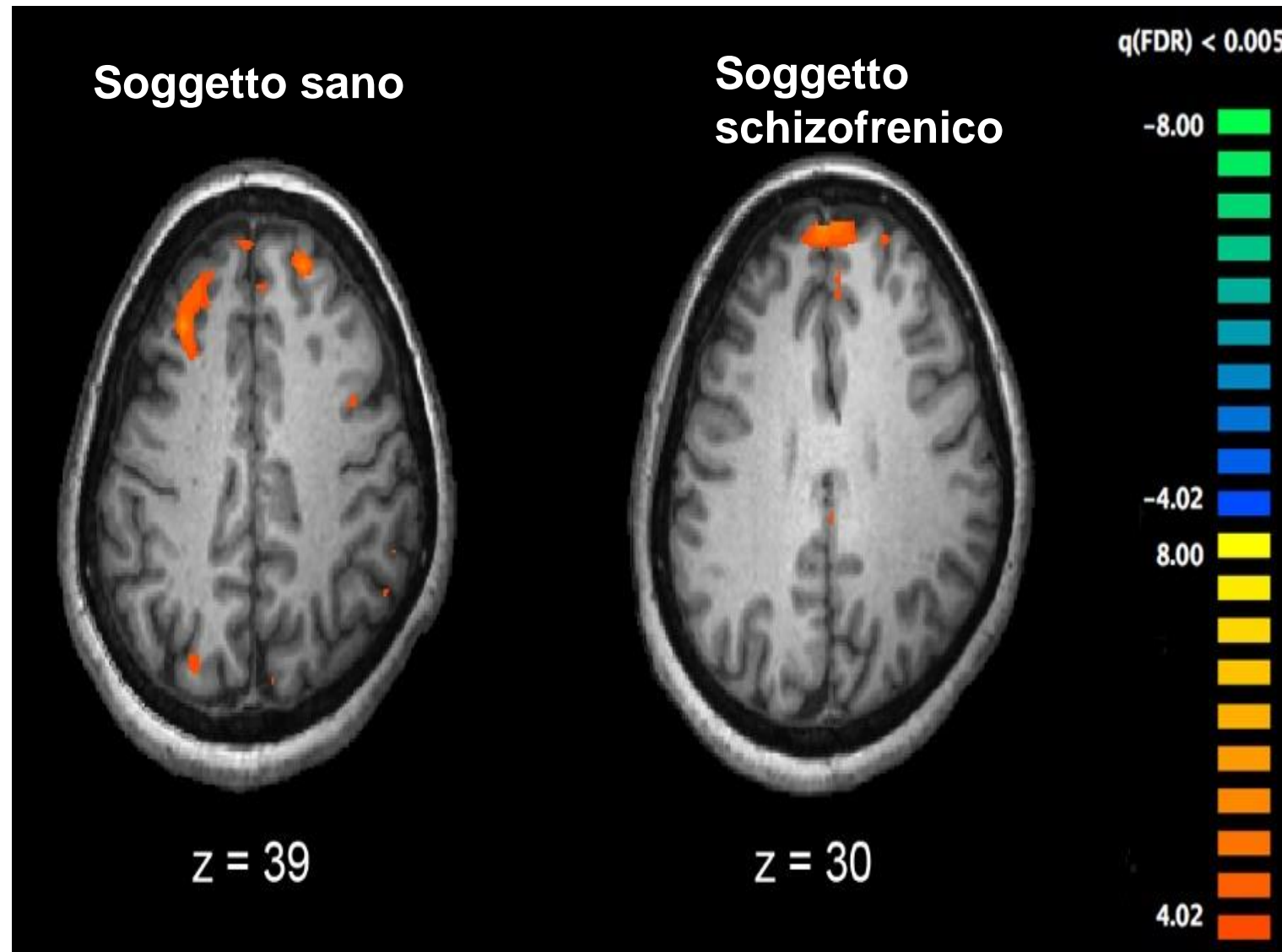


Figure 1 Schizophrenia dysconnectivity. (A) The cortico-cortical fibre connections of the group average human connectome (group threshold 60%) with level of dysconnectivity (fractional anisotropy weighted) as measured between $n = 48$ schizophrenia patients and $n = 43$ matched healthy control subjects. Dysconnectivity levels are indicated from light blue (no patient-control difference) to dark blue (patients showing significantly lower fractional anisotropy than controls) NBS, $P = 0.024$. (B) Cortical regions involved in the NBS subnetwork showing significantly reduced white matter connectivity in patients.



La risonanza magnetica funzionale (fMRI) e altre tecnologie di imaging del cervello permettono lo studio delle differenze di attività cerebrale nelle persone con una diagnosi di schizofrenia. L'immagine mostra due cervelli a confronto, con aree che erano più attive, (in arancione), nei soggetti sani rispetto ai pazienti schizofrenici, durante uno studio fMRI sulla memoria

Messaggio da portare a casa

Gli avanzamenti della genetica, del brain imaging e lo sviluppo dei modelli animali hanno fornito la base per la comprensione profonda e delle cause delle malattie neuropsichiatriche che sono malattie complesse, polifattoriali in cui accanto ai meccanismi genetici hanno un ruolo i fattori ambientali ed epigenetici in grado interagire in maniera eterogenea e complessa con i geni e di modificarne l'espressione e l'attività.

Non si comprenderà il silenzio degli stranieri fino a quando non avremo imparato le loro lingue

Grazie per la vostra attenzione