

# ASPETTI BIOLOGICI GENETICI ED EPIGENETICI DELLE MALATTIE NEUROPSICHiatriche

Roberto Dominici MD

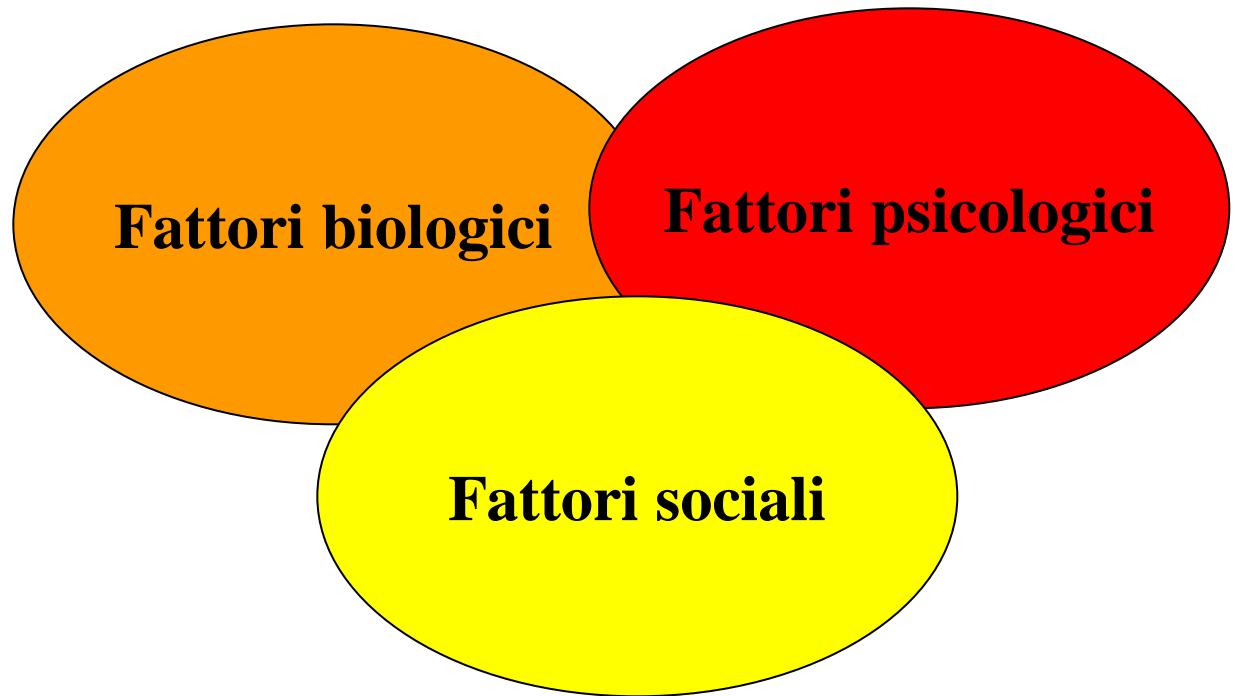
Laboratorio Biochimica Clinica ASST Ovest milanese  
Ospedale di Magenta

Presidente Fondazione RSA Agostoni Lissone



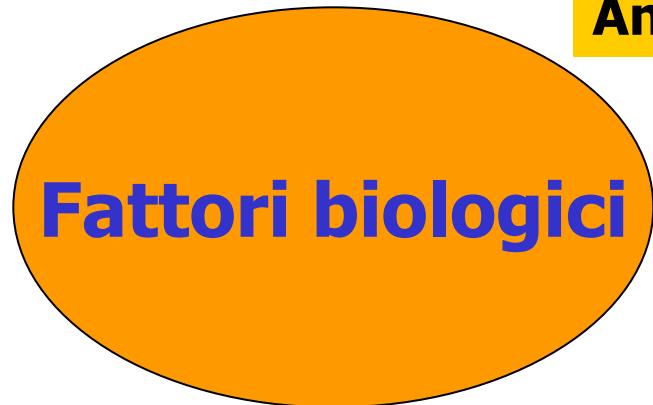


# Eziopatogenesi dei disturbi mentali (1)





# Eziopatogenesi dei disturbi mentali (2)



## Alterazioni strutturali SNC

Macroscopiche

Microscopiche

## Alterazioni funzionali SNC

Anomalie dei neurotrasmettitori

## Fattori genetici

Invecchiamento

Genere

Noxae infettive (precoci 2° trim gravidanza)

Fattori perinatali (traumi)

Endocrinopatie

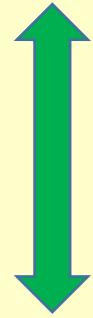
Periodo post partum

Abuso di sostanze

Dal genoma ...

20.000-25.000 geni

$3.2 \times 10^9$  coppie di basi

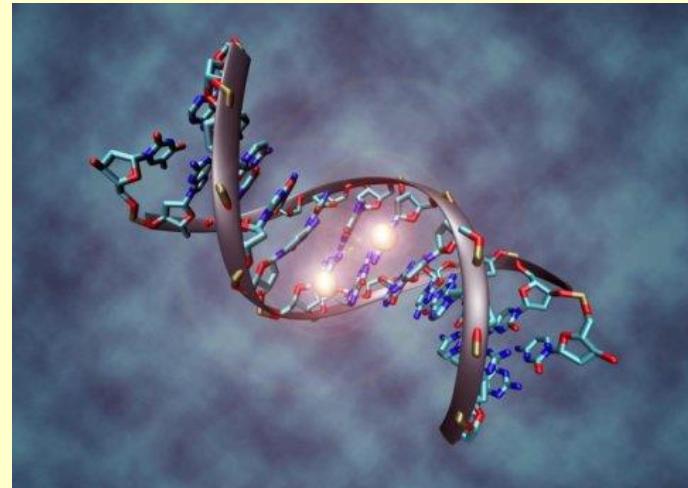
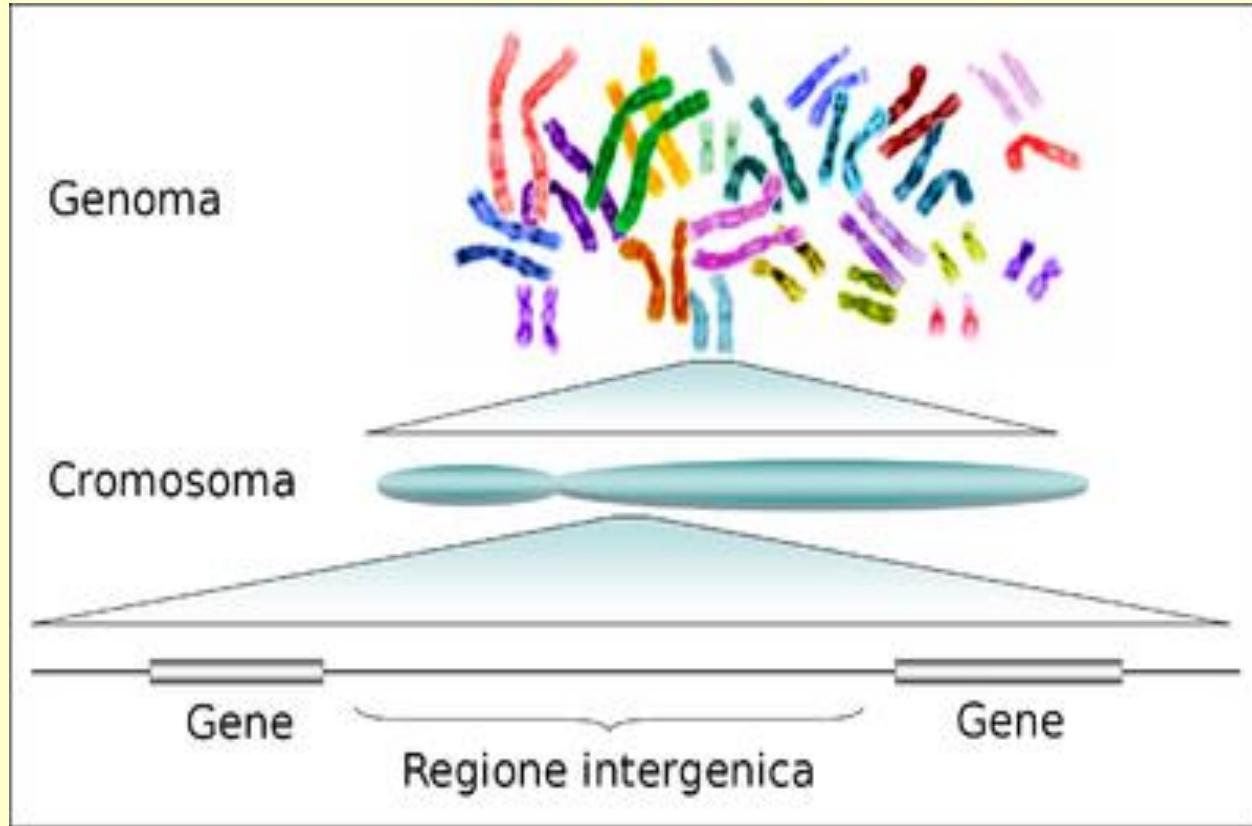


All'Epigenoma:

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 ( $3 \times 10^6$  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 ...**

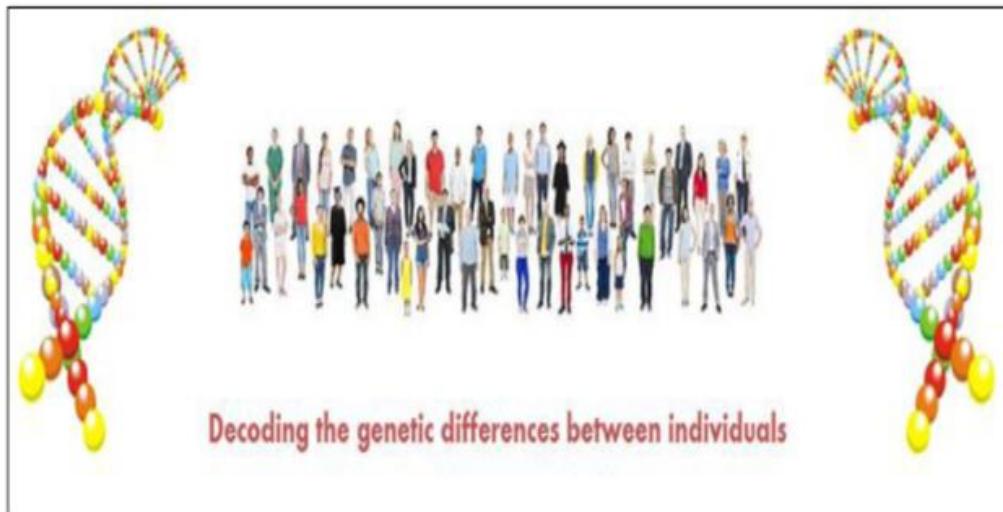
## Predire il rischio di malattia (medicina predittiva)

Medicina tradizionale



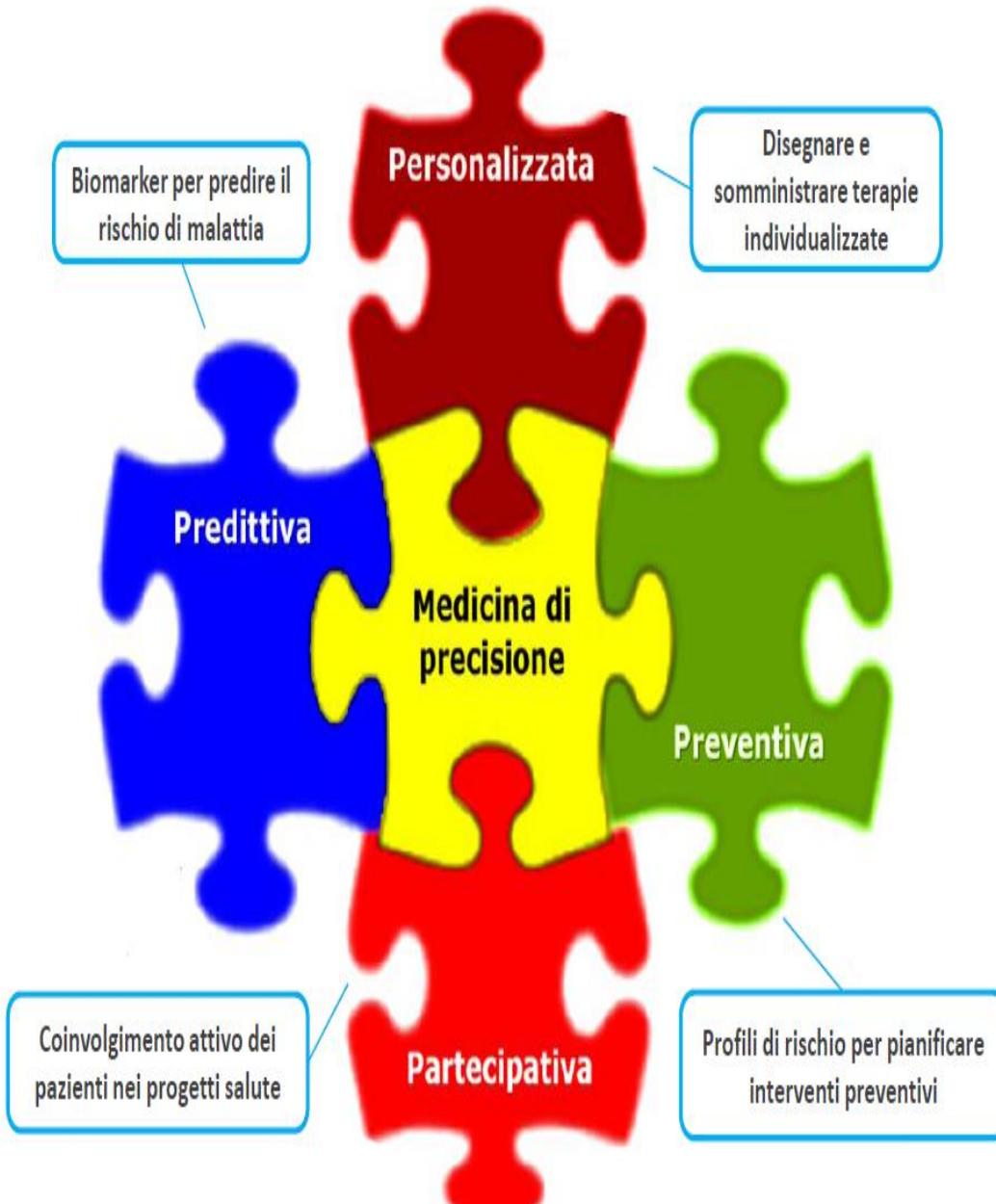
Medicina genomica





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

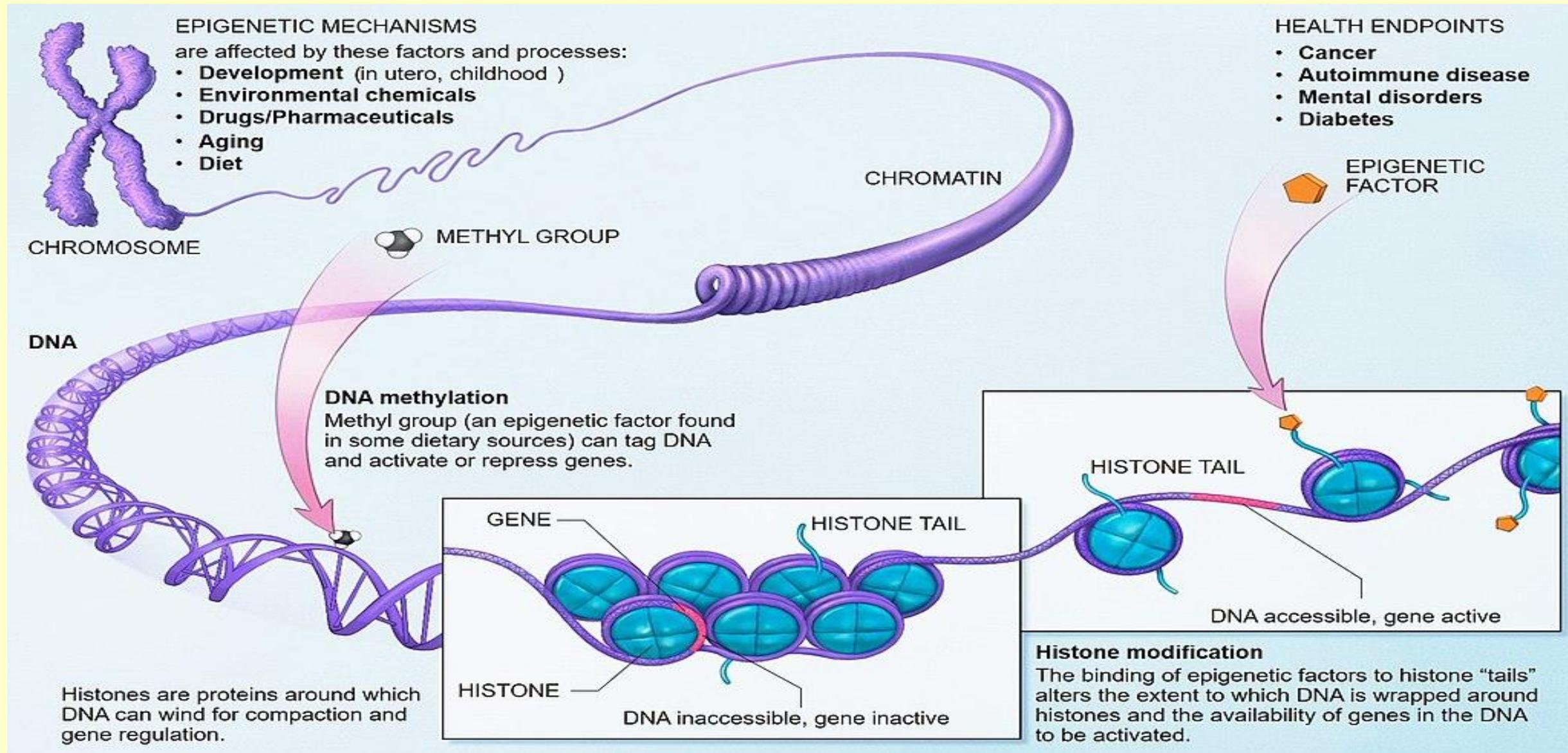
- ▶ Le persone differiscono tra loro per circa **3,7 milioni di basi**
- ▶ **Una base ogni 200** è diversa
- ▶ >2000 differenze hanno dimensioni superiori alle 2,5 kb (varianti strutturali)
- ▶ Ogni persona possiede **>1500 differenze** rispetto alla mappa umana di riferimento



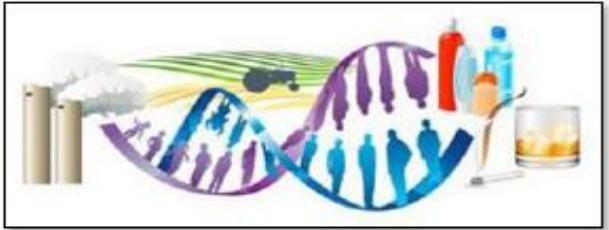
## EPIGENETICA

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**.

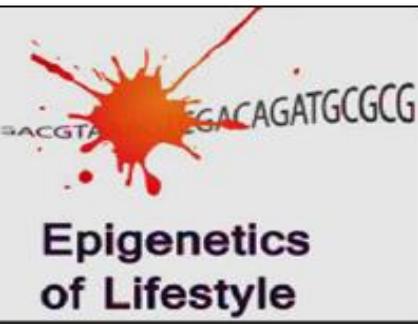
# EPIGENETICA È LO STUDIO DEI FATTORI CHE DETERMINANO CAMBIAMENTI STABILI ED EREDITABILI, MA REVERSIBILI, NELL'ESPRESSIONE DEI GENI SENZA CAMBIAMENTI NELLA SEQUENZA ORIGINALE DEL DNA



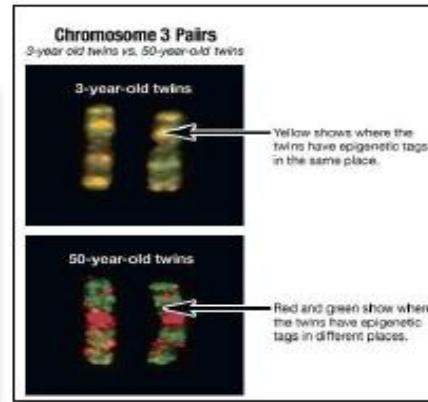
# 1c. Ambiente



Interazione G-A  
(genoma + esposoma)

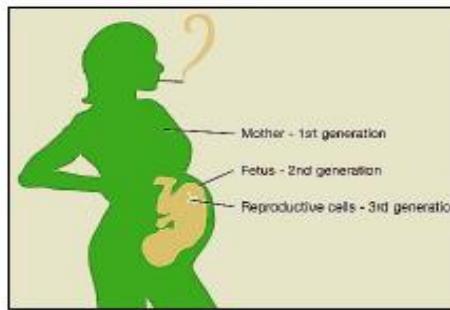


Epigenetica



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



Epigenetica transgenerazionale

# Principali componenti della salute e delle malattie



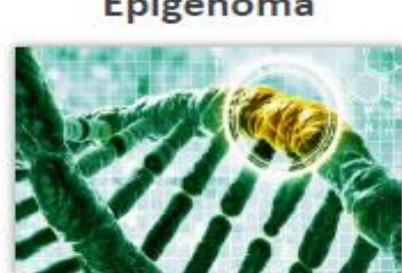
Alimentazione



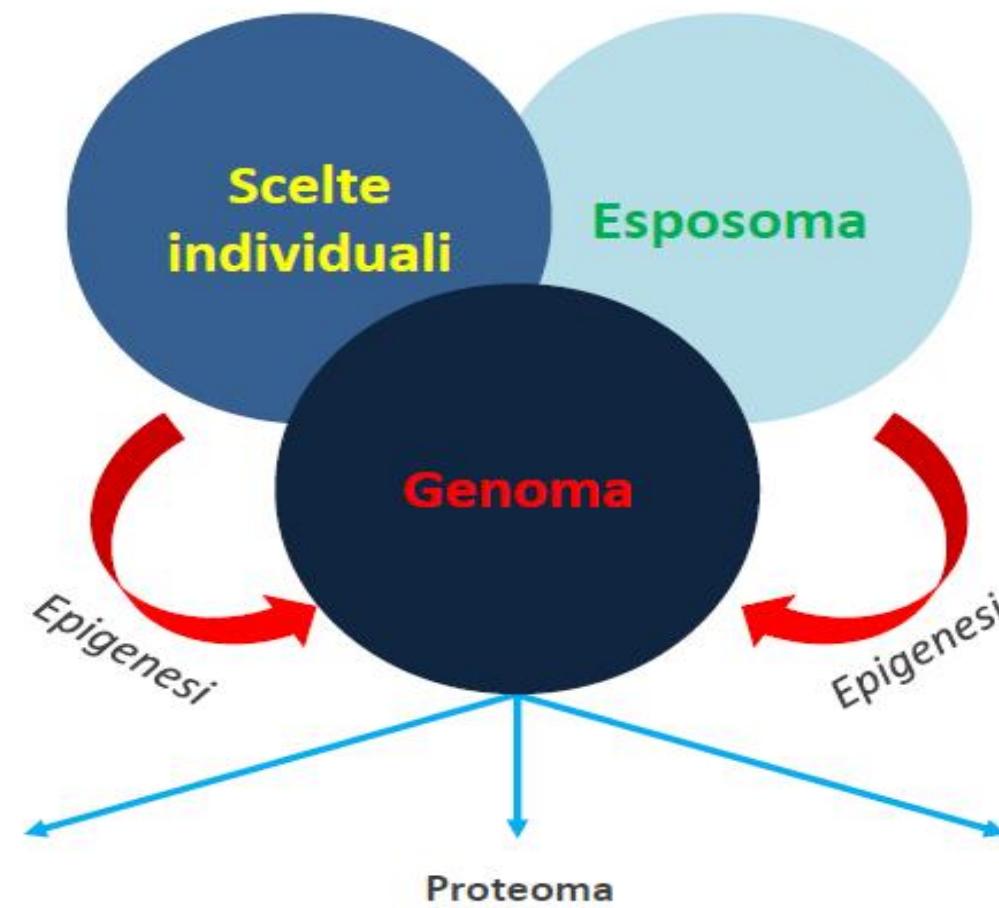
Attività fisica



Farmaci



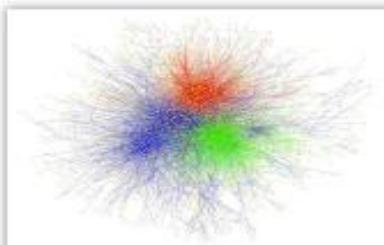
Epigenoma



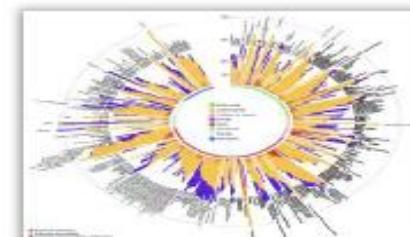
Inquinamento ambientale



Microbioma



Proteoma



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

# MALATTIE COMPLESSE

### 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

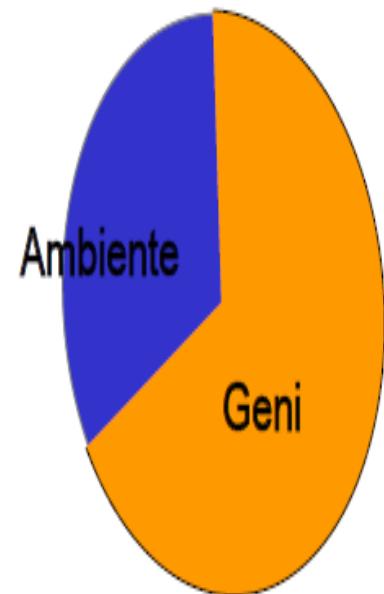
Obesità

Psicosi maniaco-depressiva

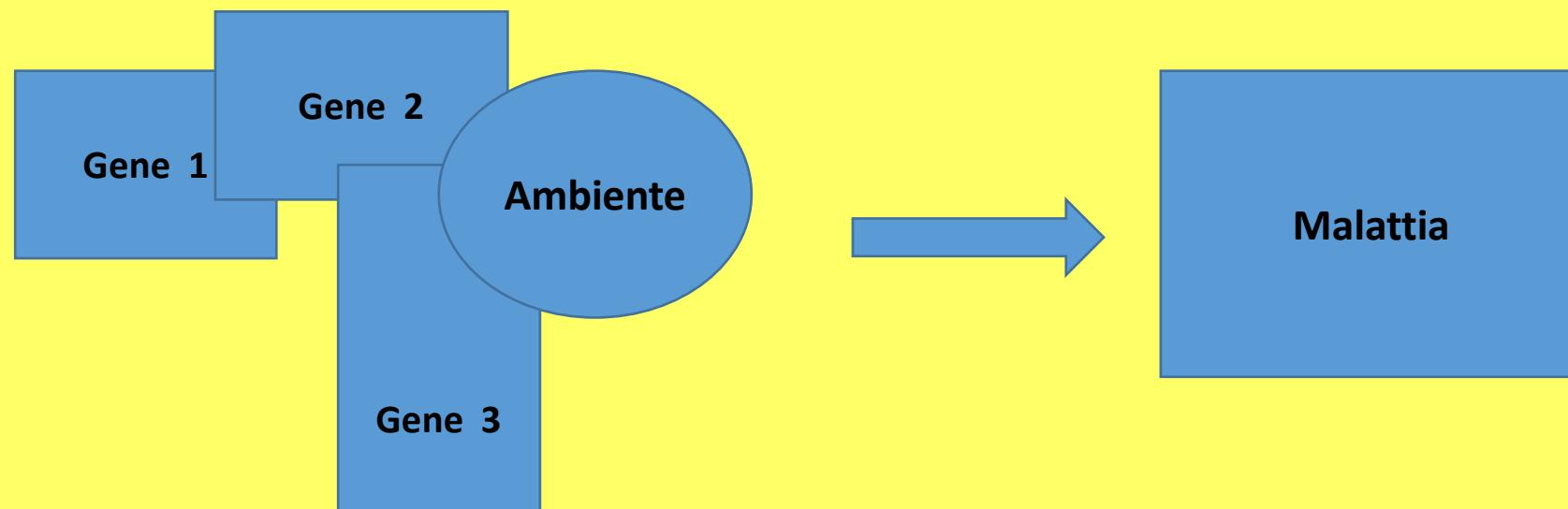
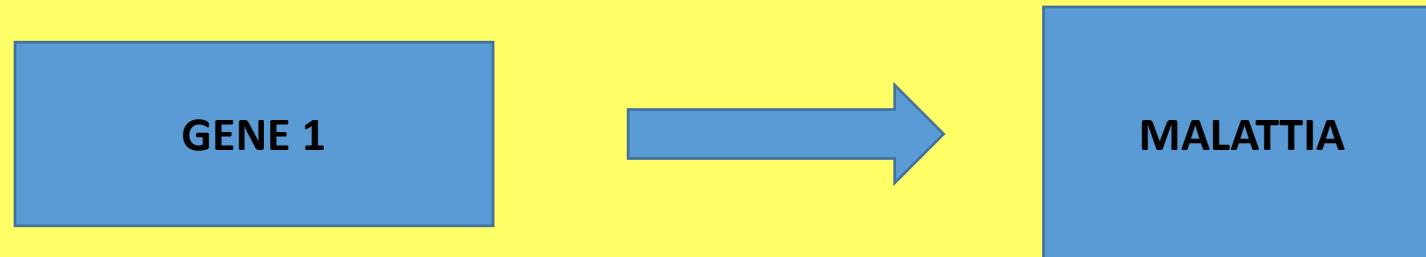
Schizofrenia

Tumori.....

- malattie comuni, che colpiscono milioni di persone
- sono causate dall'interazione di piu' 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)

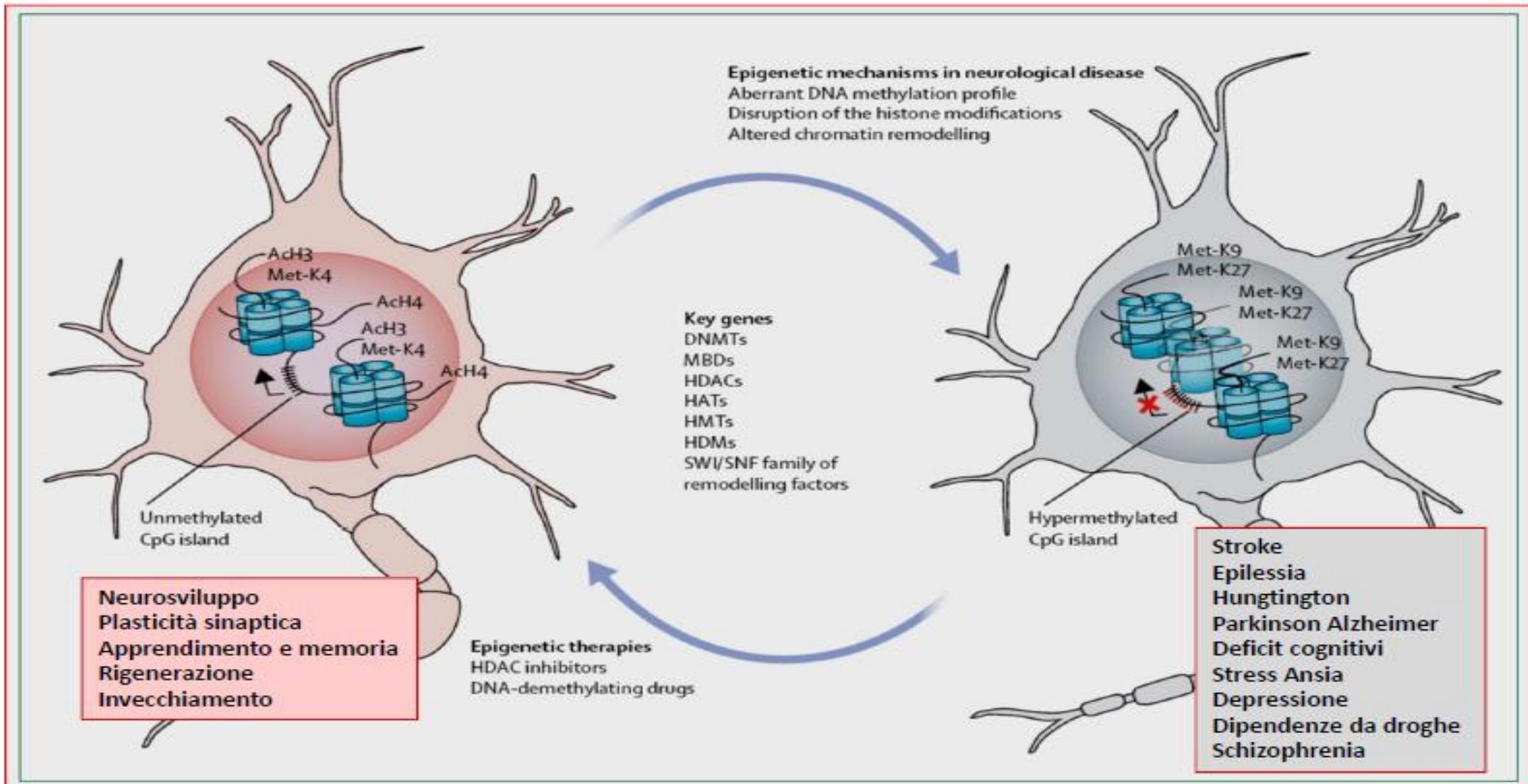
Dai geni si potrà risalire alle vie e circuiti neuronali che danno origine al cervello sociale, i geni che ci rendono gli esseri sociali che siamo;

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



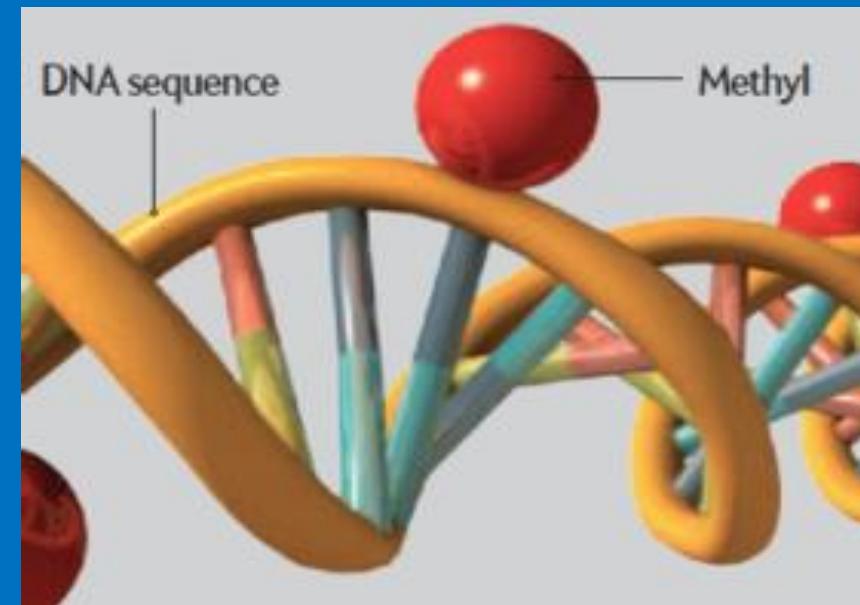
## EPIGENETICA E CERVELLO

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 accidenti), trasmissibili per diverse generazioni.

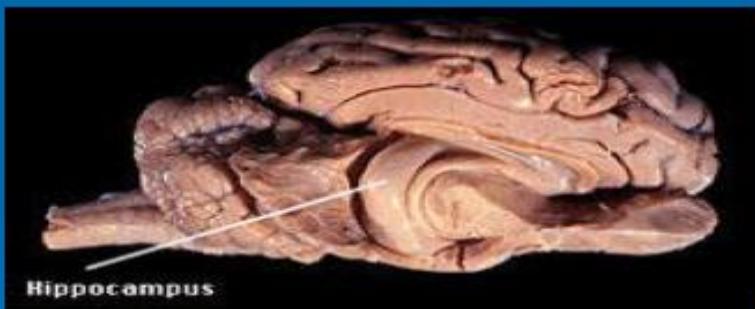
**Nell’uomo** sono stati studiati i **cervelli** di oltre 3000 persone **morte per suicidio** e si è rilevato che, nel caso di maltrattamenti infantili, nell’ippocampo è riscontrabile un incremento della metilazione dell’esone che è cruciale per la codifica del recettore per il **cortisolo** (Zhang,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



# 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.

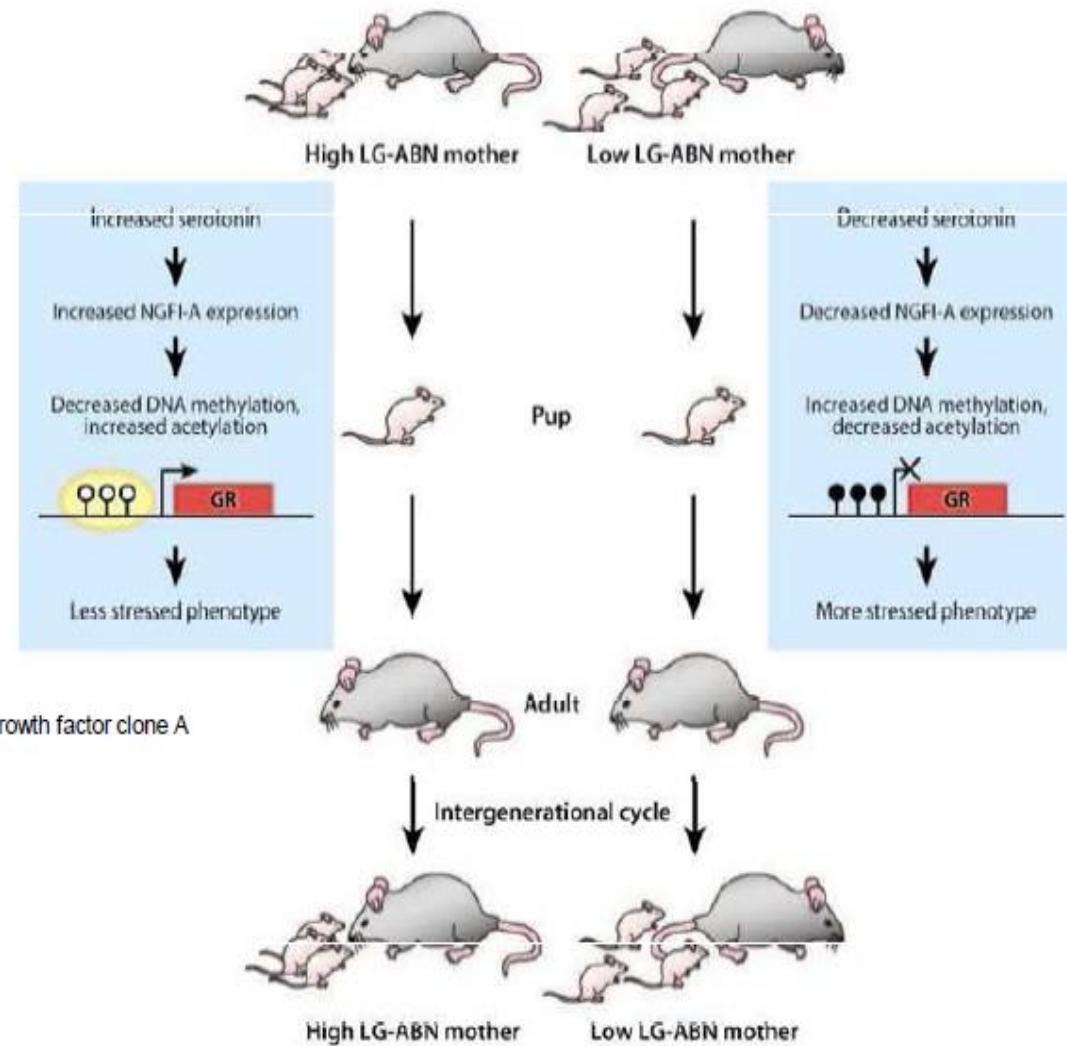
Cuccioli allevati da madri poco premurose rispetto ad altri allevati da madri premurose, presentavano un'ipermetilazione a livello della citosina e degli istoni del promotore del gene del recettore per i glucocorticoidi (GR) dell'ippocampo.



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.*

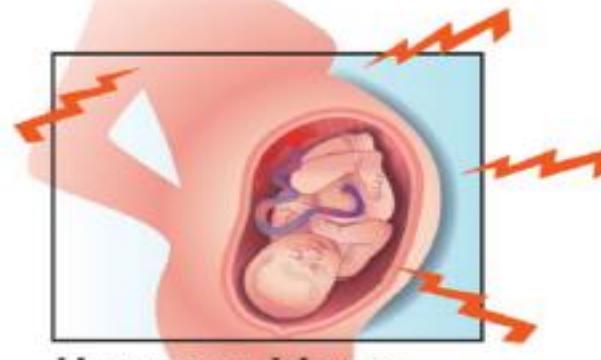


■ Youneson NA, Whitelaw E. 2008

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

## Prenatal Stress

Traumatic war experiences,  
natural disasters, death of husband



**Human evidence**

Elevated  
risk of  
schizophrenia  
in children

Repeated experimental  
stressors



**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)**

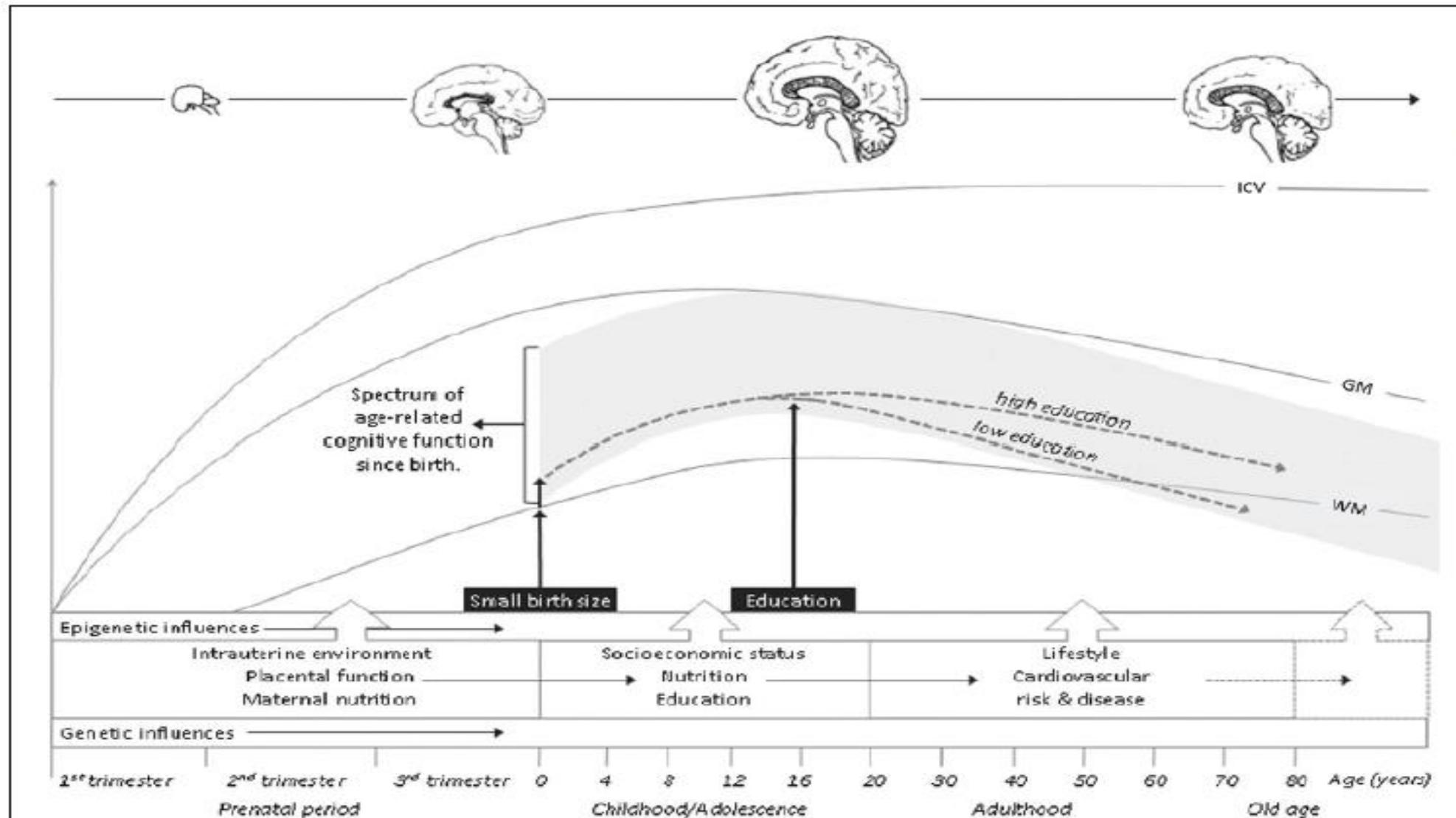
# Life course approach

*Birth Size and Brain Function 75 Years Later*

Figure 1.1

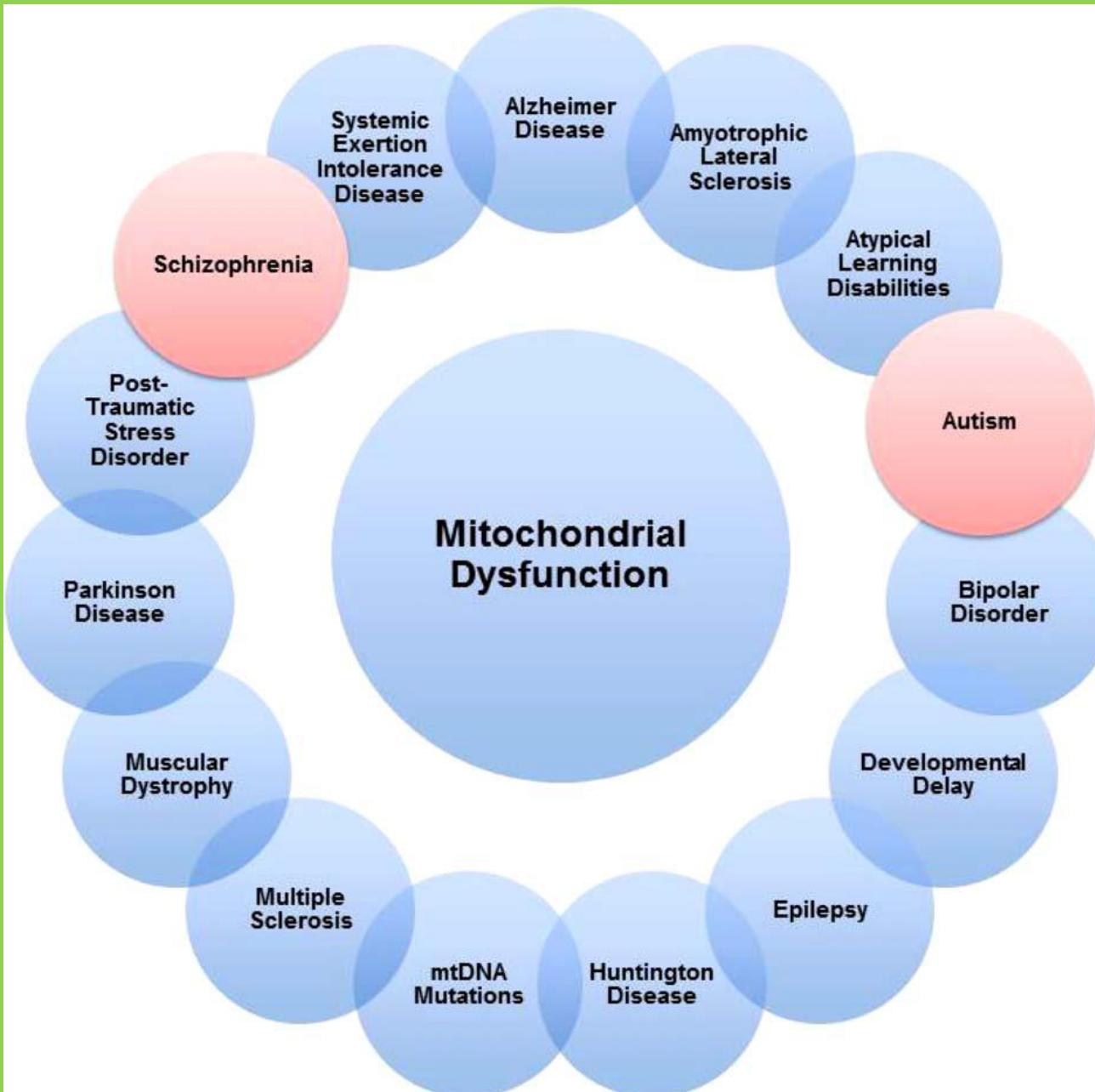
(Pediatrics Vol. 134, 2014, AGES-Reykjavik Study)

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**

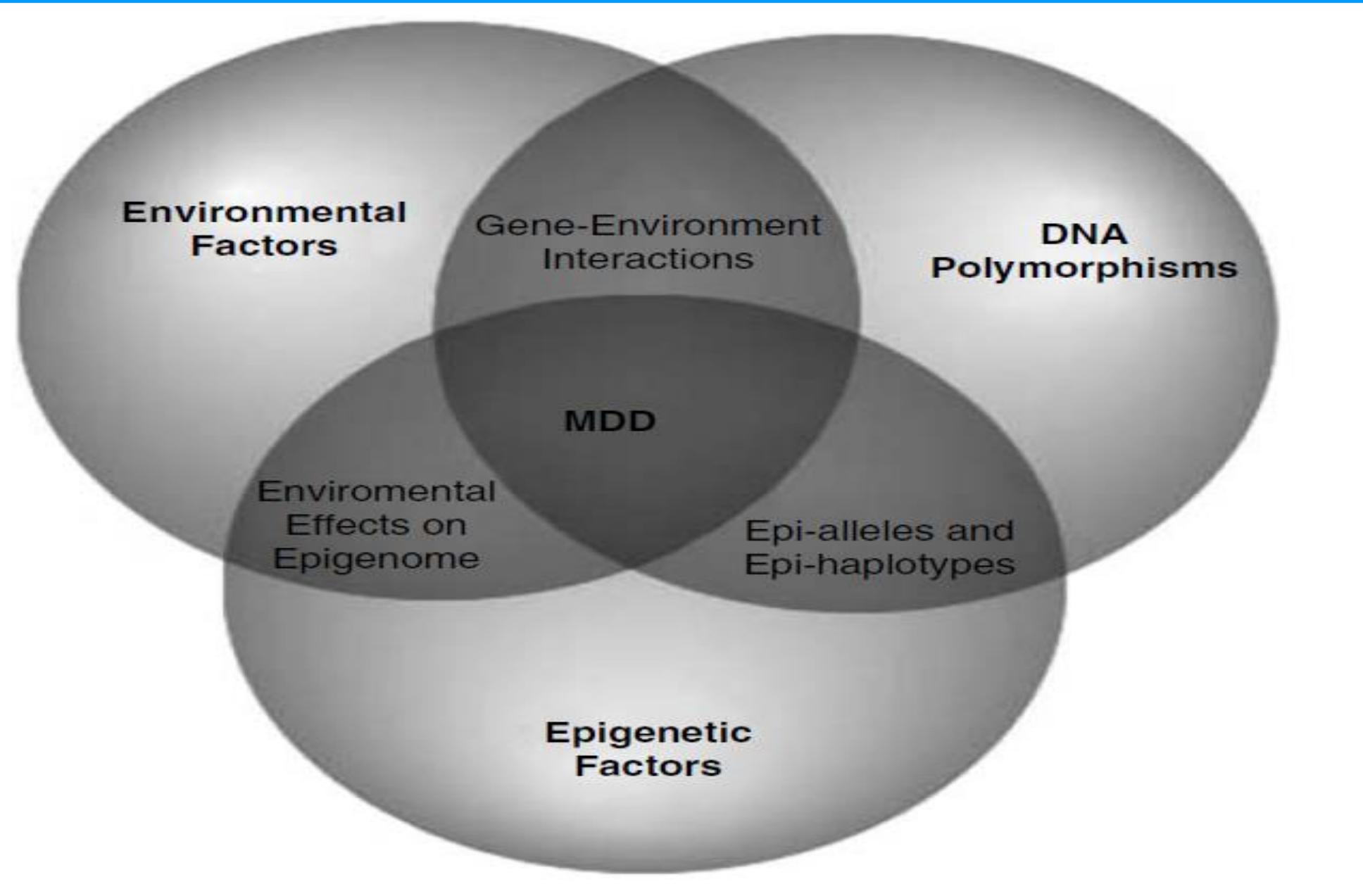
**Autismo (DSA)**

**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:

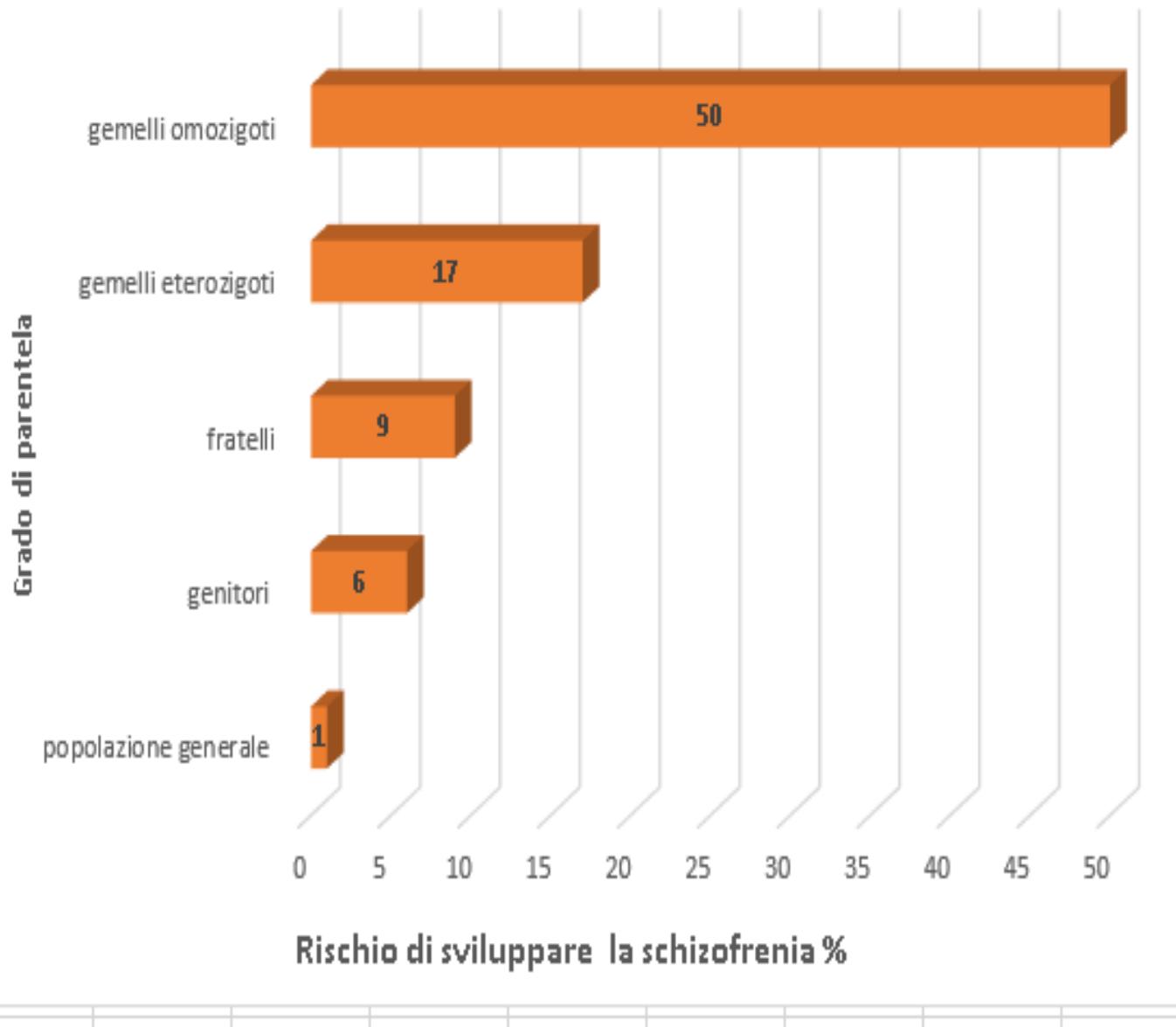
### Fattori genetici + Ambiente

- **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**

## Genetica della schizofrenia



## 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

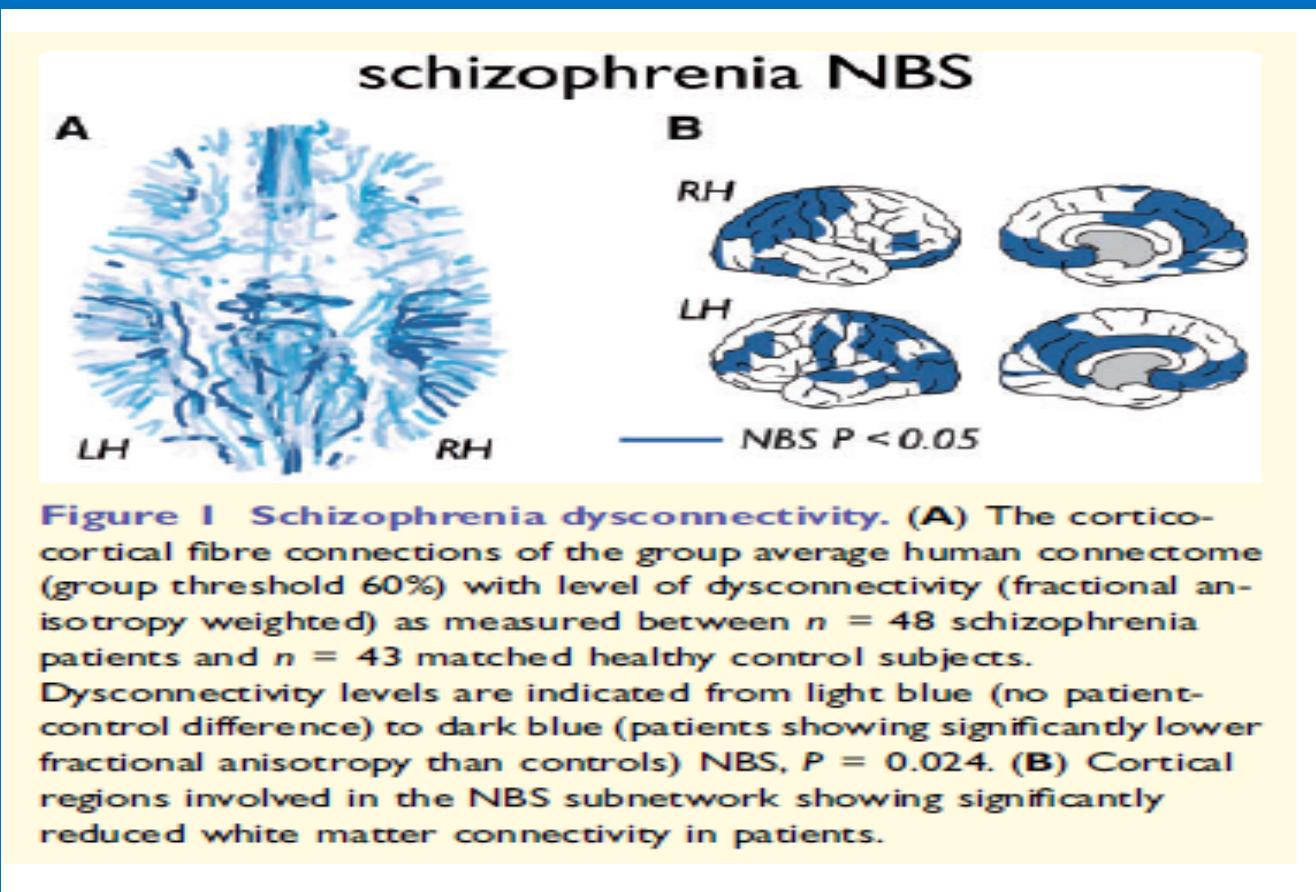
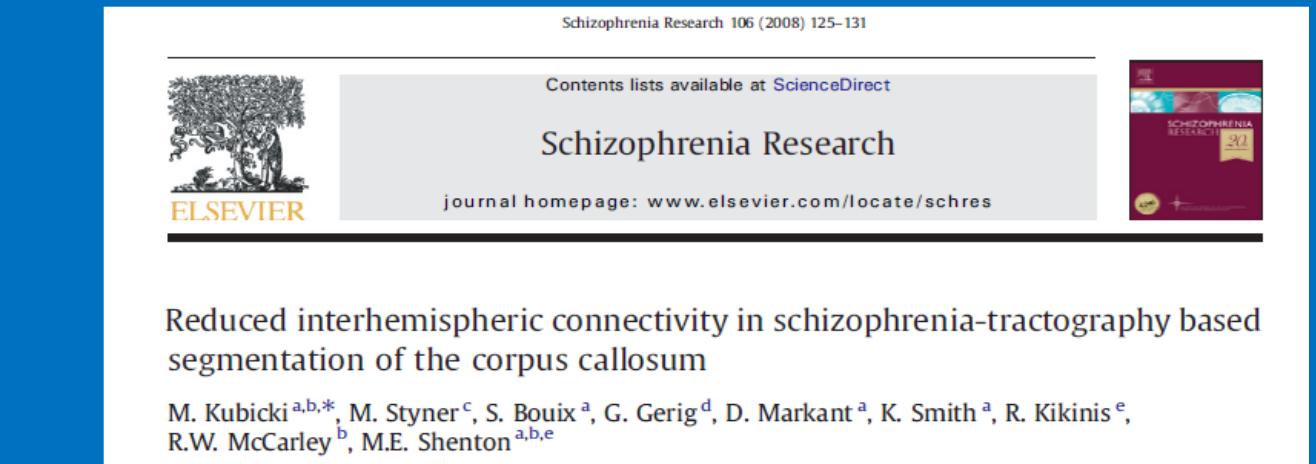
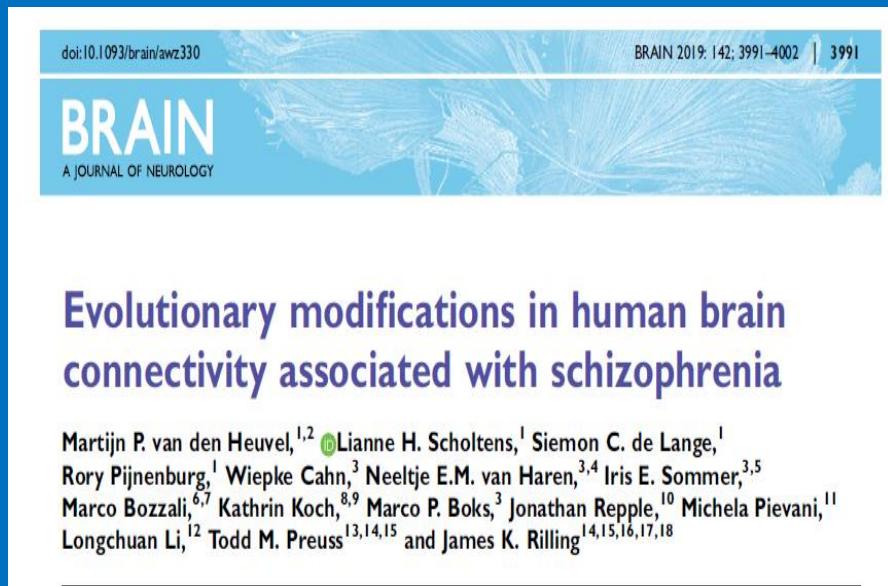
## **Fattori biologici coinvolti nella schizofrenia**

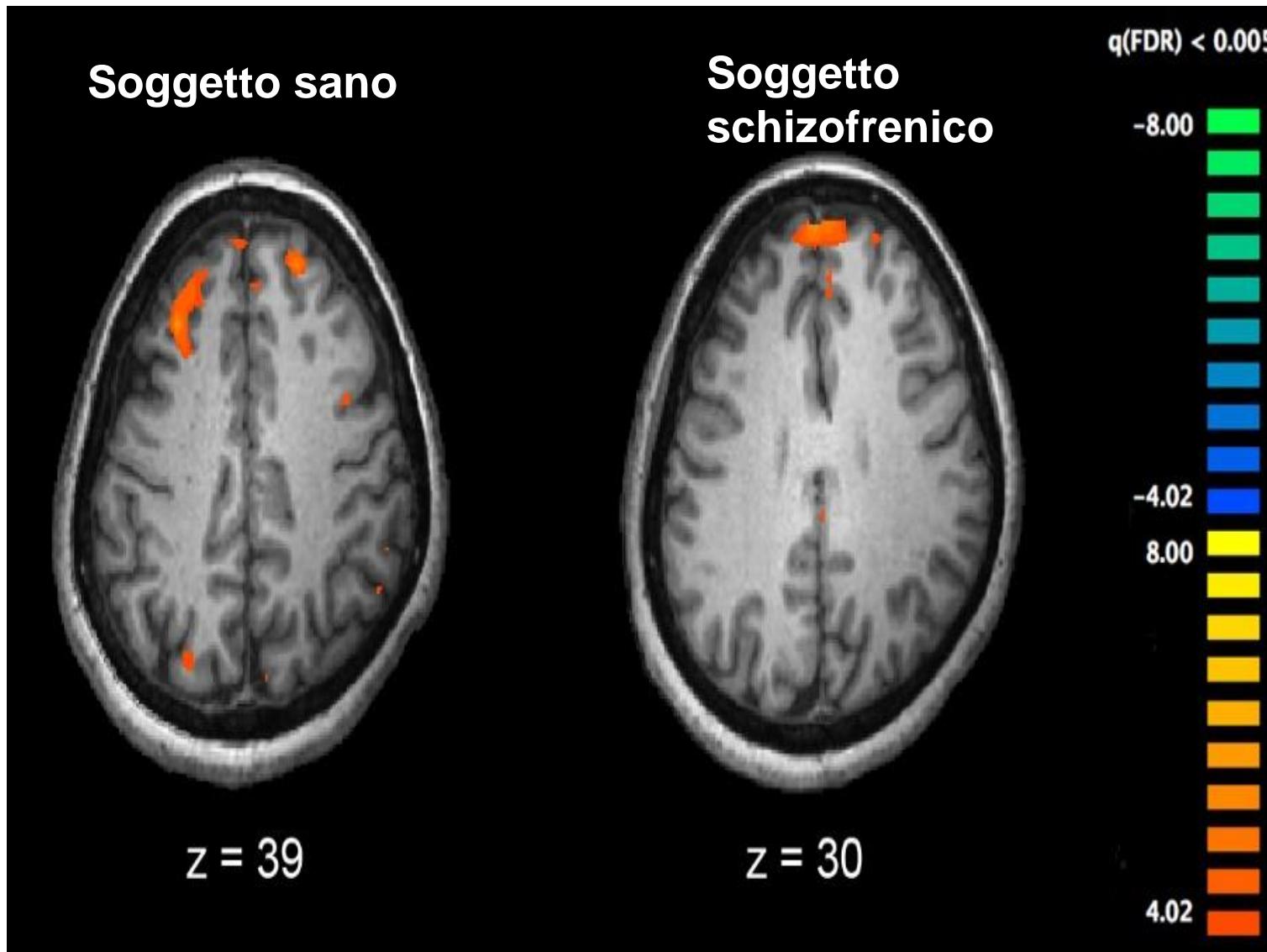
**Eccessiva potatura delle sinapsi della corteccia prefrontale (disturbi cognitivi e delle funzioni esecutive (capacità di regolare il comportamento) e dell'ippocampo (disturbi della memoria di lavoro)**

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

**Azione eccessiva della dopamina (aumento attività recettori D<sub>2</sub> a livello mesolimbico)**

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





**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**