

Biotecnologia del DNA nell'invecchiamento

Bruno Mandalari¹
Nicola Sorrentino²
Mariuccia Bucci³

SUMMARY

Applications of DNA biotechnology in aging

Aging is the most complex phenotype currently known, impacts functions at all levels and increase susceptibility to all major chronic diseases. It is a result of a number of pathological changes, environmental factors and lifestyle. Our DNA contains approximately 30.000 genes. If we compare the DNA of two individuals, they will appear to be over 99.9% identical. However the 0.1% makes us genetically unique. A single-nucleotide polymorphism (SNP) is a DNA sequence variation occurring when a single nucleotide – A, T, C, or G – in the genome differs between members of a species (or between paired chromosomes in an individual). SNPs do not cause disease but they could be useful to understand the likelihood to develop a particular disease or respond in a particular way to a drug, nutrient, or environmental factors.

KEY WORDS: SNPs, Aging, Supplements, Disease susceptibility, Lifestyle

Journal of Plastic Dermatology 2010; 6, 1, p. 65.

Bruno Mandalari



La tendenza attuale nello studio dell'invecchiamento è quella di produrre una conoscenza integrata tra geni e ambiente, ereditarietà genetica e malattie. Il nostro fine era quello di individuare elementi genetici che consentissero di prevedere alcune caratteristiche mediche e fisiche riscontrabili nell'invecchiamento (Figura 1). Tutto ciò che conosciamo dell'ereditarietà si basa su fini e complessi meccanismi molecolari quali la trasmissione genica, la dominanza e la recessività, la variabilità e l'espressività ma ad oggi abbiamo scarse risorse per valutare l'invecchiamento anche rispetto a patologie specifiche. Il sequenziamento del genoma ha reso disponibile l'identificazione dei geni e delle loro proprietà, rivelando che ogni individuo mostra il 99.9% di identità genetica rispetto ad un altro. A renderci unici è il nostro DNA che presenta alcune variazioni, *single nucleotide polymorphism* (SNPs) o polimorfismi, ovvero sostituzioni di una singola base del DNA. Si calcola che nel nostro genoma sia presente uno SNP ogni 1000 paia di basi del DNA, quindi un fenomeno del tutto naturale. Infatti la grande maggioranza di essi si trova in regioni non codificanti del nostro genoma, e probabilmente non produce nessuno effetto visibile. Gli SNPs invece che suscitano interesse nel campo biomedico sono quelli presenti in regioni codificanti, e che possono essere messi in relazione a

patologie che non presentano una trasmissione genetica semplice.

Abbiamo avviato in Italia agli inizi del 2007 l'analisi del DNA, quale utile strumento d'indagine in questo campo. I test hanno coinvolto circa 400 persone di entrambi i sessi, di età diverse e della stessa etnia, residenti in Milano.

Sono stati scelti e valutati 8 importanti metabolismi, le cui funzioni e variazioni fossero fortemente coinvolte nei processi d'invecchiamento: metabolismo lipoproteico, attività antiossidante, detossificazione, metabolismo dei glucidi, metabolismo dell'omocisteina, ipertensione, riparazione del Dna, attività delle interleuchine (Figura 2). In seguito a ciò abbiamo selezionato più famiglie di SNPs, di cui ne abbiamo scelti 50, ritenuti i più importanti e rappresentativi per questi metabolismi, a causa della loro posizione su 38 specifici geni presenti su 13 cromosomi. Nello specifico i cromosomi: 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 12, 16, 17, 19, 22.

In questo gruppo di SNPs abbiamo riscontrato che alcuni sono favorevoli alla salute, altri no. Questo ci ha permesso di progettare un nuovo test che interpreti entrambe le funzioni. Il nostro fine era quello di indagare i processi di invecchiamento, attraverso l'uso della biotecnologia del DNA, per comprenderne le varie fasi in modo più approfondito.

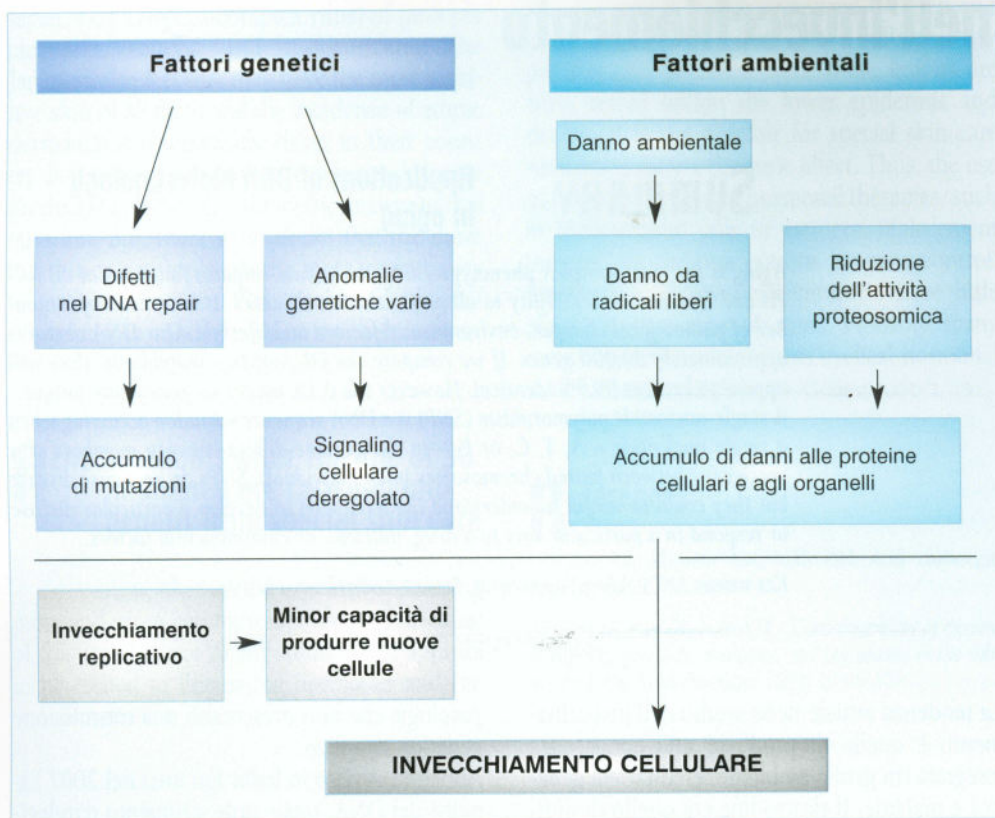
È bene sapere che gli SNPs sfavorevoli non indi-

¹ Nutrigenomica ISPLAD

² Scienza dell'Alimentazione Università di Pavia

³ Responsabile Dipartimento NutriDermatologia ISPLAD

Figure 1.
Interazione gene-ambiente nell'invecchiamento.



cano uno stato patologico, ma predicono un rischio. Ovvero tutti i geni associati a una malattia fanno leggermente aumentare o diminuire il rischio di svilupparla, di conseguenza si consiglia alle persone in cui risultano presenti di sottoporsi a analisi più frequenti e complete possibili, di fare terapie preventive mirate alla riduzione di simili eventi. È dimostrato che molecole che introduciamo con la dieta possono modulare aspetti specifici della fisiologia cellulare, andando a legarsi a specifici recettori presenti sui geni, alterando le concentrazioni di substrati e metaboliti e, tramite interazioni a livello degli acidi nucleici, influenzando specifiche vie di trasduzione del segnale genico.

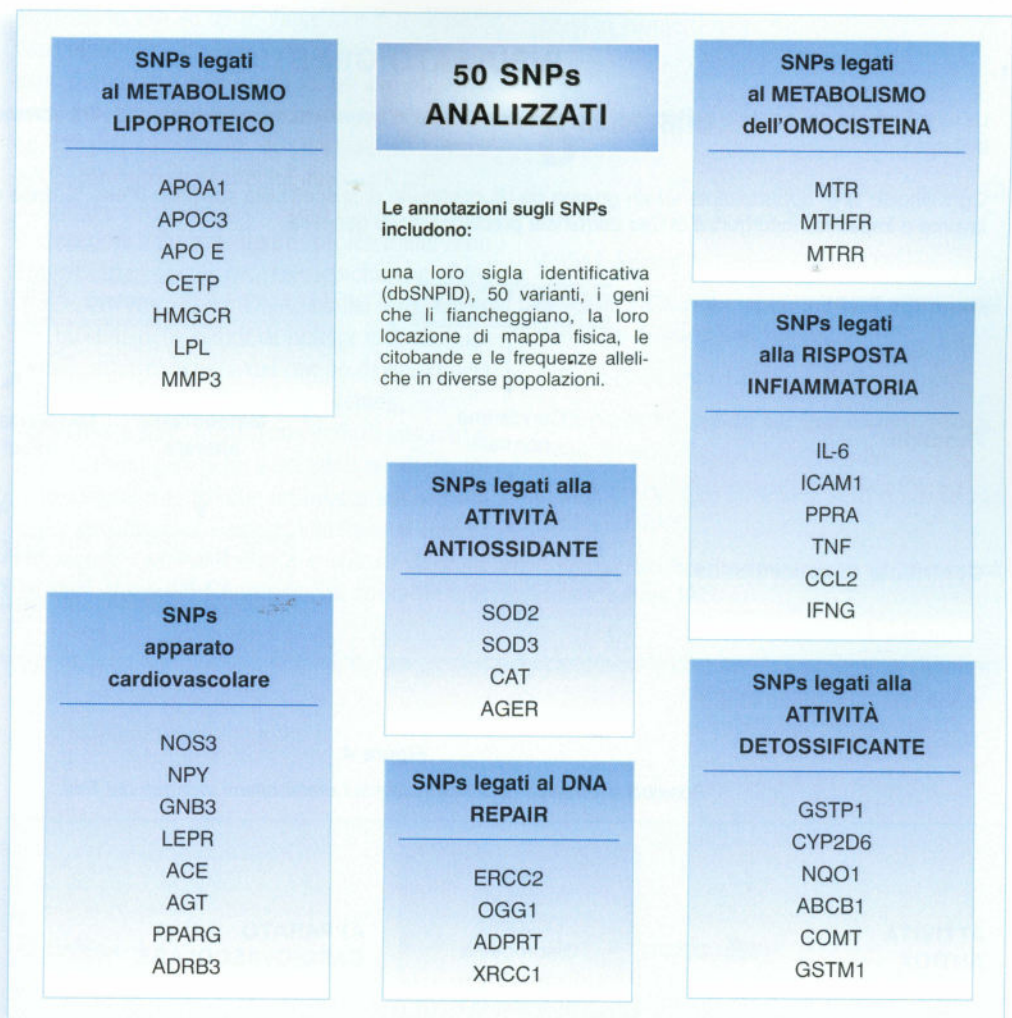
Si riconosce certamente al genoma una certa resistenza alle modificazioni, del resto non tutte le mutazioni sono dannose in qualsiasi situazione e, anzi, costituiscono il motore dell'evoluzione. Risulta però palese che esistono cause ambientali in grado di aumentare la probabilità che si verifichino variazioni al DNA ed è ormai stabilito che gruppi di queste piccole mutazioni sommandosi causano la suscettibilità o la resistenza a molte delle malattie umane più comuni (ad es. diabete,

arteriosclerosi, Alzheimer). Per facilitare l'identificazione dei fattori genetici coinvolti in queste patologie si valutano i dati derivanti da estesi studi a livello della popolazione per individuare le variazioni genetiche associate a un aumento del rischio di malattia. Ognuno di noi, geneticamente, è più o meno di altri, suscettibile a sviluppare alcune disfunzioni. Questa suscettibilità non coincide con la certezza di ammalarsi, bensì indica un aumentato rischio rispetto alla popolazione generale. La presenza in ognuno di noi di geni di suscettibilità non è sufficiente, da sola, a scatenare la malattia: la comparsa dei sintomi è dovuta, infatti, ad un'interazione tra fattori genetici e fattori ambientali.

Vista la complessità dei dati, è stato progettato un software evoluto, in grado inizialmente di effettuare un'anamnesi informatizzata dei pazienti interessati, familiare e personale, adeguata alle normative vigenti sulla *privacy*. Una volta pervenuto il risultato del test lo stesso software elabora i dati derivanti dalle sequenze del DNA esaminate nell'individuo, il peso delle mutazioni se presenti, facendo un confronto statistico con le principali banche dati, e for-

Figure 2.

I 50 SNPs selezionati ed i metabolismi in cui sono coinvolti.



nendo una lettura precisa e ricca di dettagli per il medico operatore.

Una volta analizzato il DNA, si riscontrano se presenti i vari polimorfismi. La presenza di un determinato SNP indica una variante nel gene coinvolto in quel metabolismo, o l'indicatore di varianti vicine.

Ciascuno SNP dà un contributo di suscettibilità specifico a quel metabolismo, in grado di favorire o impedire l'insorgenza di una determinata predisposizione genetica, consentendoci di valutare nel singolo individuo se ci possa essere questa predisposizione (Figura 3).

Il campione di cellule necessario al test viene prelevato in modo assolutamente indolore strofinando un tampone di nylon sulle pareti interne della guancia (tampone buccale). Il campione viene conservato, al freddo nell'apposito tubo contenitore e successivamente spedito al

laboratorio per l'esecuzione dell'analisi negli Stati Uniti. La scelta del partner americano nasce perché i laboratori diagnostici in USA sono autorizzati da un ente nazionale, il CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*), che abilita questi centri ad effettuare a pagamento test genetici a scopo diagnostico. Infatti molti geni sono coperti da brevetto da parte dei laboratori che per primi ne hanno identificato la sequenza, il che comporta limitazioni nell'esecuzione dell'analisi solo in alcuni laboratori previamente autorizzati. In questi ultimi anni la procedura d'identificazione dei geni si è semplificata, e si è quindi ridotto notevolmente l'intervallo che intercorre tra la mappatura dei geni e la loro identificazione. Perciò un laboratorio che, esegue test genetici a scopo diagnostico deve ottenere una certificazione da parte di questo ente e l'assoluta validazione dei risultati

Figure 3.
Interpretazione del risultato genetico.

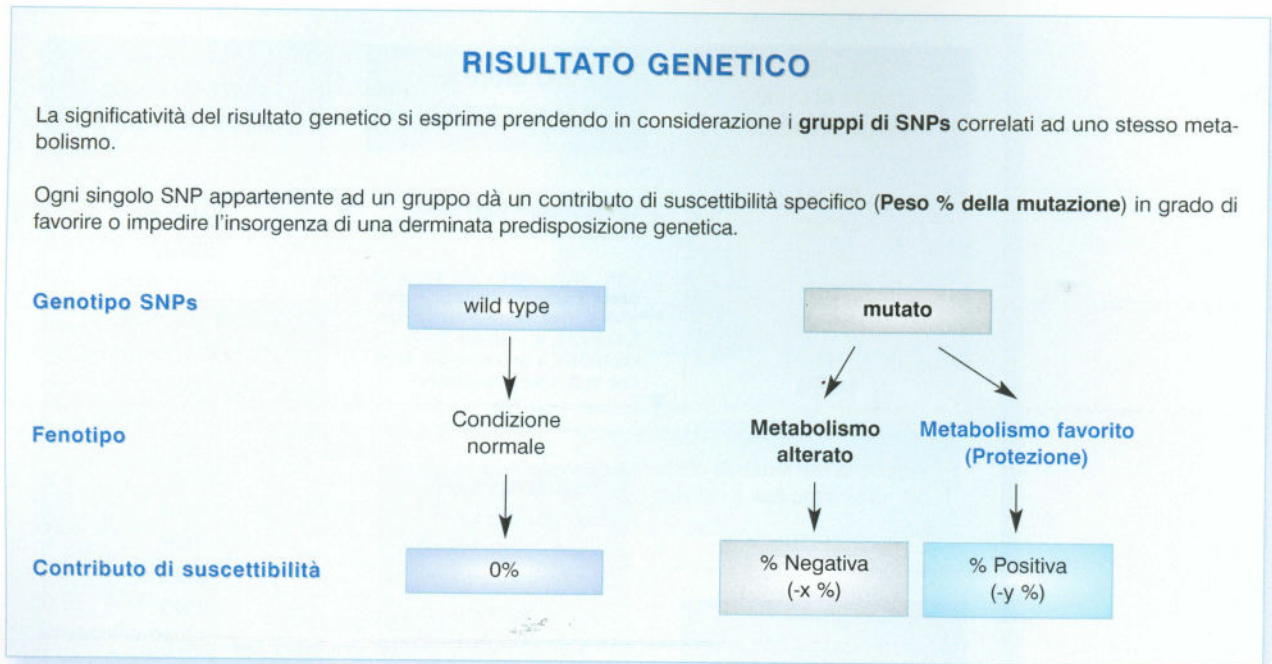
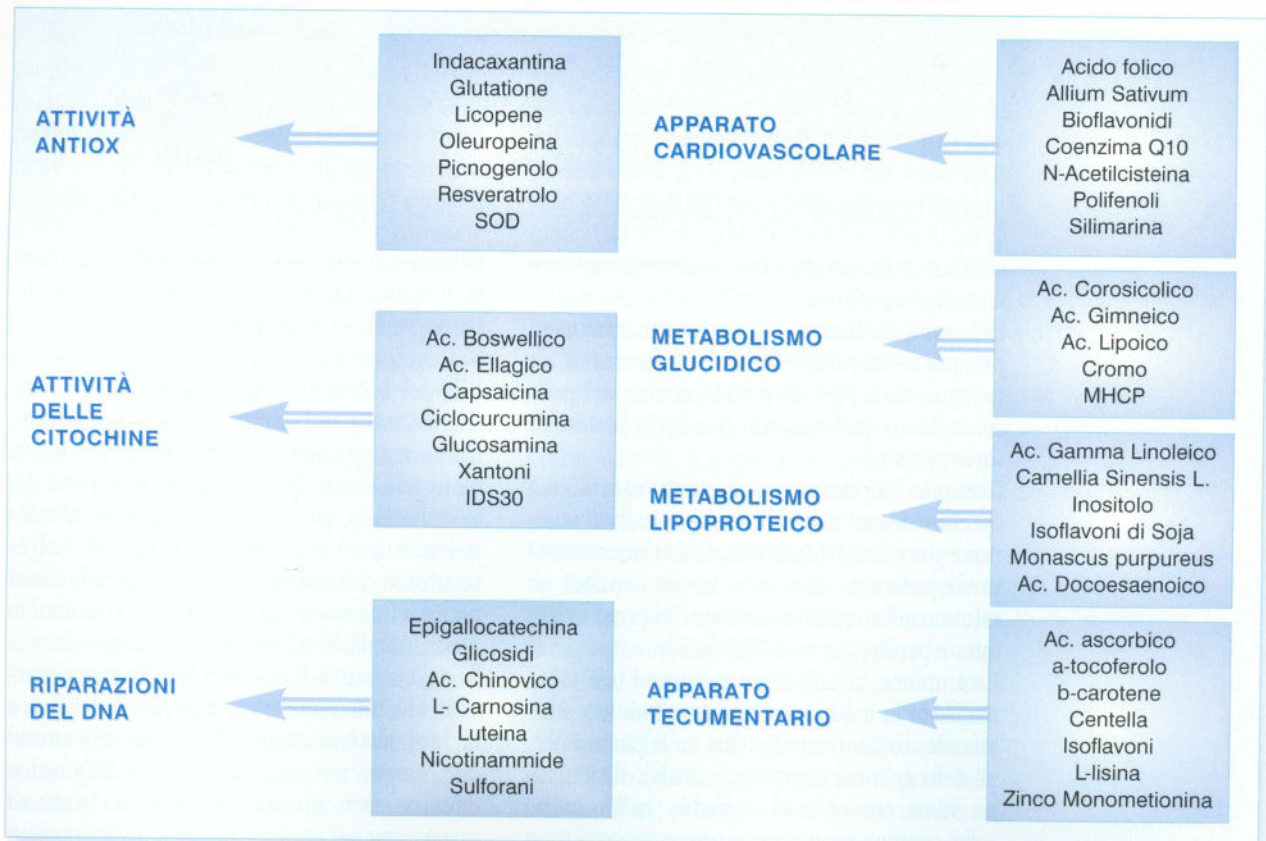


Figure 4.
Possibili alternative di principi attivi sui metabolismi indagati dal Test.



per la loro utilizzazione all'interno dei processi decisionali della pratica medica.

È evidente che se dette variazioni non fossero "accompagnate" da uno SNP che le identifica non potrebbero mai finire su un bio-chip. La metodologia Microarray (gene chip) ha permesso l'analisi simultanea di centinaia di diversi SNPs con metodi altamente automatizzati.

Risultati e conclusioni Gli studi hanno richiesto l'interazione di più figure professionali con competenze specifiche: medico/cliniche, biomolecolari (estrazione DNA, analisi mutazionale), biostatistiche (studi di linkage e di associazione), informatiche, e nel campo della biologia cellulare (funzione di geni e proteine).

L'obiettivo è stato identificare geni di suscettibilità e varianti genetiche associabili ad alterazioni metaboliche e malattie multifattoriali comuni nell'uomo durante l'invecchiamento, al fine di ottimizzare l'alimentazione e lo stile di vita e, se necessario, integrare con principi attivi di com-

provata efficacia nel migliorare le molteplici attività enzimatiche coinvolte nei metabolismi presi in esame (Figura 4).

Bibliografia

1. Klug WS, Cummings MR, Spencer CA. *Concetti di Genetica*. Pearson 2007.
2. Vijg J. *Aging of the Genome*. Oxford 2009.
3. Watson J, Caudy AA, Myers RM, et al. *DNA ricombinante-Geni e Genomi Zanichelli 2009; 11-15*.
4. Russel PJ. *Genetica*. EdiSES S.r.l 2007.
5. Greenspan FS, Strewler GJ. *Endocrinologia generale e clinica*. Piccin 2000.
6. Dale JW. *Dai Geni ai Genomi*. Malcom von Schantz, EdiSES S.r.l. 2004.
7. Korf BR. *Genetica e genomica umana*. Springer seconda edizione italiana 2009.