

## DISTURBI CONGENITI DEL METABOLISMO DEI CARBOIDRATI

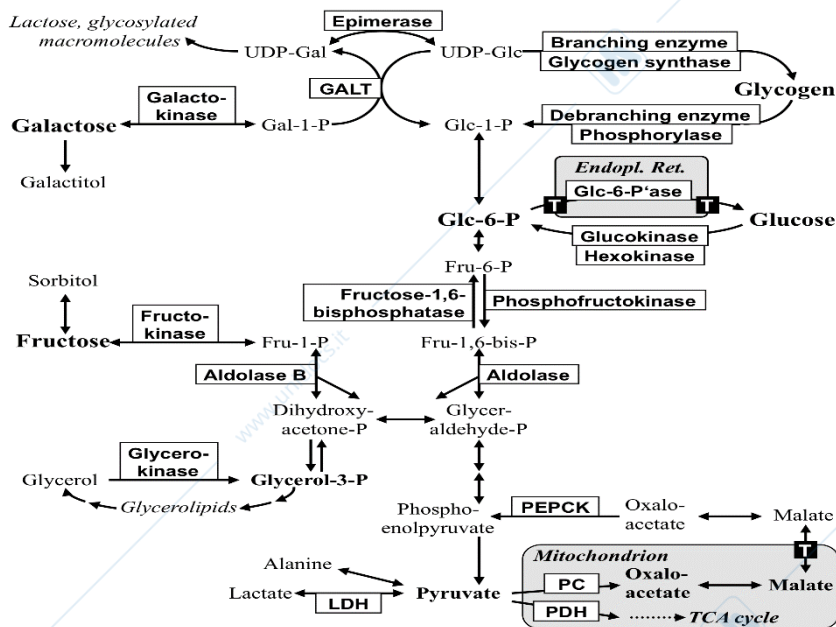
Questa che vedete è una versione un po' ristretta e semplificata del metabolismo dei carboidrati. Oggi parleremo dell'angolo in alto a destra [si riferisce all'immagine], che è solo una piccola parte, e all'interno di questa piccola parte affronteremo solo una malattia, parleremo nella fattispecie dei disturbi del metabolismo del glicogeno.

Ricordo che il glucosio è quello che l'organismo usa come fonte energetica e il metabolismo del glucosio prevede il passaggio a piruvato e quindi tramite la glicolisi del citosol, la produzione di energia. È possibile anche il passaggio da piruvato a lattato in quella che si chiama glicolisi anaerobica. Il passaggio inverso è la gluconeogenesi, cioè la strada opposta che porta alla formazione di glucosio che poi può essere utilizzato. Il glucosio viene inizialmente creato come glucosio-6-fosfato e

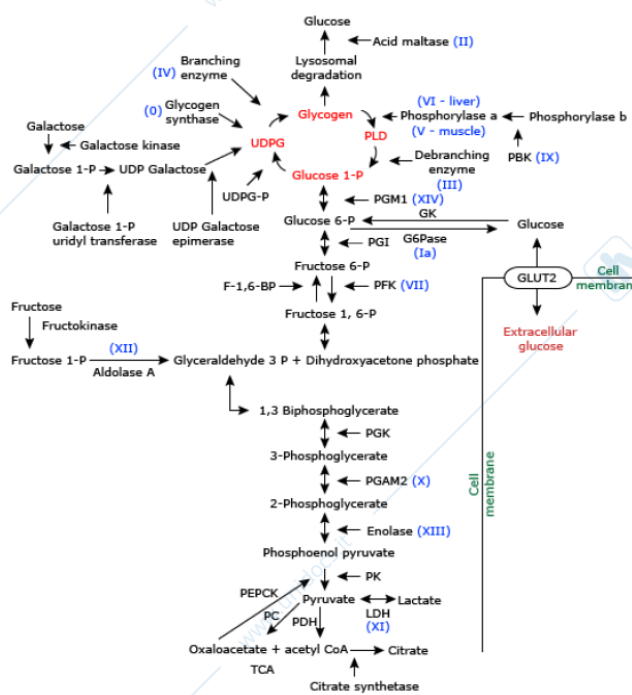
successivamente trasformato in glucosio nel RE. Il glicogeno, invece, sono tante molecole di glucosio attaccate con tanti tipi di legame sia lineari che a ramificazione laterale che serve come deposito di molecole di glucosio, e il nostro organismo lo utilizza per conservare gli zuccheri quando non sono a disposizione. Il glicogeno viene accumulato in grossi granuli che contengono anche gli enzimi che servono per la sintesi e la degradazione della molecola.

Il nostro organismo dal punto di vista energetico si divide in due: i tessuti che utilizzano il glucosio per funzionare, e i tessuti che quel glucosio lo creano in vari modi (prevalentemente dai depositi di glicogeno).

È chiaro che gli organi colpiti dalle malattie che giocano col metabolismo del glicogeno sono quelli che lo sintetizzano, cioè il fegato e i reni, mentre gli altri organi saranno solo bersaglio della malattia in quanto non avranno il metabolita che gli serve a produrre energia. Nell'immagine vedete lo schema di una parte del metabolismo del glicogeno, che è in bilancio con il glucosio-1-fosfato e il glucosio-6-fosfato. Questi sono gli enzimi che permettono il passaggio verso destra per la formazione del glicogeno e verso sinistra per la formazione del glucosio-6-fosfato. Altro enzima fondamentale in questa catena metabolica, è quello che si chiama enzima deramificante: come dicevo prima il glicogeno è formato da molecole di glucosio legate linearmente e in più una catena di



Metabolic pathways of glycogen metabolism and glycolysis



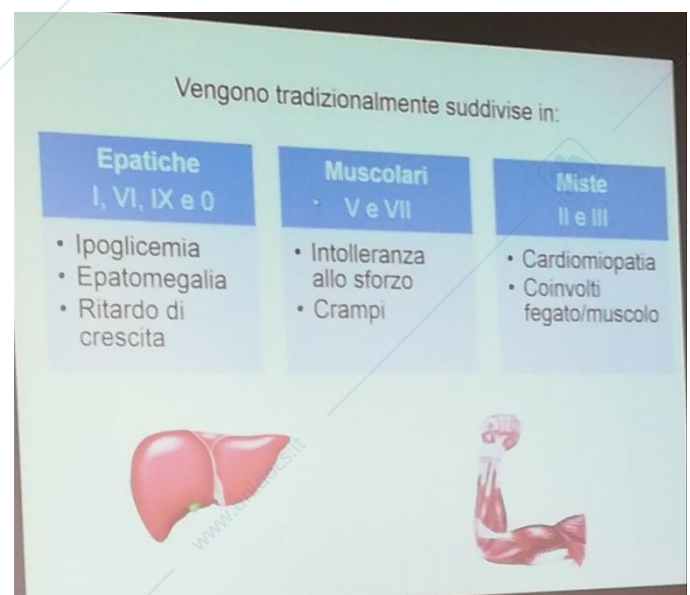
glucosio legata lateralmente, e questo legame laterale viene scisso dall'enzima deramificante. Questo ha una sua importanza perchè esistono patologie del glicogeno che coinvolgono solo questo pezzo, quello della deramificazione. Le glicogenosi sono tante e sono delle malattie metaboliche ereditarie in cui ogni enzima può essere interessato da una malattia, perché ogni enzima può funzionare troppo o troppo poco. Qui [sempre rivolto all'immagine precedente] vedete indicati in blu una serie di enzimi con un numero romano poiché le glicogenosi si definiscono con un numero romano. Ogni glicogenosi ha un enzima che viene interessato, ed ogni enzima colpisce una via diversa del metabolismo e a seconda della diversa via metabolica si avrà una clinica diversa.

Come viene degradato il glicogeno? Il glucosio-6fosfato viene messo dentro al glicogeno utilizzando un legame fosforico che è ad alta energia. La resa energetica della scissione del glicogeno, invece, è molto elevata perché il 90% dei residui di glicogeno vengono scissi producendo energia e vengono convertiti in glucosio-1fosfato, e questo passa a glucosio-6fosfato senza ulteriori costi. Quindi il 90% dell'energia immagazzinata nel glicogeno viene utilizzata per produrre altra energia. Dove invece si perde energia? La si perde nella scissione dei punti di ramificazione. Rompere un legame laterale ramificante consuma e brucia energia invece che produrla. Conservare il glucosio-6fosfato consuma pochissimo, quindi il glicogeno nel nostro organismo è la molecola che serve per conservare il 97% dell'energia che noi immagazziniamo. Questa cosa vi fa capire che quando abbiamo una patologia che o non vi fa formare glicogeno o non vi fa utilizzare il glicogeno perdiamo il 97% dell'energia che il nostro organismo ha messo da parte, quindi avremo un quadro clinico eclatante nel momento in cui non forniremo nell'istante del consumo glucosio. Quello che è interessante è che il glucosio che viene fosforilato, cioè il prodotto finale della glicogenolisi non si diffonde liberamente dalle cellule, ma deve essere metabolizzato da quest'altro enzima che è la **glucosio-6fosfatasi** che lo fa ritornare a glucosio normale nel fegato e da qui viene immesso in circolo, dal circolo arriva ai tessuti e i tessuti lo utilizzano. La glucosio-6fosfatasi è presente anche nel rene e in minima parte nell'intestino, ma è totalmente assente nei muscoli e nel cervello e quindi questi ultimi sono totalmente dipendenti dal glucosio ematico circolante perché non sono in grado di immagazzinare energia e quindi se gli togliete l'energia (non dandogliela tramite alimentazione o defosforilazione del glicogeno) andranno in deficit energetico e non funzioneranno più.

Il glucosio, come abbiamo detto, viene prodotto nel fegato, lascia l'epatocita, entra nella circolazione periferica ed arriva ai vari organi. Quindi nella gestione dell'omeostasi glucidica l'organo fondamentale non è come si può pensare il pancreas che produce insulina, ma il FEGATO che è l'unico che può immagazzinare e liberare il glucosio: prende il glucosio dal circolo, lo fa diventare glicogeno, lo libera dal glicogeno e lo lascia nuovamente in circolo.

## GLICOGENOSI

Le glicogenosi sono malattie da accumulo di glicogeno (tranne una che è la glicogenosi di tipo 0 che è particolare poiché non si forma neanche glicogeno) in cui l'organismo produce glicogeno ma non riesce ad utilizzarlo. Malattie da accumulo vuol dire che il danno cellulare viene dato dall'accumulo di un metabolita che non viene utilizzato. Esistono vari tipi di glicogenosi, che hanno un aspetto clinico un po' diverso uno dall'altro ma che grosso modo si assomiglia e sono contraddistinte nelle classificazioni moderne da un numero romano, oppure tradizionalmente dal nome di chi le ha scoperte. Questa è una delle classificazioni in cui sono presenti le prime, le più frequenti, quelle che si conoscono di più, e hanno un'incidenza globale di



1/20mila; qualcuna è rara, qualcuna è rarissima (come la glicogenosi 0, che non è nemmeno citata nella tabella, di cui ci sono 20 casi al mondo), mentre altre sono più frequenti. Qualsiasi cosa voi facciate come medici, vi capiterà di avere almeno un paziente con una glicogenosi. Vengono tradizionalmente divise in tre gruppi:

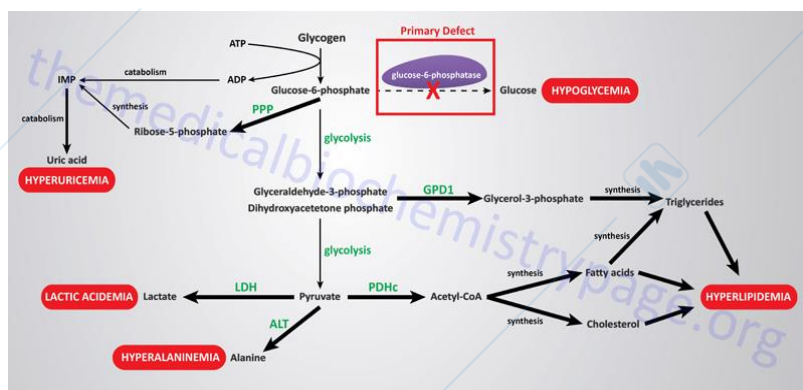
- **Le glicogenosi epatiche:** il cui quadro clinico è dato dall'ipoglicemia, dall'epatomegalia e dal ritardo di crescita.
- **Le glicogenosi muscolari:** la cui clinica è data dal danno muscolare e quindi intolleranza allo sforzo e crampi muscolari.
- **Le forme miste:** che prevedono quadri legati all'ipoglicemia ed epatomegalia oltre ai problemi muscolari. Una loro caratteristica un po' particolare è l'interessamento del muscolo cardiaco.

*Non parleremo di quelle muscolari perché rientrano nel campo neurologico e ci concentreremo sulla glicogenosi di tipo I.*

## GLICOGENOSI DI TIPO I O MALATTIA DI VON GIERKE

È caratterizzata dal deficit dell'enzima G6P-fosfatasi, quindi succede che il fegato può produrre glicogeno, questo inizia a scindersi ma non può lasciare la cellula epatica perché non viene diviso in fosfato + glucosio e quindi il glucosio non può uscire nel circolo sanguigno, e questo è il punto dello stop.

[Parla dell'immagine] In questo schema si può vedere tutto ciò che c'è da sapere per capire cosa è la glicogenosi di tipo I. Il deficit primario è a questo livello, dove si ha il glicogeno che consumando un po' di energia produce il G6P che però non può essere trasformato in glucosio e quindi il fegato non può regolare l'omeostasi glucidica e in questo modo il glucosio plasmatico risulta basso e il fegato non riesce a rilasciarne per compensare e il paziente va in ipoglicemia. Cosa succede di questo G6P? Poiché si accumula nel fegato non potendo essere rilasciato, entra in una serie di vie metaboliche secondarie che solitamente sono quasi assenti (perché il G6P solitamente viene scisso e buttato fuori come glucosio):



cosa succede di questo G6P? Poiché si accumula nel fegato non potendo essere rilasciato, entra in una serie di vie metaboliche secondarie che solitamente sono quasi assenti (perché il G6P solitamente viene scisso e buttato fuori come glucosio):

- Il G6P entra nella via metabolica del ribosio-fosfato e quindi nel catabolismo delle pirimidine e quindi nella sintesi dell'acido urico. Il G6P passa in questa via in maniera aumentata e quindi si aumenta la produzione di acido urico.
- Segue il percorso della glicolisi anaerobia e si produce acido lattico. Acidosi metabolica → danno da acidi a livello dell'organismo.
- Via della sintesi dei trigliceridi e quindi dislipidemia, il G6P non passa in circolo come glucosio ma viene trasformato in trigliceridi e quindi viene buttato fuori sotto forma di grassi.

La glicogenosi di tipo I ha una incidenza di 1/100mila nati vivi (quindi malattia rara). L'80% è in deficit di G6P-fosfatasi e si chiama di tipo IA, esiste anche il deficit del **trasportatore del G6P** che è molto più raro e si chiama di tipo IB. La differenza tra le due forme deriva dal fatto che il trasportatore gioca un ruolo anche nella differenziazione dei neutrofili e nella modulazione della risposta immunitaria. Da questo si capisce che chi avrà un deficit del trasportatore avrà anche un problema ematologico.

I bambini con questa patologia [esempio nell'immagine] presenteranno dal punto di vista del fenotipo una bassa statura, un aspetto definito a faccia di bambola (pelle liscia e viso inespressivo) e soprattutto un addome enorme. Da un punto di vista biochimico quello che fa sospettare la presenza di una glicogenosi è

un quadro di ipoglicemia associato ad acidosi lattica con dislipidemia. Altri problemi che si possono aggiungere sono disturbi del metabolismo fosfo-calcico, gotta, danno nefrovascolare o danno nefrologico puro. Il quadro comunque più eclatante è quello dell'ipoglicemia, che ha delle caratteristiche un po' particolari, cioè che colpisce al momento del digiuno perché non riesce ad utilizzare le scorte create sotto forma di glicogeno; quindi sarà una ipoglicemia principalmente notturna. Sono pazienti che rispondono bene alla dieta, poiché appena gli fornite glucosio con il cibo la glicemia risale bene e rapidamente, ma appena smettete di darglielo non riescono a tollerare la mancanza, quindi sono pazienti che soffrono di ipoglicemia cronica (nessuna altra malattia presenta una ipoglicemia cronica così macroscopica). Queste sono persone che vivono a 40 di glicemia, situazione porterebbe al coma le persone normali.

Altro quadro è quello della dislipidemia che è molto marcata ed è contraddistinta dall'aumento dei trigliceridi che sono aumentati fino a 10 volte perché ne è aumentata la sintesi da parte dell'organismo che non riesce a buttare fuori il glucosio. Il rischio è che porti a pancreatite acuta che è aggravata da una notevole mortalità. Questo aumento di trigliceridi può portare ad avere problemi anche a livello cardiovascolare, ma in questo caso per motivi che non sono ancora noti il rischio cardiovascolare nella glicogenosi, anche se in presenza di ipertrigliceridemia, è basso.

Un altro organo che viene colpito è il rene. La patologia renale è importante ed è data dall'accumulo di glicogeno ed è caratterizzata da varie fasi: inizialmente c'è una fase di iperfiltrazione in cui c'è un danno che il rene compensa funzionando di più; poi diventa sintomatica, nel senso che diventa poliurica e il danno procede diventando proteinurica ed ematurica ed inizia ad esserci un danno strutturale. Altra cosa che succede è che si deposita calcio che porta a nefrocalinosi e calcolosi renale e quindi danno ostruttivo fino ad avere un peggioramento marcato arrivando all'insufficienza renale. I calcoli sono legati in parte all'iper calciuria, ma soprattutto all'aumento dell'acido urico. I reni quindi saranno grandi perché iperfiltrano e, col passare del tempo, peggioreranno. A tutto questo è spesso associata l'ipertensione arteriosa (non si sa come in molti casi se sia causa o effetto del danno renale). Il risultato netto è che il paziente andrà in dialisi e viene trapiantato se è fortunato. Questo è il destino dei glicogenotici.

La disfunzione renale più lo shift del metabolismo verso la via del ribosio causa l'aumento dell'acido urico che porta a danno infiammatorio articolare, cioè la gotta.

Tutti i pazienti con glicogenosi sia di tipo IA sia di tipo IB presentano problemi a livello ematologico sottoforma di anemia, generalmente multifattoriale e legata al problema dell'insufficienza renale e al deficit nutrizionale ed è quasi una certezza. La piastrinopenia è presente ma non molto rilevante a meno che i pazienti non debbano fare procedure invasive.

Esiste anche un quadro endocrinologico legato alla glicogenosi di tipo I che è più o meno rilevante e presenta pubertà e l'ipostaturismo. Possono anche essere presenti un aumento di tireodite autoimmuni, policiste ovarica e irregolarità del ciclo mestruale.

Sono presenti inoltre anche problemi ossei che derivano dall'ipovitaminosi D legata ai deficit nutrizionali e all'insufficienza renale. Tutto questo porta all'osteoporosi anche invalidante.

## GLICOGENOSI DI TIPO 1 (GSD1)

caratteristiche cliniche e biochimiche

### Quadro clinico

"Doll Face"  
Epatomegalia  
Bassa statura

### Profilo biochimico

Ipoglicemia  
Acidosi lattica  
Iperlipidemia  
Iperuricemia

### Terapia

Dietetica



Come sospettare una glicogenosi? Per prima cosa bisogna guardare il quadro bioumorale. I neonati che vengono allattati improvvisamente vanno in ipoglicemia associata ad acidosi lattica, iniziano a presentare ipertriglicerimie e a sviluppare una epatomegalia visibile. La diagnosi poi viene confermata con metodiche di secondo livello che al giorno d'oggi rientrano principalmente nella genetica. Cosa si può fare per questi pazienti? Guarire dalla glicogenosi è impossibile per ora e quindi bisogna puntare a riportarli in normoglicemia quando sono a digiuno e tenere il lattato basso e tenere sotto controllo il resto tutto il metabolismo. Il "farmaco" di scelta è la **maizena**, ovvero l'amido di mais poiché ha un rilascio del glucosio molto lento e quindi viene assorbita e metabolizzata con tempi lunghi e questo crea un falso pasto, così si può aumentare il tempo libero dai pasti dei pazienti che non possono permettersi di stare troppo tempo a digiuno. Questo problema di giorno è facilmente aggirabile poiché al paziente basta mangiare qualcosa quando ha la glicemia bassa, ma è più complicato durante la notte: i glicogenotici rischiano di doversi alzare 3-4 volte a notte perché magari non tollerano più di due ore a digiuno. Esistono vari schemi da seguire riguardo i pasti che possono comprendere la maizena, in particolare per quelli notturni dove si può provare a dare al paziente 1-2 pasti a base di maizena e vedere se in questo modo riesce a coprire almeno 6 ore tra un pasto e l'altro. Un'altra soluzione è quella del sondino naso-gastrico che permette una nutrizione continua. Quello che bisogna ricordare è che si deve stare attenti a non dare ai pazienti troppo zucchero per varie ragioni tra cui l'obesità (molti glicogenotici sono obesi e questo non fa altro che complicare le cose perché possono diventare diabetici). Questo non vale però in acuto, poiché il paziente va in ipoglicemia, entra in coma e in questo caso lo si riempie di zuccheri. Esistono vari schemi terapeutici che comunque prevedono un primo bolo di glucosio endovena (250 mg/kg), rapido, seguito poi da un'infusione sovracalorica di glucosio (per le prime 12 ore 120/150% del normale fabbisogno di glucosio), per arrivare via via alla normalità nel tempo successivo.

Poi dobbiamo correggere tutto ciò che ci sta attorno. Non c'è solo l'ipoglicemia ma c'è anche l'**iperuricemia** che viene curata abbassando l'acido urico. Un farmaco di scelta è l'allopurinolo. La dose è variabile, si può molto discutere anche in questo caso se e quando iniziare il farmaco. Diventa imperativo in caso di gotta manifesta: se il paziente ha un'artrite gottosa non c'è dubbio che vada trattato.

Queste diete particolari danno carenze alimentari. Attenzione ai **sali minerali** e a tutte le **vitamine** che ci stanno intorno. Se togliete qualcosa perché sennò prende troppe calorie dal momento che gli si dà la Maizena e zuccheri è bene integrare con i sali minerali.

Correggete l'**anemia**. In un soggetto anemico per prima cosa togliete il dubbio che non dipende dalla glicogenosi, se così non fosse integrate l'anemia microcitica con un po' di ferro che male non gli fa.

La **neutropenia** con i fattori di crescita ma è una cosa a parte e molto specialistica.

Un'altra cosa interessante e più semplice da fare è che i pazienti vanno in acidosi metabolica perché vanno in **acidosi lattica**: il glucosio non viene metabolizzato dal glucosio 6 fosfato ma continua e diventa acido lattico con la glicolisi anaerobia. Correggete l'acidosi perché l'acidosi può dare un problema cerebrale, danno cerebrale, un'insufficienza cardiaca e non fa bene per osso e rene (per deposizione di calcoli). La terapia di scelta è quella del sodio bicarbonato a dosi più o meno variabili. Era stato anche proposto, che pare effettivamente vantaggiosa, la terapia con potassio citrato che serve a correggere la fosfaturia presente nelle urine di questi pazienti.

La terapia per la **proteinuria**, perché abbiamo visto che ci può essere iperfiltrazione e danno renale, è l'ACE inibitore e questo vale per tutte le proteinurie.

*DOMANDA: Il sodio bicarbonato si somministra in endovena o per bocca?*

*RISPOSTA: Come si vuole. Puoi dare calcio carbonato se preferisci l'importante è che ci sia qualcosa che metabolizzi.*

La **dislipidemia** è una patologia un po' complicata: abbiamo visto che ci può essere pancreatite, che può dare una patologia potenzialmente mortale. Non è chiaro però quando trattarla. Può comprendere una parte di ipercolesterolemia che a quel punto mi genera insufficienza renale il cui trattamento di scelta è la statina e una parte più tipica che è la ipertrigliceridemia. Le linee guida dicono, ma non sono univoche, che il trattamento della dislipidemia glicogenosica va iniziato solo quando va a valori superiori a 880mg/dL di trigliceridi. L'unica terapia che viene usata è quella con fibrato. Le altre terapie possibili con Omega 3 non hanno alcuna indicazione, non ci sono evidenze che funzionino. Probabilmente non ci sono neanche in ipertrigliceridemie legate alla glicogenosi ma tanto più in questo caso.

Arrivare a 880mg/dL di trigliceridi è rischioso in un paziente normale è da tenere in considerazione solo per i pazienti glicogenotici.

## PROFILO DEL MONITORAGGIO GLICEMICO IN CONTINUO



Questo [Diapositiva in alto. Il professore dice di non considerare l'ultima parte in cui ci sono solo i dati letti dal sensore.] è un esempio di un paziente con glicogenosi: è un monitoraggio glicemico in continuo. Devono monitorare i trigliceridi di continuo. Lo schema in blu dimostra il valore medio di glucosio nelle due settimane di rilevazione a seconda delle ore. Si tratta di un glicogenotico bravo: ha un profilo essenzialmente **piatto** e così deve essere nella glicogenosi. È un paziente che non va mai in grave ipoglicemia e non corregge questa cosa: non assume in eccesso carboidrati perciò non ha mai picchi iperglicemici. Profilo piatto: costantemente tra i 70 e i 130 di glicemia. In 15 giorni ha avuto solo 5 ipoglicemie. Fatalità quando? A digiuno: la notte alle 4:00 oppure a metà pomeriggio. Il paziente probabilmente si è dimenticato dello spuntino o ha tardato lo spuntino ed è andato in l'ipoglicemia.

Questa [Il professore mostra un grafico simile al precedente in cui ci sono molti picchi iperglicemici, nelle vecchie slides non l'ho trovato] è una glicogenotica meno brava. È una signora con glicogenosi di tipo I trapiantata di rene per insufficienza renale che andava male prima e si è comportata male dopo il trapianto. Con il nuovo rene funzionava bene dal punto di vista metabolico e ha avuto un periodo di luna di miele con la glicogenosi, si è disabituata a correggere correttamente dal punto di vista alimentare. Ha iniziato a sovra trattare le sue ipoglicemie, ha iniziato a fare quello che non bisognerebbe mai fare nelle glicogenosi quindi ad assumere costantemente carboidrati a rapido assorbimento e rapido metabolismo e ha iniziato ad avere **picchi iperglicemici**. La signora tende a scendere di glicemia, mangia carboidrati, arriva il picco iperglicemico, vi è la risposta insulinemica, comincia a scendere la glicemia. Non viene compensata dal glicogeno, ritorna in ipoglicemia e continua a mangiare. La signora è diventata obesa e ha questo controllo metabolico pessimo. Con la conseguenza che la notte non riesce a compensare, non riesce a mangiare carboidrati, non vuole la Maizena perché la fa ingrassare (ma in realtà sono tutti i carboidrati che ha mangiato prima). È quindi costantemente in ipoglicemia. Queste due settimane è stata anche misurata a 40 la glicemia alla sera ma a volte andava anche peggio.

**DOMANDE FINALI**

*DOMANDA: Qual è l'aspettativa di vita di un glicogenotico?*

*RISPOSTA: Buona. Da quando vengono diagnosticati e da quando vengono trattati bene i glicogenotici vivono bene. La qualità di vita è un po' variabile questa dipende dall'accesso al trapianto eventualmente. Il loro vero problema è che vanno in insufficienza renale e se riescono ad essere trapiantati la qualità di vita è buona, se non riescono ad esserlo la qualità di vita è quella di un soggetto in dialisi. Dal punto di vista di qualità di vita legata alla metabolica pura e semplice quello che fa molto la differenza è l'intervallo libero possibile dai pasti. Adesso esistono degli escamotage che non prevedono necessariamente il risveglio notturno. Il glicosè, che è l'unico presente sul mercato, ha due vantaggi rispetto alla Maizena normale e un unico svantaggio cioè che costa. La Maizena non costa molto, la trovi al supermercato, il glicosè va pagato perché è un farmaco a tutti gli effetti, è un alimento dietetico a fini medici speciali però aumenta il tempo libero dai pasti poiché viene assorbito ancora più lentamente e generalmente i pazienti che di notte dovevano fare 2 spuntini col glicosè ne riescono a fare uno solo. Se vanno a letto alle 11 e si svegliano alle 4 tutto sommato un'unica volta non è così male. Andare a letto alle 11, svegliarsi alle 2,5, 7 peggiora la qualità di vita dei pazienti. Altra cosa che fa la prognosi come qualità di vita è il danno da ipoglicemia. Un paziente che sta in ipoglicemia per tutta la sua vita peggio va dal punto di vista cerebrale. Loro sono un po' più protetti dalla media della gente perché sono abituati a viaggiare a valori bassi però gli fa male comunque. Chiaro che se la paziente ha sempre glicemia a 40 continua ad avere un danno metabolico e cerebrale. L'aspettativa di vita è buona.*

*DOMANDA: Il paziente in ipoglicemia ha dei sintomi durante la notte?*

*RISPOSTA: No di solito. Questo è un grosso problema per i glicogenotici nel senso che, come nel diabete di tipo I chi è abituato ad andare in ipoglicemia prima o poi non se ne accorge più. Il glicogenotico se ne accorge quando va in coma. Questo pone un po' il problema di come monitorare la glicemia di questi pazienti. Attualmente il Sistema Sanitario Nazionale non prevede che venga passato gratis il monitoraggio glicemico in continuo. Questi pazienti l'unico modo che hanno per controllare la glicemia è farsi lo stick e per farlo devono essere svegli quindi loro fanno già che generalmente alle 4:00 del mattino hanno la sveglia, si alzano, si misurano la glicemia e prendono la Maizena. È il motivo per cui poi ogni tanto anche quelli bravi vanno in ipoglicemia. Per alcuni motivi potrebbero aver mangiato un po' meno o assorbito un po' meno e tentano di arrivare fino alle 4:00 ma non ci arrivano e alle 3:30/3:50 vanno in ipoglicemia. È un problema per la qualità di vita dei pazienti: vivono nel terrore dell'ipoglicemia e rischiano di sovra trattare l'ipoglicemia. Hanno un problema a svolgere le attività normali della vita, tendono ad avere problemi ad andare al lavoro, tendono ad avere difficoltà a prendere la patente perché le commissioni mediche non sono contente di darla a chi rischia di andare a 40 di glicemia.*

*DOMANDA: Per quanto riguarda l'esercizio fisico?*

*RISPOSTA: Quello che viene risposto a tutti questi è di non farlo. Noi adesso stiamo lavorando con la medicina dello sport per fare dei programmi ad hoc di attività fisica per chi in realtà non ha un motivo di non fare attività fisica nel senso che non hanno deficit muscolare o cardiaco; quello che rischiano è l'ipoglicemia. Se loro assumono una quantità corretta prima dello sport fisico e vanno in monitoraggio durante l'attività fisica non è un grossissimo problema. Appena vanno in ipoglicemia correggono con carboidrati. La maratona non gliela farei fare perché lì c'è il rischio che l'acidosi lattica che è presente di fondo aumenti per l'attività fisica.*

*Diverso è il caso delle glicogenosi con interessamento muscolare. Le glicogenosi con interessamento muscolare hanno un problema di debolezza muscolare e qui l'attività fisica diventa più difficile. Quello che si può fare in quei casi è, ad esempio, nella glicogenosi di tipo 3 caratterizzata dalla debolezza*

*muscolare, seguire dei regimi alimentari particolari. Quello che si fa adesso in centri selezionati, come ad esempio Padova, è di trattarli con delle diete particolari iperproteiche o chetogeniche. Gli si tolgono più carboidrati. Anche se sembra una cosa ridicola perché possono andare in ipoglicemia, ma se ne tolgono ancora di più. Sviluppano quindi corpi chetonici che vengono usati dal muscolo e dall'encefalo e migliorano. Se mettiamo in restrizione di carboidrati aumenta in maniera importante la capacità fisica, la quantità di passi che riescono a fare con il pedometro e la performance cardiaca.*

*Le muscolari dal punto di vista sportivo sono un po' particolari, non ce la fanno. Tradizionalmente sia la glicogenosi epatica di tipo I che quella muscolare, vengono trattate dicendo di mangiare. Mangiare continuamente aumenta il rischio di ingrassare e diventare obesi. Se gli fate fare attività fisica ben venga. Non troverete poi nessuno che gliela fa fare. Alla visita medico-sportiva tutti vengono bocciati nessuno si prende la responsabilità di fargliela fare.*

## RUOLO DEI POLIMORFISMI IN DIABETE, IPERCOLESTROLEMIA E MALATTIA CARDIOVASCOLARE

*Il professore si presenta dicendo che lavora assieme al professore Avogaro, che ha lavorato negli Stati Uniti dove si è occupato di genomica. Nella lezione parlerà del ruolo dei polimorfismi in alcune patologie che riguardano il metabolismo lipidico (ipercolesterolemia), glucidico (il diabete) e nella malattia cardiovascolare. Ci spiegherà come i polimorfismi agiscono in questi ambiti e come le varianti genetiche, in particolar modo i polimorfismi, possono agire sulle malattie.*

*Chiede cosa sono i polimorfismi e una studentessa risponde "Varianti alleliche". Il professore approva.*

### CONCETTI DI PARTENZA

Il genoma umano è composto da circa **3 miliardi** di basi si stima fondamentalmente che se prendiamo due individui a caso la somiglianza del DNA è del 99,5%. Vuol dire che c'è uno 0,5% del DNA che tra due individui è diverso. In quello 0,5% c'è tutta o buona parte della variabilità che vediamo tutti i giorni quando vediamo le persone diverse l'una dall'altra. Se la vedete da questo punto di vista, capite che quando si parla di malattie genetiche ci sono delle condizioni estremamente rare che non tutti hanno nella popolazione ma al tempo stesso ci sono molte altre mutazioni che tutti noi abbiamo e che normalmente non danno un effetto così forte: non abbiamo tutti quanti la glicogenosi o altre malattie rare.

Il cariotipo umano ha 22 paia di cromosomi autosomici, i cromosomi sessuali e hanno diverse dimensioni. Il DNA è una sequenza di nucleotidi composti essenzialmente da 4 basi azotate: l'adenina, la citosina, la timina e la guanina. La sequenza di queste basi azotate viene tradotta dalla sequenza genica in RNA messaggero e questo viene traslato in proteine.

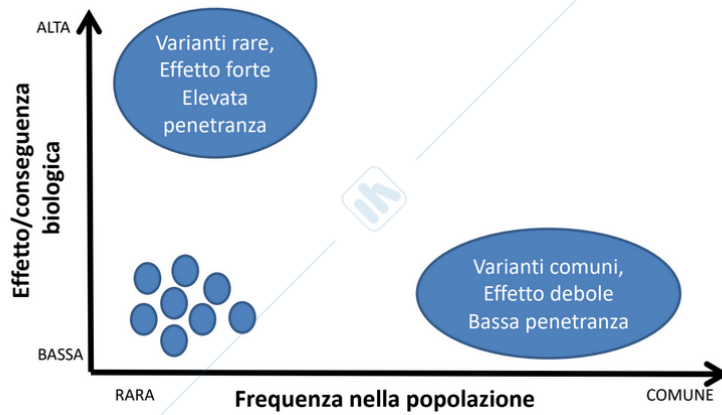
### COSA SONO I POLIMORFISMI

Se prendiamo la sequenza classica del genoma umano in una determinata posizione e se, ad esempio, al posto di una citosina vi è una timina questa si può definire una variante. Questa è una variante che coinvolge un singolo *locus*, quindi un polimorfismo.

Quando parliamo di polimorfismi parliamo di varianti che sono **comuni**: viene definito comune una variante che è presente in **più dell'1%** dei cromosomi. Quando invece ci sono delle varianti che sono dei *devices* vengono definite mutazioni. Questi sono dei cut-off generali. Il polimorfismo è una variante che non è rara nella popolazione ma che è abbastanza comune. Quando coinvolge un singolo nucleotide si chiama "*variante polimorfismo a singolo nucleotide*" o in inglese SNPs. Quindi le varianti possono essere distinte innanzitutto in base alla loro frequenza.

Le varianti possono differenziarsi per sequenza.

## Relazione tra effetto e frequenza delle varianti



Un altro aspetto è la funzione: cosa fanno? In che maniera agiscono? Se mettiamo su un grafico la **frequenza di popolazione** sull'asse delle x e sull'asse delle y l'**effetto biologico**, la conseguenza, quanto la sua variante è impattante. [Diapositiva sopra] Tipicamente ciò che succede è che le varianti più rare hanno un effetto più forte sulla popolazione, delle conseguenze maggiori e hanno un'elevata penetranza. Le varianti comuni hanno degli effetti più deboli (a volte potrebbero non averne nessuno) e tipicamente hanno bassa penetranza. Se causano un problema non in tutti lo causano.

Il concetto di penetranza è dato da quante volte, se una persona è portatrice di quella mutazione, poi effettivamente ha quella malattia o quel fenotipo che dovrebbe provocare la mutazione.

Ciò accade perché, se compare una mutazione dannosa, -a volte le mutazioni possono essere anche vantaggiose- con l'evoluzione si tende a selezionare ed è difficile che questa venga conservata.

### DIVERSI TIPI DI MUTAZIONI

Ci sono diversi tipi di mutazioni.

I polimorfismi possono essere **sostituzioni**. C'è una sequenza di riferimento che tutti quanti noi abbiamo, la sostituzione potrebbe essere, ad esempio, che in questo specifico *locus* abbiamo 2 alleli e un allele avrà la T normale e l'altro la C.

Ci sono le **inserzioni** in cui la sequenza normale AGGTAA è AGG ma la T e la A sono spostate in avanti perché in mezzo ci si mette un nuovo polimorfismo: la G. Questa è un'inserzione.

Nelle **delezioni** è il contrario, invece che esserci 3 T consecutive ce n'è una. Un allele è normale l'altro invece ha una delezione.

- **Sostituzioni**
- **Inserzioni/Delezioni**
- **Espansioni: ripetizioni di un numero variabile di basi (100-1000 bp):**  
Copy Number Variation (CNV)

	5	10	15	20
Reference sequence	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...	
<b>Sostituzione</b>	Allele 1	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...
	Allele 2	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...
<b>Inserzione</b>	Allele 1	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...
	Allele 2	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...
<b>Delezione</b>	Allele 1	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...
	Allele 2	...	GGATTTCTAGGTA	AACTCAGTCGA...

Ci sono poi altri tipi di varianti ma ci concentriamo sui polimorfismi che sono quelli più comuni e tipicamente coinvolgono un nucleotide. Dipendono anche in base alla posizione e a dove sono.

Nel DNA ci sono delle regioni geniche che sono quelle codificanti e delle regioni intergeniche non codificanti. All'interno dei geni a loro volta ci sono gli **esoni** che vengono tradotti in RNA messaggero e delle regioni **introniche**.

## Varianti codificanti

- **Synonymous**

```
.....Ala Ser Glu Ala Cys.....
.....GCT AGT GAA GCC TGT.....

.....Ala Ser Glu Ala Cys.....
.....GCT AGT GAG GCC TGT.....
```
- **Missense**

```
.....Ala Ser Glu Ala Cys.....
.....GCT AGT GAA GCC TGT.....

.....Ala Ser Lys Ala Cys.....
.....GCT AGT AAA GCC TGT.....
```
- **Nonsense**

```
.....Ala Ser Glu Ala Cys.....
.....GCT AGT GAA GCC TGT.....

.....Ala Ser STOP Ala Cys.....
.....GCT AGT TAA GCC TGT.....
```

Possiamo avere dei polimorfismi che sono codificanti e che poi vengono tradotte in proteine (amminoacidi). Ci sono quindi diverse possibilità:

- le mutazioni **sinonimo**. Il codice genetico è fatto da triplette, da codoni, c'è una ridondanza per cui GAA o GAG corrisponde allo stesso amminoacido per cui in termine di struttura proteica non cambia niente;
- le **missenso** in cui cambia un nucleotide e cambia anche l'amminoacido;
- le **non senso**, quelle di stop. Per cui ad un amminoacido corrisponde una tripletta di stop e la proteina in questo caso verrà troncata. In ordine di importanza e di gravità sulla funzione la non senso ha conseguenze maggiori sulla proteina.

Quando invece ci sono delle varianti non codificanti abbiamo diverse possibilità: può essere dentro al gene o vicino al gene. Può essere difatti nelle regioni:

- **non tradotte del gene** quindi nelle regioni 5' iniziale, 3' finale o negli introni in mezzo;
- **al di fuori** dal gene quando è abbastanza vicino al gene prima o dopo.

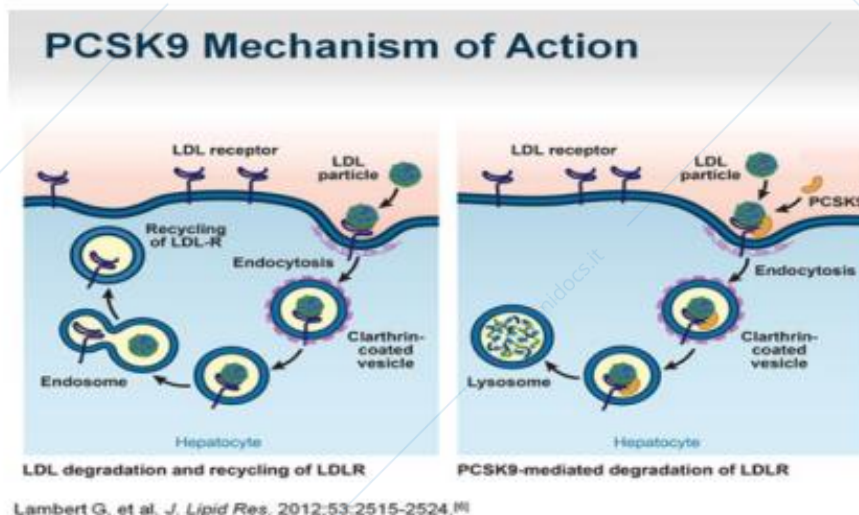
La maggior parte del DNA non codifica geni: 90% o anche di più. La maggior parte del DNA inizialmente veniva definito come junk DNA (DNA spazzatura). In realtà non è lì per caso, tutto quanto ha una funzione che molto spesso ancora non conosciamo. Quanti polimorfismi ci sono? Il 99,5% del DNA è uguale e lo 0,5% cambia. Quanti polimorfismi ci sono in una popolazione caucasica? I polimorfismi più comuni sono questi che vedete e la frequenza. Più frequenti sono e meno sono. Però polimorfismi presenti nell'1% dei cromosomi ce ne sono 10 milioni stimati.

### ESEMPIO PRATICO DI POLIMORFISMO: IL RUOLO DI PCSK9

Facciamo ora un esempio pratico per vedere come agiscono i polimorfismi; vediamo come due polimorfismi sullo stesso locus genico possono produrre effetti diversi. PCSK9 è una proteina che si lega al recettore delle LDL e ne causa la degradazione [immagine sotto]. Solitamente il recettore delle LDL (LDLR) è presente sulla superficie dell'epatocita, riconosce l'ApoB presente sulla particella di LDL e la internalizza; successivamente il recettore ritorna sulla superficie dell'epatocita per captare ed internalizzare altre LDL. Quindi, in sostanza, il recettore delle LDL viene riciclato. Per cui, quando il PCSK9 è legato al

recettore di LDL, quest'ultimo entra nell'epatocita ma anziché liberare l'LDL e venire riciclato, come accade normalmente, viene degradato. Di conseguenza, se una persona possiede molto PCSK9 avrà poco recettore delle LDL sulla superficie dell'epatocita e quindi avrà elevati livelli di LDL nel sangue. Ricapitolando, PCSK9, causando un'inibizione del riciclo di LDLR, porta ad un aumento dei livelli di LDL nel sangue e ad un aumentato rischio cardiovascolare.

## Polimorfismi e metabolismo lipidico: locus PCSK9



Il gene del PCSK9 si trova sul cromosoma 1. Consideriamo ora due polimorfismi che chiameremo per semplicità SNP1 e SNP2. SNP1 ha una frequenza allelica dell'1% mentre SNP2 ha una frequenza allelica del 18%. SNP1 sostituisce una G con una T mentre SNP2 una C con una T. SNP2 si trova in una regione non codificante (regione regolatrice) mentre SNP1 si trova nella regione codificante, è missenso e riduce la funzione della proteina. Se si prendono dei soggetti che hanno una variante sullo SNP1 questo ha un effetto importante sull'LDL, riducendo di molto l'LDL e quindi anche il rischio cardiovascolare, mentre soggetti con una variante dello SNP2 avranno una leggera riduzione delle LDL e della malattia cardiovascolare. Quindi questo è un esempio di come più polimorfismi sullo stesso gene possono avere effetti diversi; in particolare una SNP1 cambia la struttura della proteina e ne riduce la funzione, mentre SNP2 riduce la produzione della proteina.

Consideriamo ora un soggetto A, che ha colesterolo LDL 130 mg/dl, e il soggetto B, che invece è eterozigote per la variante ed ha il colesterolo LDL a 115 mg/dl (130 è comunque un valore accettabile, se il soggetto in questione non presenta altri fattori di rischio cardiovascolari concomitanti). Il portatore della mutazione ha quindi un livello di colesterolo LDL più basso perché ha la proteina PCSK9 che funziona meno e di conseguenza presenta un maggior riciclo del recettore delle LDL. Consideriamo ora un soggetto C, con lo stesso genotipo del soggetto A ma con un livello di colesterolo minore (122 mg/dl), e un soggetto D, con lo stesso genotipo del soggetto B ma con 120 mg/dl di colesterolo. A cosa potrebbe essere dovuta questa differenza di valori? In alcuni casi alla dieta oppure alla presenza concomitante delle due mutazioni, sia quella su SNP1 che quella su SNP2, visto che sono due mutazioni indipendenti e che non segregano insieme. Il soggetto C, a differenza del soggetto A, presenta sullo SNP2 un polimorfismo vantaggioso mentre il soggetto D, a differenza del soggetto B, presenta sullo SNP2 una mutazione che peggiora i livelli di colesterolo LDL.

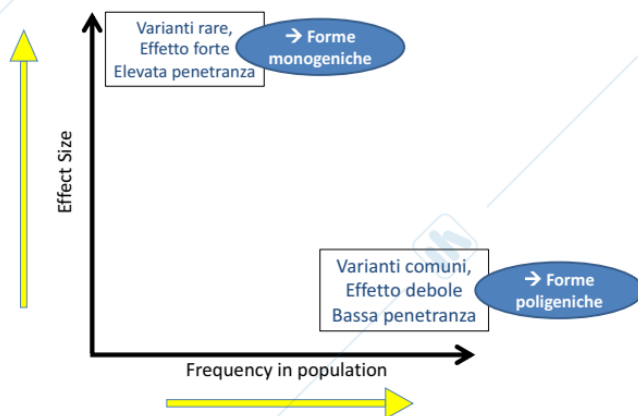
Ricapitolando: i polimorfismi possono produrre differenti effetti biologici, andando a modificare la struttura e la funzione della proteina oppure modificando i livelli di espressione della proteina stessa. La maggior

parte dei polimorfismi più comuni si trovano in regioni non codificanti e quindi hanno un effetto biologico ridotto. Gli effetti dei polimorfismi, inoltre, possono sommarsi tra di loro ed andare in entrambe le direzioni.

### MALATTIE MONOGENICHE E MALATTIE POLIGENICHE

Si definisce malattia monogenica una malattia in cui la mutazione o difetto è grave ed è sufficiente a causare il fenotipo. In questa tipologia di malattie si ha un'eredità monogenica del carattere che rispetta le leggi mendeliane. Nella malattia complessa l'eziologia è multifattoriale e per ottenere l'effetto malattia si devono sommare gli effetti prodotti da più geni (malattia poligenica) e da fattori ambientali. Quindi nella malattia poligenica o complessa ciascun gene contribuisce allo sviluppo della malattia ma di per sé non è sufficiente a generare il fenotipo malattia se preso singolarmente; per lo sviluppo della patologia è necessaria un'integrazione della predisposizione genetica con i fattori ambientali. Esempi di malattie complesse sono l'ipertensione, l'aterosclerosi, le dislipidemie, il diabete, sia di tipo 1 che di tipo 2. Più in dettaglio, le forme di diabete di tipo 1, diabete di tipo 2 e diabete gestazionale (GDM) sono forme multifattoriali e poligeniche; il diabete MODY (Maturity Onset of the Diabetes of the Young) e quello neonatale sono invece forme monogeniche.

Riprendendo il grafico analizzato precedentemente [immagine in basso] si ribadisce che le forme monogeniche sono causate da varianti rare, hanno un forte effetto ed una elevata penetranza. Invece, le forme poligeniche sono causate da varianti comuni e presentano un effetto debole e una bassa penetranza.



Ricapitolando quanto detto finora le forme monogeniche hanno frequenza rara, come causa una mutazione singola, elevata penetranza, ereditarietà mendeliana, effetto biologico maggiore (modifica della struttura e della funzione della proteina) e precoce età d'insorgenza. Le forme poligeniche presentano invece frequenza comune, come causa una combinazione di più polimorfismi (compreso anche l'effetto dell'ambiente), ridotta penetranza, ereditarietà non mendeliana, effetto biologico minore (disregolazione dell'espressione genica) e tardiva età d'insorgenza.

### EREDITARIETA' DEL DIABETE DI TIPO 2

I fattori di rischio per il diabete di tipo 2 sono:

- Obesità
- Fumo
- Dislipidemia
- Sesso maschile
- Età avanzata
- Familiarità
- Etnia

La familiarità nel diabete di tipo 2 classico non è una familiarità di tipo forte, assoluta, ma rappresenta una suscettibilità. Tale suscettibilità è determinata dall'insieme degli effetti di più geni. Qual è la probabilità che il figlio di un soggetto diabetico sviluppi il diabete nell'arco della sua vita? Circa il 30-40%. Questo

perché nel determinare l'insorgenza della patologia intervengono molteplici fattori, tra cui i fattori ambientali.

Nella slide sotto [immagine sotto] si può vedere una panoramica dei geni coinvolti nel diabete di tipo 2; ad oggi sono conosciuti più di 243 geni diversi implicati nel diabete di tipo 2. Mutazioni su questi geni aumento il rischio di sviluppare diabete.

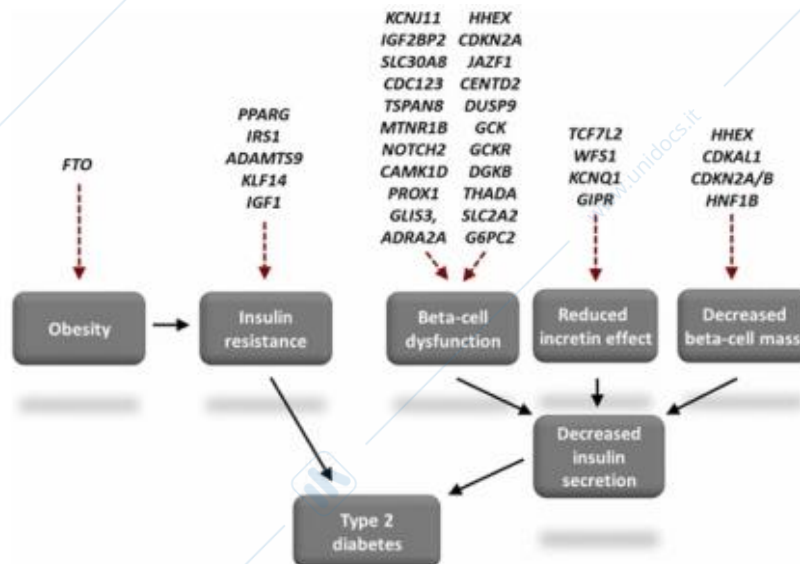
### Geni coinvolti nel diabete tipo 2



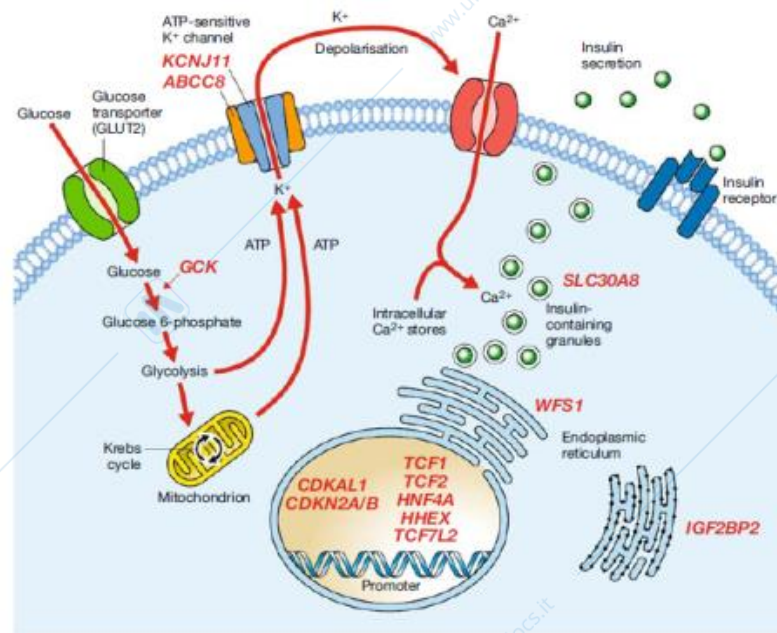
- L'elenco dei geni sui quali o vicino i quali sono stati trovati polimorfismi che si associavano a diabete di tipo 2 è in continuo aumento.
- Ad oggi sono noti 243 differenti loci genici associate a diabete tipo 2!!!! (Mahajan, Nature Genetics, Nov. 2018)

Florez, Diabetes Care 2012

I geni finora scoperti [immagine sotto], e con funzione nota, sono coinvolti, per la maggior parte, nella secrezione insulinica, nel sistema di secrezione delle incretine (ormoni prodotti a livello gastrointestinale e con effetto sul metabolismo glucidico), nella regolazione della massa corporea e dell'insulinoresistenza. Molti dei 243 geni restano però tutt'oggi con funzione ancora sconosciuta.



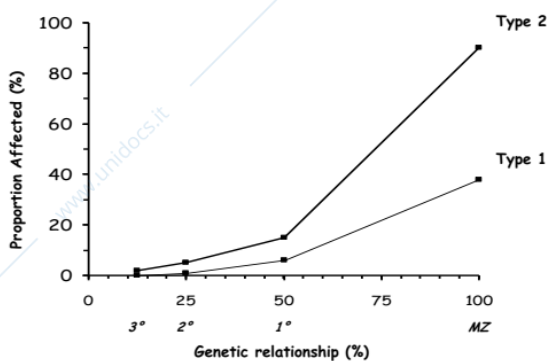
Nell'immagine sotto [immagine sotto] è rappresentato lo schema di una cellula pancreatiche e quelli evidenziati in rosso sono i geni responsabili di malattia. Il gene ABCC8 è detto anche recettore delle sulfoniluree, in quanto lega questa classe di farmaci.



## EREDITARIETA' DEL DIABETE DI TIPO 1

Per il diabete di tipo 1 ad oggi sono noti più di 60 locus genici; tra questi il più importante è HLA (antigene leucocitario umano), il quale spiega il 50% dell'ereditarietà del diabete di tipo 1. Dal momento che il diabete di tipo 1 è una malattia complessa la patologia deriva dalla combinazione di predisposizione genetica e di influenza ambientale. Questi geni implicati hanno funzioni legate alla risposta immunitaria, al metabolismo dell'insulina e alla regolazione dell'apoptosi delle beta cellule. Molti dei geni responsabili del diabete di tipo 1, quelli dell'autoimmunità, sono in comune con altre patologie come le malattie infiammatorie intestinali, il lupus eritematoso sistemico e la celiachia. Non a caso i soggetti che soffrono di diabete di tipo 1 hanno un maggior rischio di sviluppare anche quest'altre patologie autoimmunitarie.

Considerando la percentuale di affetti tra i familiari di pazienti diabetici si ottiene il seguente grafico [immagine sotto].



Il gemello monozigote di un paziente con diabete di tipo 2 ha un rischio di sviluppare il diabete di tipo 2 di circa l'80-90%, questo perché i gemelli monozigoti non condividono soltanto lo stesso corredo genetico ma anche gli stessi fattori ambientali (abitudini di vita), vivendo appunto nella stessa famiglia. I fratelli non monozigoti presentano invece un rischio di sviluppare diabete di tipo 2 notevolmente ridotto rispetto ai monozigoti (meno del 20%). Questo conferma che più un soggetto condivide il proprio patrimonio genetico con un soggetto diabetico e più è elevata la probabilità di sviluppare a sua volta il diabete (questo vale sia per il diabete di tipo 1 che di tipo 2). La cosa del grafico che lascia un po' sorpresi è il fatto che il diabete di tipo 2 presenti una genetica più importante del tipo 1.

Ricapitolando:

- Un parente di primo grado di un soggetto con diabete di tipo 2 ha il 30-40% di probabilità di sviluppare il diabete
- Se entrambi i genitori soffrono di diabete di tipo 2 la probabilità di svilupparlo passa dal 30-40% al 70-80%
- Nei gemelli monozigoti di un paziente la probabilità di sviluppare diabete è molto più alta (70-80%) rispetto ai non monozigoti (30-40%)

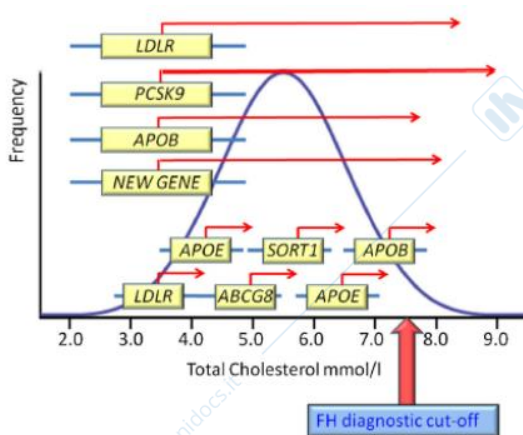
Il concetto da capire e a fondo è che nelle malattie complesse quello che si eredita non è una forte predisposizione genetica alla malattia ma una suscettibilità; quindi, affinché si sviluppi la malattia, devono subentrare altri fattori.

## EREDITARIETA' DELL'IPERCOLESTEROLEMIA

L'ipercolesterolemia può essere primitiva oppure secondaria; quest'ultima può essere conseguenza di altre patologie oppure dell'assunzione di determinati farmaci. La classificazione fenotipica delle ipercolesterolemie si basa su quale tipologia di lipoproteine è aumentata. La colesterolemia è aumentata bene o male in tutte le classi mentre la trigliceridemia è molto aumentata nella tipo 1, normale nella tipo 2° e aumentata anche nel tipo 5. Le ipercolesterolemie più frequenti sono il fenotipo 2A e 2B; nel fenotipo 2° aumenta il colesterolo LDL mentre nel 2B aumenta sia il colesterolo che i trigliceridi perché sono aumentati sia le LDL che le VLDL. Tra le ipercolesterolemie primitive, o pure, la forma più comune è la poligenica, che rappresenta circa l'80% di tutte le forme ed è generalmente asintomatica, fino alle manifestazioni cliniche di malattia cardiovascolare. L'ipercolesterolemia familiare, in forma eterozigote oppure omozigote, rappresenta una condizione più rara e causa dei livelli di colesterolo molto elevati. Esistono poi le ipertrigliceridemie pure (ipertrigliceridemia familiare) e le forme combinate ipertrigliceridemia + ipercolesterolemia.

Per quanto riguarda le ipercolesterolemie familiari esistono le forme familiare oppure poligenica. La forma poligenica, complessa è la forma più comune (circa l'80%), causa elevati livelli di colesterolo LDL (130-190 mg/dl) e deriva da polimorfismi di più geni diversi. Nella forma familiare (FH) la frequenza è rara (1/1.000.000 in omozigosi e 1/250-500 in eterozigosi), la mutazione riguarda direttamente LDLR, APOB, PCSK9 e si ottengono livelli molto elevati di colesterolo (>190 mg/dl). Variazioni nello stile di vita e nelle abitudini alimentari portano a risultati più significativi nella forma poligenica mentre in quella monogenica l'effetto è nettamente molto meno marcato.

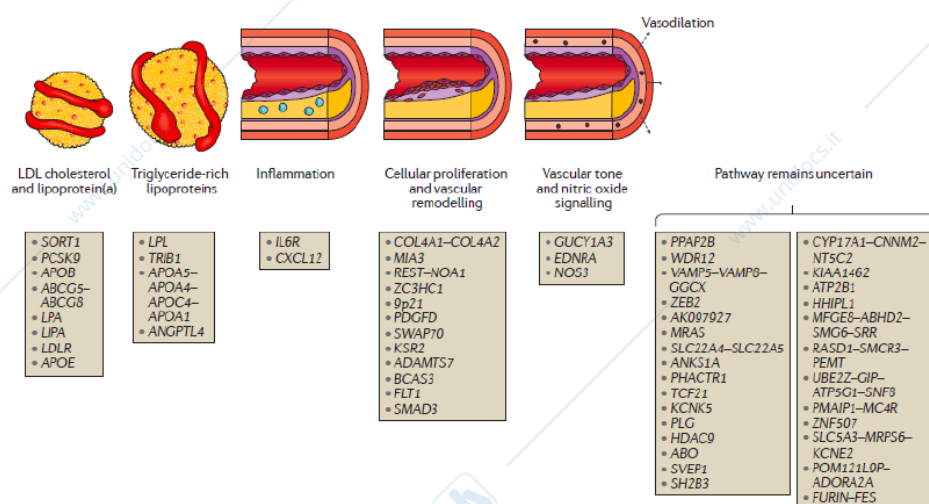
Nel grafico seguente [immagine sotto] si vedono in ascissa i livelli totali di colesterolo, espressi in mmol/l, e in ordinata la loro frequenza nella popolazione. Nelle forme monogeniche, quelle più in alto nel grafico, basta una singola mutazione su un singolo gene per spostare ed innalzare di molto i livelli di colesterolo. Nelle forme poligeniche le mutazioni sono meno importanti se prese singolarmente ma diventano significative se considerate sommate.



Dei geni coinvolti nell'ipercolesterolemia ad oggi se ne conoscono oltre 250, i quali hanno effetti sui livelli circolanti di colesterolo totale, LDL, HDL e trigliceridi. Di molti altri geni non si conoscono ancora esattamente le funzioni.

## I POLIMORFISMI E LA MALATTIA CARDIOVASCOLARE: INDAGINE GENETICA E VALUTAZIONE DEL RISCHIO

### Polimorfismi e malattia cardiovascolare



**Almeno 160 geni attualmente conosciuti per essere associati a malattia cardiovascolare, molti su fattori noti e altri ancora con funzioni da scoprire**

Khera Nature Review Genetics 2017

La patogenesi delle malattie cardiovascolari è un evento lungo e complesso che vede un grande numero di fattori in gioco. Come in ogni tipo di patologia multifattoriale si ha la compresenza di fattori:

- Genetici, ovvero dipendenti dal corredo genetico del paziente, che ne determinano la suscettibilità alla malattia;
- Ambientali, ovvero dipendenti dalle condizioni di vita del paziente (es. dieta, condizioni socioeconomiche, igiene...).

In questa parte della lezione si tratterà l'indagine del rischio cardiovascolare sulla base dei polimorfismi presenti nel DNA del paziente.

Nella slide soprastante è possibile vedere una lista (seppure incompleta) dell'enorme numero di geni coinvolti in ogni fase della patogenesi dell'aterosclerosi. In questo caso, i geni che influenzano il rischio di aterosclerosi sulla base della loro variante presente nel pz sono:

- Geni delle pathway del metabolismo delle lipoproteine;
- Geni delle pathway del metabolismo dei trigliceridi;
- Geni delle pathway processo flogistico;
- Geni regolatori della proliferazione cellulare;
- Geni regolatori del tono vascolare e del signalling dell'ossido nitrico (NO).

**ESEMPIO: GENE CODIFICANTE L'ENZIMA LIPOPROTEIN LIPASI**

L'enzima lipoprotein lipasi è presente soprattutto a livello endoteliale e ha la funzione di scindere i trigliceridi presenti nelle lipoproteine quali chilomicroni e VLDL affinché gli acidi grassi così ottenuti possano diffondere nelle cellule ed essere metabolizzati.

L'effetto dell'attività della lipoprotein lipasi quindi è quello di ridurre la trigliceridemia:

- Un aumento dell'attività della lipoprotein lipasi ridurrà la trigliceridemia;
- Una riduzione dell'attività della lipoprotein lipasi aumenterà la trigliceridemia.

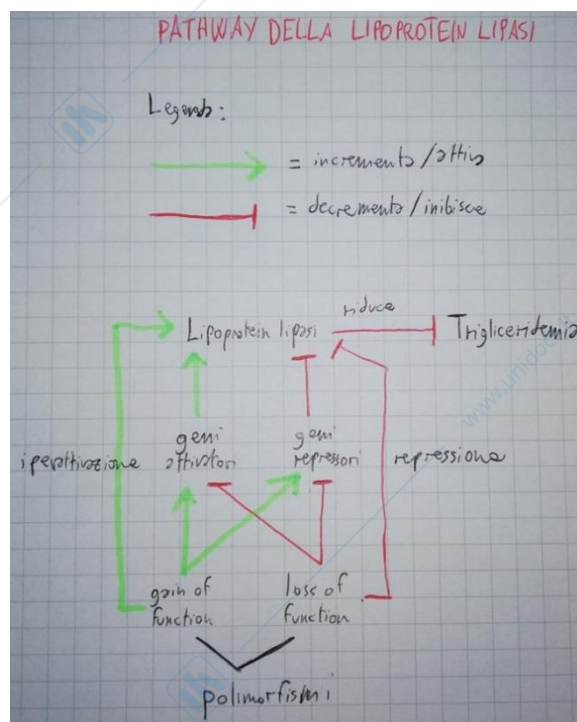
Ebbene, i polimorfismi possono andare ad alterare l'attività di questo enzima. I geni che possono essere coinvolti in questo caso sono:

- Geni repressori della lipoprotein lipasi;
- Geni attivatori della lipoprotein lipasi;
- Gene della lipoprotein lipasi stessa.

Come abbiamo appreso nel corso di biologia molecolare, qualunque gene può subire mutazioni/polimorfismi (attenzione: non sono sinonimi) di tipo:

- Gain of function, che aumenta l'attività dello stesso gene;
- Loss of function, che riduce o annulla l'attività del gene.

Segue uno schema riassuntivo di tutti i fattori che possono incidere sulla pathway che determina la trigliceridemia.



L'importanza dell'indagine genetica è ora più evidente: ricercare i polimorfismi in ciascuno dei geni presenti nello schema può darci molte informazioni:

- Se la lipoprotein lipasi del pz è meno attiva, la trigliceridemia sarà più alta e quindi ci sarà un maggiore rischio sia cardiovascolare che di diabete (le dislipidemie sono un fattore di rischio anche per il diabete!!!);
- Se la lipoprotein lipasi del pz è più attiva, il soggetto avrà un minore rischio cardiovascolare.

Un approccio di questo genere può inoltre permetterci di individuare nuovi target farmacologici per terapie più efficaci.

NOTA: la valutazione del rischio sulla base della genetica non deve farci dimenticare che le malattie multifattoriali sono caratterizzate anche da fattori ambientali. Pertanto, un soggetto geneticamente NON predisposto ma con abitudini di vita errate (fattori ambientali) sarà esposto più o meno allo stesso rischio di un soggetto geneticamente suscettibile ma con abitudini di vita sane. L'abilità del medico sta nel saper valutare la situazione del pz nella sua interezza.

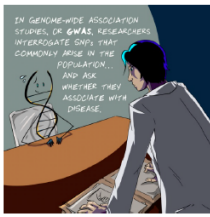
Ora parleremo di innovazione e daremo uno sguardo al futuro. Ciò che verrà riportato non andrà assunto come consolidato e presente nella pratica clinica; sono cose che arriveranno in futuro. Chi farà ricerca troverà utile tutto questo.

## LA GENOMICA

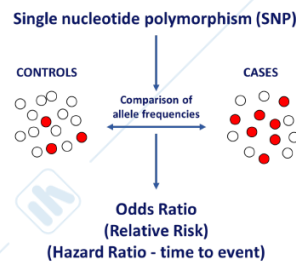
È la branca della genetica che studia tutto il genoma: valuta quali polimorfismi sono associati a determinate malattie.

Si prende una popolazione di sani e una di malati e si controlla la prevalenza del dato polimorfismo in ciascuna delle due (studio caso controllo). Si fanno analisi statistiche e si osserva se c'è una correlazione. Ad oggi questi studi si fanno a livello di tutto il genoma. Questi studi vengono identificati con l'acronimo "GWAS" = Genome Wide Association Studies.

### Come si studia la componente genetica delle malattie complesse? GWAS



Genome Wide Association Study GWAS – Studi di associazione genomica



Si confronta la presenza di polimorfismi in una popolazione malata (casi) VS una popolazione sana (controlli)

Si studiano milioni di polimorfismi in tutto il genoma → sia quelli in regioni note che in quelli in regioni dove non si conoscono geni o non se ne conoscono le funzioni.

Si prendono tutti i polimorfismi presenti nel genoma e si valuta l'associazione tra ciascuno di questi e determinate patologie. Esistono milioni di varianti e si valuta se queste sono più presenti in questa o quella malattia.

Si osservi il grafico a destra: si chiama Manhattan blot.

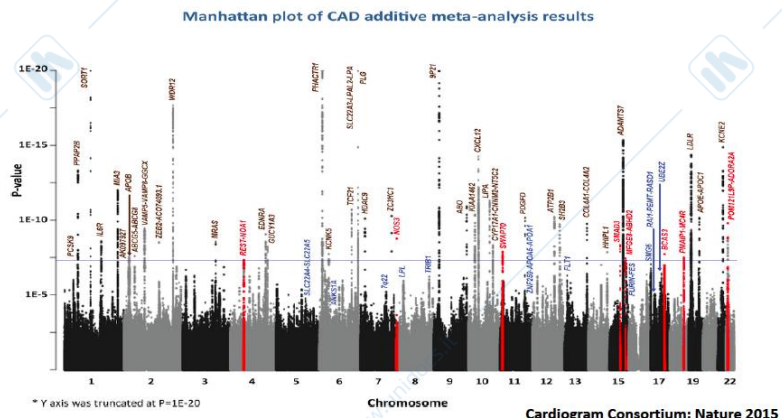
Presenta:

- in ascissa il cromosoma in cui si trova il determinato gene soggetto a polimorfismo e la sua posizione esatta;
- in ordinata il livello di correlazione tra il polimorfismo stesso e la malattia indagata.

Ogni puntino rappresenta una variante genica. Il grafico rappresenta l'associazione tra varianti e malattie. Si prendono tutte le varianti dal primo

## Possibili applicazioni della genomica

- Approccio unbiased: identificazione nuove vie molecolari/ geni coinvolti ad esempio nel diabete, CVD.



all'ultimo cromosoma e si vede quali sono associate a malattie. I puntini messi più in alto rappresentano le varianti maggiormente collegate a malattie.

## **I VANTAGGI DELLA GENOMICA NELL'INDAGINE DELLE MALATTIE MULTIFATTORIALI**

Il vantaggio principale della genomica sta nella possibilità di trarre nuove informazioni confrontando la prevalenza di ciascun polimorfismo tra popolazioni diverse: è possibile identificare il ruolo di un determinato gene in una determinata malattia osservando che esso è mutato più frequentemente in una popolazione con quella malattia piuttosto che nella popolazione generale.

Un altro grande vantaggio sta nella possibilità di calcolare uno score che quantifichi il rischio di un determinato paziente di andare incontro ad una certa malattia basandosi sui polimorfismi che l'indagine genetica ha rilevato. Ciò permette di discriminare le persone in "classi di rischio", caratterizzate ciascuna da un determinato score.

Ebbene, in ambito sperimentale le curve di Kaplan-Meier (curve di sopravvivenza) hanno dimostrato come classi di rischio con score differenti presentino effettivamente valori di mortalità diversi per la malattia indagata.

Tutto questo ci indica quanto l'indagine genetica delle malattie multifattoriali sia promettente e quanto probabilmente presto la vedremo anche in ambito clinico.

Esempio: Prendo 160 varianti geniche e noto quali di esse sono maggiormente correlate ad una determinata malattia. In questo modo potrò stilare una classifica di rischio in base alle varianti genetiche presenti nei soggetti.

*Curiosità: sebbene l'utilizzo dell'indagine genetica non sia ancora stato approvato per un utilizzo clinico, c'è chi ha già pensato di utilizzarla a fine puramente commerciale. Se andate su Amazon potete già trovare alcuni kit che permettono di fare un'analisi genetica in casa, i quali alla fine vi restituiscono un numero che corrisponde al vostro rischio di andare incontro a determinate malattie. Si tratta di prodotti esclusivamente commerciali con un'attendibilità e un valore prossimi allo zero. Nonostante ciò il costo complessivo del kit può superare il centinaio di euro.*

Un domani saranno però sviluppate metodologie affidabili per eseguire un'indagine genetica sufficientemente attendibile per un utilizzo clinico.

Guardando al futuro queste cose ci saranno. I genetic score (score di rischio genetico) saranno utilizzati. Essi indicano la suscettibilità alla data malattia.

Un aspetto molto importante è rappresentato dalla farmacogenetica e dalla farmacogenomica. I farmaci possono avere effetti positivi o meno anche sulla base dei polimorfismi presenti nella persona che li assume. Si utilizzano marcatori specifici per individuare chi può rispondere meglio ad un farmaco rispetto agli altri. Es. per i farmaci antiretrovirali (HIV) si fa un'indagine genetica nei pz sieropositivi per stabilire a quale farmaco possono rispondere meglio. La stessa indagine si fa con le statine.

*DOMANDA: La TBC può essere considerata una malattia complessa? Ci hanno detto che anche le malattie infettive come questa possono essere considerate complesse in quanto esistono comunque persone più o meno suscettibili.*

*RISPOSTA: i concetti in gioco sono gli stessi che abbiamo visto in questa lezione. Entrano in gioco l'agente patogeno e i fattori che determinano la suscettibilità. La TBC può essere considerata complessa dal momento in cui dopo la prima infezione si ha la formazione dei granulomi in cui il batterio viene mantenuto confinato: qui svolge un ruolo importante la condizione immunitaria del paziente, la quale viene condizionata dalla presenza di altri agenti infettivi (es. HIV), dalla nutrizione del paziente, dalle condizioni socioeconomiche in cui vive ecc.....*