

EPIGENETICA E DEFICIT DI ALFA-1 ANTITRIPSINA: NUOVE STRATEGIE DIAGNOSTICHE

Pierpaolo Coni

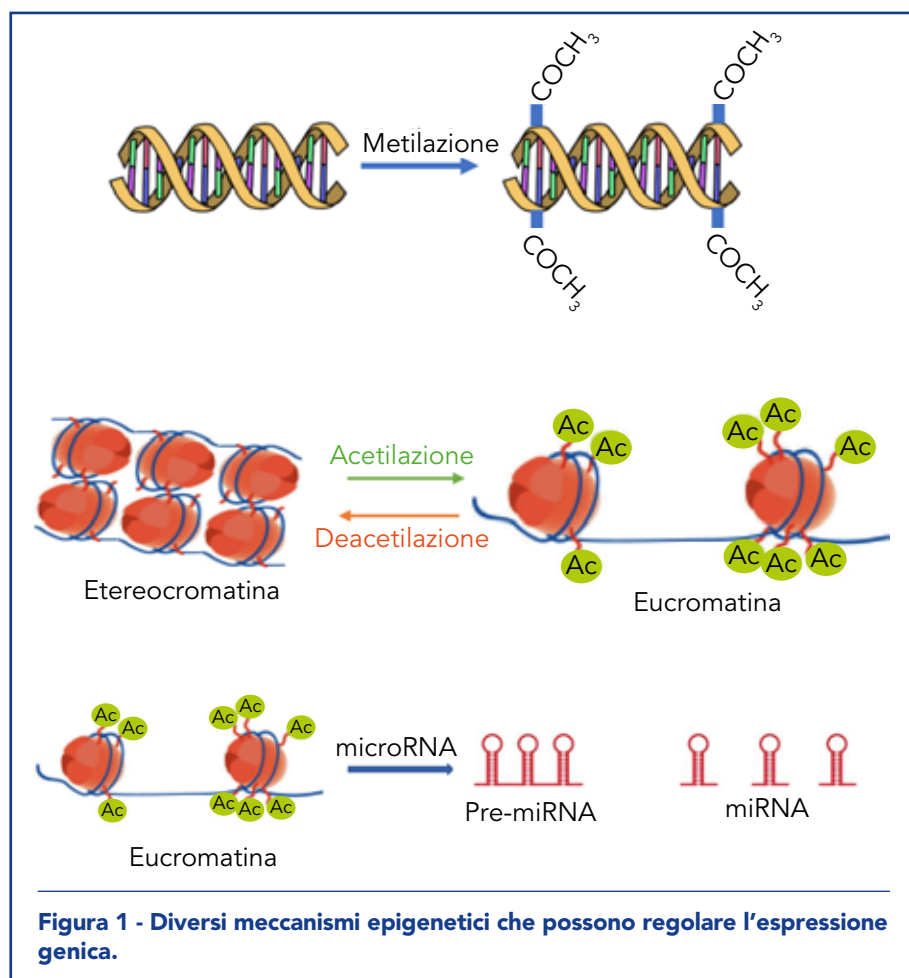
Servizio di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliera Universitaria di Cagliari

Dopo aver ottenuto la sequenza dell'intero genoma umano, abbiamo realizzato che solo circa il 2% del nostro DNA serve da stampo per le nostre proteine. Il dato più sorprendente è che è stato possibile aggiornare il numero dei nostri geni: secondo questa valutazione, abbiamo circa 20.000 geni e non 100.000 come indicato dal precedente calcolo che ipotizzava che ad un gene corrispondesse una proteina (uno vale uno) (1).

Si è quindi capito che la complessità di un organismo non dipende dal numero dei geni, ma dal modo in cui questi sono espressi e come interagiscono tra loro. È quindi plausibile che un gene possa codificare diverse proteine e che una stessa proteina possa svolgere diverse attività grazie al fatto che numerosi eventi possono condizionare

l'espressione genica. Ecco perché l'epigenetica è diventato un argomento così stimolante e oggetto di intensi studi: riesce in parte a spiegare come si può regolare il comportamento dei geni e come è possibile leggere e inserire nel nostro DNA nuove informazioni. La molecola del DNA rimane centrale, abbiamo però capito che si può modificare la sua lettura mediante la metilazione (ossia una modificazione epigenetica del DNA, il processo consiste nel legame di un gruppo metile (-CH₃) ad una base azotata), l'acetilazione delle proteine istoniche o altri modificatori genetici come i microRNA (miRNA; Figura1) (1).

Il deficit di alfa-1 antitripsina (DAAT) è uno dei disordini metabolici più comuni nelle persone di origine nord europea. Nonostante l'omogeneità genetica sottostante il DAAT, esiste una marcata variabilità fenotipica tra i pazienti, inclusa la presentazione clinica, l'età di esordio e il tasso di progressione della malattia epatica a fibrosi, cirrosi e cancro epatocellulare (HCC) (2). Il DAAT, è stato anche identificato come il primo determinante genetico accertato della broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) (3). Tuttavia, lo sviluppo della BPCO in soggetti con grave deficit omozigote di AAT è imprevedibile indipendentemente dallo stato di fumatore e l'impatto del fumo è variabile; parte di questa variabilità può essere dovuta ad alterazioni epigenetiche (3). Per questo motivo si è iniziato ad esaminare l'eterogeneità epigenetica, per capire se la metilazione del gene possa, almeno in parte, contribuire alla variabilità di espressione ed alla progressione della malattia (2). AAT è una proteina di fase acuta ed è stato dimostrato che i livelli circolanti nel siero sono quadruplicati durante infezioni, lesioni tissutali e infiammazioni (4) e possono aumentare di quat-



tro-sei volte pure durante il terzo trimestre di gravidanza (probabilmente per garantire una buona efficienza respiratoria); anche la metilazione del gene subisce cambiamenti nelle donne in gravidanza, passando da un 88% nel primo periodo a un 20% a fine gravidanza (4). Facendo seguito questa osservazione, una paziente con DAAT è stata trattata con la terapia sostitutiva durante la gestazione e si è notato che la sua capacità respiratoria è passata dal 48% a 80% e tutta la gestazione è andata bene. Il promotore dell'AAT è metilato in modo differente (ipermetilazione) nelle cellule del sangue di pazienti con patologie cardiache e polmonari (2) e ci sono diverse evidenze che suggeriscono la presenza di pattern di metilazione alterati nei pazienti con DAAT, in particolare nei fumatori (5). Nei fumatori adulti con DAAT, è stata trovata una correlazione positiva tra metilazione del gene AAT ed il rischio di sviluppare BPCO. In particolare, è stato notato che l'ipometilazione globale nei soggetti con DAAT possa essere associata all'età precoce in cui si inizia a fumare e all'essere un fumatore costante (3). I ricercatori quindi ipotizzano che i cambiamenti nella metilazione ed un'elevata conta di linfociti potrebbe essere un potenziale biomarcatore per

predire lo sviluppo della malattia nel DAAT (6). Sono stati identificati potenziali modificatori genetici coinvolti nelle malattie polmonari, che codificano rispettivamente per metallo-proteinasi della matrice e per il fattore di necrosi tumorale 1. Anche diversi miRNA sembra siano correlati con il DAAT. In questo modo si potrebbero identificare i cosiddetti pazienti con malattia minima o assente, individui con un ampio spettro di malattie associate al DAAT (7,8).

Un'altra scoperta rilevante è stata la tecnica CRISPR, strategia che inizia a dare frutti anche nelle malattie rare come il DAAT. Si tratta di un nuovo sistema di terapia genica "taglia e cuci" in grado di correggere le mutazioni (Figura 2) (1).

Queste strategie che riescono a correggere le mutazioni sono attualmente sperimentate in vitro ed in vivo in modelli animali e soggetti umani ed i primi risultati sono stati ottenuti con interessanti risultati su un modello sperimentale murino (9).

In conclusione, una nuova era in cui la tecnologia di editing genetico può essere utilizzata per inattivare o modificare i geni che causano malattie genetiche inizia a dare opzioni di trattamento efficaci anche per alcune malattie rare come il DAAT.

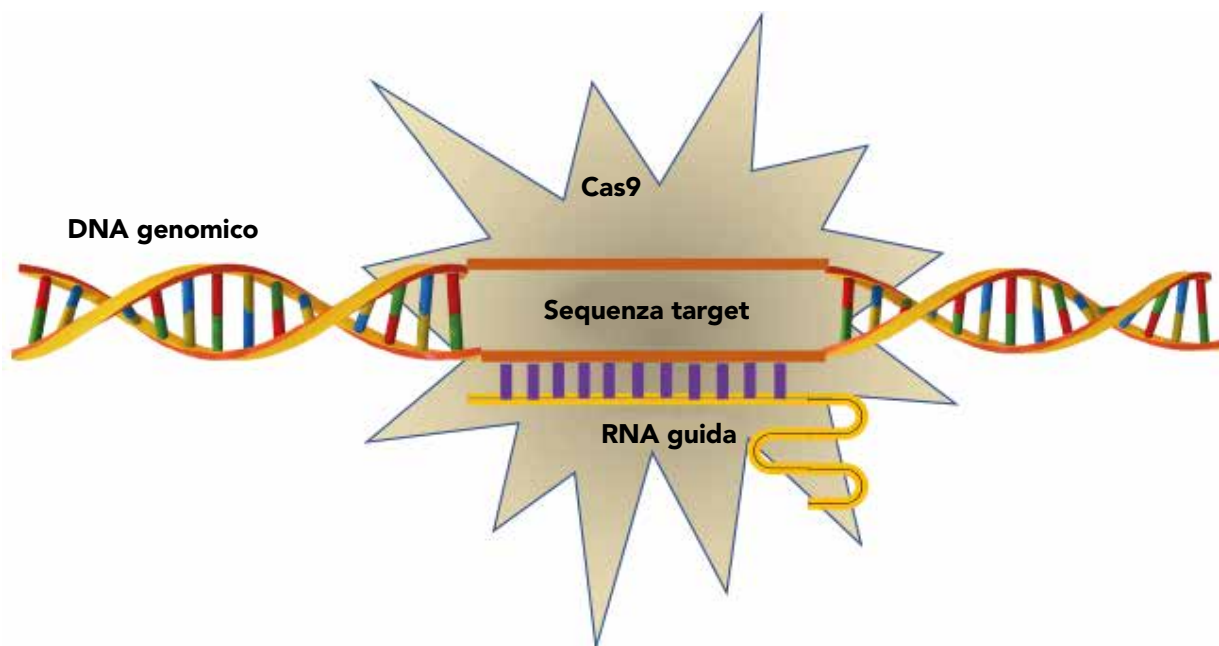


Figura 2 - Sistema CRISPR/Cas9. Una sequenza di RNA indirizza Cas9 (l'enzima che taglia) verso la sequenza specifica. Cas9 taglia il doppio filamento del DNA ed il frammento eliminato viene poi sostituito dalla sequenza corretta.

Bibliografia

1. Baralle FE, Giudice J. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2017;18:437-451.
2. Wang L et al. Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Liver Disease, Mutational Homogeneity Modulated by Epigenetic Heterogeneity With Links to Obesity. *Hepatology.* 2019;70:51-76.
3. Siedlinski M et al. Association of cigarette smoking and CRP levels with DNA methylation in α -1 antitrypsin deficiency. *Epigenetics.* 2012; 7: 720-8.
4. Rotondo JC et al. SERPINA1 gene promoter is differentially methylated in peripheral blood mononuclear cells of pregnant women. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:550-543.
5. Rahaghi FF. Alpha-1 antitrypsin deficiency research and emerging treatment strategies: what's down the road?. *Ther Adv Chronic Dis.* 2021;12: 77–90.
6. Rotondo JC et al. Methylation of SERPINA1 gene promoter may predict chronic obstructive pulmonary disease in patients affected by acute coronary syndrome. *Clin Epigenet.* 2021;13: 79.
7. Knowles MR "Gene modifiers of lung disease". *Curr Opin Pulm Med* 2006;12:416-421.
8. Dasi F et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers in alpha-1 antitrypsin deficiency patients. *European Respiratory Journal.* 2014;44:2038.
9. Stephens CJ et al. Targeted in vivo knock-in of human alpha-1-antitrypsin cDNA using adenoviral delivery of CRISPR/Cas9. *Gene Therapy.* 2018;25:139–156.

