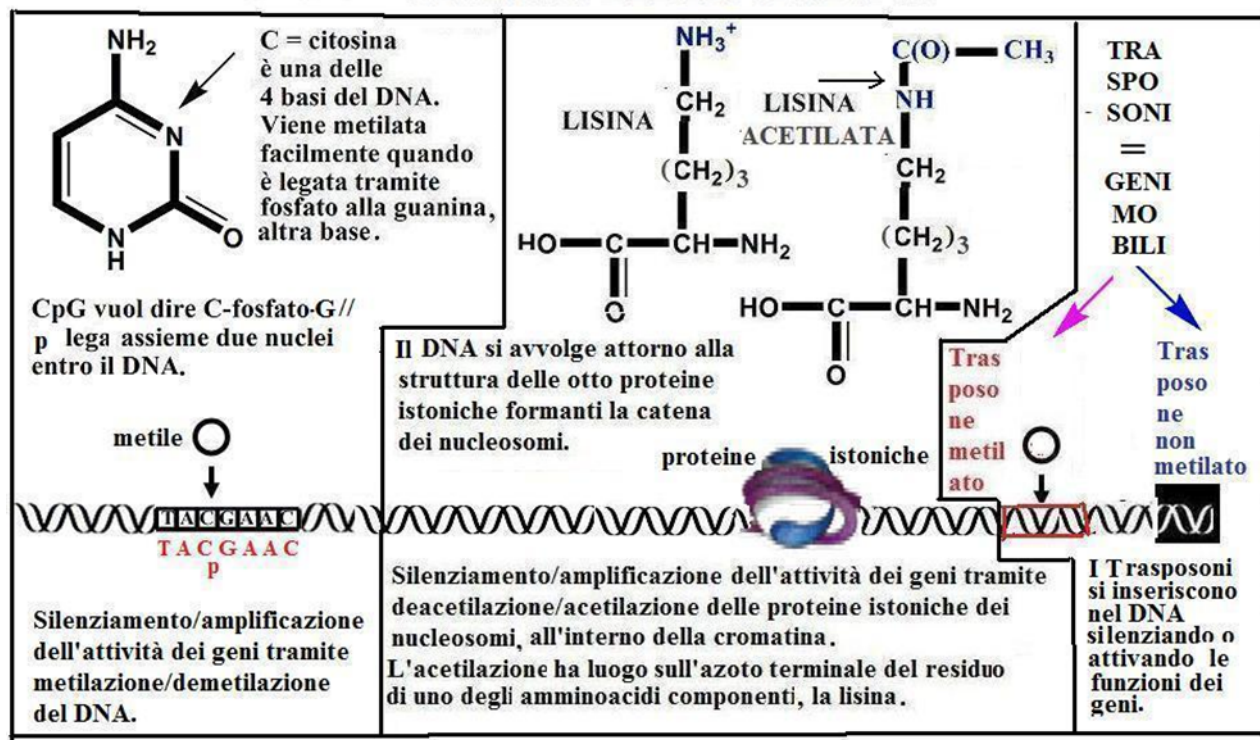


(sintesi compilativa di materiali vari prodotta dal chimico Gioacchino Boffa sul suo Blog "Molecole che passione")

CHIMICA DELL'EPIGENETICA



La parola epigenetica ricorre sempre più spesso nei lavori di genetica. Afferriamone il significato. Volendo fare una similitudine con un oggetto che ci è familiare possiamo esaminare com'è fatto un computer. C'è un hard disk e dei programmi. Ebbene, l'hard disk, che è munito degli strumenti fondamentali, somiglia al DNA ed i programmi somigliano all'epigenoma. L'hardware non basta per far funzionare il computer: anche se esso è dotato di un'unità centrale CPU e di una memoria di lavoro, c'è bisogno del software. Sull'hard disk vi sono delle zone protette da una password, altre non protette e quindi aperte. La stessa cosa avviene per il DNA. La genetica è il piano dell'architetto inserito in partenza nell'hardware, ma in corso d'opera l'epigenetica ha la possibilità di modificare la costruzione. Per epigenoma si intendono tutte le caratteristiche epigenetiche possedute da un organismo. Un'altra similitudine tra genetica ed epigenetica è che fu proposta da James Watson è quella dello spartito musicale, dei suonatori e degli strumenti: lo spartito è lo scritto con le note musicali corrispondente al progetto genetico, le cellule sono i suonatori componenti dell'orchestra che esegue il pezzo e gli epigenotipi ("epogenotypes" in inglese ...), gli strumenti usati per realizzarlo. I genetisti hanno coniato quest'ultimo termine per indicare la predisposizione di ogni singola cellula a differenziarsi in una certa particolare direzione sovrapponendosi al programma genetico fondamentale della cellula stessa (genotipo). L'epigenotipo rappresenta l'insieme dei marcatori epigenetici caratteristici che differiscono da cellula a cellula nello stato embrionale e che determinano il loro destino finale, se diventeranno ad esempio cervello od osso. Gli strumenti epigenetici concorrono non solo allo sviluppo della forma

adulta dell'organismo ma anche al passaggio dei caratteri da una generazione all'altra (sono in qualche modo ereditabili, ma in maniera probabilistica), senza che per questo ci siano variazioni nella sequenza del DNA. Contrariamente alle informazioni genetiche che sono statiche, quelle epigenetiche, capaci di modificare l'espressione dei geni, sono costantemente fluenti.

L'epigenetica, oltre che nello sviluppo embrionale, agisce nella mitosi delle cellule somatiche (il processo di divisione del nucleo per cui da uno se ne formano due), intervenendo in un meccanismo di memoria detta bookmarking, per cui la trasmissione dei geni alle cellule sorelle è assicurata solo dai geni marcati. È per questo che le cellule sorelle hanno solo e soltanto il disegno espressivo dei geni delle cellule da cui sono derivate. Il primo che usò la parola epigenetica fu Conrad Waddington nel 1942 definendola "come la branca della biologia che studia le interazioni causali tra geni e loro prodotti nel produrre il fenotipo".

Un meccanismo epigenetico che controlla l'attività dei geni è dato da una modificazione chimica del DNA, la metilazione. Delle quattro basi di cui è fatto il DNA (adenina, citosina, guanina e timina) è la citosina che, se particolarmente posizionata, ha la caratteristica (vedere immagine allegata) di essere facilmente metilata in presenza di un enzima metilante. La metilazione della citosina è in stretta relazione con la formazione di cromatina "chiusa" od aperta" (la cromatina è una miscela di DNA, proteine ed altre sostanze). Un'altra metilazione è quella a cui sono assoggettati i *trasposoni*, geni mobili che si clonano per loro conto e mandano copie in zone distanti del DNA inattivando od attivando eccessivamente geni del DNA.

Ancora un altro tipo di codificazione epigenetica è quello fornito dalle proteine istoniche dei nucleosomi, trovantisi all'interno della cromatina in corrispondenza di ogni 200 coppie di nucleotidi del DNA. I nucleosomi sono regolatori del DNA favorendo od impedendo la trascrizione dei geni mediante l'aggiunta o la sottrazione nella loro struttura di piccoli aggruppamenti chimici, come l'acetile COCH₃, il metile CH₃, il fosfato PO₄. Il nucleosoma cambia in un certo senso la sua natura chimica, facendo in modo che la cromatina rimanga più chiusa o più aperta. Nel caso dell'acetile, ad es., l'acetilazione produce sui geni adiacenti azione di favoreggiamento della trascrizione, la deacetilazione effetto negativo. Ci sono anche prove che le specifiche combinazioni degli istoni possono essere lette come dei codici. Dal punto di vista chimico gli istoni sono delle proteine a carattere fortemente basico a causa della notevole presenza nella molecola di diamminoacidi.

Può essere molto istruttiva l'immagine che apre la pagina successiva (riportante i casi A e B) ricavata da [Epigenetica.htm](#)



Un terzo tipo di regolazione epigenetica è quello dei microRNA (mi RNA o miRNA), piccole o molto piccole molecole del genoma, non codificanti (cioè non traducibili in proteine), diverse a seconda del tipo di cellule, che sono in grado di modificare o sopprimere il funzionamento di un gene. L'azione dei microRNA avviene attraverso una regolazione della produzione di proteine tramite una loro fissazione a siti parzialmente complementari dei trascritti dello RNA messaggero (mRNA). La complementarità delle basi non avviene al 100%; ciò dovrebbe significare che i microRNA modulano la traduzione dell'mRNA senza annullarla.

Esistono anche i siRNA (acronimo di small interfering RNA), ma non sono la stessa cosa. Questi ultimi sono delle molecole sintetiche contenenti una sequenza di 21 nucleotidi affiancabili perfettamente a 21 nucleotidi di RNA per impedirne la traduzione. I siRNA, che si formano anche in modo naturale nelle cellule, sono usati come farmaci in varie terapie per spegnere ed accendere certi geni (anche se in un articolo di Jayakrishna Ambati dell'aprile 2008 sulla rivista Nature è stato messo in dubbio il loro meccanismo di interferenza). Secondo uno studio pubblicato dal PNAS è possibile che i siRNA ed i microRNA siano funzionalmente intercambiabili, almeno in colture di cellule umane (per saperne di più [cliccare qui](#)). Oggi si ritiene che oltre ai microRNA ed ai siRNA esistano anche degli RNA molto grandi non codificanti implicati nello stabilire configurazioni aperte o chiuse in specifiche regioni del DNA e perfino su di un intero cromosoma.

Conclusione: l'epigenetica descrive un effetto ereditabile relativo alla funzione dei geni o dei cromosomi non accompagnato da cambiamenti della sequenza del DNA.

Dopo aver sommariamente illustrato questi strumenti, alcuni dei quali tipicamente chimici (cioè quelli che spesso i chimici usano in laboratorio, come nella figura allegata), od anche di affiancamento dei microRNA allo RNA messaggero (mRNA), ci si chiede dove e come notiamo l'influenza dell'epigenetica. La notiamo soprattutto nello sviluppo embrionale dove il silenziamento è estremamente importante. La metilazione agisce sulla struttura della cromatina e ciò determina quali geni devono essere silenziati nello sviluppo embrionale dopo la divisione cellulare. Gli addetti ai lavori parlano di "switch" genetici ed epigenetici. Trattasi per quelli genetici di proteine codificate nella sequenza del DNA detta "fattore di trascrizione". Per quelli epigenetici intervengono modificazioni del DNA tramite reazioni chimiche dirette o delle proteine istoniche con alterazioni della struttura della cromatina. Questi "switch" partecipano a tutta una serie di processi biologici, tra cui, oltre allo sviluppo di organi nella fase embrionale, anche a diabete di tipo II, cancro e rene policistico.

Studi di laboratorio hanno dimostrato che il tipo di dieta in gravidanza può influenzare il colore del pelo della figliolanza del roditore americano Agouti, una specie di coniglio selvatico dalla carne molto gradita agli Indiani. Esso può avere il pelo bruno, giallo oppure screziato. Quando la dieta è fatta con un'abbondante aggiunta di metilanti, come la cobalammina (vitamina B12) o l'acido folico (vitamina B9), i neonati sviluppano in gran parte il colore bruno. I neonati di controllo le cui madri furono alimentate senza supplemento hanno colore giallo.

Un altro fenomeno epigenetico è il seguente: Due gemelli omozigotici hanno identico DNA, anzi si può dire che questa stranezza della Natura, che si verifica in un parto su 250, avviene come se uno dei due fosse un clone dell'altro. Se uno dei due fosse autore di un delitto e lasciasse una traccia del suo DNA, i genetisti che esaminano il caso, dopo aver esaminato quella traccia, non saprebbero scegliere quale dei due è colpevole. Supponiamo però che entrambi siano destinati geneticamente a sviluppare il diabete di tipo II; ma che solo uno si ammali, cosa che realmente accade. Come si spiega? È perché i due sono geneticamente identici, ma non epigeneticamente. Certi geni diventano attivi in un gemello e non in un altro. Probabilmente si tratta di un diverso profilo di metilazione del DNA causato anche dall'ambiente in cui si vive. Forse anche dall'alimentazione.

Un secondo esempio è quello dell'agnello Solid Gold, un agnello nato per caso in un allevamento dell'Oklahoma (USA) avente i quarti posteriori molto sviluppati, caratteristica a cui è stato dato il nome di "carattere callipigio" (ingl.callipyge). (La parola, epiteto di Afrodite, è derivata dal greco kallòs = bello pyghè = natica). L'animale fu fatto crescere ed usato per la riproduzione. I figli dell'ariete Solid Gold furono tutti callipigi e, fatti a loro volta accoppiare con pecore normali, dettero il 50 % di callipigi, sia maschi che femmine, cosa in accordo con le previsioni. Quando però le femmine callipige furono fatte accoppiare con maschi normali, nessun figlio era callipigio. Invertendo ancora le cose, cioè maschi callipigi e femmine normali, ecco che si riottenne il 50% di callipigi, maschi o femmine che fossero. La spiegazione viene data attraverso l'intervento dell'imprinting genomico (da non confondere con l'imprinting di K. Lorenz, la modalità di comportamento degli animali), un fenomeno che ha luogo quando l'espressione genica di due alleli con sequenza di basi identica produce effetti diversi nello sviluppo dell'embrione a seconda che la copia viene ereditata dal genitore maschio o dalla genitrice femmina. 'le scienze', gennaio 2004, n. 425, 82 Talvolta un imprinting anormale può provocare l'aborto. La copia materna può essere più metilata della paterna e viceversa (la metilazione è l'introduzione di un gruppo metile - CH₃ che negli eucarioti regola l'attività dei geni e l'imprinting). In sostanza un animale per avere le belle natiche deve ereditare l'allele mutante dal padre ed il tipo "wild-type" dalla madre. Sembra che siano dei geni microRNA che agiscono facendo aumentare l'attività di un piccolo gruppo di geni "imprinted" del DNA (cioè relativi ad un solo allele, quello paterno) che sono responsabili dello sviluppo muscoloscheletrico. Questo tipo di trasmissione ereditabile si dice eredità non mendeliana (non-Mendelian inheritance), perché devia dalle regole di Mendel, una delle quali dice che è indifferente che i geni, siano essi dominanti o recessivi, stiano sull'allele paterno o materno, ovverosia, dette AA ed aa, rispettivamente, le coppie di alleli dominanti e recessivi, è indifferente che esse provengano dal padre o dalla madre: daranno nella prima generazione tutta figliolanza Aa e nella seconda figliolanza AA:Aa:Aa:aa.

Un altro esempio di epigenetica non ha a che fare con un incrocio: è quello della gatta Calico clonata, quindi avente l'identico DNA di una delle due madri, quella che ha fornito il patrimonio genetico, dal pelo arancione. Questa figlia dovrebbe essere la perfetta fotocopia della madre, ma ha sorprendentemente il pelo screziato bianco-nero e non il pelo arancione tipico della madre. Quest'ultima aveva solo uno dei due cromosomi X attivo, quello che dava il pelo arancione (l'altra versione, con l' allele che dava il pelo nero, risultava inattivata, perché, come è noto, le femmine in ogni cellula del loro organismo non hanno due cromosomi X attivi, ma uno solo, essendo uno dei due silente, e nel caso della gatta Calico era stato accertato il silenziamento del cromosoma "pelo nero". (NOTA 1) Durante la gestazione l'epigenetica ha risvegliato anche il secondo cromosoma X, il "pelo nero". Il processo di inattivazione ha poi avuto luogo in modo casuale: ecco perché compare il pelo screziato bianco-nero. Pertanto non c'è certezza che la clonazione porti al colore della madre genetica: il risultato è casuale. Si tenga presente che l'altra madre non c'entra affatto, perché non ha fornito DNA nucleare, essendo stato il suo ovulo precedentemente svuotato del nucleo.

Secondo alcuni, oltre al diabete di tipo II, anche la tendenza all'obesità potrebbe passare attraverso le generazioni perché viene ereditato un insieme di interazioni tra gene ed ambiente

circostante al gene stesso (diremmo un certo epigenotipo). In realtà diabete ed obesità vanno a braccetto: un obeso su due dopo 25 anni di obesità diventa diabetico.

Conoscere la costituzione dei geni uno per uno è stato per la scienza solo l'inizio della conoscenza del processo di formazione di un vivente, perché ora capiamo (ma non sappiamo ancora spiegare in tutti i suoi aspetti) che interviene poi l'epigenetica a cambiare le informazioni fondamentali, introducendo le sue variazioni imprevedibili: in sostanza la varietà della vita è data anche da questa successione di variabili casuali.

Un aspetto dell'epigenetica avente relazione alle cellule staminali potrebbe svelare, se l'ipotesi si dimostrasse esatta, ma è ancora tutta da dimostrare, che il destino di tali cellule è strettamente controllato da meccanismi epigenetici, che mantengono chiuse certe regioni del genoma ed aperte altre. Sono proprio queste ultime, le regioni aperte, non sottoposte alle restrizioni epigenetiche, che permettono ad una cellula staminale di trasformarsi in una cellula totipotente (studi di un gruppo di ricerca guidato da Amanda Fisher – Londra).

Un concetto fondamentale emerge oggi nel mondo della ricerca: esiste un codice epigenetico (tutto da scoprire) capace di estendere il potenziale di informazioni del codice genetico. Il meccanismo più importante è costituito dalle proteine capaci di mettere un gene in un intorno cromosomale differente (sono cioè le alterazioni dell'impacchettamento del DNA) che fanno agire o non agire tale gene.

Gli embrioni dei mammiferi sviluppano diversi tipi di cellule. Le proteine istoniche attorniano il DNA, contribuiscono a rendere specifico lo sviluppo di alcuni tipi di cellule. Si sa inoltre che queste modificazioni epigenetiche vengono variate, o verosimilmente cancellate o ricomposte, durante la produzione di sperma o di uova (riprogrammazione epigenetica, epigenetic reprogramming in Inglese), ed è per questo che l'embrione può dar luogo ad un nascituro con tipi di cellule differenziate. Per riprogrammazione epigenetica si intende, in particolare nelle cellule dei primi stadi dello sviluppo embrionale, il "resetting", il riaggiustamento dei marcatori epigenetici. Giuocano un ruolo importante nello sviluppo embrionale e nell'evoluzione. In questo secondo caso si hanno cambiamenti, non determinati da variazioni della sequenza del DNA, nella funzione dei geni che possono essere ereditati. Determinati, ad esempio, da modificazioni istoniche o da metilazione del DNA.

La riprogrammazione epigenetica si ritiene abbia luogo anche nello iPSC (acronimo di Induced pluripotent stem cells), quando si realizza una cellula staminale pluripotente da una cellula adulta somatica. Sono interessati a tale operazione i geni promotori Oct-3/4, Rex1 e Nanog.

I marcatori epigenetici possono anche mutare ed allora si parla di epimutazioni. Alcune di queste epimutazioni si creano mitoticamente nei tessuti somatici (quando da un nucleo si formano due nuovi nuclei) e passano meioticamente negli spermatozoi e nelle uova (allorquando il nucleo si divide in quattro nuovi nuclei ognuno contenente metà del numero dei cromosomi di partenza). L'opinione più diffusa è che tali mutazioni dovrebbero essere soppresse dopo la fecondazione.

all'inizio della vita, ma talvolta non lo sono, per cui è possibile che vengano ereditate dal nascituro, di cui quindi viene modificato il genotipo.

C'è chi parla di memoria epigenetica, come quella studiata dallo scienziato neolamarckiano Marcus Pembrey. Egli appartiene a quel gruppo di genetisti che credono alla "soft inheritance" per cui la base genetica dei caratteri viene modificata o dall'ambiente o dalle abitudini o da altri fattori e che il genotipo modificato passi alla generazione successiva. Si cerca di rispondere alle domande: La cultura del genitore si trasmette in qualche misura attraverso i geni? E l'obesità, lo stress, le abitudini alimentari, il vizio del fumo possono passare da una generazione alla successiva? Lo sperma (o le uova) trasmettono informazioni degli antenati prossimi? Secondo alcuni ricercatori esisterebbe anche una memoria cellulare, per cui un trapiantato cambierebbe certe abitudini (per es. il gusto) dopo aver assunto il nuovo organo. Ma tali studi devono essere di straordinaria complessità se si postula che da una generazione all'altra passano solo i geni, anche se ereditiamo la possibilità di sintetizzare gli elementi epigenetici di controllo. Scientificamente provato è l'apparente lamarkismo della Wolbachia. (Il lamarkismo, detto anche evoluzione lamarckiana, è la teoria secondo la quale un organismo può trasmettere alla prole caratteristiche acquisite durante la sua vita). La Wolbachia è un batterio che attacca gli insetti e fa far loro solo femmine (potrebbe essere utile in agricoltura), come ha illustrato il professore Mauro Mandrioli, docente di genetica animale alle Università di Modena e di Reggio Emilia, che ha accennato, parlando di questo insetto in una puntata di Radio 3 Scienze (20.10.2008), anche all'epigenetica in generale. Uno dei dogmi della genetica è da sempre legato all'impossibilità di ereditare caratteri acquisiti, contrariamente a quanto proposto da Jean-Baptiste Lamarck. Ogni modificazione di tipo epigenetico dovrebbe essere rimossa a livello germinale. Non dovrebbero quindi passare le modificazioni parentali della cromatina (il complesso di proteine dei cromosomi, il cui cambiamento di forma produce un cambiamento dello stato funzionale del DNA). Ad esempio, non dovrebbero passare le alterazioni ormonali, lo stato di stress dei genitori; eppure ci sono molte evidenze che tali passaggi, anche se limitati, avvengono. Queste modificazioni avverrebbero a seguito di segnali molecolari epigenetici, che provocano una vera e propria cascata procedente in una certa direzione (la *cascata* di geni è fatta di strutture multiple che vanno nella stessa direzione generale, anche se continuamente interagiscono cambiando i contorni reciproci, così come avviene in una cascata). La cancellazione a livello germinale dei caratteri come sopra acquisiti talvolta non avverrebbe ed i genitori trasmetterebbero questi caratteri ai figli che li manterrebbero a livello somatico, ed esiste qualche probabilità di poterli ancora trasmettere ai nuovi discendenti. Stando ad alcuni esperimenti fatti sui polli da Jensen Linköping ed altri e pubblicati su PlosONE (Linköping University, Svezia), pare che l'impronta epigenetica parentale sia, almeno in parte, ereditabile. L'opinione più comune tra gli scienziati che studiano il problema è che la trasmissione ai figli delle caratteristiche acquisite dai genitori è solo funzionalmente simile, ma non è quella di Lamarck, che, vista alla luce delle odierne conoscenze, comporterebbe il cambiamento del codice genetico.

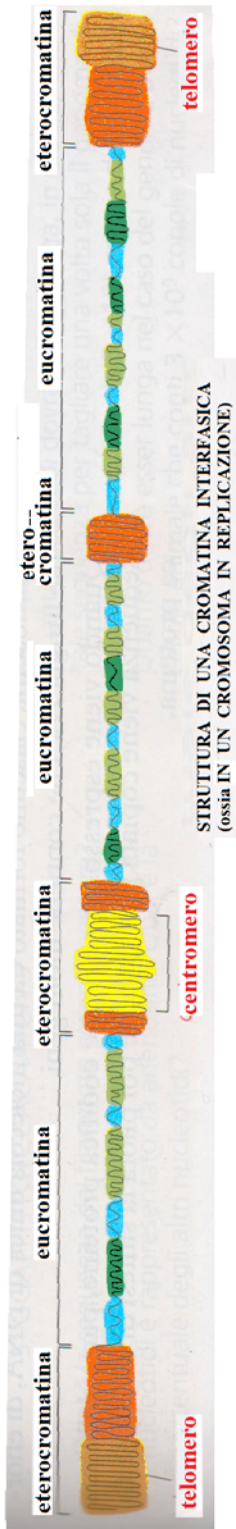
Circa le malattie derivate da irregolarità epigenetiche, i geni *imprinted* giuocano un ruolo importante, perché sono attivi nello sviluppo fetale e sono spesso implicati nei disordini della crescita. Nel campo dei tumori si parla di trans-differenziazione epigenetica (EMT). La trans-

differenziazione è la diretta conversione di una cellula di tipo differenziato in un'altra, come quello, tanto per intenderci, che avviene nei polli ai quali, se rimosso, ricresce il cristallino dell'occhio a partire dall'iride o nella salamandra a cui ricresce una zampa perduta. Nel caso del cancro l'EMT forma una cellula cancerosa a partire da una cellula sana, per es. da una cellula epiteliale nel caso del carcinoma della mammella e di altri carcinomi. Attualmente si pensa (e vi sono ricerche in corso) che questo passaggio avvenga soprattutto a causa di modulazioni epigenetiche.

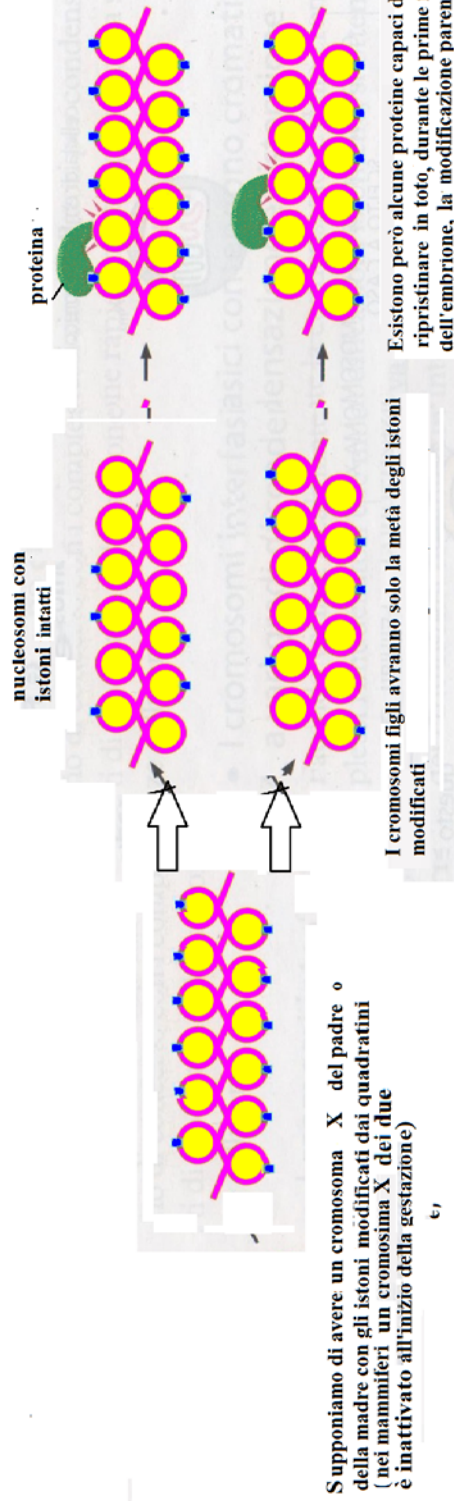
Un campo della carcinogenesi dove si concentra molta ricerca è quello nato dall'osservazione che nei tessuti normali le metilazioni del DNA si riscontrano nelle regioni codificanti, malgrado vi esistano poche isole CpG, mentre nelle regioni non codificanti cosiddette "promoventi", dove esistono molte isole CpG, la metilazione non avviene, e ciò malgrado l'esistenza di dette isole, che, come abbiamo visto, si metilano a preferenza nelle fasi dello sviluppo embrionale dove è normale il silenziamento di certi geni e l'attivazione di altri; invece nel cancro si hanno delle ipermetilazioni localizzate.

I biochimici hanno instaurato un promettente metodo di analisi per il cancro alla prostata, basato sulla sull'accertamento dell'ipermetilazione del gene GSTP1 ("pi-class glutathione S-transferase"). Sembra questo un metodo eccellente di controllo del cancro alla prostata se è vero che l'ipermetilazione delle sequenze di questo locus furono ritrovate in tutti i campioni di tessuto di 20 pazienti con carcinoma della prostata, ma in nessuno dei tessuti di pazienti affetti da iperplasia prostatica. Inoltre nei tessuti prostatici affetti da cancro furono trovati marcatamente bassi livelli di espressione di tale gene. Metilare è uguale a silenziare; ma troppa metilazione può stroncare il lavoro dei geni soppressivi dei tumori e dei geni riparatori del DNA. Questa nuova frontiera nella ricerca contro il cancro basata sull'epigenetica tiene in considerazione il fatto che la metilazione dà luogo all'imprinting, per cui uno dei due alleli di una coppia di geni viene silenziato. Ciò è un problema se per caso il gene è protettivo e l'altro allele è danneggiato. Metodi veloci e raffinati sono stati ora messi a punto per la determinazione dei profili della metilazione, cioè il modo in cui il DNA è metilato in presenza degli enzimi della metiltrasferasi. I geni soppressivi si chiamano anche antioncogeni. Essi proteggono la cellula nella progressione verso il cancro (un oncogene, viceversa, è un gene che se mutato ed espresso ad alto livello aiuta a trasformare una cellula da normale a cancerosa). A.G. Knudson partendo dal caso del retinoblastoma stabilì la regola che gli alleli mutanti dei soppressori dei tumori sono normalmente recessivi (per cui se solo un allele del gene è danneggiato il secondo può ancora produrre la corretta proteina), anche se esistono delle eccezioni, ad es. nel caso del gene p53 che è dominante. Le mutazioni dell'oncogene, al contrario, interessano un solo allele, che è dominante. L'ipometilazione sarebbe un segnale di sovraespressione degli oncogeni entro le cellule cancerose.

(NOTA 1) - Nei riguardi del silenziamento può essere utile la figura alla pagina successiva, che mostra il meccanismo teorico della disattivazione nel passaggio da madre a figlio di uno dei due cromosomi X. Si notino anche le due dizioni di eterocromatina ed eucromatina.



L'adensamento in eterocromatina disattiva un cromosoma X, che può essere, a caso, quello materno o quello paterno



SILENZIAMENTO DEL CROMOSOMA X