

Epigenetica cerebrale, i segni dell'ambiente e della società nel cervello.

Abstract

È in corso un cambiamento radicale nella tradizionale visione della "genetica comportamentale", che si proponeva di individuare nei geni le cause certe delle caratteristiche individuali, comportamentali e anche di patologie psichiatriche gravi. Dalla ricerca in campo epigenetico emerge che il genoma cerebrale viene modulato nella sua espressione da meccanismi epigenetici che mediano le influenze dell'ambiente fisico e sociale sul cervello e sull'organismo nel suo insieme. Lo studio dell'epigenetica cerebrale ci consente una nuova visione anche di patologie psichiatriche gravi come i disturbi autistici, aprendo nuove strade per un approccio integrato ed efficace alla cura.

Fino a pochi anni fa l'epigenetica era definita come lo studio dei cambiamenti ereditabili nell'espressione genica che non sono causati da cambiamenti nella sequenza del DNA. Oggi, possiamo dire, con più precisione, che è lo studio dei cambiamenti nell'espressione genica che non sono causati da mutazioni genetiche e che possono essere ereditabili (Sweatt, Meaney, Nestler, Akbarian 2013, cap. 1)¹. Questo significa che i cambiamenti nell'espressione genica possono intervenire anche in cellule che non hanno eredi, che cioè non si dividono, come per esempio i neuroni e i linfociti maturi. L'epigenetica quindi più in generale indica un determinato assetto dell'espressione genica che condiziona l'insieme delle attività della cellula in risposta agli stimoli ambientali. Si tratta cioè di un cambiamento adattativo. Per esempio, i neuroni usano meccanismi epigenetici per l'apprendimento, la memoria, quindi per attività fisiologiche, ma il cervello può ricevere una "segnatura" epigenetica anche in condizioni patologiche, come nel caso di un disturbo mentale (depressione o altro).

Questo tipo di segnatura, legata allo stato di salute di un organismo, può essere reversibile, a differenza della segnatura che interviene nella formazione dell'organismo (ontogenesi), che è caratterizzato da cellule che, per forma e funzioni, sono molto diverse tra loro, pur venendo tutte dallo stesso patrimonio genetico costituito dall'ovulo fecondato (zigote).

Come è possibile, infatti, che da una unica cellula, dotata di un unico patrimonio genetico, possa sorgere l'enorme diversità interna che troviamo in un organismo? Il mistero è spiegabile con la segnatura epigenetica permanente, che, senza cambiare i geni di quella cellula che diventerà un neurone, o dell'altra che diventerà un epatocita o una cellula cutanea, ne modula l'espressione genica segnando permanentemente il loro destino.

Possiamo quindi dire che i meccanismi epigenetici, con modalità e stabilità diverse, intervengono in diversi contesti, o, meglio, in tutte le fasi della vita: dalla formazione dello zigote (ovulo fecondato) allo sviluppo dell'embrione fino alla vita dell'organismo sviluppato (vedi box):

Box L'epigenetica nelle diverse fasi della vita².

I meccanismi epigenetici intervengono:

- Nell'imprinting del genoma. Questo tipo di segnatura può essere parzialmente reversibile. Il caso più rilevante e noto è quello della riattivazione di uno dei due cromosomi X che viene silenziato, con meccanismi epigenetici, nelle prime fasi della vita delle femmine
- Nello sviluppo dell'embrione, segnando il destino delle diverse cellule che andranno a formare i diversi tessuti e organi. Questo tipo di segnatura è permanente ed è trasmessa alle cellule figlie (ereditarietà mitotica).
- Nella vita dell'organismo sviluppato, segnando in modo stabile processi di adattamento o di disadattamento agli stimoli ambientali. Questa segnatura è stabile ma è reversibile. Al tempo stesso può essere trasmessa, con dimensioni e caratteristiche ancora non sufficientemente chiarite, attraverso le generazioni (ereditarietà meiotica o transgenerazionale).

(da Bottaccioli F. (2014) *Epigenetica e Psiconeuroendocrinoimmunologia. Le due facce della rivoluzione in corso nelle scienze della vita*, Edra, Milano)

FRANCESCO BOTTACCIOLI

Direzione Master II livello in
"Psiconeuroendocrinoimmunologia e
Scienza della cura integrata"
Dipartimento Medicina clinica
e scienze della vita Università
dell'Aquila. Società Italiana di
Psiconeuroendocrinoimmunologia
(SIPNEI), Roma

Per corrispondenza:
bottac.fra@gmail.com

■ Epigenetica delle prime fasi della vita

Di notevole interesse, anche per i suoi risvolti pratici, gli studi che da anni conduce il Laboratorio diretto da Michael Meaney alla McGill University a Montreal, centrati sulle relazioni materne e ambientali delle prime fasi dello sviluppo e l'assetto dell'asse dello stress (asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene, HPA) dei giovani ratti oggetto delle sperimentazioni. Cuccioli allevati da madri "poco premurose" rispetto ad altri allevati da madri "premuose", presentavano una ipermetilazione a livello

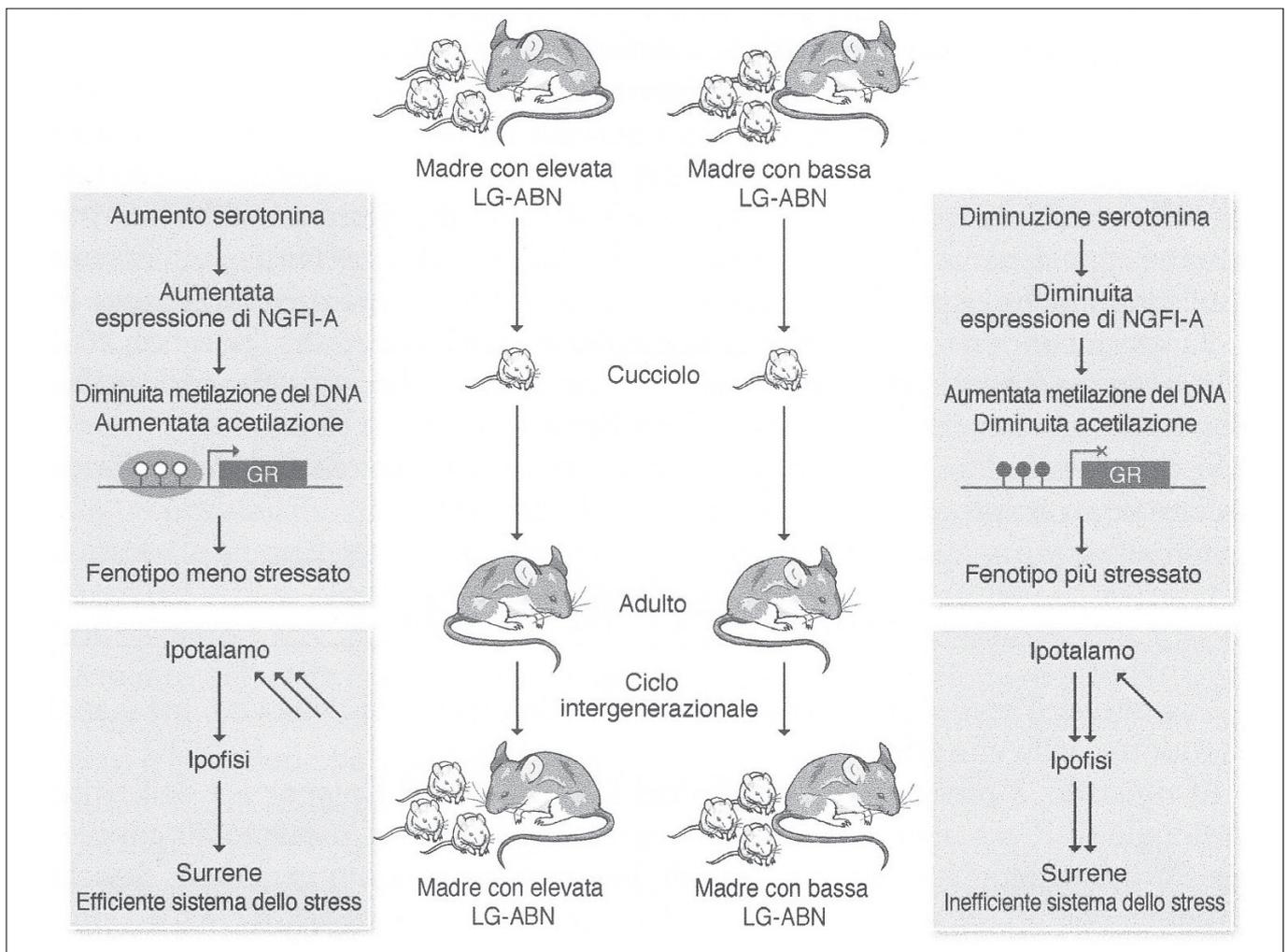
della citosina e degli istoni del promotore del gene del recettore per i glucocorticoidi (GR) dell'ippocampo.

Questi animali, nel corso dello sviluppo, presentavano una alterazione della risposta di stress rispetto a ratti allevati con maggiore cura e, il dato più importante, le femmine degli animali, allevati da madri poco amorevoli, presentavano lo stesso epigenoma delle madri e quindi riproducevano lo stesso comportamento, poco amorevole, sui loro figli (vedi Fig).

A sinistra cuccioli allevati da madri ad alto livello di cura; a destra cuccioli allevati da madri a basso livello di cura. Nel primo caso l'aumento della serotonina nel cervello dei cuccioli accuditi determina l'aumento di un fattore di trascrizione cellulare (NGFI-A) che attiva (tramite la diminuzione della metilazione del DNA e l'aumento dell'acetilazione) il gene che comanda la produzione dei recettori per il cortisolo: ne risultano animali con un efficiente sistema dello stress (Ipotalamo-Ipofisi-Surrene) e, tra di loro, le femmine riproducono questo comportamento con i propri figli. Nel caso opposto si ha un blocco dell'espressione genica (ipermetilazione) che determina animali che hanno un sistema dello stress inefficiente con la riproduzione del comportamento materno di scarso accadimento.

Legenda: High-LC, High licking and grooming, Elevata attitudine a leccare e pulire (la prole)
NGFI-A, nerve growth factor-inducible clone A Clone A da fattore di crescita nervoso inducibile

Fonte: McGowan, Meaney, Szyf 2008 (modificata)



Un'infusione centrale di un inibitore dell'acetilasi istonica rimuoveva le differenze nell'acetilazione istonica, nella metilazione del DNA, nell'espressione del Recettore per i Glucocorticoidi (GR) e nella risposta dell'asse HPA allo stress.

Infine, che sia il comportamento materno a indurre la segnatura epigenetica e non una predisposizione genetica è dimostrato dal fatto che, quando i cuccioli nati da madri accudenti venivano fatti allevare da madri scarsamente accudenti, nell'ipotalamo dei cuccioli si registra la metilazione del gene per il GR e quindi questi animali si comportano come i cuccioli nati da madri poco accudenti.

Insomma, abbiamo la dimostrazione che un comportamento segna epigeneticamente un meccanismo biologico chiave per la salute e per il comportamento, come ribadiscono gli autori di questo fondamentale studio: "Noi abbiamo mostrato che lo stato epigenetico di un gene può essere stabilito attraverso un programma comportamentale e che è potenzialmente reversibile"³.

Ma che prove epigenetiche abbiamo negli esseri umani? Gli studi istologici in vivo negli umani sono ovviamente interdetti, per questo sono stati avviati, in anni recenti, complessi studi, che hanno come capofila la McGill University, che hanno esaminato i cervelli di persone morte di suicidio raccolti nel Quebec Suicide Brain Bank, una "banca" che custodisce ad oggi più di 3000 cervelli umani.

Il gruppo della McGill University ha cercato nell'ippocampo umano i riscontri di quanto trovato nell'ippocampo degli animali e ha trovato nelle persone morte suicide, con una storia di maltrattamenti nell'infanzia, un incremento, rispetto alle persone suicide senza storia di maltrattamenti, della metilazione dell'esone 1F, (che è l'equivalente umano dell'esone 17, che è ipermetilato nei ratti che ricevono scarse cure materne) che è cruciale per la codifica del recettore per il cortisolo⁴.

Ma abbiamo un'ulteriore cruciale conferma in vivo: un recentissimo lavoro di un gruppo dell'Università del Wisconsin ha documentato un'alterazione simile nel sangue di ragazzi tra gli 11 e 14 anni con una storia di maltrattamenti fisici⁵.

Del resto, la ricerca epidemiologica, da tempo, lega il sostegno familiare e la cura parentale alla salute del bambino e dell'adulto, segnalando che la qualità della cura familiare è fortemente dipendente, anche se non esclusivamente, dalle condizioni socio-economiche della famiglia. L'insicurezza familiare rende più insicuro lo stile di attaccamento del bambino, per dirla con lo psicologo ed etologo inglese John Bowlby, costruendo una personalità insicura, epigeneticamente basata su un sistema dello stress fragile, che la espone a malattie anche di tipo psichiatrico.

Una verifica epigenetica è stata pubblicata dal gruppo di Moshe Szyf, sempre della McGill University, utilizzando i dati del British Birth Cohort Study che ha coinvolto oltre 17.000 persone seguite, con regolari prelievi di sangue, alla nascita, avvenuta nel marzo del 1958, e poi

a intervalli regolari nell'infanzia, nella adolescenza e a 45 anni di età. I ricercatori, applicando ad un gruppo di loro l'analisi della metilazione del DNA, hanno trovato una differenza significativa tra le persone appartenenti ai gradini più alti della scala sociale rispetto a quelli che vivono in condizioni economico sociali più disagiate. Rilevante è anche il fatto che forte è la correlazione tra i livelli socio economici dell'infanzia e la metilazione nell'età adulta⁶. Relazione confermata da altri studi, tra cui uno realizzato a Vancouver in Canada da un gruppo di ricercatori della Università della British Columbia⁷. Insomma, l'epigenetica delle prime fasi della vita può lasciare segni rintracciabili anche nell'età adulta. Vediamo come è applicabile l'approccio epigenetico all'analisi di un tipico disordine dello sviluppo cerebrale come l'autismo

■ Nuove idee sull'autismo

I disordini dello spettro autistico (ASD) sono un complesso di disordini dello sviluppo cerebrale caratterizzati da alterazioni nelle interazioni sociali, nelle comunicazioni e negli interessi correlati, con comportamenti ripetitivi e stereotipati, che vanno da livelli di intensità lieve e moderata, che non compromettono il funzionamento sociale (Asperger ad alto funzionamento), fino a disabilità mentale grave.

La eziopatogenesi, nonostante la reiterata enfasi⁸ sull'origine genetica del disturbo, rimane non chiarita, mentre aumenta notevolmente la documentazione sulle componenti ambientali ed epigenetiche dei ASD. Documentazione che proviene sia da studi epidemiologici che da ricerca sperimentale.

A livello epidemiologico si è riscontrato, negli ultimi quarant'anni, un incremento di dieci volte della diagnosi dei ASD, passando da 4:10.000 negli anni '60 a 40:10.000 agli inizi del secolo presente. In California solo nel 2006 si sono registrate più di 3000 nuove diagnosi di autismo contro i 205 del 1990⁹.

Ora, anche scontando il miglioramento della diagnosi o, come dice un critico autorevole, "l'inflazione diagnostica" in corso in tutti i disturbi psichiatrici¹⁰, una certa percentuale di incremento è reale ed è calcolata attorno al 2-3% su base annua¹¹. Stando così le cose, l'incremento di ASD non può quindi essere addebitato alla genetica bensì alla modulazione epigenetica.

Nel mirino innanzitutto l'inquinamento ambientale, in particolare i cosiddetti Interferenti endocrini, che vanno dai pesticidi alle sostanze contenute nella plastica. L'ultima ricerca pubblicata, in ordine di tempo (pubblicata online il 23.06.2014 sulla Rivista del National Institute of Environmental Health Sciences), è il cosiddetto Charge Study (Childhood Autism Risks from Genetics and Environment), realizzato da un gruppo di ricerca di alto profilo dell'Università della California, basato su uno studio caso-controllo che ha valutato il livello di esposizione ai pesticidi in gravidanza e le nascite di bambini con ASD e ritardo nello sviluppo.

Circa un terzo delle madri dello studio sono vissute, du-

rante la gravidanza entro un raggio di 1,5 km dall'applicazione di pesticidi in agricoltura. La vicinanza all'esposizione a organofosfati è risultata associata ad un incremento del rischio di ASD del 60%, che diventa del 100% se l'esposizione è intervenuta nel terzo trimestre della gravidanza. Stessi risultati nel ritardo dello sviluppo¹².

Altri studi hanno documentato una associazione diretta tra parametri di inquinamento ambientale, stabiliti dalla Agenzia di Protezione Ambientale statunitense (EPA), e autismo, in particolare inquinamento da traffico urbano e polveri sottili (PM_{2,5} e PM₁₀).

Uno dei composti più studiati è il Bisfenolo A largamente presente nelle plastiche. Lavori sperimentali documentano un'azione del composto sull'RNA messaggero (mRNA) di alcuni geni che codificano per proteine fondamentali, come il recettore per gli estrogeni, per l'ossitocina e la vasopressina, che sono mediatori importanti del comportamento sociale e dei meccanismi empatici (studi riassunti da Siniscalco et al. 2013)¹³.

Da lavori sull'animale emergerebbe un profilo epigenetico dell'ASD contrassegnato da un'ipermetilazione sia dei geni che codificano per recettori per neuropeptidi e anche per segnali fondamentali nello sviluppo come l'acido retinoico (RORA retinoid acid receptor-related orphan receptor), ma anche per geni antiapoptotici come il BCL-2.

Altri studi segnalano ampie modificazioni epigenetiche a livello delle code istoniche con alterate metilazioni a livello della corteccia prefrontale in geni e loci implicati nella regolazione della connettività neurale, del comportamento sociale e della cognizione¹⁴.

Infine, sotto indagine lo stile di vita della madre, non più, in particolare, dal punto affettivo (la cosiddetta "madre frigorifero" secondo la contestatissima antica definizione dello psicanalista Bruno Bettelheim), quanto dal punto di vista alimentare, di condizioni generali di salute e di uso di farmaci in gravidanza.

I livelli di vitamina D della madre potrebbero influire, se carenti, sul macchinario epigenetico incrementando il rischio di ASD: il dato emerge da evidenze epidemiologiche¹⁵ e da lavori sperimentali¹⁶ che hanno interessato non solo le madri, ma anche bambini con autismo e altre patologie psichiatriche, i quali hanno una maggiore prevalenza di ipovitaminosi D rispetto ai coetanei senza disturbi psichiatrici¹⁷.

Infine, diversi lavori sul sistema immunitario meritano attenzione.

Una serie di studi su donne, in particolare durante il primo e il secondo trimestre di gravidanza, ha documentato che un'attivazione immunitaria, con conseguente incremento dell'infiammazione segnalata da un aumento delle citochine e da altri marker, aumenta il rischio di sviluppo di sindromi dello spettro autistico nei bambini¹⁸. Uno studio su oltre 10.000 casi di autismo, realizzato in Danimarca, ha trovato una significativa associazione tra infezioni virali nel primo trimestre della gravidanza e autismo¹⁹. Infine una serie di studi, realizzati post-

mortem, su persone con disordini dello spettro autistico, documenta una infiammazione cerebrale diffusa con forte attivazione della microglia²⁰. Le cellule microgliali sono i macrofagi del cervello, sono cellule immunitarie a tutti gli effetti e quindi anche forti produttrici di citochine infiammatorie, che sono state ritrovate nei reperti cerebrali indicati.

Negli ultimi anni è diventato chiaro che le citochine e le chemiochine, che collettivamente sono le molecole di comunicazione del sistema immunitario, non solo possono giungere dal resto del corpo al cervello²¹, ma vengono anche prodotte direttamente nel cervello, con funzioni varie, fisiologiche e patologiche. Per esempio le interleuchine 1 e 6 (IL-1, IL-6) sono essenziali per i processi di memorizzazione che si realizzano nell'ippocampo, l'area cerebrale deputata alla formazione dei ricordi. Da quello che sappiamo, le citochine prodotte dalla microglia, nel cervello in sviluppo, sono essenziali per la formazione delle connessioni, le sinapsi tra neuroni e astrociti (che sono un'altra importante classe di cellule nervose). Ora, è intuibile che, se queste stesse citochine (o altre) sono in eccesso, viene prodotta una infiammazione cerebrale che danneggia la formazione delle sinapsi²². E l'autismo, nelle sue diverse forme, è proprio un'alterazione nelle connessioni tra aree cerebrali, posto che il funzionamento del cervello richiede proprio questa continua capacità di connettere aree anche molto lontane tra loro.

Neuroinfiammazione significa anche aumento dell'ossidazione e della produzione delle specie reattive dell'ossigeno da parte degli organelli cellulari deputati al metabolismo e alla produzione di energia come i perossisomi e i mitocondri. E così il circolo si chiude: l'infiammazione danneggia i mitocondri che, a loro volta, aumentano la produzione di sostanze ossidanti che danneggeranno neuroni e cellule gliali incrementandone l'infiammazione.

Ma la storia non finisce qui, non può finire qui perché stiamo parlando non di un sistema cellulare, ma di una persona in sviluppo che ha un cervello connesso al resto dei sistemi biologici e che soprattutto comincia a produrre funzioni psichiche e mentali. Queste ultime, nel momento in cui emergono dall'attività nervosa, acquisiscono una loro dimensione che ha un ruolo centrale nello sviluppo del cervello medesimo. È l'emergenza di una dimensione psichica, sempre più articolata, che costituisce il principale volano per lo sviluppo del cervello del bambino. Il cervello del bambino autistico verso la fine del primo anno di vita, quando inizia l'esplorazione sempre più diretta del mondo, soffre del deficit di architettura delle connessioni nervose che rende imperfetta o assente la produzione di funzioni mentali complesse, le quali, a loro volta, faranno mancare al cervello gli input essenziali per l'ulteriore incremento della complessità dei circuiti cerebrali.

Queste linee di ricerca, sommariamente riassunte, che presuppongono una visione unitaria del disturbo autistico, già orientano pratiche cliniche di prevenzione e

cura.

Cura del sistema immunitario della gestante, la quale non deve solo difendersi dai virus, ma anche da fenomeni infiammatori sotto traccia derivanti per esempio da sovrappeso, da alimentazione infiammatoria, da preesistenti disordini metabolici o anche psichiatrici (ansia e depressione, per esempio, che spesso si accompagnano a un aumento dell'infiammazione). Cura del sistema immunitario del bambino fin dalla nascita, passando dal binomio novecentesco vaccini-antibiotici a una visione integrata che, per lo sviluppo equilibrato del sistema immunitario, coglie il ruolo dell'alimentazione²³, del tipo di cure che il bambino subisce, della qualità dei rapporti familiari e sociali.

In questo quadro ha un posto rilevante l'aiuto all'emergenza delle funzioni psichiche complesse del bambino da realizzare precocemente tramite specifici programmi di tipo cognitivo e comportamentale, di cui iniziamo ad avere i primi resoconti²⁴.

Bibliografia

1. Sweatt JD, Meaney MJ, Nestler EJ, Akbarian S (2013) Epigenetic regulation in the nervous system, Academic Press, Elsevier, Amsterdam
2. Bottaccioli F. (2014) Epigenetica e Psiconeuroendocrinoimmunologia. Le due facce della rivoluzione in corso nelle scienze della vita, Edra, Milano
3. McGowan P.O, Meaney M., Szyf M. (2008) Diet and the epigenetic reprogramming of phenotypic differences in behaviour, Brain Research 1237:12-24
4. Zhang Y et al. (2013) Epigenetic Mechanisms for the Early Environmental Regulation of Hippocampal glucocorticoid Receptor Gene Expression in Rodents and Humans, Neuropsychopharmacology Reviews (2013) 38, 111–123
5. Romens S. E. et al (2014) Associations between early life stress and gene methylation in children, Child Development DOI: 10.1111/cdev.12270
6. Borghol N (2012) Associations with early-life socio-economic position in adult DNA methylation International Journal of Epidemiology 41:62-74
7. Lam LL et al. (2012) Factors underlying variable DNA methylation in a human community cohort PNAS 109, suppl. 2 :17253–17260
8. Plomin R et al. (2013) Behavioral Genetics, sixth ed., Worth Publisher, New York
9. Hertz-Picciotto I, Delwiche L (2009) The rise in autism and the role of age at diagnosis, Epidemiology 20(1):84-9
10. Frances A. (2013) trad. it. Primo non curare chi è normale, Cortina
11. Newschaffer CJ, Falb MD, Gurney JG. (2005) National autism prevalence trends from United States special education data, Pediatrics.115(3):e277-82
12. Shelton JF. Et al. (2014) Neurodevelopmental Disorders and Prenatal Residential Proximity to Agricultural Pesticides: The CHARGE Study, Environmental Health Perspectives, DOI:10.1289/ehp.1307044.
13. Siniscalco D et al (2013) Epigenetics finding in autism: new perspectives for therapy, Int J Environ Res Public Health 10: 4261-4273
14. Shulha HP et al (2012) Epigenetic signatures of autism: trimethylated H3K4 landscapes in prefrontal neurons, Arch Gen Psychiatry 69(3):314-24
15. Grant WB, Soles CM (2009) Epidemiologic evidence supporting the role of maternal vitamin D deficiency as a risk factor for the development of infantile autism, HYPERLINK "http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20592795" \o "Dermato-endocrinology."Dermatoendocrinol 1(4):223-8.
16. Zhang M. et al (2013) Do children with mental disorders have higher prevalence of hypovitaminosis D? F1000Res. 2:159
17. Whitehouse AJ et al (2013) Maternal vitamin D levels and the autism phenotype among offspring, J Autism Dev Disord.43(7):1495-504
18. Patterson P.H. (2009) Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal model, Behavior Brain Research 204: 313-321
19. Atladottir H.O. et al. (2010) maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders J Autism Dev Disord 40: 1423-1430
20. Morgan JT et al. (2010) Microglial activation and increased microglial density observed in the dorsolateral prefrontal cortex in autism, Biological Psychiatry 68:368-376
21. Bottaccioli F. (2008) Il sistema immunitario la bilancia della vita, Tecniche Nuove, Milano
22. Onore C., Careaga M., Ashwood P. (2012) The role of immune system in the pathophysiology of autism, Brain Behavior and Immunity 26: 383-392
23. Critchfield J.W. et al. (2011) The potential role of probiotics in the management of childhood autism spectrum disorders. Gastroenterol Res Pract. 2011;2011:161358. Epub 2011 Oct 26
24. Dawson G. et al. (2010) Randomized, Controlled Trial of an Intervention for Toddlers With Autism: The Early Start Denver Model, Pediatrics 125:e17

