

LA GENETICA IN GERIATRIA: DAL FATTORE DI RISCHIO ALLA FARMACOGENETICA

Pilotto A.^{1,2}, Seripa D.², Matera M.G.², Franceschi M.¹, Dallapiccola B.^{2,3}

¹Unità Operativa di Geriatria, Dipartimento di Scienze Mediche, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG)
²Laboratorio di Gerontologia e Geriatria, Dipartimento di Ricerca, IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo (FG)
³Istituto "CSS-Mendel", Roma

Invecchiamento, complessità e genetica

L'invecchiamento è un fenomeno complesso nel quale fattori genetici interagiscono con fattori ambientali per provocare un processo degenerativo caratterizzato da modificazioni biologiche che intervengono a livello molecolare, cellulare e sistemico. Il termine complesso indica la presenza di una sicura componente genetica che, pur essendo necessaria, non è tuttavia sufficiente per iniziare il processo di invecchiamento. Solo la presenza di una componente ambientale accanto a quella genetica rende l'invecchiamento un fenomeno chiaramente manifesto. Naturalmente, la sola presenza della componente ambientale non è sufficiente per iniziare il processo di invecchiamento (1).

In realtà in questi ultimi anni abbiamo osservato un allungamento significativo della aspettativa di vita; tale fenomeno demografico è avvenuto senza che siano intervenute modifiche rilevanti nei fattori genetici, ma fondamentalmente influenzando l'ambiente in cui si sviluppa e cresce l'essere umano. Ciò non toglie comunque che la componente genetica possa avere un ruolo significativo, anche se solo in parte conosciuto, per interpretare alcuni degli aspetti dell'invecchiamento come fenomeno biologico (2). Di fatto, oggi noi sappiamo che la vecchiaia ha a che fare anche con quelle che sono le nostre caratteristiche genetiche. Scopo del presente articolo è quello di riassumere le attuali conoscenze e/o ipotesi sul ruolo dei fattori genetici nella interpretazione dei meccanismi biologici che sottendono all'invecchiamento.

La variabilità genetica

Le differenze somatiche che noi osserviamo tra persone diverse (differenze fenotipiche) sono fondamentalmente in relazione a due eventi genetici che conferiscono la cosiddetta variabilità genetica: le mutazioni rare, cioè presenti nella popolazione generale con una frequenza <1%, e le mutazioni comuni, presenti nella popolazione con una frequenza >1%. Queste ultime sono dette polimorfismi. Tutti noi possediamo nel nostro genoma sia mutazioni rare che polimorfismi (3). Mentre le mutazioni, più recenti dal punto di vista evolutivo, sono rare variazioni genetiche responsabili di importanti cambiamenti fenotipici come avviene nelle malattie semplici (malattie mendeliane), i polimorfismi, molto più antichi da un punto di vista evolutivo, sono comuni variazioni genetiche responsabili di minimi cambiamenti fenotipici (ad

esempio i gruppi sanguigni), che spesso mediano l'interazione con i fattori ambientali. I polimorfismi sono le variazioni genetiche più spesso coinvolte come fattori di rischio (o suscettibilità) nelle malattie complesse. Ad esempio, recentemente è stato descritto, per la prima volta, un raro allele del polimorfismo dell'apolipoproteina E (apoE) avvenuta in età tardiva in un soggetto con malattia del motoneurone (4).

I polimorfismi sono molto probabilmente coinvolti anche nel fenomeno dell'invecchiamento. È noto che all'interno di una coorte di soggetti sani della stessa razza provenienti dalla medesima area geografica, e quindi con lo stesso background genetico, esiste una grande variabilità nella lifespan. Questo fenomeno è dovuto proprio ai polimorfismi, cioè a piccole differenze presenti nel corredo genetico delle diverse persone. Chiarire in che proporzione ed in che modo queste differenze genetiche siano responsabili di questa variabilità è fondamentale per capire i meccanismi dell'invecchiamento e della longevità. Al riguardo, un recente studio condotto su una popolazione di 1344 soggetti sani e 64 centenari provenienti dall'area del Gargano ha dimostrato nei maschi una associazione dell'allele $\mu 2$ del polimorfismo dell'apolipoproteina E (apoE) con l'invecchiamento sano e la longevità; dallo stesso emerge anche una significativa associazione tra longevità e polimorfismo D del gene angiotensin-converting enzyme (ACE) (5).

Processi metabolici coinvolti nell'invecchiamento

I meccanismi biologici e cellulari responsabili dell'invecchiamento non sono ancora definiti; è opinione corrente che probabilmente il processo coinvolge una serie di fattori multipli come: (1) stress ossidativo con conseguente danno delle proteine e del DNA (6); (2) infiammazione cronica non-infettiva causata da una aumentata produzione di citochine (7); (3) aumento plasmatico degli acidi grassi liberi con conseguente condizione di resistenza tissutale all'insulina; (4) accumulo di prodotti di scarto cellulare come ad esempio la amiloide; (5) attivazione del sistema dell'angiotensina e/o alterazioni del sistema neuroendocrino; (6) perdita di cellule mature post-mitotiche con conseguente riduzione del numero dei neuroni e/o cellule muscolari (8).

In particolare, l'accumulo nella cellula di radicali liberi dell'ossigeno, comunemente chiamati specie reattive dell'ossigeno (ROS), è un fattore

influenzante l'invecchiamento. I ROS vengono prodotti nei mitocondri come prodotti secondari del metabolismo mitocondriale stesso oppure come prodotti dell'interazione con sostanze esogene presenti nell'ambiente; chimicamente i ROS sono composti dell'ossigeno con elettroni spaiati quali l'anione superossido (O_2^-), l'ossido nitrico (NO) ed il radicale idrossilico (OH). La presenza di un elettrone libero rende questi composti altamente reattivi e dannosi per i sistemi biologici, in grado di reagire, e quindi di danneggiare DNA, proteine e gli stessi mitocondri (6). I mitocondri, infatti, con l'invecchiamento si riducono di numero e aumentano in dimensioni, e questo processo avviene in maniera indiscriminata in tutte le cellule dell'organismo.

Il bilancio calorico della cellula ha un ruolo chiave nel favorire la longevità. È noto che una dieta ipocalorica, ma nutrizionalmente bilanciata, rallenta nell'animale i processi d'invecchiamento. La restrizione calorica (RC), infatti, abbassa le concentrazioni dell'ormone tiroideo triiodotironina (T3), che controlla il metabolismo cellulare e l'omeostasi energetica dell'organismo. È questo ormone che controlla la temperatura del corpo, il metabolismo cellulare e probabilmente la produzione di radicali liberi dell'ossigeno, tutti fattori importanti nel modulare i processi d'invecchiamento.

Un regime equilibrato di RC è anche in grado di ridurre la concentrazione di una potente molecola infiammatoria, il cosiddetto tumor necrosis factor di tipo alfa (TNF- α). La combinazione di queste due condizioni, ovvero bassi livelli di T3 e ridotto stato infiammatorio, potrebbe giocare un ruolo fondamentale nel rallentare i processi d'invecchiamento, riducendo il metabolismo basale e il danno ossidativo nei tessuti e nelle cellule.

Recentemente, un trial condotto sull'uomo ha dimostrato che la RC bilanciata condotta per un periodo di 6 mesi ha significativamente ridotto due markers di longevità, come la concentrazione a digiuno dell'insulina (a parità di concentrazione glicemica e di DHEAS) e la temperatura corporea, così come il danno del DNA (9).

Mutazioni e/o polimorfismi nei geni che producono proteine che siano parte integrante di questi processi biochimici coinvolti nell'equilibrio energetico della cellula possono giocare un ruolo significativo nella longevità.

Geni e invecchiamento

Per quanto riguarda gli aspetti genetici dell'invecchiamento, è noto che vi sono specifici geni che codificano le proteine coinvolte nei singoli processi biochimici cellulari. Quando questi geni sono mutati, sia che contengano mutazioni, sia che risultino polimorfici, cioè contengano polimorfismi, non funzionano o funzionano male, accelerando il fenomeno dell'invecchiamento. Ad esempio, nei topi da laboratorio nei quali viene indotta una ridottissima espressione del gene Klotho si manifesta una sin-

drome del tutto simile all'invecchiamento fisiologico (10); preliminari osservazioni nell'uomo sembrano indicare una significativa associazione di alcuni polimorfismi del gene Klotho con un fenotipo metabolico caratteristico di buono stato nutrizionale (11). In alcuni geni della famiglia foxo, invece, una particolare combinazione di polimorfismi risulta avere una certa influenza sulle malattie che portano ad una mortalità elevata in età avanzata (12). Recentemente l'inibizione del sistema renina-angiotensina è stato suggerito come possibile meccanismo protettivo nei confronti dell'invecchiamento (13); preliminari risultati su soggetti anziani ospedalizzati sembrano indicare in effetti una associazione tra polimorfismi del gene ACE D/I e aumentato rischio di disabilità funzionale (14).

Il DNA non è una molecola statica, ma dinamica. Inoltre, anche se custodita in una zona apposita della cellula, il nucleo, non è protetta da molti degli eventi che avvengono nel citoplasma. Essa può subire quindi cambiamenti di forma, manipolazioni, danni e riparazioni. I sistemi che riarrangiano ed aggiustano il DNA, i cosiddetti sistemi di riparazione del DNA, hanno un ruolo fondamentale nella vita di un organismo (15). Le persone che hanno mutazioni nei geni che codificano per gli enzimi coinvolti in questi sistemi sono persone che invecchiano prima, mostrando tutta una serie di sindromi progeroidi (Xeroderma Pigmentosum, Sindrome di Cockayne, Sindrome di Werner, Sindrome di Bloom). Nella sindrome di Werner, ad esempio, caratterizzata dall'insorgenza precoce di sintomi di diverse malattie età-correlate (16), vi è una alterazione del gene WRN che provoca appunto difetti nel sistema di riparazione del DNA (17).

Anche i cromosomi, le strutture nelle quali è organizzato il DNA per la sua conservazione e per tutti i processi a cui viene sottoposto durante la divisione cellulare, sono organizzati in maniera dinamica e complessa. In particolare i telomeri sono delle strutture che fanno parte del cromosoma, e proteggono le sue due estremità. Essi sono composti da sequenze di DNA ripetute (sequenze telomeriche) e da una serie di proteine che hanno sia una funzione puramente strutturale, sia da enzimi, che controllano il funzionamento e la corretta stabilità dei telomeri (18). Nel corso della vita le sequenze telomeriche si accorciano. Questo è un processo normale, fisiologico. Le sequenze telomeriche vengono perse al ritmo di 25-30 ripetizioni/anno. Chi le perde più in fretta invecchia prima. Nella sindrome di Down, tipica sindrome progeroide, le sequenze telomeriche vengono perse ad un ritmo annuale 5 volte superiore rispetto a quello fisiologico (19). Nella sindrome di Werner, alterazioni nel gene WRN provocano anche difetti dell'enzima deputato alla conservazione delle sequenze telomeriche (telomerasi). Al contrario, nelle cellule neoplastiche, caratterizzate da una proliferazione indiscriminata, le sequenze telomeriche non vengono perse, ma conservate nel corso degli anni (20).

Esistono anche tutta un'altra serie di geni, non associati a malattie genetiche nel senso classico del termine, di cui non abbiamo ancora ben chiaro il loro ruolo nei processi biochimici della cellula, ma che tuttavia sono stati studiati per essere a ragione più o meno associati ad invecchiamento e longevità tramite la presenza di polimorfismi più o meno comuni. I più conosciuti tra questi sono riportati nella Tab. 1.

Farmacogenetica

La farmacogenetica si occupa dello studio delle variazioni del DNA responsabili della variabilità nella risposta terapeutica e/o nella suscettibilità alle reazioni avverse ai farmaci che si osservano comunemente nella pratica clinica.

Molti farmaci impiegati nell'anziano, infatti,

sono substrati di enzimi, principalmente della famiglia dei citocromi CYP450; anche a causa di un solo polimorfismo in uno dei geni che codificano per tali famiglie di enzimi, la efficienza dell'attività enzimatica può risultare variabile, dando così origine nell'uomo a tre fenotipi: metabolizzatori lenti, intermedi e ultrarapidi. È evidente che i soggetti con fenotipo di metabolizzatore lento saranno più a rischio di accumulo di farmaco (e quindi potenzialmente di reazione avversa) mentre i soggetti con fenotipo di metabolizzatore ultrarapido saranno a rischio di non avere concentrazioni efficaci del farmaco nel sito di azione (e quindi potenzialmente un rischio di mancata o ridotta risposta alla terapia) (21).

La famiglia dei geni dei Citocromi 450 (CYP) codifica per gli enzimi che sono responsabili del metabolismo di circa il 60% di tutti i farmaci impie-

Tab. 1 - Selezione dei maggiori geni candidati esaminati per il loro possibile coinvolgimento nel determinare la longevità, modificato da Christensen et al. (2).

| Gene | Funzione della proteina | Fenotipo |
|---|---|--|
| Apolipoproteina E (APOE) | Ligando per il recettore delle LDL. | Consistentemente associato con la sopravvivenza e la longevità. |
| Apolipoproteina C3 (APOC3) | Componente primario delle VLDL e dei chilomicroni. | Associato con i fattori di rischio cardiovascolari e la longevità. |
| Proteina transfer dei trigliceridi lisosomiali (MTTP) | Trasporto dei trigliceridi, dei colesteril-esteri e dei fosfolipidi. | Dati di linkage e di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Proteina transfer dei colesteril-esteri (CETP) | Trasporto dei colesteril-esteri | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Enzima convertitore dell'angiotensina I (ACE) | Idrolisi l'angiotensina I in angiotensina II. | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Recettore del fattore di crescita insulino-simile di tipo 1 (IGF1R) | Segnalazione dello stato energetico cellulare. | Uno studio mostra associazione con la longevità. |
| Hormone della crescita 1 (GH1) | Componente del segnale insulinico intracellulare. | Uno studio mostra associazione con la sopravvivenza > 85 anni. |
| Catalasi (CAT) | Catalizza la decomposizione del perossido di idrogeno. | Nessuna associazione con la sopravvivenza. |
| Superossido dismutasi 1 e 2 (SOD1, SOD2) | Catalizzano la scomposizione del radicale superossido. | Uno studio mostra associazione con la longevità. |
| Proteine di shock termico (HSPA1A, HSPA1L) | Trasporto e conformazione delle proteine; funzioni immunitarie. | Varie associazioni non replicate in altri studi. |
| Paraossonasi 1 (PON1) | Conservazione della funzionalità delle HDL e protezione delle LDL dal danno ossidativo. | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Interleuchina 6 (IL6) | Citochina immunoregolatoria. | Dati di associazione inconsistenti ma associata alla longevità in studi longitudinali. |
| Emocromatosi ereditaria (HFE) | Regolazione dell'assorbimento intestinale del ferro. | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Metilene tetraidrofolato reduttasi (MTHFR) | Rimetilazione dell'omocisteina a metionina. | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Sirtuina 3 (SIRT3) | Sconosciuta. | Varie associazioni non replicate in altri studi. |
| Proteina tumorale p53 (TP53) | Oncosoppressore. | Dati di associazione con la longevità inconsistenti. |
| Fattore di crescita trasformante β 1 (TGF1 β) | Regolazione della proliferazione e differenziazione cellulare e varie altre funzioni. | Uno studio mostra associazione con la longevità. |
| Klotho (KL) | Sconosciuta. | Due studi dimostrano un vantaggio nella sopravvivenza dell'eterozigote. |

Tab. 3 - Esempi di polimorfismi genetici degli enzimi CYP-450 che si associano ad aumentato rischio di reazioni avverse da farmaci (modificata da Guzey et al.5)

| Enzima | Farmaco | Reazione Avversa |
|---------------------------------|--|--|
| Citocromo P-450 2D6 (CYP2D6) | Metoprololo Timololo | Bradycardia |
| | Amitriptilina Fluoxetina Fluvoxamina Aloperidolo | Sintomi extrapiramidali e discinesie tardive |
| | Tioridazina Warfarina | Prolungato intervallo Q-T Emorragia |
| | Tolbutamide Glipizide | Ipoglicemia |
| Citocromo P-450 2C9 (CYP2C9) | Celecoxib Diclofenac Ibuprofene Naprossene Piroxicam Diazepam Citalopram | Tossicità gastrointestinale? Tossicità cardiovascolare? |
| | Omeprazolo Esomeprazolo Lansoprazolo Pantoprazolo | Sedazione prolungata ? |

BIBLIOGRAFIA

1. Capri M, Salvioli S, Sevini F, Valensin S, Celani L, Monti D, Pawelec G, De Benedictis G, Gonos ES, Franceschi C. The genetics of human longevity. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1067: 252-263.
2. Christensen K, Johnson TE, Vaupel JW. The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights. *Nat Rev Genet* 2006;7: 436-448.
3. Dallapiccola B, Novelli G. *Genetica medica essenziale* 2nd eds. 2006, Il Minotauro.
4. Seripa D, Matera MG, Daniele A, Bizzarro A, Rinaldi M, Gravina C, Bisceglia L, Corbo RM, Panza F, Solfrizzi V, Fazio VM, Dal Forno G, Masullo C, Dallapiccola B, Pilotto A. The missing apoE allele. *Ann Hum Genetics* 2007 (doi: 10.1111/j.1469-1809.2006.00344.x).
5. Seripa D, Franceschi M, Matera MG, Panza F, Kehoe PG, Gravina C, Orsitto G, Solfrizzi V, Di Minno G, Dallapiccola B, Pilotto A. Sex differences in the association of apoE and ACE gene polymorphisms with healthy aging and longevity: a population-based study from southern Italy. *J Gerontol Biol Sci* 2006; 61A: 918-923.
6. Sohal RS, Mockett RI, Orr WC. Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative stress hypothesis. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 575-586.
7. Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. *Exp Gerontol* 2004; 39: 687-699.
8. Fontana L, Klein S. Aging, adiposity and calorie restriction. *JAMA* 2007; 297: 986-994.
9. Heilbronn LK, de Jonge L, Frisard MI, DeLany JP, Larson-Meyer DE, Rood J, Nguyen T, Martin CK, Volaufova J, Most MM, Greenway FL, Smith SR, Deutsch WA, Williamson DA, Ravussin E; Pennington CALERIE Team. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295: 1539-1548.
10. Rosenblatt KP, Kuro-O M. Klotho, an aging-suppressor gene. *Horm Res.* 2007;67 Suppl 1: 191-203.
11. Seripa D, Franceschi M, Matera MG, Paris F, Cascavilla L, Longo MG, Orsitto G, Di Mario F, Scarcelli C, D'Ambrosio PL, Corritore M, Dallapiccola B, Pilotto A. The Phe352Val polymorphism in Klotho gene and the nutritional status in hospitalized elderly patients. *J Nutr Health Aging* 2006; 10: 364-365.
12. Kuningas M, Magi R, Westendorp RG, Slagboom PE, Remm M, van Heemst D. Haplotypes in the human Foxo1a and Foxo3a genes; impact on disease and mortality at old age. *Eur J Hum Genet.* 2007; 15: 294-301.
13. Basso N, Paglia N, Stella I et al. Protective effect of the inhibition of the renin-angiotensin system on aging. *Regul Pept* 2005; 128: 247-252.
14. Matera MG, Seripa D, Franceschi M, Placentino G, Orsitto G, D'Ambrosio PL, Niro V, Scarcelli C, Dallapiccola B, Pilotto A. Angiotensin converting-enzyme Insertion/Deletion polymorphism and functional disability in hospitalized elderly patients. *J Nutr Health Aging* 2006; 10: 327.
15. DNA damage and DNA repair. In: Best B. Mechanism of aging. Chapter XI. Available on line at <http://www.benbest.com/lifeext/aging.html>
16. Bohr VA. Deficient DNA repair in the human progeroid disorder, Werner syndrome. *Mutat Res.* 2005; 57: 252-259.
17. Opreko PL, Cheng WH, von Kobbe C, Harrigan JA, Bohr VA. Werner syndrome and the function of the Werner protein; what they can teach us about the molecular aging process. *Carcinogenesis* 2003; 24: 791-802.
18. Telomeres and aging. In: Best B. Mechanism of aging. Chapter XII. Available on line at <http://www.benbest.com/lifeext/aging.html>.
19. Jenkins EC, Velinov MT, Ye L, Gu H, Li S, Jenkins EC Jr, Brooks SS, Pang D, Devenny DA, Zigman WB, Schupf N, Silverman WP. Telomere shortening in T lymphocytes of older individuals with Down syndrome and dementia. *Neurobiol Aging* 2006; 27: 941-945.
20. Orren DK. Werner syndrome: molecular insights into the relationships between defective DNA metabolism, genomic instability, cancer and aging. *Front Biosci* 2006; 11: 2657-2671.
21. Guzey G, Spigset O. Genotyping as a tool to predict adverse drug reactions. *Curr Top Med Chem* 2004; 4: 1411-1421.
22. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, Di Minno G. Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost.* 2000; 84: 775-778.
23. Lau WC, Gurbel PA. Antiplatelet drug resistance and drug-drug interactions: Role of cytochrome P450 3A4. *Pharm Res* 2006; 23: 2691-2708.
24. Pilotto A, Franceschi M, Scarcelli C, Niro, Colaizzo D, Grandone E, Andriulli A, Di Mario F, Seripa D, Matera MG, Dallapiccola B. Genetic susceptibility to NSAID-related gastroduodenal bleeding: role of cytochrome P450 (CYP) 2C9 polymorphisms. *J Nutr Health Aging* 2006; 10: 363.
25. Cascavilla L, Seripa D, Orsitto G, Gravina C, Pilotto A. Cytochrome P450-2D6 polymorphism and response to donepezil in elderly patients with Alzheimer disease. *J Nutr Health Aging* 2004; 8: 261.