



Ministero della Salute

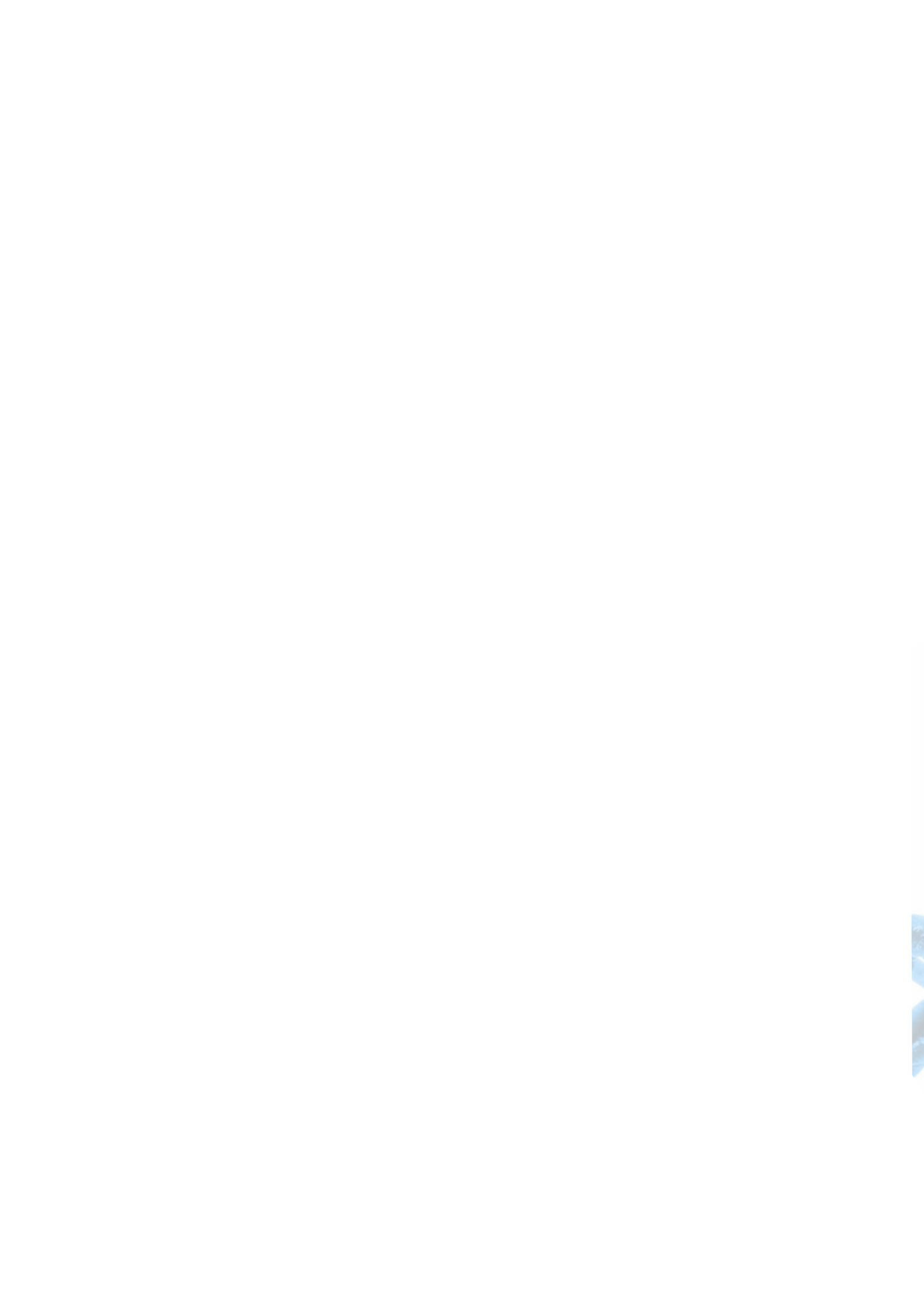
INAIL

ISTITUTO NAZIONALE PER L'ASSICURAZIONE
CONTRO GLI INFORTUNI SUL LAVORO

PROGETTO DI RICERCA PILOTA
"SPAIC - CAUSE DELLO SPRECO ALIMENTARE ED INTERVENTI CORRETTIVI"

EPIGENETICA E NUTRIZIONE
"NO AL CIBO NELLA SPAZZATURA/NO AL CIBO SPAZZATURA"





Progetto di ricerca pilota
"SPAIC - Cause dello spreco alimentare ed interventi correttivi"

Accordo di collaborazione tra pubbliche amministrazioni Ministero della Salute, Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione e Inail, Dipartimento innovazioni tecnologiche e sicurezza degli impianti, prodotti e insediamenti antropici.

Epigenetica e Nutrizione

"No al cibo nella spazzatura/No al cibo spazzatura"



Pubblicazione realizzata da

Ministero della Salute, Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione

Inail, Dipartimento Innovazioni Tecnologiche e Sicurezza degli Impianti Prodotti e Insediamenti Antropici

Referente scientifico Inail del progetto

Elena Sturchio

Referente scientifico CRF

Uranio Mazzanti

Autori

Elena Sturchio¹, Uranio Mazzanti², Claudia Meconi², Priscilla Boccia¹,
Miriam Zanellato¹, Fabio Martino², Silvia Gioiosa³

¹Inail, Dipartimento Innovazioni Tecnologiche e Sicurezza degli Impianti Prodotti e Insediamenti Antropici (Dit)

²Organismo di Ricerca Cooperativa Ricerca Finalizzata Sc (CRF), Roma

³Istituto di Biomembrane, Bioenergetica e Biotecnologie Molecolari (IBIOM), CNR, Bari

Edizione 2018**Info**

Inail, Dit

Via Roberto Ferruzzi, 38/40 – 00143 Roma

dit@inail.it – e.sturchio@inail.it

Vietata la vendita e la riproduzione con qualsiasi mezzo. È consentita solo la citazione con l'indicazione della fonte.

Realizzazione Pringo Group (www.pringo.it)

Indice

Prefazione	5
Introduzione	9
Molecole Alimentari	11
Macronutrienti	12
Glucidi	12
Lipidi	14
Protidi	16
Acqua	19
Micronutrienti	20
Vitamine	20
Sali Minerali	22
Molecole Bioattive	24
Alimentazione e Piramide Alimentare	25
Epigenetica ed Alimentazione	27
Esempi di Molecole Alimentari con Effetti Epigenetici	37
Conclusioni	42
Bibliografia	43
Appendice 1 - Approfondimento in tema di epigenetica	47

Il Progetto di ricerca pilota "SPAIC - Cause dello spreco alimentare ed interventi correttivi"

Accordo di collaborazione tra pubbliche amministrazioni Ministero della Salute, Dgisan e Inail, Dit

Elena Sturchio Referente Scientifico Inail, Dit del Progetto
Uranio Mazzanti Referente Scientifico CRF

Dallo studio collaborativo realizzato tra Inail e CRF è stato messo in evidenza che ogni anno in Europa una crescente quantità di cibo sano e commestibile - secondo alcune stime fino al 50% di quello offerto dalla filiera agroalimentare - si perde lungo tutti gli anelli della catena fino al consumatore finale, trasformandosi in rifiuto. Ogni anno dunque, fino al 50% di cibo commestibile viene sprecato nelle case degli europei, nei supermercati e nei ristoranti e lungo la catena di approvvigionamento alimentare. Secondo uno studio pubblicato dalla Commissione Europea, la produzione annuale di rifiuti alimentari nei 27 Stati membri ammonta a circa 89 milioni di tonnellate, ossia 179 kg pro capite, con un'elevata variabilità fra i singoli Paesi e i vari settori. Questo senza contare gli sprechi a livello di produzione agricola o le catture di pesce rigettate in mare. Al contempo ben 79 milioni di persone, nella Comunità Europea, vivono al di sotto della soglia di povertà: vale a dire che oltre il 15% dei cittadini europei percepisce un reddito inferiore al 60% del reddito medio del Paese di residenza. Di questi, 16 milioni hanno ricevuto aiuti alimentari attraverso enti di beneficenza. Lo studio cita l'attenzione sul fatto che lo spreco di cibo crescerà ulteriormente del 40% entro il 2020 raggiungendo circa 126 milioni di tonnellate annue, a meno che non siano adottate efficaci misure o azioni preventive supplementari. Questi dati mettono in luce come gran parte delle eccedenze di cibo possano essere ancora riutilizzate per scopi alimentari invece che essere smaltite come un qualsiasi altro rifiuto, con notevoli impatti ambientali ed economici e con significative implicazioni anche di tipo etico. Alcuni dati sulle "quote" di responsabilità della produzione di rifiuti

alimentari, elaborati nel citato studio della Commissione Europea e riportati nella proposta di risoluzione del Parlamento europeo indicano:

- Famiglie: 42% (60% dei quali è evitabile)
- Produttori: 39%
- Rivenditori: 5%
- Settore della ristorazione: 14%

Secondo l'approccio adottato nello studio pilota condotto da Inail e CRF, la sfida, al fenomeno dello spreco alimentare deve quindi essere giocata su numerosi fronti ad evitare che in ciascuna fase della catena alimentare si trasformino in rifiuti delle materie prime e alimenti sani e commestibili.

Aspetto regolatorio

La via della redistribuzione di alimenti "eccedenti il mercato" alle persone indigenti rappresenta anche una priorità dell'azione del Governo italiano sin dall'emanazione della legge 155/2003 (detta anche del Buon Samaritano). La rilevanza di questa azione ha reso necessario anche un intervento di natura normativa mirato a contemperare le esigenze di semplificazione della distribuzione con la salvaguardia dei connessi aspetti sanitari. Ciò soprattutto alla luce del sempre maggiore impoverimento della popolazione e tenuto conto dei molteplici interessi coinvolti.

Le disposizioni alle quali si fa riferimento sono state inserite nella Legge di stabilità del 2013 n. 147 del 27 dicembre 2013 (articolo 1, commi 236, 237, 238, 239) con l'intento di promuovere azioni che, in modo uniforme sul territorio nazionale,

favoriscano ed agevolino il recupero tempestivo di alimenti che - ancora idonei al consumo - sono destinati allo smaltimento, attraverso misure di semplificazione e di agevolazione anche a favore degli operatori della catena della distribuzione alimentare. Destinatari delle agevolazioni sono sia le ONLUS, che a fini di beneficenza effettuano distribuzione gratuita di prodotti alimentari raccolti presso la catena della grande distribuzione o presso strutture pubbliche e/o private che somministrano pasti, sia i singoli operatori del settore alimentare che direttamente ridistribuiscono cibo agli indigenti.

L'esperienza dimostra che iniziative spontanee di associazioni, sia di volontariato sia di professionisti, volte a pubblicizzare e concretizzare una cultura anti-spreco, hanno avuto ampio successo nei territori dove sono state svolte. In ordine alla tutela sanitaria degli utenti finali di tali azioni, la norma sottolinea che ogni soggetto impegnato nell'attività di utilità sociale finalizzata alla redistribuzione di cibo e al contrasto del fenomeno degli sprechi alimentari, deve garantire, per la parte di propria competenza, il corretto stato di conservazione, trasporto, deposito e utilizzo degli alimenti.

La Legge del 19 agosto 2016, n. 166 (GU serie generale n.202 del 30-8-2016) sugli sprechi alimentari ha come obiettivo la riduzione degli sprechi nelle fasi di produzione, trasformazione, distribuzione e somministrazione di prodotti alimentari e farmaceutici, attraverso la realizzazione di obiettivi prioritari tra cui:

- contribuire ad attività di ricerca, informazione e sensibilizzazione dei consumatori e delle istituzioni sulle materie oggetto della legge, con particolare riferimento alle giovani generazioni.

Tale Legge, quindi, promuove la realizzazione di percorsi mirati all'educazione a una sana alimentazione e a una produzione alimentare ecosostenibile che porti sensibilizzazione sugli squilibri esistenti a livello nazionale e internazionale nell'accesso al cibo.

Il Progetto di Ricerca "SPAIC. Cause dello spreco alimentare ed interventi correttivi" si allinea perfettamente ai citati obiettivi

generali della legge individuando specificamente il "consumatore" (singolo individuo o intera famiglia) come elemento focale su cui intervenire, al fine di individuare e correggere i comportamenti scorretti che causano lo spreco alimentare, attraverso la promozione di un'adeguata campagna di informazione, formazione e sensibilizzazione che guidi verso stili di vita corretti. Lo scopo è quello di far acquisire al "consumatore" consapevolezza sul tema degli sprechi alimentari cosicché egli sia in grado di tutelarsi dai forti interessi commerciali e dalla grande capacità di persuasione del mercato a favore del consumismo, tutelando al tempo stesso la propria salute e quella del pianeta.

I ricercatori Inail e CRF, hanno assunto che siano in particolare le giovani generazioni, anche per via del loro carattere in fase di maturazione, quella che risentano maggiormente dell'influenza dei mass media. I ragazzi, infatti, i così detti "nativi digitali", hanno a disposizione una straordinaria tecnologia multimediale e di interconnessione in tempo reale (internet, social networks, App, ecc) che li espone continuamente e velocemente a sollecitazioni derivate da slogan pubblicitari o messaggi e informazioni scorrette che, dilagando in brevissimo tempo tra i coetanei, diventano "moda" e riescono ad influenzare il loro comportamento e le loro scelte a vantaggio del mercato di profitto. Appare quindi necessario un sollecito intervento di tutela per questa generazione che, seppur oggi marginalmente coinvolta negli aspetti "quantitativi" dello spreco alimentare, rappresenta la categoria dei futuri consumatori e possibili responsabili orientatori del mercato di domani.

A tal proposito, la proposta progettuale propone di identificare sì i ragazzi come "fragilità" da tutelare ma, allo stesso tempo, come elemento di forza da valorizzare e sul quale scommettere. Punto focale del progetto è dunque quello di sfruttare proprio la loro - per noi.... - "straordinaria" capacità d'interconnessione e di comunicazione, per far sì che gruppi di ragazzi - motivati nel riferirsi a informazioni scientificamente valide - possano essere anch'essi portatori e diffusori capillari d'informazioni e di messaggi corretti, sia all'interno del nucleo familiare sia tra gli

stessi coetanei. Intervenedo sulla formazione dei ragazzi è possibile, dunque, innescare la loro spesso non considerata capacità di essere ideatori e diffusori di buone pratiche comportamentali che contrastino informazioni scorrette e diventino di tendenza fino al punto di radicalizzarsi nelle loro abitudini.

L'approccio metodologico scelto dai ricercatori Inail e CRF è stato quello del "nudging" ("spinta gentile"), cioè di un approccio psico-comportamentale orientato su di un modello educativo che spinga verso un comportamento corretto e che non risulti come imposizione autoritaria ma come efficace scelta dell'individuo stesso, stimolato a essere protagonista partecipe dell'obiettivo proposto.

L'ambito scolastico risulta poi una realtà concreta ed elettiva nel quale poter attuare e replicare il Progetto. Si può ricorrere infatti, compatibilmente con le attività curricolari, a un coinvolgimento attivo degli studenti, offrendo loro l'opportunità di realizzare un'esperienza all'interno di un luogo a loro familiare, connesso alle preziose competenze multidisciplinari del corpo docente e punto di riferimento per l'applicazione laboratoriale alle specificità del territorio da essi vissuto.

Il Progetto pone quindi lo studente come protagonista del percorso formativo fornendogli conoscenza sul tema, guidandolo verso l'acquisizione della consapevolezza, e stimolandolo a proporre soluzioni innovative, creative ed efficaci per il contrasto dello spreco alimentare.

Il conseguente atteggiamento responsabile verso il cibo è inoltre proposto come aspetto collegato al rispetto del proprio stile di vita alimentare, del proprio e altrui benessere e del diritto di tutti ad una corretta alimentazione.

Saranno poi i ragazzi stessi, con i loro mezzi, con i loro linguaggi e con la loro grande capacità comunicativa a diffondere il messaggio in modo virale sia all'interno delle loro stesse famiglie, sia tra i coetanei, diventando così messaggeri di cultura di corretti stili di vita, per la salvaguardia della loro salute e del mondo che li circonda.

Questo il punto di forza del nostro Progetto.

Nell'ambito delle attività formative realizzate presso gli Istituti d'Istruzione Superiore coinvolti nel progetto sono state svolte specifiche lezioni tenute dalla nutrizionista Dott.ssa Claudia Meconi in tema di nutrizione, epigenetica e corretti stili di vita, partendo dall'assunto che sprecare è sì buttare il cibo nella spazzatura ma anche mangiare cibo spazzatura; il nostro slogan "tormentone" nelle scuole è stato infatti: "No al cibo nella spazzatura - No al cibo spazzatura" a sottolineare l'importanza di ridare valore al cibo, che non deve essere spazzatura né deve finire nella spazzatura, in modo che una colta attenzione al fenomeno dello spreco alimentare catalizzi una positiva reazione dei giovani verso la costruzione di una società più sana, equa e sostenibile.

Referente Scientifico CRF

Uranio Mazzanti

Referente Scientifico Inail del Progetto

Elena Sturchio

Introduzione

L'organismo umano ha bisogno di sostanze chimiche e di energia per svolgere tutte le sue funzioni vitali come crescere e mantenersi, ma anche tutte le attività quotidiane, quali ad esempio le attività produttive, ricreative, sportive ecc. Tale fabbisogno è soddisfatto attraverso l'alimentazione.

Ed è proprio l'alimentazione a rappresentare il cuore centrale di una tematica che negli ultimi decenni sta acquistando importanza prioritaria: **il consumo, per gli esseri umani, di alimenti che siano quantitativamente e qualitativamente adeguati ai loro fabbisogni.**

Oggi, infatti, c'è la consapevolezza che alimentarsi non sempre corrisponde a soddisfare le esigenze nutritive dell'organismo. Affinché possiamo nutrirci correttamente, occorre conoscere da un lato il tipo e la quantità di sostanze necessarie all'organismo nelle diverse situazioni e condizioni fisiologiche e, dall'altro, il tipo e la quantità di sostanze presenti negli alimenti, nonché gli apporti nutritivi che con il loro consumo si possono realizzare.

Queste ed altre questioni hanno orientato studi verso l'approfondimento di specifiche materie, quali fisiologia e clinica della nutrizione, dietoterapia, chimica degli alimenti e tecnologie alimentari, sicurezza alimentare, geografia e demografia dell'alimentazione ecc che, insieme, si collocano all'interno di una vera e propria disciplina: la **Scienza dell'Alimentazione e Nutrizione umana.**

Per **Alimentazione** s'intende *l'assunzione degli alimenti, quali fonte di molecole (nutrienti e non) ed energia indispensabili allo sviluppo e mantenimento delle strutture e delle funzioni vitali.* **Nutrizione** invece è un concetto più ampio per il quale s'intende *il complesso dei processi che permettono la digestione e l'assimilazione della fornitura alimentare nonché l'utilizzazione dei principi nutritivi e dell'energia da essi ricavata e gli effetti che essi hanno sulla cellula e sull'organismo* (Mariani Costantini et al., 2006).

A tutt'oggi, dalle conoscenze in materia di nutrizione, è chiaro che **un'alimentazione corretta è fondamentale per mantenere un buono stato di salute e una maggiore efficienza dell'organismo.**

D'altro canto già nel 400 a.C. Ippocrate di Kos diceva "lascia che il tuo cibo sia la tua medicina e la tua medicina il tuo cibo" sostenendo la correlazione tra cibo e salute. Anche le antiche medicine orientali da millenni ricalcano questa filosofia: solo per fare un esempio, nella macrobiotica non esistono farmaci se non i cibi stessi, i quali vengono utilizzati come rimedio per le più comuni malattie.

Affinché una dieta, intesa come stile alimentare, sia corretta è necessario innanzitutto che l'apporto di energia giornaliero sia adeguato al consumo, ovvero l'energia introdotta deve compensare quella spesa. Il fabbisogno energetico è dato sia dal metabolismo basale proprio di ciascun individuo, dovuto a fattori legati all'età, sesso, altezza, corporatura, condizioni fisiologiche o patologiche, e dal livello di attività fisica che l'individuo svolge: uno sportivo necessita di maggior apporto energetico rispetto ad una persona sedentaria.

Generalmente però, la concezione più comune per correggere stili alimentari scorretti consiste principalmente nel focalizzare la propria attenzione esclusivamente sul calcolo giornaliero delle calorie assunte con gli alimenti. Ebbene, questo atteggiamento è da considerarsi assolutamente errato perché non tiene in considerazione la **qualità molecolare** dei diversi alimenti. Infatti, anche se una porzione di pasta, una porzione di formaggio o di un altro alimento possono contenere lo stesso numero di calorie,

esse contengono sicuramente molecole differenti. Oltretutto, il considerare i principi alimentari soltanto come fonti energetiche non riesce a dare sufficiente spiegazione su origine e diffusione di varie malattie come, ad esempio, sovrappeso ed obesità per le quali generalmente una restrizione calorica non porta ad alcun reale, continuo e duraturo risultato. Ciò che invece è necessario, è passare da una visione basata sulle calorie ad una basata sulle **“molecole”** contenute nei cibi. Anche il concetto stesso di **“dieta”**, spesso allusivo ad un regime alimentare restrittivo la cui adozione è finalizzata alla riduzione del peso corporeo, deve cominciare ad intendersi per quello che è: **un regime alimentare quotidiano finalizzato al benessere psico-fisico della persona!** Per cui per alimentazione corretta, si intende quella che, oltre che **bilanciata** in calorie, sia quanto più possibile **variata** ed **equilibrata**, ovvero quella che assicuri nei giusti rapporti tutti i nutrienti necessari all'organismo, requisito base per il mantenimento della salute. Infatti, quando l'apporto dei nutrienti è qualitativamente e/o quantitativamente adeguato, l'organismo è percettibilmente in salute mentre in caso contrario si verificano delle situazioni di carenza o di eccesso che possono portare all'insorgenza di patologie più o meno gravi che possono sfociare in vere e proprie malattie. In poche parole, come sosteneva il filosofo Feuerbach intorno alla metà del 1800: **“Siamo quello che mangiamo”**.

Molecole Alimentari

Le molecole alimentari, dette **nutrienti** o **principi nutritivi**, sono quelle sostanze essenziali che sono indispensabili alla sopravvivenza e che il metabolismo umano non può o non riesce a sintetizzare in quantità sufficiente. Pertanto, essi vengono somministrati attraverso l'alimentazione. Cereali, legumi, carne, pesce, uova, latte, frutta e verdura, dolci, oli e grassi sono gli alimenti che introduciamo ad ogni pasto e che, all'interno del canale digerente, vengono digeriti e ridotti in molecole più o meno complesse, i nutrienti appunto, con rilascio dell'energia in essi contenuta che verrà utilizzata dall'organismo.

I nutrienti possono essere catalogati in sei gruppi principali: glucidi o carboidrati, protidi o proteine, lipidi o grassi, vitamine, sali minerali, acqua.

Generalmente **glucidi**, **protidi** e **lipidi** sono detti **macronutrienti**, in virtù delle quantità che deve essere assunta, nell'ordine di decine di g/giorno. Durante i processi digestivi, questi tre nutrienti vengono ulteriormente ridotti in molecole ancora più semplici che possono essere così assorbite dal canale digerente ed utilizzate dall'organismo per i suoi fabbisogni energetici e chimici. È da loro, infatti, che vengono ricavate la materia ed l'energia di cui l'organismo necessita, ed è per questo che devono essere assunti in quantità.

L'**acqua**, così come le vitamine e i sali minerali, è una sostanza che può essere direttamente assorbita ed utilizzata dall'organismo senza subire modifiche durante il transito nell'apparato digerente. Anche l'acqua può essere considerata un macronutriente: anche se non fornisce energia o costituenti organici, ha diverse funzioni e, per la vita, è necessaria in grandi quantità, essendo il costituente principale dell'organismo umano (60-70%).

Vitamine e sali minerali rappresentano invece i **micronutrienti**, perché necessari in piccole quantità (nell'ordine di g, mg o µg/giorno) avendo, come principale funzione, la regolazione della crescita, dello sviluppo, delle difese immunitarie, della riproduzione e di altri processi metabolici.

Oltre ai nutrienti poi, gli alimenti contengono delle **molecole bioattive** che sono molto utili per l'organismo perché associate a molti processi biologici. A differenza dei nutrienti non se ne conoscono malattie da carenza.

In generale possiamo distinguere tre principali funzioni dei principi nutritivi:

- **Funzione energetica**, ovvero apportare energia necessaria sia al metabolismo basale, sia allo svolgimento di attività quotidiane;
- **Funzione plastica**, ovvero fornire nuovo materiale per l'aumento della massa corporea durante la crescita e per il ricambio cellulare in età adulta;
- **Funzione regolatrice e protettiva**, ovvero controllare e regolare il metabolismo apportando elementi necessari al corretto svolgimento di molte importanti reazioni biochimiche, nonché proteggere le cellule e gli organi da danni causati dall'invecchiamento e da agenti esterni (stress ossidativo, microrganismi, UV, agenti inquinanti ecc).

Macronutrienti

Glucidi

I glucidi sono anche chiamati carboidrati in virtù della loro struttura chimica $C_n(H_2O)_n$ in cui ad ogni molecola di carbonio corrisponde una molecola di acqua.

Sono alla base di tutte le catene alimentari: sono prodotti dagli organismi vegetali attraverso la fotosintesi clorofilliana partendo da sostanze inorganiche (acqua e anidride carbonica) e sfruttando l'energia luminosa. In questo modo le piante rendono disponibili i carboidrati per tutti gli esseri viventi.

I glucidi possono presentare molecole la cui complessità permette il raggruppamento in tre gruppi (Mariani Costantini et al., 2006; Riccardi et al., 2013, Moriondo 2007):

- 1. Monosaccaridi:** molecole di zucchero semplice (glucosio, fruttosio, galattosio, ribosio desossiribosio). Il glucosio è lo zucchero più importante in natura in quanto si forma nelle piante durante la fotosintesi clorofilliana ed è il costituente principale dei disaccaridi e polisaccaridi più conosciuti. È anche il più importante per il nostro organismo, è presente soprattutto nel sangue e rappresenta la principale fonte di energia della cellula. Tutti gli altri zuccheri introdotti nell'organismo devono essere trasformati in glucosio per essere utilizzati e ciò avviene nel fegato, il quale può immagazzinare il glucosio nel suo interno come glicogeno, oppure lo può far ritornare nel flusso sanguigno affinché venga utilizzato per scopi energetici. Ci sono anche monosaccaridi non disponibili, come lo xilosio, che non sono digeribili, ne assorbibili e metabolizzati.
- 2. Oligosaccaridi:** sono derivati dall'associazione di poche molecole di monosaccaridi e sono contenuti in numerosi alimenti primari, quali latte, frutta e verdura. Per essere utilizzati a scopi nutrizionali ed energetici, essi devono essere scissi in zuccheri semplici e successivamente trasformati in glucosio. Esempi sono i disaccaridi saccarosio (glucosio e fruttosio), lattosio (glucosio e galattosio) e maltosio (glucosio e glucosio). Altri oligosaccaridi sono definiti non disponibili perché non digeribili, assorbibili e metabolizzabili dall'uomo. Tra questi ricordiamo il raffiniosio, stachiosio e verbascosio, e i FOS (frutto-oligosaccaridi) di origine vegetale contenuti nei legumi e nella frutta e responsabili di flatulenza per via della loro fermentazione a livello dell'intestino crasso da parte della flora batterica residente. Altri oligosaccaridi non disponibili sono il lattulosio, che si origina in seguito a reazioni di epimerizzazione indotte da trattamenti tecnologici, e i polioli (o polialcoli) quali lo xilitolo, il mannitolo e il sorbitolo, utilizzati come edulcoranti naturali nell'industria dolciaria per il loro alto potere dolcificante e basso potere cariogeno.
- 3. Polisaccaridi:** sono carboidrati complessi formati da più monosaccaridi (anche centinaia). Dal punto di vista nutrizionale i più importanti sono: l'amido ed il glicogeno. L'amido è formato da una miscela di due diversi tipi di molecole: l'amilosio, formato da catene lineari di molecole di glucosio (legami $\alpha(1\rightarrow4)$) e l'amilopectina, molecola con catene principali amilosio-simile e catene ramificate di glucosio con legami $\alpha(1\rightarrow6)$ nel punto di ramificazione. L'amido è di origine vegetale, fonti alimentari principali sono i cereali, tuberi (patata), legumi e castagne. Può essere digerito, assorbito ed utilizzato come fonte energetica. Il glicogeno è l'equivalente animale dell'amido, essendo lo zucchero di riserva distribuito tra fegato, muscoli e in minima parte reni. Viene prodotto a partire dal glucosio ed è utilizzato per mantenere costante il livello di glucosio nel sangue e per soddisfare la richiesta energetica in situazioni di emergenza, ovvero quando, ad esempio, i muscoli non sono in grado di assumere rapidamente il glucosio dal sangue.

Oltre ai polisaccaridi digeribili, detti *amidacei*, troviamo una grande varietà di polisaccaridi non digeribili, tra cui la lignina, la cellulosa, le emicellulose (ne esistono centinaia, ma nei cereali le più abbondanti sono i β -glucani e arabinoxilani), le pectine, i glucomannani, i galattomammani, l'inulina e l'amido resistente. Queste molecole, dette anche polisaccaridi *non amidacei*, costituiscono quella che comunemente viene definita *fibra alimentare*.

Le funzioni dei glucidi digeribili per il nostro corpo sono:

- **Energetica.** I glucidi forniscono energia di pronto utilizzo, essendo le prime molecole ad essere utilizzate attraverso reazioni di combustione. Un grammo di glucidi libera in media circa 4kcal. Tuttavia non sono una fonte di energia stabile o di riserva poiché si esauriscono rapidamente se non vengono reintegrati. Sono indispensabili per le funzioni energetiche cerebrali e degli eritrociti.
- **Plastica.** Sono componenti strutturali delle cellule dove si uniscono ai lipidi a formare i glicolipidi o alle proteine a formare glicoproteine, fondamentali soprattutto e nella membrana cellulare.

Discorso a parte lo meritano le **fibre vegetali**, ovvero l'insieme dei già citati polisaccaridi e oligosaccaridi resistenti agli enzimi digestivi dell'uomo. Essi, pur essendo privi di valore nutritivo, svolgono funzioni essenziali, soprattutto a livello intestinale. Esse, infatti, hanno il compito di aumentare la massa fecale e la peristalsi, favorendo l'avanzamento delle feci e riducendo la stipsi ed il tempo di contatto con le sostanze di scarto. Inoltre alcune fibre riescono ad immagazzinare grandi volumi di acqua formando uno strato fluido situato sopra la superficie dell'orletto a spazzola degli enterociti e che deve essere attraversato dalle sostanze nutritive presenti nel lume intestinale. Hanno, quindi, funzione sia lubrificante che di controllo dell'assorbimento dei nutrienti il quale, nel caso di lipidi e zuccheri, risulta rallentato. Le fibre, dunque, sono particolarmente indicate per chi soffre di sovrappeso ed obesità: grazie al loro rigonfiamento al contatto con l'acqua, aumentano il senso di sazietà e rendono maggiormente sopportabile un regime dietetico ipocalorico; inoltre riducono l'assorbimento dei lipidi e prolungano i tempi di assorbimento dei glucidi digeribili, con netti vantaggi sul carico glicemico specialmente nei diabetici.

Le fibre, benché resistenti alla digestione e all'assorbimento umano, possono andare incontro a fermentazione ad opera della microflora residente nel colon. I prodotti metabolici dell'azione batterica sono il metano, l'anidride carbonica, acqua e i cosiddetti acidi grassi a catena corta (SCFA) quali *acido acetico*, *propionico* e *butirrico*. Questa caratteristica, detta fermentescibilità, appartiene più o meno a tutte le fibre, ma è particolarmente rilevante per gli oligosaccaridi (come i FOS, il raffinose, lo stachiosio e il verbascosio) e per l'inulina e, motivo per il quale gli alimenti nei quali sono maggiormente presenti, ovvero legumi e frutta, sono causa di effetti collaterali quali flatulenza e gonfiore addominali. Tale inconveniente, va però confrontato con i benefici che queste fermentazioni apportano. In particolare, il butirrato è stato associato ad un ruolo antinfiammatorio e alla prevenzione di molti tipi di cancro, tra cui quello del colon: in vitro, infatti, ha dimostrato la capacità di inibire la proliferazione di cellule cancerogene e di stimolarne la differenziazione. I FOS e l'inulina, inoltre, hanno un effetto *prebiotico*, ovvero sono in grado di modificare in modo positivo la microflora intestinale umana, con tutti i benefici che ne derivano. Ciò è almeno in parte dovuto al fatto che tali molecole, essendo un ottimo substrato per la fermentazione batterica, stimolano la proliferazione della flora batterica a vantaggio di specie acidofile e a discapito dei batteri patogeni e dei loro metaboliti tossici.

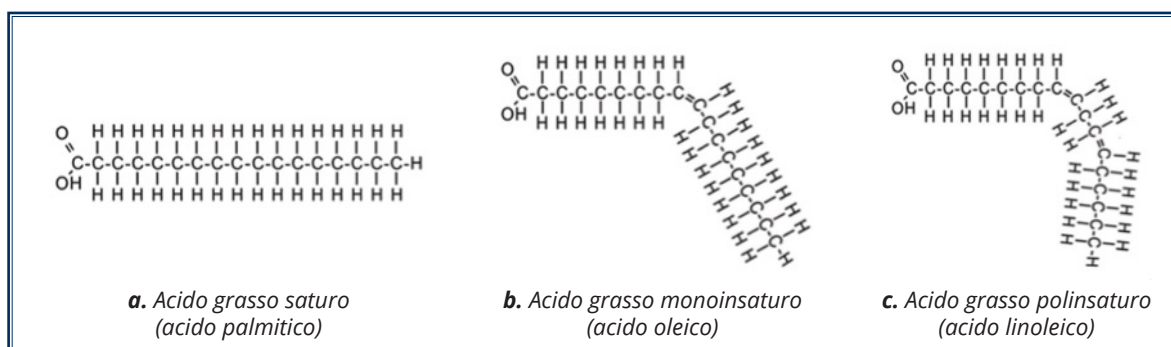
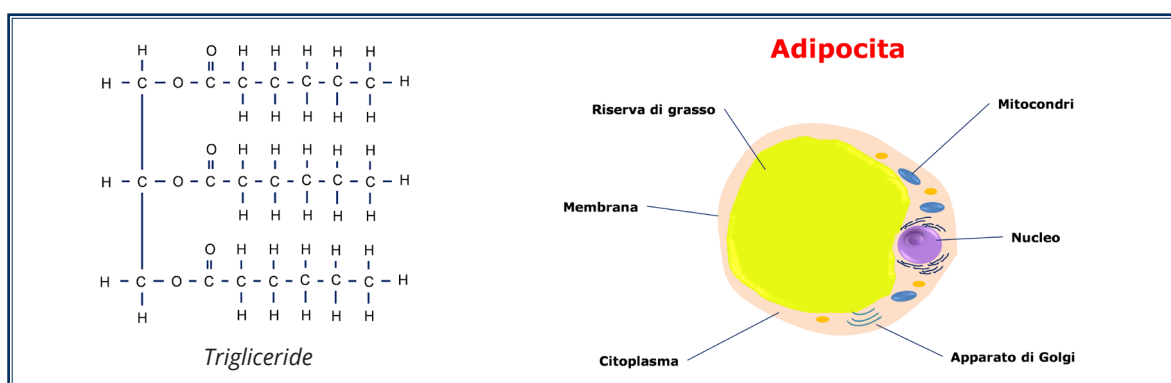
La **SINU** (Società Italiana di Nutrizione Umana) ha calcolato che il fabbisogno giornaliero dei glucidi nel nostro organismo è di circa 45-60% delle calorie totali introdotte (**LARN** Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione italiana) ed è auspicabile che questo obiettivo venga raggiunto attraverso il consumo di

alimenti ricchi in carboidrati complessi, mentre andrebbe contenuta la quota di energia derivante da zuccheri semplici. Questo perché i polisaccaridi complessi richiedono tempi più lunghi di assorbimento rispetto ai glucidi semplici e pertanto sia l'energia sia il glucosio che se ne ricava verranno messi a disposizione in modo più dilazionato nel tempo, permettendone un utilizzo migliore e più razionale. Ciò si traduce in una risposta insulinica meno violenta, per cui l'assunzione di polisaccaridi complessi, insieme ad una quantità adeguata di fibre (circa 25 g/giorno) (LARN 2014) che con il loro potere saziante riducono il carico glicemico di un pasto, è un requisito fondamentale dei regimi alimentari corretti e risulta fondamentale per chi soffre di diabete ed obesità.

Lipidi

I lipidi, comunemente chiamati grassi, sono sostanze apolari e insolubili in acqua, molto diffusi sia nel regno animale che vegetale. Sono molecole ternarie formate prevalentemente da C, H e O (lipidi semplici come gliceridi e steridi) e si possono trovare associati anche ad altre molecole come fosforo, azoto e zolfo (lipidi complessi come i fosfolipidi, cerebrosidi e gangliosidi).

I **gliceridi** sono esteri del glicerolo con una, due o tre molecole di acidi carbossilici a formare mono, di o trigliceridi, questi ultimi i più diffusi e i più importanti per il nostro organismo.



Gli acidi carbossilici, o acidi grassi, possono essere insaturi (monoinsaturi o polinsaturi) o saturi a seconda se contengono doppi legami (uno o più) o se non li contengono. Il grado di insaturazione condiziona il punto di fusione dei grassi: maggiore è il grado di insaturazione e minore è la temperatura alla quale passa da solido a liquido. Per cui gli insaturi sono solidi a temperatura ambiente mentre gli insaturi sono olii.

Gli acidi grassi sono presenti sia negli alimenti di origine animale che vegetale, con prevalenza di acidi grassi saturi nei grassi di origine animale e di insaturi nei grassi di origine vegetale. Tra gli acidi grassi saturi più conosciuti ritroviamo l'acido *miristico*, acido *palmitico*, acido *stearico*; tra gli acidi grassi monoinsaturi il più diffuso è l'acido *oleico*, tra i polinsaturi il *linoleico*.

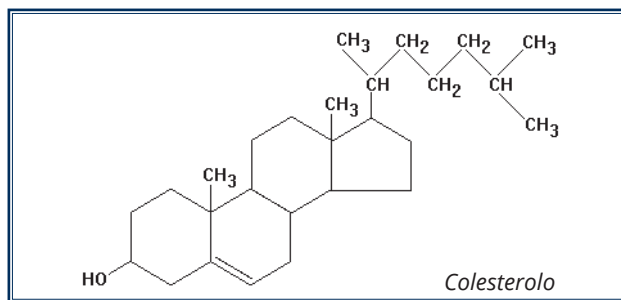
Tra gli acidi grassi polinsaturi ce ne sono alcuni che sono essenziali (detti EFA, dall'inglese Essential Fatty Acids), ovvero non possono essere sintetizzati dall'organismo e

devono essere introdotti con l'alimentazione: l'acido α -linolenico e l'acido *linoleico*. La loro molecola è caratterizzata dal doppio legame rispettivamente in posizione 3 o 6 della catena carboniosa e sono indicati per questo come acidi grassi della serie $\omega 3$ e $\omega 6$, rispettivamente. Da tali EFA, derivano altri acidi grassi polinsaturi come l'acido ecosapentaenoico (detto EPA, $\omega 3$), l'acido docosaesaenoico (detto DHA, $\omega 3$) e l'acido arachidonico ($\omega 6$).

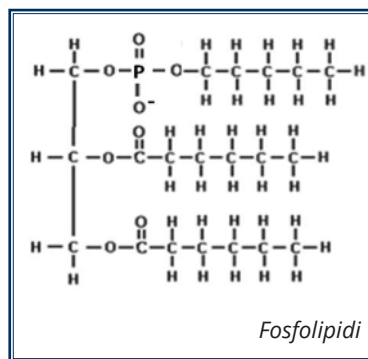
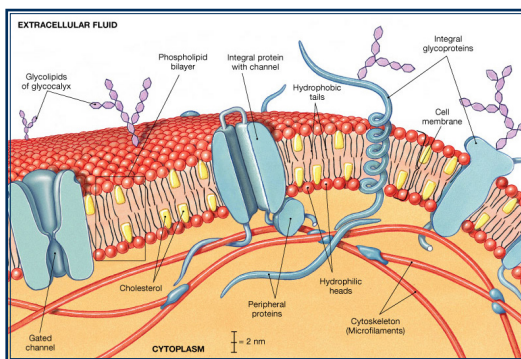
In generale, gli acidi grassi polinsaturi (che vengono anche identificati come PUFA, dall'inglese Poly Unsaturated Fatty Acids) si distinguono in PUFA Omega-3, che comprendono l'acido α -linolenico, EPA ed DHA e che predominano nella dieta a base di olio di pesce, e in PUFA della serie Omega-6 - che comprendono l'acido *linoleico* e archidonico e sono abbondanti nelle diete a base vegetali.

Gli EFA sono fondamentali per l'organismo perché indispensabile per la formazione di prostaglandine che proteggono i vasi sanguigni dalle malattie circolatorie dovute ad eccesso di colesterolo.

Gli **steridi** sono esteri formati da alcoli ciclici e acidi grassi. Hanno origine animale e vegetale. Lo sterolo più importante è il colesterolo, presente in tutte le cellule come componente delle membrane cellulari, nel tessuto nervoso, nel cervello e ghiandole surrenali. È necessario per la formazione di molti ormoni, acidi biliari e vitamina D. Nel sangue circola legato a proteine a formare lipoproteine con peso e grandezza differenti: alta densità HDL (High Density Lipoprotein), più ricche di proteine che di colesterolo, e LDL (Low Density Lipoprotein) e VLDL (Very Low Density Lipoprotein), più ricche di colesterolo. L'eccesso di LDL nel sangue è associato al rischio dell'insorgenza di malattie cardiovascolari in quanto tende a depositarsi nelle pareti dei vasi e formare placche aterosclerotiche che si accrescono fino ad ostacolare il flusso sanguigno.



I **fosfolipidi** sono complessi formati da un alcol, acidi grassi ed un gruppo fosforico legato ad una base azotata. Sono fondamentali costituenti delle membrane cellulari.



Fonte: http://droualb.faculty.mjc.edu/images/Anatomy/Cytology/FG02_05.jpg

Cerebrosidi e gangliosidi sono glicolipidi costituenti del sistema nervoso.

Le funzioni dei lipidi per il nostro corpo sono:




- Energetica. I lipidi costituiscono una potente fonte energetica e, negli animali, vengono immagazzinati sotto forma di gliceridi soprattutto nel tessuto sottocutaneo, a fungere da energia di riserva. Utilizzati all'occorrenza qualora non ci dovessero esse-

re zuccheri disponibili, da un grammo di lipidi vengono liberate in media circa 9kcal.

- **Plastica.** Sono componenti strutturali delle cellule (fosfolipidi, cerebrosidi, lipoproteine).
- **Meccanica e termogenetica.** I gliceridi presenti nel tessuto sottocutaneo rappresentano una specie di cuscinetto protettivo nei confronti di pressioni esterne ed inoltre contribuiscono a mantenere costante la temperatura corporea svolgendo azione isolante e di protezione dal freddo.
- **Veicolante.** Fungono da veicolo di assorbimento di vitamine liposolubili A, D, E, K.

Sulla base dei LARN, il fabbisogno giornaliero dei lipidi nel nostro organismo è di circa 20-35% delle calorie totali introdotte. I lipidi sono contenuti in molti alimenti di origine animale (carni, uova, latte e derivati) e vegetale (semi e frutti oleosi), con diverse proporzioni in quanto a contenuto di acidi grassi saturi, insaturi, monoinsaturi e colesterolo.

È auspicabile che tra i grassi introdotti ci siano pochi grassi saturi e poco colesterolo, in quanto fortemente aterogenici e ritenuti i maggiori responsabili dell'insorgenza di malattie cardiovascolari. È auspicabile, invece, che l'alimentazione sia quanto più ricca di acidi grassi monoinsaturi (acido oleico) e polinsaturi, in particolare gli essenziali EFA, in quanto hanno dimostrato di avere effetti positivi sull'abbassamento del colesterolo e dei trigliceridi nell'organismo e contro l'insorgenza di malattie cardiovascolari quali l'aterosclerosi e le coronopatie (Mariani Costantini et al., 2006; Riccardi et al., 2013, Moriondo 2007):

MONOINSATURI		FONTI ALIMENTARI		
ω-9 acido oleico	Alimentare e di sintesi	Olio di oliva		
POLINSATURI				
ω-6 acido linoleico	Alimentare	Oli di semi, frutta secca, verdure		
Acido arachidonico	Alimentare e di sintesi	Foglia verde, legumi		
ω-3 acido α-linoleico	Alimentare	Pesce e crostacei, frutta secca,		
acido ecosapentaenoico EPA	Alimentare e di sintesi	verdura a foglie larghe		
docosaesaenoico DHA	Alimentare e di sintesi			

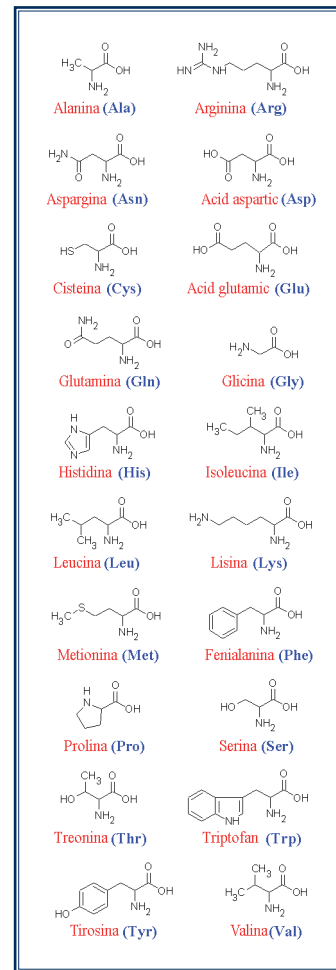
Protidi

I protidi, o proteine, hanno un ruolo di primaria importanza negli organismi viventi, come già evinto dal nome che deriva dal greco *protos* che significa appunto "primario". Essi costituiscono circa il 15% dell'organismo umano essendo presenti nel plasma, nei tessuti e soprattutto nei muscoli. Inoltre, sono fondamentali per molti processi funzionali e regolatori.

Le proteine sono sostanze quaternarie formate da carbonio, idrogeno, ossigeno ed azoto, anche se oltre a questi elementi possono essere presenti zolfo e fosforo.

Sono macromolecole composte da unità fondamentali, dette amminoacidi. Gli amminoacidi sono molecole contenenti un gruppo carbossilico acido (-COOH) e un gruppo amminico basico (-NH₂). Gli amminoacidi coinvolti nella sintesi proteica sono 20 e, tra questi, nove sono essenziali (leucina, isoleucina, valina, lisina, metionina, treonina, fenilalanina, triptofano, istidina) e durante l'accrescimento un altro aminoacido, l'arginina, diventa essenziale. Il termine essenziali sta ad indicare l'incapacità dell'organismo di sintetizzare questi aminoacidi a partire da altri aminoacidi tramite trasformazioni biochimiche. Questi aminoacidi devono essere pertanto introdotti con la dieta.

AMMINOACIDI	
Glicina	Non essenziale
Asparagina	Non essenziale
Prolina	Non essenziale
Glutammina	Non essenziale
Serina	Non essenziale
Tirosina	Non essenziale
Arginina	Essenziale per i neonati
Lisina	Essenziale
Metionina	Essenziale
Treonina	Essenziale
Leucina	Essenziale
Isoleucina	Essenziale
Valina	Essenziale
Fenilalanina	Essenziale
Triptofano	Essenziale
Istidina	Essenziale



Gli amminoacidi si legano l'un l'altro attraverso legami peptidici a formare catene più o meno lunghe contenenti da pochi amminoacidi (peptidi) ad un massimo di qualche migliaio (polipeptidi). La combinazione dei 20 amminoacidi permette, quindi, la formazione di un numero notevole di catene peptidiche le quali possono rimanere in questa *struttura primaria* a formare proteine più semplici, oppure assumere configurazioni spaziali più complesse come quella *secondaria* (ripiegamento delle catene primarie), o *terziaria* (ulteriore ripiegamento delle catene amminoacidiche). In altri casi, l'unione di più catene polipeptidiche, che avviene per mezzo di legami idrogeno, ponti disolfuro o attrazione elettrostatica, dà origine a proteine più complesse con *struttura quaternaria* (Figura 1).

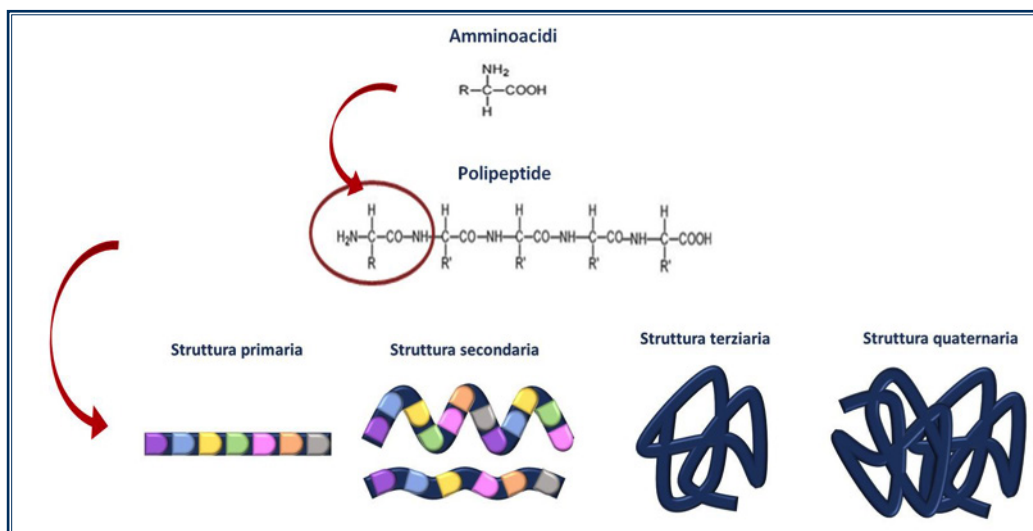


Figura 1. Struttura delle proteine

Le proteine nell'organismo svolgono funzione:

- **Plastica:** le proteine sono i "mattoni" per costruire tutti i tessuti durante l'accrescimento o durante il rinnovamento, essendo soggetti a continue demolizioni e sintesi, soprattutto nei muscoli;
- **Regolatrice:** le proteine hanno attività enzimatica, sono precursori di ormoni, neurotrasmettitori (serotonina) e altre molecole di importanza biologica, sono necessarie per la contrazione muscolare e per la difesa immunitaria dell'organismo, fungono da trasportatori (carrier) di molte molecole attraverso il sangue e attraverso le membrane cellulari ed intervengono nella coagulazione del sangue.
- **Energetica:** gli amminoacidi possono essere trasformati in glucosio tramite la rimozione della parte azotata ed utilizzati come fonte energetica. Ne consegue che le proteine forniscono al nostro corpo in media 4 kcal per grammo.

Il fabbisogno giornaliero dei protidi nel nostro organismo è di circa 10-20% delle calorie totali introdotte, ma è fortemente influenzato da diversi fattori come per esempio il peso corporeo, lo stato fisiologico, l'età e l'attività fisica svolta. Tale fabbisogno è soddisfatto sia con il consumo di alimenti di origine animale (carne, latte, uova, pesce ecc.) che contengono proteine ad alto valore biologico (dette anche nobili) che apportano tutti gli aminoacidi essenziali, sia attraverso il consumo di alimenti di origine vegetale come cereali e leguminose che contengono proteine a basso valore biologico (dette incomplete) spesso carenti di uno o più aminoacidi essenziali. Gli alimenti di origine vegetale, tuttavia, se vengono consumate in associazione tra loro sono in grado di fornire tutti gli aminoacidi essenziali all'organismo.

L'assunzione alimentare di proteine è necessaria per il rifornimento di amminoacidi necessari alla sintesi proteica. Infatti, gli animali costruiscono le proteine necessarie all'organismo trasformando in aminoacidi le proteine assunte con l'alimentazione, per poi ricombinarli nelle proteine necessarie seguendo le informazioni fornite dal proprio DNA, nella sintesi proteica. In determinate condizioni, come ad esempio durante regimi alimentari fortemente ipocalorici o ipoglicidici oppure durante un'intensa attività fisica, l'organismo smonta le proteine contenute nel muscolo per ricavarne energia; se le proteine sono assunte in quantità insufficiente, la fase di costruzione non riesce a ripristinare le perdite muscolari avvenute nella fase catabolica: si avrà pertanto una perdita di massa muscolare. Il corpo non immagazzina scorte proteiche, e quindi è necessario reintegrare quotidianamente attraverso l'alimentazione i quantitativi che vengono consumati dall'organismo in modo tale da mantenere inalterato l'equilibrio fra costruzione di tessuti (anabolismo) e distruzione (catabolismo).

Poiché esiste comunque un limite all'aumento della massa muscolare e poiché il catabolismo proteico aumenta in situazioni di carenza di carboidrati, se la dieta è fortemente iperproteica le proteine in eccesso vengono demolite e le scorie azotate vengono eliminate come urea, con sovraccarico di lavoro per il rene. La SINU ha calcolato che, in media, una persona adulta dovrebbe assumere quotidianamente circa un 0,9 g di proteine per ogni chilo di peso corporeo (LARN 2014). Questi valori sono maggiori durante la gravidanza e l'allattamento e nei bambini, il cui fabbisogno dopo i 6 mesi di vita è più alto di circa il 30% in funzione della crescita (Mariani Costantini et al., 2006; Riccardi et al., 2013, Moriondo 2007). Le cose cambiano quando si intraprende un'attività sportiva a livello agonistico, durante la quale c'è un incremento dell'ossidazione proteica dovuto l'intenso sforzo muscolare e quindi è necessaria un'integrazione alimentare. Numerosi studi basati sul calcolo dell'equilibrio del bilancio proteico sostengono che per i body builder sia sufficiente un'integrazione pari a 1,12 volte rispetto all'intake di un sedentario, mentre per gli atleti agonisti l'incremento sufficiente è di circa 1,67 volte (Tarnopolski et al., 1988, Tarnopolski 2004).

Acqua

L'acqua è la sostanza più abbondante il nostro corpo, basti pensare che costituisce il 65% del corpo di un adulto ed il 75% del corpo di un neonato, con distribuzione differente dei diversi tessuti (Mariani Costantini et al., 2006; Riccardi et al., 2013, Moriando 2007).

È un macronutriente inorganico che non apporta né calorie né sostanze nutritive ma assolve numerosissime funzioni:

- Modula il volume cellulare;
- Rappresenta il solvente fondamentale delle molecole all'interno e all'esterno della cellula ed è il mezzo in cui hanno luogo le reazioni metaboliche;
- È il mezzo di trasporto dei nutrienti all'interno della cellula ed il mezzo attraverso il quale le scorie metaboliche vengono eliminate;
- Regola la temperatura corporea attraverso meccanismi di sudorazione e traspirazione.

L'acqua, insomma, è un componente vitale per il nostro organismo: si può vivere di più senza mangiare rispetto a quanto si vivrebbe senza bere. L'organismo elimina l'acqua attraverso l'urina, le feci, la traspirazione, la sudorazione e anche la respirazione, e se essa non è opportunamente reintegrata l'organismo può andare incontro a disidratazione. La perdita del 5% dell'acqua corporea produce vari squilibri fisici, quali irritabilità, mal di testa, sonnolenza, aumento degli atti respiratori, alterata temperatura corporea e difficoltà di concentrazione, fino ad arrivare a vertigini, spasmi, delirio, coma e anche morte quando la disidratazione raggiunge o supera il 12%.

Anche un'eccessiva introduzione di acqua può rivelarsi negativa. Questo è particolarmente vero per le persone che soffrono di nefropatie poiché, non riuscendo ad eliminare l'acqua in eccesso, vedono un aumento patologico di tutti i liquidi biologici, con conseguente emodiluizione e tutti gli effetti negativi da iperidratazione che ne derivano: nausea, vomito, diarrea, dispnea, ipertensione, convulsioni e iporefflessia, fino al coma.

È necessario quindi assicurarsi un corretto bilancio idrico, ovvero assumere una quantità di acqua necessaria a compensare quella eliminata. Il fabbisogno medio giornaliero è di 1,5-2 litri, ma questo varia in funzione dell'età, del clima, delle attività sportive e dall'alimentazione. Tale fabbisogno è coperto sia dall'assunzione di acqua stessa o di bevande, sia dall'assunzione di cibi solidi, principalmente frutta e verdura che arrivano a contenere fino a sopra l'80% di acqua.

Vitamine

Le vitamine sono un composto organico e un nutriente essenziale che un organismo richiede in quantità limitate, nell'ordine di pochi milligrammi o microgrammi al giorno. Vengono divise in idrosolubili e liposolubili, a seconda che si sciolgano in acqua o nei grassi. Le vitamine **idrosolubili**, quelle del *gruppo B* e la *vitamina C*, sono presenti soprattutto negli alimenti ad elevato contenuto idrico, si sciolgono nell'acqua di cottura se l'alimento viene sottoposto a bollitura, nell'organismo non vengono accumulate anche se assunte in grandi quantità perché vengono eliminate con le urine. Le vitamine **liposolubili** sono la *vitamina A, D, E, K* e si trovano principalmente negli alimenti grassi. A differenza delle idrosolubili, nell'organismo possono essere accumulate a livello del tessuto adiposo per cui, una loro assunzione incontrollata può dar luogo a fenomeni tossici. Tutte le vitamine, con le dovute differenze, sono sensibili all'azione del calore, della luce e alla conservazione prolungata; l'assunzione di cibi crudi e freschi, pertanto, è l'unica modalità che assicura il massimo apporto di vitamine alimentari.

Le vitamine sono indispensabili per il regolare svolgimento di tutte le funzioni dell'organismo: hanno una fondamentale funzione regolatrice, essendo i coenzimi di molte reazioni enzimatiche, ed hanno funzione protettiva, avendo capacità antiossidanti (Figura 2). Le vitamine del *gruppo B* hanno un ruolo essenziale nel funzionamento del sistema nervoso e del tono muscolare, e partecipano a molte reazioni chimiche che avvengono nel nostro organismo; esse infatti sono fondamentali per la produzione di energia a partire dal glucosio e sono fondamentali per il metabolismo dei lipidi e delle proteine. Sono importanti per il corretto funzionamento della cute, occhi e fegato. Tra le funzioni più importanti della *vitamina C*, c'è quella antiossidante e coadiuvante per l'assorbimento del ferro a livello intestinale. Stimola il sistema immunitario permettendo all'organismo di difendersi dalle malattie e aiuta il collagene a rimanere integro. Si trova principalmente nei vegetali come la frutta acidula, ma anche nelle verdure fresche. Una sua caratteristica è di essere termolabile e fotosensibile, cioè tendere a deteriorarsi notevolmente con la cottura e l'esposizione alla luce.

Le vitamine liposolubili A, D, E, K sono altrettanto importanti: regolano i processi della visione, del ricambio cellulare a livello epiteliale, facilitano l'assorbimento del calcio, permettendo così un buon sviluppo osseo, e intervengono nei processi della coagulazione. Queste si trovano soprattutto negli alimenti più grassi, ma non soltanto. I vegetali di colore giallo-arancione come le carote, le zucche, i meloni, le albicocche contengono i *carotenoidi*, i precursori della *vitamina A*. La *vitamina A* vera e propria si trova, invece, principalmente nelle frattaglie (cuore, fegato, polmoni, reni), in carne, pesce, uova e formaggi. La *vitamina D* è contenuta soprattutto nel fegato, nell'olio di pesce e nei pesci grassi come il salmone ed è indispensabile per l'assorbimento del calcio a livello intestinale. La *vitamina E* è presente soprattutto negli oli vegetali, come l'olio di germe di grano, o nei cereali poco raffinati ed ha un'azione antiossidante nei confronti dei lipidi di membrana e previene l'invecchiamento. Infine la *vitamina K* è fondamentale per i processi di coagulazione sanguigna e viene introdotta soprattutto attraverso verdure a foglia larga come spinaci o bietta. L'organismo non è in grado di sintetizzare le vitamine, ad eccezione di alcune come la *vitamina K*, prodotta anche dalla flora batterica intestinale, e la *vitamina D*, che si ottiene anche per irraggiamento con luce ultravioletta dei composti sterolici presenti nell'epidermide. Per il resto, tal quali o sotto forma di precursori (come nel caso della *vitamina A*, sintetizzata a partire dalla provitamina β -carotene), le vitamine devono essere introdotte con l'alimentazione che deve essere quanto più possibile variata. In questo modo, il nostro organismo è in grado di assicurarsi tutte le vitamine necessarie ed evitare l'insorgenza di numerose patologie, anche gravi, dovuta a carenze prolungate.

VITAMINA	DOSE GIORNALIERA RACCOMANDATA (ETÀ 19-70 ANNI)		FUNZIONE	MALATTIA DA CARENZA	FONTE NEL CIBO
	Uomo	Donna			
Vitamina A (Retinolo) Liposolubile	(µg) 700	600	Protegge la vista e la pelle. Favorisce la crescita.	Cecità notturna, ipercheratosi e cheratomalacia.	Frattaglie, frutta e verdura giallo-arancione, carne, pesce e uova.
Vitamina B1 (Tiamina) Idrosolubile	(mg) 1,2	1,1	Processi di trofismo di alcuni tessuti. Protegge il sistema nervoso. Favorisce il metabolismo dei carboidrati.	Beri-Beri, Sindrome di Wernicke-Korsakoff.	Crusca
Vitamina B2 (Riboflavina) Idrosolubile	(mg) 1,6	1,3	Favorisce il metabolismo delle proteine, grassi e carboidrati.	Ariboflavinosi, glossite, cheilite angolare.	Carne, latticini, uova.
Vitamina B3 o PP (Niacina) Idrosolubile	(mg) 18	18	Componente di importanti coenzimi.	Pellagra	Carne, grano.
Vitamina B5 (Acido pantotenico) Idrosolubile	(mg) 5	5	Costituente di ormoni e sostanze regolatrici del sistema nervoso.	Parestesia	Carne, grano intero.
Vitamina B6 (Piridossina) Idrosolubile	(µg) 1,3	1,3	Costituente di enzimi del metabolismo glucidico e lipidico.	Anemia, neuropatia periferica.	Carne, latticini.
Vitamina B7 o H (Biotina) Idrosolubile	(µg) 30	30	Importante per il funzionamento del sistema nervoso. Coenzima nella produzione di grassi, acido nucleico e nell'ossidazione degli acidi grassi e carboidrati.	Dermatite, enterite.	Carne, latticini, uova.
Vitamina B9 (Acido folico) Idrosolubile	(µg) 400	400	Sintesi degli acidi nucleici, facilita la crescita, concorre alla formazione dei globuli rossi.	Anemia megaloblastica e la carenza durante la gravidanza è associata a difetti nel nascituro, come difetti al tubo neurale.	Ortaggi a foglia.
Vitamina B12 (Cobalamina) Idrosolubile	(µg) 2,4	2,4	Formazione degli eritrociti e sintesi degli acidi nucleici.	Anemia megaloblastica.	Fegato, uova, prodotti animali.
Vitamina C (Acido ascorbico) Idrosolubile	(mg) 105	85	Importante per l'assorbimento del ferro. Funzione antiossidante. Stimola il sistema immunitario. Mantiene integro il collagene.	Scorbuto	Succo di agrumi, la maggior parte dei cibi freschi.
Vitamina D (Calciferolo) Liposolubile	(µg) 15	15	Stimola l'assorbimento del calcio e del fosforo a livello intestinale e favorisce lo sviluppo di ossa e denti. Favorisce la crescita.	Rachitismo, colecalciferolo.	Olio di fegato di merluzzo.
Vitamina E (Tocoferolo) Liposolubile	(mg) 13	12	Azione antitrombotica. Azione antiossidante nei confronti di lipidi di membrana.	La mancanza è estremamente rara; sterilità nei maschi e aborti nelle donne, media anemia emolitica nei neonati.	Olio di germi di grano, oli vegetali non raffinati.
Vitamina K (Phylloquinone) Liposolubile	(µg) 140	140	Antiemorragico	Datesi emorragica.	Ortaggi a foglia.

Figura 2. Livelli di Assunzione di Riferimento di Vitamine per la popolazione italiana (LARN) 2014

Sali Minerali

I sali minerali sono sostanze inorganiche che non possono essere sintetizzate da nessun essere vivente, e devono pertanto essere assimilate attraverso l'alimentazione. A seconda dei quantitativi che sono necessari al nostro organismo, i sali minerali si dividono in: **macroelementi** (*Calcio, Fosforo, Magnesio, Sodio, Potassio e Cloro*) il cui fabbisogno giornaliero è nell'ordine dei grammi o decimi di grammo e **microelementi** (*Ferro, Rame, Zinco, Fluoro, Iodio, Selenio, Manganese, Cromo, Molibdeno*) il cui fabbisogno giornaliero è nell'ordine dei milligrammi o microgrammi (LARN 2014) (Figura 3).

I sali minerali rappresentano uno dei costituenti strutturali principali del nostro organismo. Oltre a far parte delle singole strutture cellulari, infatti, rappresentano gli elementi più abbondanti di alcuni tessuti e organi come ossa e denti, costituiti principalmente di *calcio, magnesio e fosforo*. Inoltre, ciascuno ha ruolo fondamentale per la sopravvivenza, essendo determinanti nella regolazione della composizione dei liquidi cellulari e nel mantenimento dell'equilibrio osmotico, ionico ed acido-base. Inoltre partecipano alle attività cellulari, metaboliche ed enzimatiche: ad esempio il *ferro* è costituente dell'emoglobina, il *sodio* ed il *potassio* sono fondamentali per la funzionalità muscolare, compresa quella cardiaca, lo *iodio* è fondamentale per il funzionamento della tiroide, lo zinco è importante per il nostro sistema immunitario ed il fosforo è coinvolto nel processo della memoria.

I sali minerali vengono eliminati attraverso feci, urina e sudore, e pertanto devono essere costantemente reintegrati per evitare che l'organismo ne sia carente. Una delle carenze più ricorrenti è quella del *ferro*, in quanto l'organismo umano necessita di quantità discretamente elevate di questo minerali, soprattutto per le donne nei periodi mestruali. Gli alimenti che contengono ferro in quantità adeguata sono soprattutto frattaglie, carne e pesce. Anche le verdure a foglia come gli spinaci o il radicchio verde ne contengono buone quantità, ma nei vegetali questo minerale è meno disponibile per l'assorbimento. Per aumentare la quantità di ferro assorbita, si possono utilizzare alcune strategie come l'abbinamento con un alimento contenente vitamina C come gli agrumi, la fragola, il kiwi, gli spinaci, ecc. Un altro minerale di cui sono carenti sempre soprattutto le donne in menopausa è il *calcio*, contenuto principalmente in latte e formaggi, ma anche in alimenti di origine vegetale quali la frutta secca o alcuni tipi di verdure come il cavolfiore. Il *sodio* è un sale fondamentale nell'organismo umano perché svolge un'azione di protezione dell'organismo contro eccessive perdite idriche. È coinvolto nella regolazione della pompa ionica di membrana e deve essere mantenuto in equilibrio con il potassio. Questo equilibrio è fondamentale per controllare il volume cellulare, conferire alle cellule muscolari la proprietà di eccitabilità, ed è correlato al trasporto di glucidi ed amminoacidi all'interno della cellula. L'eccesso di uno o dell'altro sale compromette il normale funzionamento di questi processi, con conseguenze gravi. Inoltre, un eccessivo *intake* alimentare di questi sali richiede un lavoro di smaltimento eccessivo a carico del rene, che si affatica: è pertanto consigliato non eccedere con la loro assunzione. In realtà sodio e potassio sono contenuti in molti alimenti, principalmente nella frutta fresca e nella verdura, e nelle quantità necessarie a soddisfare il fabbisogno giornaliero e ciò rende assolutamente superfluo, ad esempio, il sale da tavola che viene aggiunto alle pietanze.

SALE MINERALE	DOSE GIORNALIERA RACCOMANDATA (ETÀ 19-70 ANNI)		FUNZIONE	FONTE NEL CIBO
	Uomo	Donna		
Ca	(mg) 1000	1000	Necessario allo sviluppo di ossa e denti, per la coagulazione del sangue e per il funzionamento di muscoli e nervi.	Latte e derivati, verdure.
P	(mg) 700	700		Pollo, pesce, cereali integrali.
Mg	(mg) 240	240	Favorisce la produzione di proteine.	Carne, patate, cereali, verdure.
Na	(g) 1,5	1,5	Regolano la pressione sanguigna. Partecipano agli scambi della membrana cellulare.	Sale da cucina, frutta, verdura.
K	(g) 3,9	3,9		Frutta, verdura.
I	(µg) 150	150	Serve al funzionamento della tiroide.	Pesce, frutti di mare.
Fe	(µg) 10	18	Costituisce l'emoglobina. Aiuta a la crescita dei muscoli.	Carne, uova, legumi, verdure.

Figura 3. Livelli di Assunzione di Riferimento di Sali Minerali per la popolazione italiana (LARN) 2014

Molecole Bioattive

Comprendono un insieme estremamente disomogeneo di sostanze non nutrienti, contenute prevalentemente negli alimenti di origine vegetale, che hanno dimostrato un'azione protettiva sulla salute umana se assunti a livelli significativi. Anche se non si è a conoscenza di malattie dovute ad una loro carenza, esse sono associate a molti processi biologici quali l'attività antiossidante, la modulazione degli enzimi detossificanti, la stimolazione del sistema immunitario, la riduzione dell'aggregazione piastrinica e la modulazione del metabolismo ormonale (Figura 4) (Carratù e Sanzini, 2005).

Alcune sono associate alla prevenzione di numerose malattie metaboliche, invecchiamento ed addirittura cancro attraverso diversi meccanismi tra cui, come sarà descritto più avanti, **i meccanismi epigenetici** (Shankar et al., 2013).

		MOLECOLE	ALIMENTO	ATTIVITA'	
Carotenoidi		Licopene	Pomodoro	antiossidante, protezione dai raggi UV, riduce incidenza tumori, antiinfiammatorio	
		Luteina	Vegetali a foglia verde	antiossidante, antitumorale, immunomodulante, antiinfiammatorio	
		α -carotene, β -carotene	Vegetali giallo-arancio	precursore vitamina A, antiossidante, antitumorale, riduzione malattie cardiovascolari	
Polifenoli	Flavonoidi	Isoflavoni	Genisteina	Soia	attività estrogeno-simile
		Flavonoli	Quercetina	Cipolla, mirtilli, cavoli, tè, mele	riduzione malattie cardiovascolari, antitumorale
		Antociani	Pelargonidina, cianidina, peonidina, malvidina, petunidina e delphinidina	Fragole, frutti di bosco, uva	antiossidante, antitumorale
		Flavanoli	Catechine, Epicatechine, Epigallocatechine, Proantocianidine (tannini)	Tè verde, cacao, uva nera, mela, pera, cacao	riduzione malattie cardiovascolari, antitumorale, antiossidante
		Flavanoni	Esperidina	Agrumi	antiossidante, vasoprotettiva
		Flavoni	Apigenina, Luteolina	Peperone rosso, sedano	antiinfiammatoria, antitumorale
	Acidi fenolici	Acido ellagico	Fragole, frutti di bosco	antiossidante, antitumorale	
	Acidi cinnamici	Acidi ferulici, Acido caffeico	Frutta, soia, caffè	antiossidante, modulano processi cellulari ed enzimatici	
	Curcumina		Curcuma	antiossidante, ipocolesterolemizzante, antitrombotico, antitumorale	
	Stilbeni	Resveratrolo	Uva, vino rosso	attività estrogenica, antiossidante, antiinfiammatoria, cardioprotettiva, anticarcinogenica	
Lignani		Cereali, legumi	attività estrogenica, riduzione malattie cardiovascolari		
Glucosilonati	Isotiocianati	Allil isotiocianato	Cavoli	detossificazione dei composti cancerogeni, antiossidante, induzione dell'apoptosi, antiinfiammatorio, antibatterico, attività antiproliferativa	
	Isotiocianati	Sulforafane	Broccoli	antiossidante, antitumorale, antiinfiammatorio, antibatterico	
	Indoli	Indole-3-carbinolo	Crucifere	antiossidante, antitumorale, antiinfiammatorio, antibatterico	
Monoterpeni		D-limonene	Agrumi	antiinfiammatoria, antitumorale	
Organosolfuri		Diallilsolfuro	Aglio e cipolla	ipocolesterolemizzante, immunostimolante	

Figura 4. Alcune molecole bioattive e alimenti nei quali sono presenti

Alimentazione e Piramide Alimentare

Gli alimenti sono formati da miscele di nutrienti, in diverse quantità. In base al principale nutriente presente, gli alimenti vengono suddivisi in gruppi alimentari (Figura 5). Ed è proprio questo il motivo per il quale questa una corretta alimentazione deve essere **variata**.








GRUPPI ALIMENTARI	NUTRIENTE PRINCIPALE
 Cereali, Tuberi	Glucidi
 Carne, Pesce, Uova	Proteine
 Latte, Formaggi, Yogurt	Glucidi, Proteine, Lipidi
 Legumi	Glucidi, Proteine, Fibre
 Oli grassi	Lipidi, Vitamine
 Verdura	Acqua, Vitamine, Sali minerali, Molecole bioattive
 Frutta	Acqua, Glucidi, Vitamine, Sali minerali, Fibre, Molecole bioattive

Figura 5. Gruppi alimentari

Purtroppo, ai giorni nostri abbiamo acquisito delle abitudini alimentari fortemente errate, spesso frutto di mode, consumismo e disinformazione che dilagano nei Paesi industrializzati. Tali abitudini sono caratterizzate da diete o fortemente **ipocaloriche**, verso le quali sono orientate soprattutto le adolescenti con un pericoloso ideale di magrezza, oppure diete **iper caloriche** e per lo più **squilibrate** come quelle **iperlipidiche**, **iperproteiche** o **iper glucidiche**, che rappresentano il risultato di una profonda diseducazione alimentare. Tali diete sono allo stesso tempo **carenti sotto il profilo nutrizionale** e di fibra alimentare e ciò porta ad uno stato di **malnutrizione**, con conseguente insorgenza di problematiche che portano a malattie anche gravi, quali obesità, diabete, problemi cardiovascolari, ipercolesterolemia e addirittura cancro.

Fortunatamente ci viene in soccorso la **Nuova Piramide della Dieta Mediterranea Moderna**, una linea guida proposta dall'**INRAN** (*Istituto Nazionale per la Ricerca degli Alimenti e della Nutrizione*) su quelli che dovrebbero essere i corretti apporti quali/quantitativi alimentari (Figura 6). Essa tiene conto dell'evoluzione dei tempi e della società, evidenziando l'importanza basilare dell'attività fisica, della convivialità a tavola e dell'abitudine di bere acqua e suggerisce di privilegiare il consumo di prodotti locali su base stagionale. Dalla piramide si evince come frutta e verdura siano le pietanze che dovrebbero essere assunte quotidianamente e più volte al giorno, mentre il consumo di carne e dolci andrebbe limitato a meno di 2 porzioni a settimana.

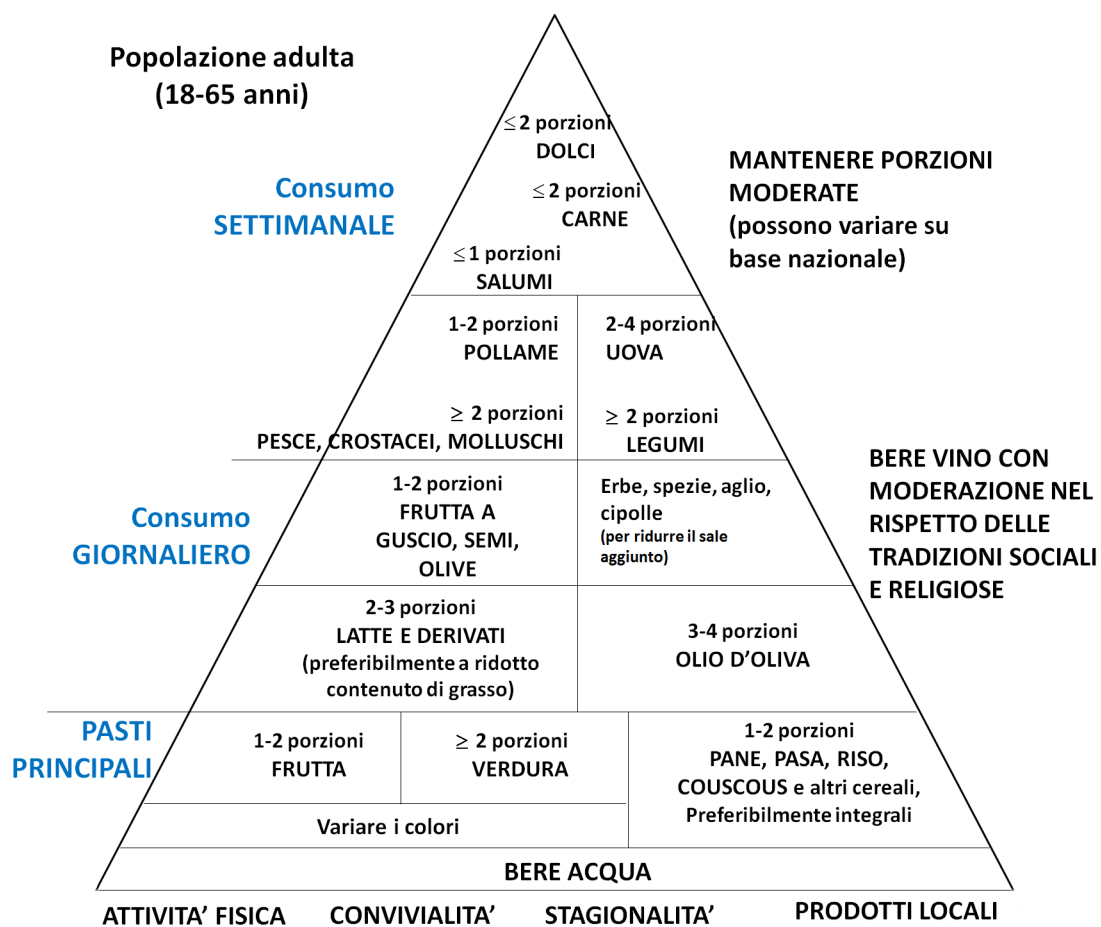


Figura 6. Nuova Piramide della Dieta Mediterranea Moderna

Epigenetica e Alimentazione

Abbiamo detto che un'alimentazione variata in molecole alimentari, abbinata ad un adeguato apporto calorico, è fondamentale garantire la corretta funzionalità del nostro organismo. Ma in che modo queste molecole alimentari influenzano la nostra salute?



I diversi nutrienti si comportano da **modulatori metabolici** che ad ogni atto alimentare inducono una serie di reazioni metaboliche e processi ormonali che cambiano l'omeostasi dell'organismo. Basti pensare all'induzione della produzione di insulina che avviene dopo l'introduzione di zuccheri. Pertanto le molecole nutrienti devono essere introdotte nella quantità e proporzioni adeguate affinché ci sia una corretta e sana regolazione dei processi fisiologici.

Ma ciò che è emerso negli ultimi anni grazie all'utilizzo della biologia molecolare è che le molecole nutrienti, oltre ad essere dei modulatori metabolici, hanno una correlazione diretta con il DNA: non soltanto è stato possibile validare scientificamente la constatazione che persone diverse rispondono in modo molto diverso ad alimenti uguali in virtù del background genetico, ma si è visto anche che **i cibi stessi possono influenzare l'espressione del DNA**. Infatti sembra che alcune molecole alimentari

siano in grado di condizionare l'espressione, e quindi l'attività, di specifiche proteine, enzimi, recettori ed elementi strutturali dell'organismo, inducendo riprogrammazioni del metabolismo, e quindi cambiamenti fenotipici (Choie Friso, 2010; Weinhold 2006).

Un chiaro esempio che dimostra l'interazione tra alimenti e DNA si riscontra in natura. Essa svolge un ruolo fondamentale in un fenomeno particolarmente presente negli insetti organizzati in società (api, formiche, termiti, ecc.) detto polifenismo, ovvero la variabilità genetica tra gli individui. Questa variabilità infatti non dipende da differenze nella sequenza nucleotidica del DNA, ma dall'espressione differenziale di gruppi di geni coinvolti nello sviluppo larvale. La comunità delle api, un'organizzazione sociale tra le più ammirevoli, si basa sulla suddivisione in tre caste: ape regina, ape operaia e fuco che, sebbene esplicano funzioni ben differenziate, si aiutano e si integrano a vicenda per la sopravvivenza della comunità. Il fenomeno della differenziazione in regine o operaie sarebbe da attribuire all'accensione o allo spegnimento di particolari gruppi di geni durante lo sviluppo larvale nelle due caste di api. In generale, le larve destinate a diventare regine sembrerebbero attivare un insieme di geni legati alla riproduzione, mentre le api destinate a diventare operaie continuerebbero a esprimere quei segmenti di DNA tipici della fase giovanile di larva. Tali differenze di espressione sarebbero dovute all'alimentazione: le future operaie infatti sono nutrite con la pappa reale soltanto nei primi 2 giorni di vita, mentre la futura regina è sempre alimentata con pappa reale. La pappa reale sembra in qualche modo essere responsabile del silenziamento di geni legati alla fase giovanile, permettendo quindi lo sviluppo delle larve in regine. (Kucharski et al., 2008; Shi et al., 2011).



Un altro esempio è fornito da esperimenti su topi *Agouti* caratterizzati dall'aver un colore del pelo marrone, giallo o a chiazze a seconda della dieta del genitore durante lo sviluppo embrionale (Dolinoy 2008). Se prima e durante la gravidanza le madri vengono nutrite con supplementi a base di acido folico o vitamina B12 la progenie presenterà soprattutto pelo di colore marrone, mentre le madri nutrite senza supplemento avranno progenie con pelo giallo.



Ma come fanno i cibi a controllare l'espressione genica, e quindi il fenotipo? La **nutrigenomica**, ovvero la scienza che studia le possibili interazioni tra molecole introdotte con l'alimentazione e il DNA, ci spiega che ciò avviene attraverso l'induzione da parte delle molecole alimentari di **cambiamenti epigenetici del DNA**, ovvero *cambiamenti stabili, ereditabili e reversibili del DNA, che causano regolazione nell'espressione genica, senza che ci sia una modifica nella sequenza originale.*

Possiamo spiegare questo concetto facendo uso di una metafora.

Supponiamo che una libreria rappresenti l'intero genoma ed ogni libro in essa contenuto rappresenti un gene. Alcuni libri (geni) hanno attaccati dei post-it che indicano che quel libro può essere letto, ovvero indicano quale gene deve essere attivo o spento. Ciò significa che, anche se la libreria è sempre la stessa, a seconda dei libri che verranno letti si otterranno informazioni differenti e, allo stesso modo, anche se la sequenza del DNA è sempre la stessa, a seconda di quale gene sarà espresso cambierà il fenotipo.

Questi post-it, queste etichette, rappresentano i cambiamenti epigenetici e sono in grado di attivare o spegnere geni specifici, comportando fenotipi diversi.

Riferimento alveare sito utah, pp. 28-32
 Riferimento topi sito utah, pp. 28-32, Photo courtesy Randy L. Jirtle, PhD,
<https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/nutrition/>

EPIGENETICA



La **libreria** rappresenta il **genoma intero**
ed ogni **libro** rappresenta un **gene**

I **post-it** sono delle etichette che indicano quali “**libri**”,
ovvero **geni**, devono essere letti o no



Cosa sono queste etichette?

Le etichette rappresentano i **cambiamenti epigenetici**

In generale possiamo distinguere diversi meccanismi attraverso i quali questi cambiamenti si verificano (Figura 7) (Choie Friso, 2010; Zaidi et al., 2010):

- Processi che alterano l'accessibilità fisica alle regioni del genoma sulle quali si legano proteine ed enzimi deputati all'espressione genica e quindi alterano l'espressione del gene stesso e quindi il fenotipo (Figura 8).

Metilazione del DNA, ovvero l'aggiunta, ad opera di enzimi della famiglia DNA-metiltransferasi (DNMTs), di particolari gruppi funzionali (metile) ceduti dalla S-adenosil metionina (SAM) al DNA in posizione 5 dell'anello della citosina presente in sequenze nucleotidiche CpG.

I gruppi metilici legati al DNA creano un ingombro sterico che impedisce la trascrizione del gene e quindi provoca il suo spegnimento. Il processo è reversibile per opera dell'enzima Demetilasi che toglie i gruppi metili al DNA il quale quindi, viene demetilato e torna ad attivarsi (Figura 9a).

Modificazioni degli istoni, attraverso acetilazione, metilazione, fosforilazione, ubiquitinazione e sumoilazione. L'acetilazione in particolare è il meccanismo più ricorrente e consiste nel trasferimento di un gruppo acetile sull'azoto della catena laterale (NH₃⁺) degli istoni per opera degli enzimi della famiglia Istone acetiltransferasi (HATs). È un meccanismo reversibile e la deacetilazione avviene per opera degli enzimi della famiglia Istone deacetilasi (HDACs). L'acetilazione delle proteine istoni che fa sì che la catena N terminale perda la sua affinità per i gruppi fosfato del DNA, carichi negativamente, e quindi provoca una decondensazione del DNA, con conseguente aumento dell'accesso a regioni promotore del DNA da parte dei fattori di trascrizione. I geni coinvolti risultano quindi attivati. Contrariamente, la

deacetilazione causa il riavvolgimento della cromatina e quindi l'ostacola la trascrizione di geni che rimangono inattivi (Figura 9b).

- Modifiche post trascrizionali.

Espressione di microRNA (o miRNA), piccole molecole di RNA non codificanti (circa 20-30 nucleotidi) che sono in grado di regolare i livelli di espressione genica a livello post-trascrizionale. Nello specifico, essi riducono il tasso di trascrizione attraverso la degradazione degli mRNA. I microRNA giocano un ruolo importante nella regolazione del ciclo cellulare, del differenziamento cellulare, dell'apoptosi, della tumore genesi e sviluppo di metastasi. Cambiamenti nell'espressione dei microRNA o della maturazione dei loro precursori, o mutazioni nella sequenza dei microRNA, dei precursori, o degli mRNA bersaglio, possono avere effetti positivi o negativi sulla normale funzione cellulare (Figura 9c).

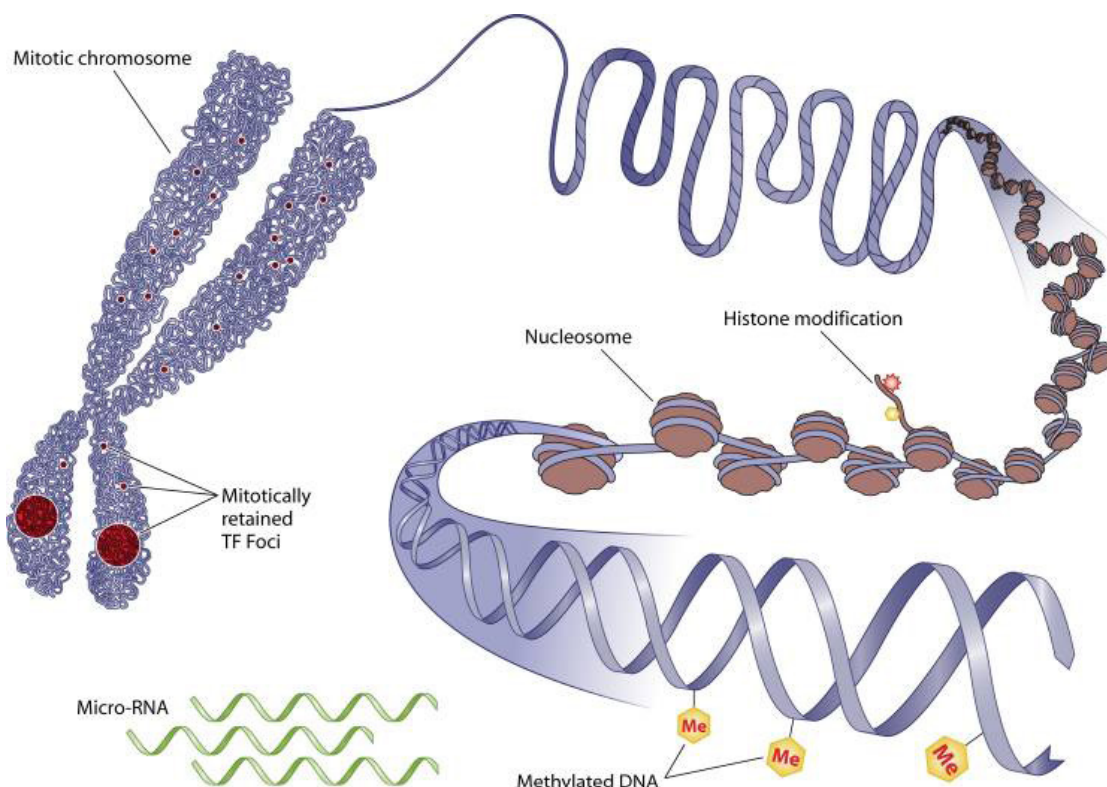


Figura 7. Meccanismi epigenetici (da Ada Zaidi et al., 2010)

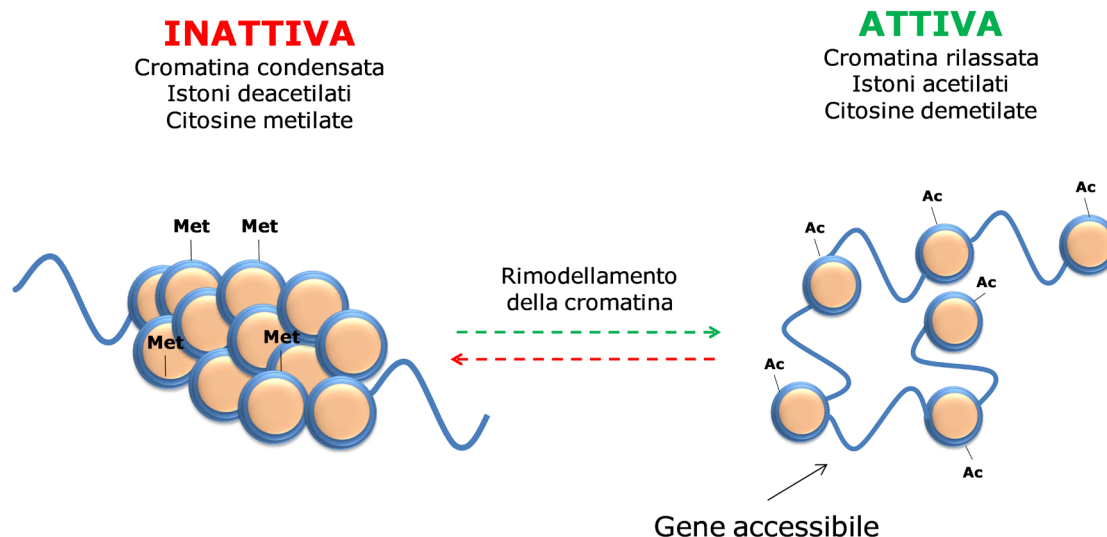


Figura 8. Rimodellamento della cromatina ad opera dei meccanismi epigenetici

Metilazione del DNA

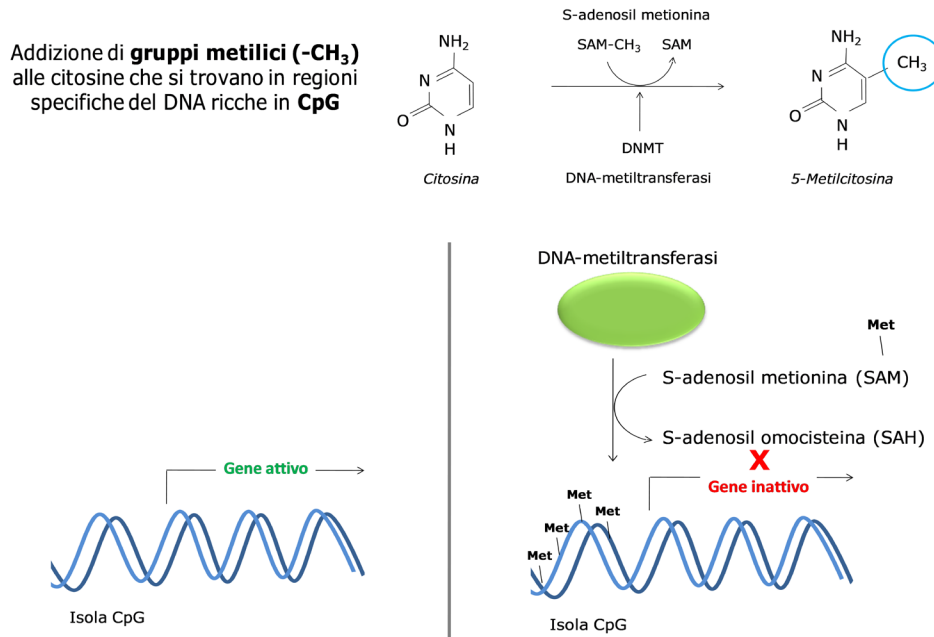


Figura 9a. Metilazione del DNA

Acetilazione istonica

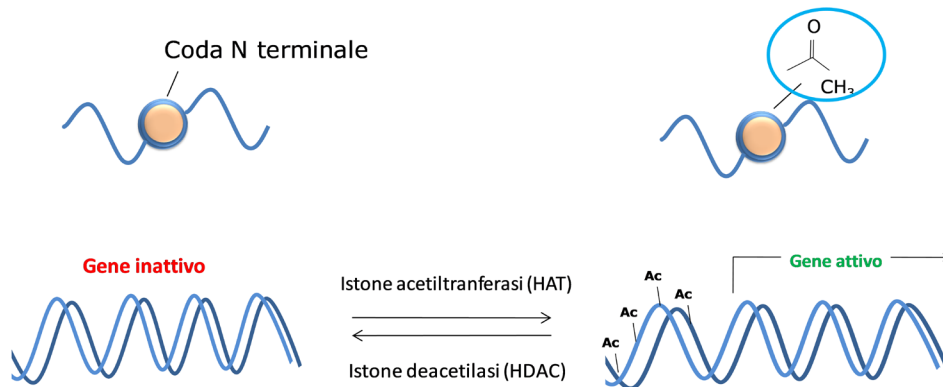


Figura 9b. Acetilazione istonica

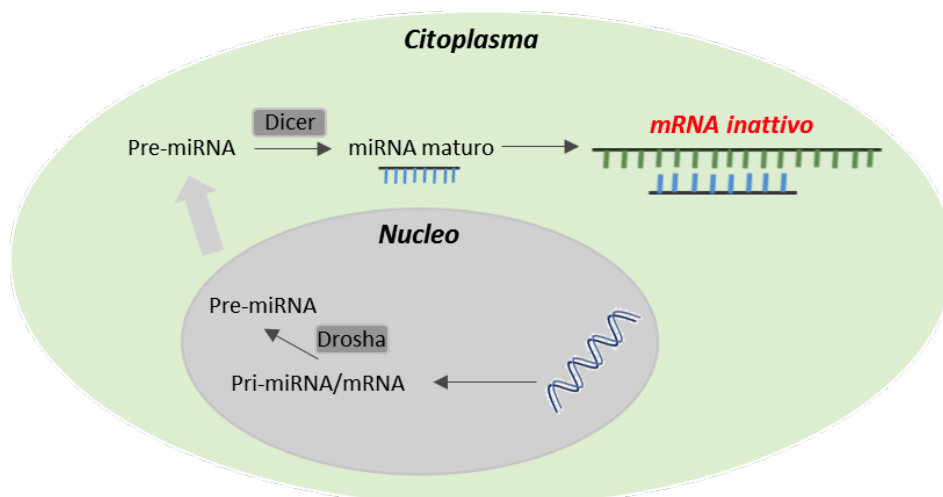
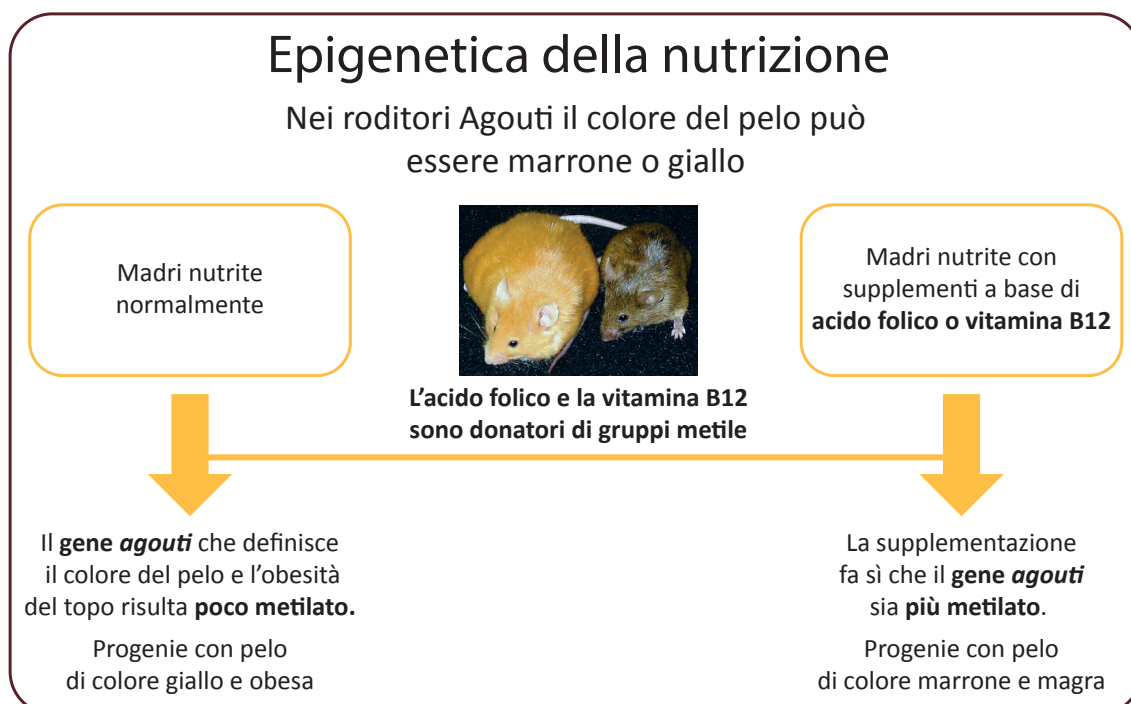


Figura 9c. MicroRNA

Alla luce di quanto detto sui diversi meccanismi epigenetici, ora si può spiegare il fenomeno del polifenismo delle api legato alla pappa reale. Questo alimento, infatti, sembra essere responsabile del silenziamento del gene che codifica per l'enzima DNA-metiltransferasi-3 il quale, quindi, rimane inattivo e non è in grado a sua volta di metilare, e quindi silenziare, alcuni geni legati alla fertilità i quali, a loro volta, rimangono attivi per far diventare la larva regina.



E ancora, il fenotipo del colore del pelo dei topi *Agouti* dipende dall'espressione del gene *agouti*, che è regolato dal suo stato di metilazione (Morgan et al., 1999) e che sembra essere influenzato dall'alimentazione. L'acido folico e la vitamina B12 con cui vengono alimentate le madri sono ricchi in gruppi metilici, il che fa aumentare nella progenie la metilazione tessuto-specifica del gene *agouti*, e quindi il silenziamento di geni specifici (Waterland et al., 2003).



I meccanismi epigenetici si susseguono durante tutto l'arco della vita di un individuo e sono necessari per un corretto sviluppo e differenziamento in quanto controllano l'espressione genica e quindi i processi fisiologici come il ciclo cellulare, riparo del DNA, l'apoptosi, l'invecchiamento, ecc... Considerando un organismo come un sistema aperto, è facile arrivare alla conclusione che qualsiasi fattore esterno dovuto principalmente allo stile di vita condotto (cibo, inquinamento, attività fisica, stress, fumo, relax, ecc...), può intervenire in tale regolazione genica modulando tali meccanismi con effetti sull'espressione genica e quindi sul fenotipo. I cibi con i quali ci nutriamo, pertanto, possono essere considerati veri e propri **modulatori epigenetici** in grado di influenzare lo sviluppo ed il mantenimento dell'organismo (Zaidi et al., 2010) (Figura 10).

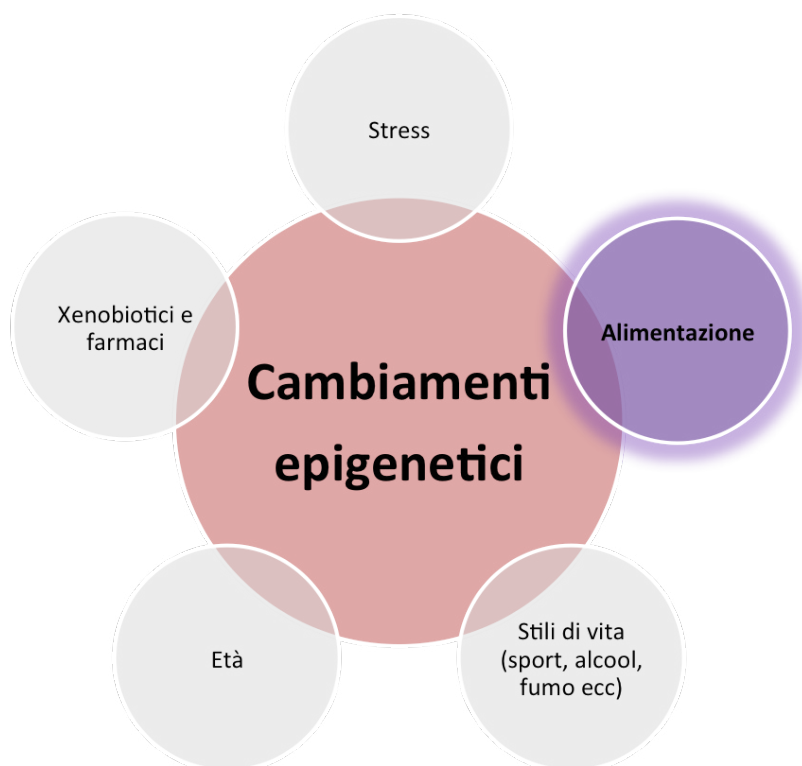


Figura 10. Fattori che influenzano i cambiamenti epigenetici

Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health^{1,2}

Sang-Woon Choi^{3*} and Simonetta Friso⁴

³Vitamins and Carcinogenesis Laboratory, Jean Mayer USDA Human Nutrition Research Center on Aging at Tufts University, Boston, MA 02111; and ⁴Department of Medicine, University of Verona School of Medicine, Verona 37134, Italy

Dagli esempi riportati poi, si nota come il periodo evolutivo rappresenta la fase di massima sensibilità ai fattori epigenetici. Infatti, i cambiamenti epigenetici che si verificano durante lo **sviluppo embrionale** avranno un **impatto molto maggiore sullo stato epigenetico dell'organismo**, in quanto le alterazioni che si verificano nelle cellule staminali embrionali possono essere trasmesse nelle divisioni mitotiche consecutive e interesseranno molte più cellule rispetto alle alterazioni che si verificano in cellule staminali adulte e/o somatiche durante lo sviluppo postnatale.

Pertanto, nonostante i cambiamenti epigenetici siano reversibili, l'esposizione del feto ad un modulatore epigenetico (in questo caso cibo) durante la vita intrauterina è in grado di determinare cambiamenti nella programmazione genica che sono in grado di persistere nella vita adulta e, in alcuni casi, persino attraverso le generazioni. E quindi, vediamo come le scelte alimentari (e dello stile di vita in generale) dei genitori possano ricadere sui figli ancora prima di essere concepiti, e a volte anche sui figli dei figli, condizionando il loro stato di salute (Lillycrop 2011; Vickers 2014; Painter et al., 2008).

Considerare le molecole alimentari come modulatori epigenetici spiega perché stili alimentari differenti portino a differenti stati di salute dell'organismo.

Esistono numerosi studi che riportano la correlazione tra alimentazione e salute mediata da meccanismi epigenetici e soprattutto tra regimi dietetici scorretti e l'insorgenza di disordini metabolici che possono sfociare in vere e proprie malattie.



Un esempio ci è dato da quanto successe nella popolazione dei Paesi Bassi la quale, a seguito della terribile carestia dovuta all'occupazione tedesca durante l'inverno del 1944-1945, subì una riduzione dell'apporto nutrizionale a meno di 1000 Kcal al giorno. Le donne continuarono a concepire e a partorire durante questi momenti difficili, e questi bambini sono ora diventati adulti ed hanno circa sessanta anni. Recenti studi hanno rivelato che questi individui - esposti a restrizioni caloriche mentre erano nell'utero del-

la madre - hanno un più alto tasso di malattie croniche come il diabete, malattie cardiovascolari e obesità rispetto ai loro fratelli nati in periodi di non carestia. I primi mesi di gravidanza sembrano aver avuto il più grande effetto sul rischio di malattia dovuto agli adattamenti epigenetici subiti dal feto in risposta al limitato apporto di nutrienti. Le esatte alterazioni epigenetiche non sono ancora chiare, ma fu scoperto che le persone che sono state esposte alla carestia in utero presentano un minor grado di metilazione del promotore di un gene implicato nel metabolismo dell'insulina (il fattore di crescita di tipo II insulino-simile) rispetto ai loro fratelli non esposti (Heijmans et al., 2008).

Un altro esempio ci è dato da un lavoro del 2011 (Godfrey et al., 2011) che mostra come la metilazione e quindi lo **"spegnimento" del gene RXRA** (Retinoid X Receptor Alpha) **possa aumentare il rischio di obesità**. Questo gene codifica per un recettore coinvolto nel processo con cui le cellule sintetizzano i grassi, e sembra che la sua metilazione possa avvenire **prima ancora della nascita**, nel ventre materno, e sembra **sia determinata dalla dieta della madre, povera di carboidrati** durante la gravidanza.



E ancora tantissimi esempi riportati in letteratura ci indicano chiaramente che esiste una correlazione epigenetica tra alimentazione materna e sviluppo nella progenie di patologie come **diabete, obesità, longevità, disturbi del sistema immunitario e del metabolismo in generale, cancro, ecc...** (Herrera et al., 2011, Hardy e Tollefsbol 2011, Tan et al., 2012).

Tutti questi esempi ci dovrebbero indirizzare verso la consapevolezza e la conoscenza della qualità nutrizionale dei cibi che ingeriamo e degli effetti epigenetici che ne derivano, affinché possiamo adottare un regime alimentare adeguato al perseguimento di uno stato di benessere.

Effect of maternal diet on the epigenome: implications for human metabolic disease.

Lillycrop KA¹.

⊕ Author information

Abstract

The rapid increase in the incidence of chronic non-communicable diseases over the past two decades cannot be explained solely by genetic and adult lifestyle factors. There is now considerable evidence that the fetal and early postnatal environment also strongly influences the risk of developing such diseases in later life. Human studies have shown that low birth weight is associated with an increased risk of CVD, type II diabetes, obesity and hypertension, although recent studies have shown that over-nutrition in early life can also increase susceptibility to future metabolic disease. These findings have been replicated in a variety of animal models, which have shown that both maternal under- and over-nutrition can induce persistent changes in gene expression and metabolism within the offspring. The mechanism by which the maternal nutritional environment induces such changes is beginning to be understood and involves the altered epigenetic regulation of specific genes. The demonstration of a role for altered epigenetic regulation of genes in the developmental induction of chronic diseases raises the possibility that nutritional or pharmaceutical interventions may be used to modify long-term cardio-metabolic disease risk and combat this rapid rise in chronic non-communicable diseases.



NIH Public Access

Author Manuscript

Epigenomics. Author manuscript; available in PMC 2012 June 1.

Published in final edited form as:

Epigenomics. 2011 August 1; 3(4): 503–518. doi:10.2217/epi.11.71.

NIH-PA Author

Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer

Tabitha M Hardy¹ and Trygve O Tollefsbol^{1,2,3,4,5,†}

Cancer control and prevention: nutrition and epigenetics.

Verma M¹.

⊕ Author information

Abstract

PURPOSE OF REVIEW: To evaluate recent developments in nutritional epigenomics and related challenges, opportunities, and implications for cancer control and prevention.

RECENT FINDINGS: Cancer is one of the leading causes of death worldwide, and understanding the factors that contribute to cancer development may facilitate the development of strategies for cancer prevention and control. Cancer development involves genetic and epigenetic alterations. Genetic marks are permanent, whereas epigenetic marks are dynamic, change with age, and are influenced by the external environment. Thus, epigenetics provides a link between the environment, diet, and cancer development. Proper food selection is imperative for better health and to avoid cancer and other diseases. Nutrients either contribute directly to cancer prevention or support the repair of genomic and epigenomic damage caused by exposure to cancer-causing agents such as toxins, free radicals, radiation, and infectious agents. Nutritional epigenomics provides an opportunity for cancer prevention because selected nutrients have the potential to reverse cancer-associated epigenetic marks in different tumor types. A number of natural foods and their bioactive components have been shown to have methylation-inhibitory and deacetylation-inhibitory properties.



Contents lists available at ScienceDirect

Maturitas

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/maturitas



Review

Genetics and epigenetics of obesity

Blanca M. Herrera^a, Sarah Keildson^a, Cecilia M. Lindgren^{a,b,*}

^a Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Roosevelt Drive, Oxford OX3 7BN, United Kingdom

^b Oxford Centre for Diabetes, Endocrinology and Metabolism, University of Oxford, United Kingdom



Epigenetics

Publication details, including instructions for authors and subscription information:
<http://www.tandfonline.com/loi/kepi20>

A review of dietary factors and its influence on DNA methylation in colorectal carcinogenesis

R.P. Arasaradnam, D.M. Commane, D. Bradburn & J.C. Mathers
Published online: 26 Jul 2008.

doi: 10.1111/j.1365-2222.2011.03823.x

Clinical & Experimental Allergy, 42, 20–29

© 2011 Blackwell Publishing Ltd

REVIEW

The role of genetics and environment in the rise of childhood food allergy

T. H.-T. Tan^{1,2}, J. A. Ellis^{1,3}, R. Saffery^{1,2} and K. J. Allen^{1,2,4,5}

¹Murdoch Children's Research Institute, The Royal Children's Hospital, Parkville, Vic, Australia, ²Department of Paediatrics, University of Melbourne, The Royal Children's Hospital, Parkville, Vic, Australia, ³Department of Physiology, University of Melbourne, Melbourne, Vic, Australia, ⁴Department of Gastroenterology and Clinical Nutrition, The Royal Children's Hospital, Parkville, Vic, Australia and ⁵Department of Allergy and Immunology, The Royal Children's Hospital, Parkville, Vic, Australia

Epigenetic Gene Promoter Methylation at Birth Is Associated With Child's Later Adiposity

Keith M. Godfrey,^{1,2,3} Allan Sheppard,^{4,5} Peter D. Gluckman,^{4,6} Karen A. Lillycrop,¹ Graham C. Burdge,¹ Cameron McLean,^{4,5} Joanne Rodford,^{1,3} Joanne L. Slater-Jefferies,¹ Emma Garratt,^{1,3} Sarah R. Crozier,² B. Starling Emerald,⁶ Catharine R. Gale,² Hazel M. Inskip,² Cyrus Cooper,^{2,3} and Mark A. Hanson^{1,3}

DIABETES, VOL. 60, MAY 2011

Early Life Nutrition, Epigenetics and Programming of Later Life Disease

Mark H. Vickers

Liggins Institute and Gravida, National Centre for Growth and Development, University of Auckland, 85 Park Road, Grafton, Auckland 1142, New Zealand; E-Mail: m.vickers@auckland.ac.nz; Tel.: +64-9-923-6687; Fax +64-9-373-7039

Received: 17 March 2014; in revised form: 21 April 2014 / Accepted: 19 May 2014 /

Published: 2 June 2014

zinco che in qualche modo entrano a far parte di questo ciclo o come cofattori enzimatici, o come precursori molecolari oppure come donatori di gruppi metile (Figura 12).

Agiscono INDIRETTAMENTE attraverso l'alterazione della disponibilità di substrati		
	NUTRIENTI	AZIONE
Vitamine del gruppo B	Acido folico (B9)	Accettore e donatore di metili nel metabolismo 1-C
	Cobalammina (B12)	Cofattore per MS
	Piridossina (B6)	Cofattore per SHMT, CBS
	Riboflavin (B2)	Cofattore per MTHFR
Molecole donatrici di metili	Metionina	Precursore di SAM
	Colina	Rimetilazione dell'omocisteina da parte di BHMT
	Betaina	Rimetilazione dell'omocisteina da parte di BHMT
	Serina	Donatore di metili al tetraidrofolato da parte di SHMT
Micronutrienti	Zinco	Cofattore per BHMT

Figura 12. Molecole alimentari che agiscono indirettamente sulla metilazione del DNA attraverso l'alterazione della disponibilità dei substrati del metabolismo del Carbonio 1C.

Il *folato*, in particolare, è coinvolto nella metilazione del DNA e degli istoni fornendo il proprio gruppo metile alla cellula per la sintesi del S-adenosil metionina (SAM), l'unica molecola che può donare di metile al DNA perché unico substrato della DNA-metiltransferasi. Il folato è stato ampiamente studiato perché essenziale per la riprogrammazione della metilazione del DNA durante il periodo embrionale precoce. Il deficit di folato all'inizio della gravidanza è stato associato ad un aumentato rischio di difetti del tubo neurale, e questo probabilmente è dovuto ad una riprogrammazione aberrante della metilazione del DNA dovuta ad una carenza di folato alimentare. Inoltre, sempre in gravidanza, si è osservato che la carenza di acido folico causa una demetilazione e quindi una derepressione del gene del fattore di crescita 2 insulino-simile (IGF2), generalmente metilato ed inattivo. Questa anormale derepressione influisce sulla programmazione di crescita e di sviluppo intrauterino, con conseguenze negative per la salute anche in età adulta. La supplementazione di acido folico in gravidanza elude questi problemi generando una metilazione del gene IGF2.

Anche la *colina* è un donatore metile e la disponibilità materna di questa molecola è essenziale per la neurogenesi fetale e soprattutto per lo sviluppo dell'ippocampo. In uno studio effettuato su topi gravidi, si è riscontrato che la privazione di colina durante il periodo embrionale causa ipometilazione di uno specifico gene coinvolto nello sviluppo dell'ippocampo, insieme a una maggiore espressione della sua proteina, indicando che la carenza di colina durante il periodo embrionale potrebbe modificare lo stato di metilazione del DNA e quindi alterare lo sviluppo del cervello del feto.

In definitiva si è visto che una supplementazione di queste molecole donatrici di gruppi metili nella dieta di madri gravide porta ad un incremento dei livelli di metilazione del DNA con modificazioni fenotipiche che sembrano coincidere con una più bassa suscettibilità a diverse patologie dei nascituri.

Azione diretta sugli enzimi

Alcuni nutrienti, soprattutto di derivazione vegetale, giocano un ruolo importante nella regolazione di molti processi fisiologici e patologici e da anni sono utilizzati nella prevenzione di numerose malattie, incluso il cancro. Queste molecole sembrano esercitare un'azione diretta sugli enzimi in grado di influenzare la metilazione del DNA o l'acetilazione istonica.

I polifenoli del tè (**epigallocatechina-3-gallate (EGCG)**), della soia (**genisteina**), dell'uva (**resveratrolo**), la **curcumina**, il **licopene** del pomodoro, l'**apigenina** del prezzemolo e gli isotiocianati come i **sulforafani** contenuti principalmente in alimenti vegetali come le crucifere (cavolfiori, broccoli, ecc) ad esempio, inibiscono l'enzima DNA-metiltransferasi, con conseguente riduzione dell'ipermetilazione in regioni specifiche del DNA, e conseguente attivazione di geni specifici. Alcuni studi dimostrano come questo possa avere un effetto preventivo e inibitorio sullo sviluppo di cancro, se associato alla riattivazione di geni critici pro-apoptotici silenziati nelle cellule tumorali (Meeran et al., 2010; Medina-Franco et al., 2011, Majid et al., 2010, Reuter et al., 2011) (Figura 13).

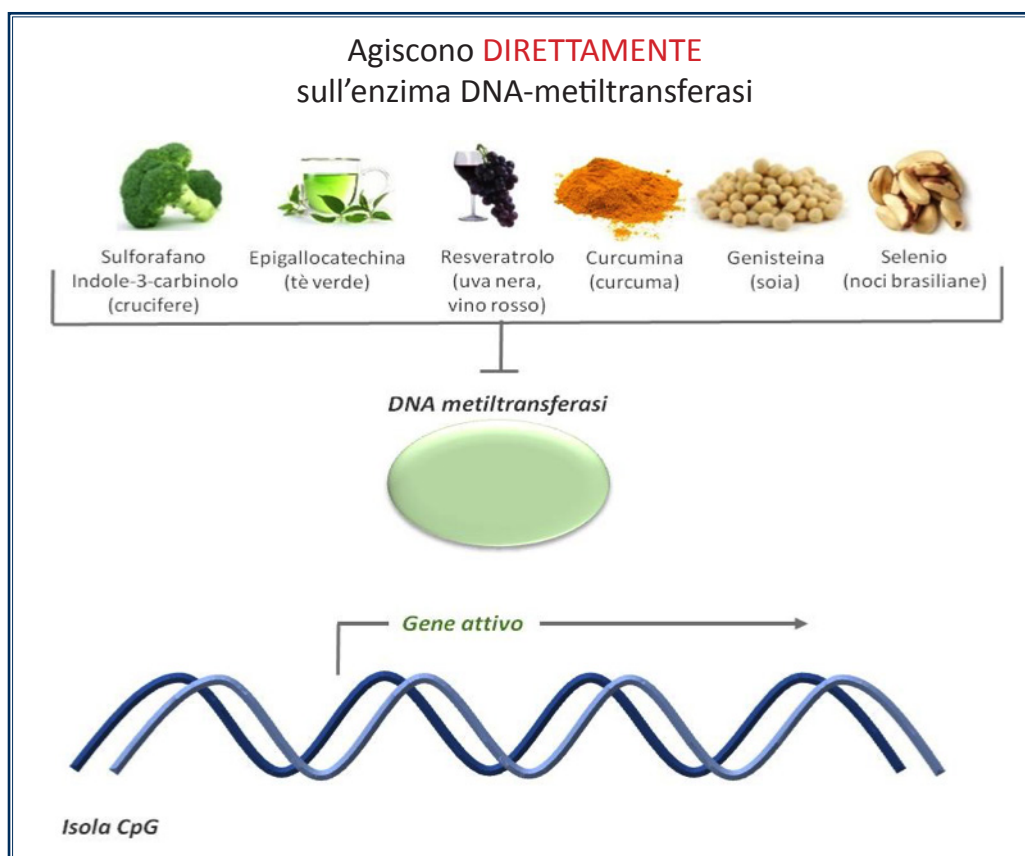


Figura 13. Molecole alimentari che agiscono direttamente sulla metilazione del DNA attraverso l'inibizione della DNA metiltransferasi.

Altre molecole alimentari, invece, influenzano l'**acetilazione istonica**, con chiare conseguenze sulle interazioni tra istoni e DNA, sull'accesso ai fattori di trascrizione e quindi sull'attivazione o disattivazione di geni specifici (Vahid et al., 2015).

L'acetilazione, ovvero l'aggiunta di un gruppo acetile ai residui di lisina N-terminale degli istoni, avviene per opera dell'enzima Istone acetiltransferasi e comporta il rilassamento della doppia elica in siti specifici e quindi un aumento dell'espressione dei geni coinvolti. È un processo reversibile e la deacetilazione avviene per opera dell'enzima Istone deacetilasi (Sharma et al., 2010; Vahid et al., 2015).

Alcune molecole come **curcumina**, **resveratrolo**, **sulforafano** e **genisteina**, già nominati, ma anche **butirrato**, un acido grasso a catena corta derivante dalla fermentazione delle fibre vegetali, e **disolfuro di diallile** e **allile mercaptano** (composti dell'aglio) agiscono direttamente sulla istone deacetilasi (HDAC) inibendola e quindi contribuiscono al mantenimento del DNA nella sua forma più accessibile e all'aumento dell'espressione genica. Anche in questo caso alcuni studi dimostrano come queste molecole possano rappresentare potenziali agenti terapeutici il cancro, poiché si è dimostrata la loro capacità di riattivare epigeneticamente dei geni che nelle cellule cancerose sono silenziati, come ad esempio indurre l'arresto del ciclo cellulare e l'apoptosi aumentando l'espressione di alcuni geni pro-apoptotici (Choi e Friso 2010). La **genisteina** inoltre

ha dimostrato avere anche la capacità di stimolare l'istone acetiltransferasi (HAT) in alcune cellule tumorali, garantendo lo stesso effetto di riattivazione di geni oncosoppressori (Majid et al., 2010).

La **curcumina** e l'**epigallocatechina**, infine, hanno anche la capacità di inibire l'istone acetiltransferasi (HAT), e quindi inibire l'accesso al DNA in regioni specifiche, ed acquisiscono per questo il duplice effetto di attivatori e disattinatori genici. In particolare, la curcumina sembra inibire la HAT del tipo p300/CREB-binding protein (CBP) che è particolarmente attiva nelle cellule in attiva replicazione o elevato metabolismo, tra cui quelle cancerose. D'altro canto già da tempo, ad esempio, in India e nel sud-est Asiatico la curcumina è conosciuta per le sue proprietà medicinali, e ciò fa di questa spezia un composto innovativo per lo sviluppo futuro di inibitori terapeutici del cancro (Reuter et al., 2011; Dashwooda et al., 2010) (Figura 14).

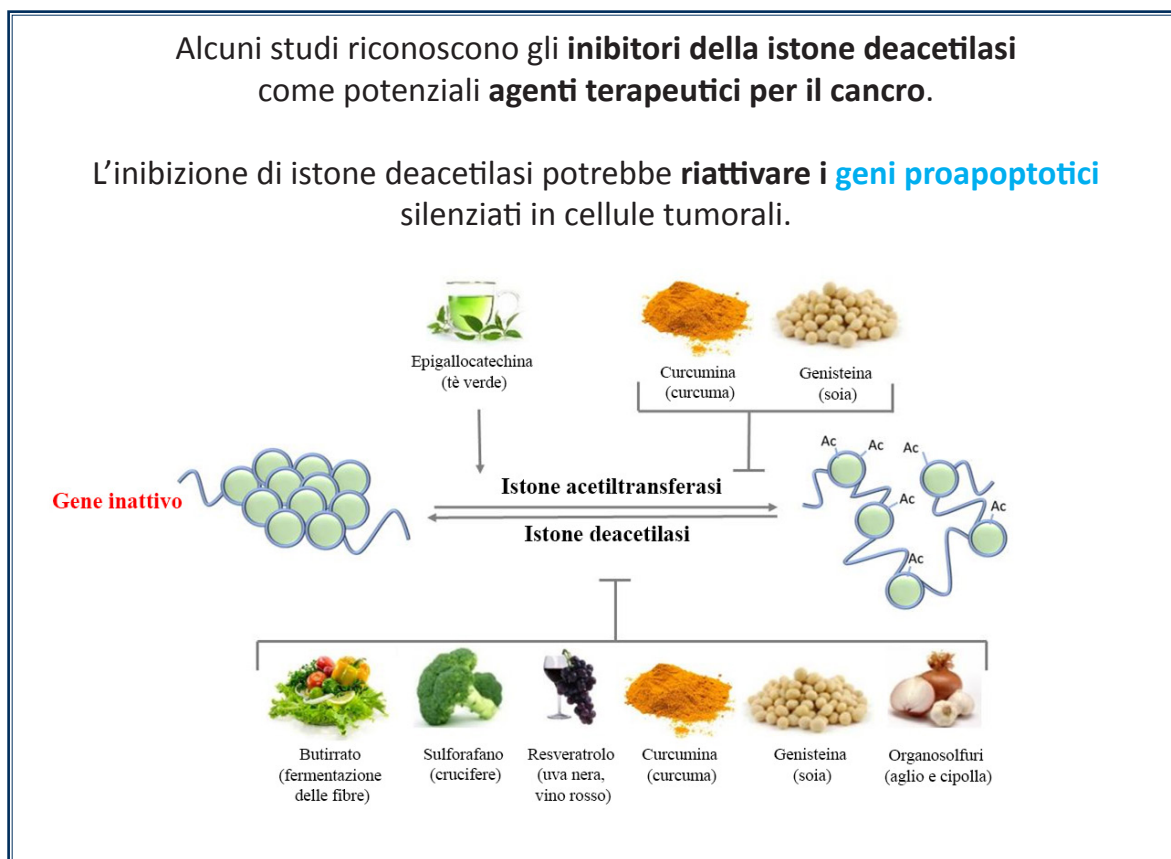


Figura 14. Molecole alimentari che agiscono sulla istone acetiltransferasi e sulla istone deacetilasi, attivandole o inibendole.

- **Modulazione dell'espressione di microRNA**

Le molecole alimentari, o la loro carenza alimentare, sono in grado di provocare cambiamenti epigenetici attraverso la **modulazione dell'espressione di microRNA** con conseguenze sull'attivazione o di disattivazione di geni specifici.

Alcuni studi dimostrano come alcune molecole abbiano un impatto sul livello di espressione di microRNA di oncogeni e/o oncosoppressori. La **curcumina** e la **genisteina**, ad esempio, sembra abbiano un ruolo nella riduzione della carcinogenesi della mammella e del pancreas attraverso l'espressione di specifici microRNA che hanno come target alcuni geni oncogeni o attraverso la down-regolazione di microRNA che i cui target sono geni oncosoppressori (Davis e Ross 2008)

In particolare alcuni studi (Sun et al., 2008) riportano come la curcumina sia in grado di provocare la up-regolazione di 11 microRNA (e tra questi il miRNA-22 il più up-regolato) e la down-regolazione di altri 18 (il miRNA-199a* su tutti) nelle cellule tumorali pancreatiche umane e come questi risultati siano associati con una inibizione della

proliferazione delle cellule tumorali pancreatiche. Inoltre la curcumina sembra indurre la sensibilità delle cellule tumorali pancreatiche ai farmaci anticancro attraverso la modulazione dell'espressione miR-200 e miR-21.

Infine, in altri studi la curcumina ha dimostrato di poter promuovere l'apoptosi in cellule dell'adenocarcinoma del polmone e del seno, attraverso pathway specifici di microRNA che prevedono la down-regolazione rispettivamente di miR-186a* e miR-16 (Zhang et al., 2010).

Altre molecole come i **sulforafani**, la **quercitina** e la **catechina** sembrano inibire lo sviluppo del cancro al pancreas attraverso l'induzione del miRNA let-7 (Appari et al., 2014).

Studi su popolazioni umane hanno dimostrato che anche una carenza alimentare di **folati** causa un'alterazione nell'espressione di microRNA e in particolare una over-espressione di miR-222 isolati da sangue periferico e che questo può essere collegato con lo sviluppo di alcuni tumori. In cellule linfoblastoidi *in vitro*, infatti, l'overespressione di miR-222 è collegata con la proliferazione cellulare e, anche in vivo, uno studio effettuato su individui con carcinoma della testa e del collo ha rivelato che nei soggetti con il più basso intake alimentare di folato l'espressione di miR-ha-222 era significativamente aumentata rispetto ai soggetti con il più alto intake (Marsit et al., 2006; Davis e Ross, 2008) (Figura 15).

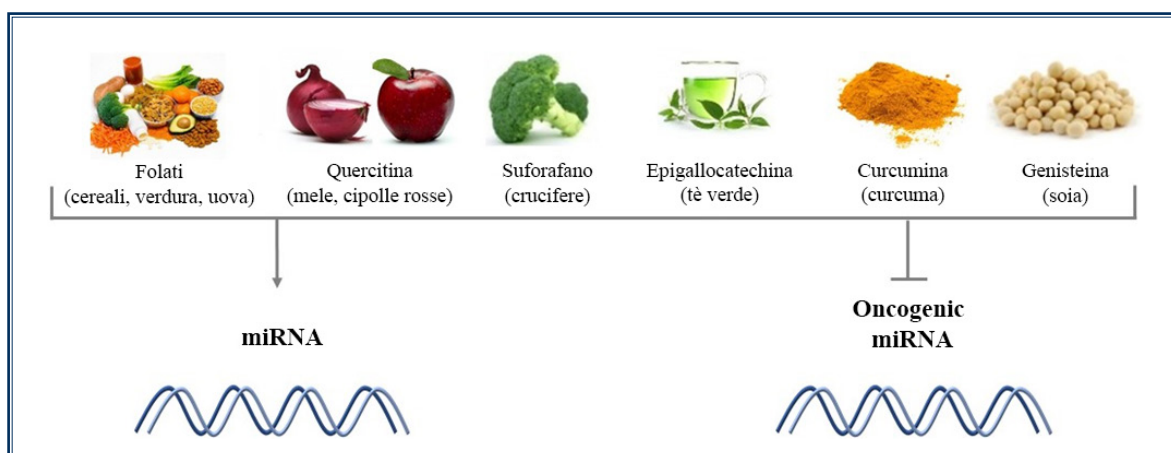


Figura 15. Molecole alimentari che causano over-espressione o down-espressione di microRNA connessi con geni oncogeni ed oncosoppressori.

Accanto ai suddetti esempi di molecole alimentari che si sono dimostrate avere un effetto epigenetico "protettore" per il nostro organismo, ce ne sono altre, come ad esempio l'**alcool**, che invece sono associate all'insorgenza di diverse patologie. L'assunzione alimentare cronica di alcool, infatti, può avere effetti epigenetici sul nostro organismo sia a livello della metilazione e acetilazione degli istoni, sia a livello della metilazione del DNA e sia a livello della modulazione di microRNA. Per fare qualche esempio, secondo uno studio del 2008 (Tang et al., 2008) nell'uomo l'abuso di alcool è collegato ad una over-espressione di miR-212. Secondo altri studi il consumo di alcool è collegato ad un aumento dell'espressione di miR-375 e miR-21 (Avisar et al., 2009). Tali cambiamenti epigenetici modificano l'attività di numerosi geni in diverse regioni cerebrali, del canale digerente e del fegato che potrebbero contribuire allo sviluppo della patologie associate con l'abuso e l'alcool dipendenza.

Ci sono tantissimi studi che correlano molecole alimentari e cambiamenti epigenetici, e ciò che è risultato fuori è il fatto che la modulazione epigenetica da parte di una sostanza e gli effetti che ne conseguono può variare a **seconda della specie** vivente, del **tipo di cellula** e del **gene coinvolto!**

In pratica non funziona sempre allo stesso modo, e per comprendere a fondo i collegamenti tra nutrienti ed epigenetica bisogna ampliare lo studio di questa area scientifica ancora poco esplorata!

Conclusioni

Da quanto detto, appare quindi evidente come la nutrizione sia indissolubilmente associata all'espressione genica, e possiamo capire, ora, come l'adozione di una dieta che sia attenta non soltanto all'apporto energetico ma anche alla **qualità delle molecole** introdotte sia essenziale per **sostenere e potenziare** i sistemi biologici attivi sul **metabolismo e ridurre quindi la suscettibilità a varie malattie** (obesità, diabete, ipertensione, dislipidemie, problemi neuronale, basse risposte immunitarie e cancro).

La domanda che ci verrebbe da porci, però è la seguente:

*“Se i cambiamenti epigenetici sono ereditabili e possono influenzare profondamente la nostra espressione genica fin dal grembo materno, significa che **siamo “condannati” dagli errori dei nostri genitori o nonni?**”*

La risposta è **NO** e risiede nella natura dei cambiamenti epigenetici. Infatti, sebbene sia auspicabile ereditare un corredo epigenetico sano che garantisca la salute dell'organismo, le modifiche epigenetiche **non sono permanenti!** Sono soltanto un modo in cui i nostri geni imparano dall'ambiente che li circonda. Il percorso è lungo e costante, ma se ci **impegniamo quotidianamente** per modificare in meglio il nostro stile di vita, e in particolare indirizziamo l'alimentazione verso scelte nutrizionali corrette che prevedano l'assunzione variata di cibi naturali e freschi, possiamo **rieducare i geni** a riprendere il loro comportamento originario e garantire il benessere del nostro organismo e soprattutto possiamo aiutare le **generazioni future** a nascere e crescere sane più a lungo!

In buona sostanza, il messaggio che deriva dall'epigenetica della nutrizione è che, anche se non possiamo intervenire sui nostri geni, possiamo farlo sull'espressione genica attraverso l'adozione di uno stile alimentare corretto.

Il DNA non è il nostro destino... e questo destino possiamo cambiarlo!!

Bibliografia

Appari M, Babu KR, Kaczorowski A, Gross W, and Herr I, 2014. Sulforaphane, quercetin and catechins complement each other in elimination of advanced pancreatic cancer by miR-let-7 induction and K-ras inhibition *International Journal of Oncology* 45: 1391-1400.

Arasaradnam RP, Commane DM, Bradburn D, Mathers JC, 2008. A review of dietary factors and its influence on DNA methylation in colorectal carcinogenesis. *Epigenetics* 3(4): 193-8.

Avissar M, McClean MD, Kelsey KT, 1,3 and Marsit CJ, 2009. MicroRNA expression in head and neck cancer associates with alcohol consumption and survival. *Carcinogenesis* 30 (12):2059-2063.

Carratù B e Sanzinì E, 2005. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. *Ann Ist Super Sanità*, 41(1):7-16.

Choi SW and Friso S, 2010. Epigenetics: A New Bridge between Nutrition and Health. American Society for Nutrition. *Adv. Nutr.*, 1: 8-16.

DashwoodaRH, and Hob E, 2007. Dietary histone deacetylase inhibitors: From cells to mice to man *Semin Cancer Biol.* 17(5): 363-369.

Dashwooda RH, Hob E, 2007. Dietary histone deacetylase inhibitors: From cells to mice to man. *Semin Cancer Biol.* 17(5): 363-369.

Davis CD and Ross SA, 2008. Evidence for dietary regulation of microRNA expression in cancer cells *Emerging Science Nutrition Reviews*, 66(8):477-482.

Dolinoy DC, 2008. The agouti mouse model: an epigenetic biosensor for nutritional and environmental alterations on the fetal epigenome. *Nutr Rev*, 66(Suppl 1): 7-11.

Fang M, Chen D, Yang C, 2007. Dietary polyphenols may affect DNA methylation. *J Nutr* 137:223S-228S.

Godfrey KM, Sheppard A, Gluckman PD, Lillycrop KA, Burdge GC, McLean C, Rodford J, Slater-Jefferies JL, Garratt E, Crozier SR, Emerald BS, Gale CR, Inskip HM, Cooper C, Hanson MA, 2011. Epigenetic gene promoter methylation at birth is associated with child's later adiposity. *Diabetes*. 60(5): 1528-1534.

Hardy TM, Tollefsbol TO, 2011. Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics*. 3(4):503-18.

Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, Slagboom PE, Lumey LH, 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 105(44): 17046-17049.

Herrera BM, Keildson S, Lindgren CM, 2011. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas*, 69(1): 41-49.

King-Batoon A, Leszczynska JM, et al. 2008. Modulation of gene methylation by genistein or lycopene in breast cancer cells. *Environ Mol Mutagen*. 49(1):36-45.

Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R, 2008. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319(5871):1827-30.

LARN Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed Energia per la Popolazione italiana, IV Revisione, 2014. *Società Italiana di Nutrizione Umana (SINU)*.

- Lillycrop KA, 2011. Effect of maternal diet on the epigenome: implications for human metabolic disease. *Proc Nutr Soc.* 70(1):64-72.
- Majid S, Dar AA, Shahryari V, Hirata H, Ahmad A, Saini S, Tanaka Y, Dahiya AV, Dahiya R, 2010. Genistein reverses hypermethylation and induces active histone modifications in tumor suppressor gene B-Cell translocation gene 3 in prostate cancer. *Cancer.* 116(1):66-76.
- Mariani Costantini A, Canella C, Tomassi G, 2006. Alimentazione e nutrizione umana. Seconda edizione. *Il pensiero Scientifico Editore.*
- Marsit CJ, Eddy K, Kelsey KT, 2006. MicroRNA responses to cellular stress. *Cancer Res.* 66:10843-8.
- Meeran SM, Ahmed A, Tollefsbol BO, 2010. Epigenetic targets of bioactive dietary components for cancer prevention and therapy. *Clin Epigenet* 1(3-4):101-116.
- Morgan HD, Sutherland HG, Martin DI, Whitelaw E.1999. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat Genet.* 23(3):314-8.
- Moriondo C, 2007. Il Manuale dell'alimentazione. *Hoepli editore.*
- Nuova Piramide della Dieta Mediterranea Moderna, INRAN (Istituto Nazionale per la Ricerca degli Alimenti e della Nutrizione), 2009.
- Painter RC, Osmond C, Gluckman P, Hanson M, Phillips DI, Roseboom, 2008. Transgenerational effects of prenatal exposure to the Dutch famine on neonatal adiposity and health in later life. *BJOG.* 115(10):1243-1249.
- Park LK, Friso S, Choi SW, 2012. 70th Anniversary Conference on 'Vitamins in early development and healthy aging: impact on infectious and chronic disease' Symposium 4: Vitamins, infectious and chronic disease during adulthood and aging Nutritional influences on epigenetics and age related disease *Proceedings of the Nutrition Society,* 71:75-83.
- Reuter S, Gupta SC, Park B, Goel A, Aggarwal BB, 2011. Epigenetic changes induced by curcumin and other natural compounds. *Genes Nutr* 6:93-108.
- Riccardi G, Pacioni D, Giacco R e Rivellese AA, 2013. Manuale di nutrizione applicata, III edizione *Sorbona editore.*
- Shankar S, Kumar D, Srivastava RK, 2013. Epigenetic Modifications by Dietary Phytochemicals: Implications for Personalized Nutrition. *Pharmacol Ther,* 138(1): 1-17.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA, 2010. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 31:27-36.
- Shi YY, Huang ZY, Zeng ZJ, Wang ZL, Wu XB, Yan WY, 2011. Diet and cell size both affect queen worker differentiation through dna methylation in honey bees (Apismellifera, Apidae). *PLoS ONE*6(4):1-6.
- Sun M, Estrov Z, Ji Y, Coombes KR, Harris DH and Kurzrock R, 2008. Curcumin (diferuloylmethane) alters the expression profiles of microRNAs in human pancreatic cancer cells. *Mol Cancer Ther* 7; 464.
- Tan TH, Ellis JA, Saffery R, Allen KJ, 2012. The role of genetics and environment in the rise of childhood food allergy. *Clin Exp Allergy.* 42(1):20-9.
- Tang Y, Banan A, Forsyth CB, Fields JZ, Lau CK, Zhang LJ, Keshavarzian A, 2008. Effect of alcohol on miR-212 expression in intestinal epithelial cells and its potential role in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res.* 32(2):355-64.

- Tarnopolsky M, 2004. Protein requirements for endurance athletes. *Nutrition*, 20(7-8):662-8.
- Tarnopolsky MA, Mac Dougall JD, Atkinson SA, 1988. Influence of protein intake and training status on nitrogen balance and lean body mass. *J Appl Physiol*, 64(1):187-93.
- Vahid F, ZandH, Nosrat-Mirshekarlou E, Najafi R, Hekmatdoost A, 2015. The role dietary of bioactive compounds on the regulation of histone acetylases and deacetylases: a review. *Gene* 562(1): 8-15.
- Verma M, 2013. Cancer control and prevention: nutrition and epigenetics. *Curr Opin Clin Nutr Metab care* 16 (4):376-84.
- Vickers MH, 2014. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. *Nutrients*. 6(6):2165-78.
- Waterland RA and Jirtle RL, 2003. Transposable Elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Molecular and cellular biology*, 23(15):5293-5300.
- Weinhold B, 2006. Epigenetics: The Science of Change. *Environ Health Perspect*. 114(3): 160-167.
- Zaidi SK, Young DW, Montecino M, Lian JB, 2010. Architectural Epigenetics: Mitotic Retention of Mammalian Transcriptional Regulatory Information. *Molecular and cellular biology*, 30(20): 4758 -4766.
- Zaidi SK, Young DW, Montecino M, Lian JB, Stein JL, AJ van Wijnen, Stein GS, 2010. Architectural Epigenetics: mitotic retention of mammalian transcriptional regulatory information. Minireview. *Molecular and Cellular Biology*, 30(20): 4758-4766.
- Zhang J, Du Y, Wu C, Ren X, Ti X, Shi J, Zhao F, Yin H, 2010. Curcumin promotes apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through miR-186* signaling pathway. *Oncol Rep*. 24(5):1217-23.

Appendice 1

È stato realizzato un approfondimento sull'epigenetica dai contenuti specialistici e con un linguaggio comprensibile ai ragazzi. Nel testo sono stati inseriti specifici riferimenti a siti web sulla tematica dell'epigenetica quali utili e moderni strumenti di didattica multimediale on-line per i docenti.



Approfondimento in tema di Epigenetica

Introduzione: Che cos'è l'Epigenetica?

Nel nostro corpo esistono centinaia di tipi di cellule, con caratteristiche e funzioni anche molto diverse tra di loro. Basti pensare, ad esempio, alla differenza che intercorre tra un neurone ed una cellula epatica. Eppure ogni cellula discende dal medesimo stato iniziale. Come può accadere ciò? Cosa, al procedere della divisione cellulare, definisce il destino delle singole cellule?

La spiegazione risiede nel comportamento dei geni che può cambiare radicalmente da una generazione all'altra senza che si verifichino alterazioni della sequenza del DNA, ma che invece è dovuto a processi di regolazione dell'espressione genica, come ad esempio attivazione o silenziamento selettivo dei geni stessi.

In questo fenomeno un ruolo chiave lo hanno i **fattori epigenetici**. Proprio come un direttore d'orchestra decide la dinamica dell'esecuzione di una sinfonia, i fattori epigenetici regolano l'interpretazione del DNA all'interno di ciascuna cellula vivente. La mappa genetica, al pari di una complessa partitura musicale, rimane senza vita in mancanza di un'orchestra di cellule (gli orchestrali) e di epigenotipi (gli strumenti) in grado di renderla manifesta.

Ma cos'è l'**epigenetica**?

Il termine *epigenetica* risale al 1942 quando Conrad Waddington lo coniava per designare *"la branca della biologia che studia le interazioni causali fra i geni e il loro prodotto cellulare e pone in essere il fenotipo"* (Waddington, 1942). Oggi, per epigenetica si intende **lo studio delle modifiche genetiche stabili che danno luogo a cambiamenti nella funzione e nell'espressione genica senza un'alterazione nella sequenza del DNA corrispondente** (<http://nihroadmap.nih.gov/roadmap15update.asp>; Aguilera et al. 2010).

In pratica si tratta di quei fenomeni in cui il fenotipo è determinato non tanto dal genotipo in sé, quanto dalla sovrapposizione al genotipo stesso di "un'impronta" che ne influenza il comportamento funzionale. Questa impronta è detta segnale epigenetico, ovvero un qualsiasi cambiamento che sia in grado di alterare l'attività di un gene ma non la sequenza nucleotidica.

Per chiarire il concetto, può essere utile leggere cosa scriveva a riguardo Thomas Jenkinson, direttore dell'istituto di Immunobiologia ed Epigenetica "Max Planck" (Freiburg, Germania): *"La differenza tra genetica ed epigenetica può essere paragonata alla differenza che passa fra leggere e scrivere un libro. Una volta scritto il libro, il testo (i geni o le informazioni memorizzate nel DNA) sarà identico in tutte le copie distribuite al pubblico. Ogni lettore potrà tuttavia interpretare la trama in modo leggermente diverso, provare emozioni diverse e attendersi sviluppi diversi man mano che affronta i vari capitoli. Analogamente l'epigenetica permette interpretazioni diverse di un modello fisso (il libro o il codice genetico) e può dare luogo a diverse letture, a seconda delle condizioni variabili con cui il modello viene interrogato"*.

Una metafora sfolgorante, pur nella sua semplicità. L'ermeneutica del codice genetico risiederebbe, pertanto, nell'epigenetica.

Basi molecolari e meccanismi epigenetici

I segnali epigenetici determinano cambiamenti nell'espressione genica senza modificazioni della sequenza nucleotidica del genoma.



Si tratta di processi dinamici in grado di rispondere ai segnali estrinseci sia di natura ambientale (esposizione a xenobiotici) che sociale (es. abitudini alimentari, stili di vita), nonché a quelli intrinseci dell'organismo. Tali segnali consistono in modificazioni chimiche ereditabili mitoticamente e meioticamente, ma anche in alterazioni stabili ma non necessariamente ereditarie (Ficociello et al., 2010).

I meccanismi più rilevanti che provocano effetti epigenetici attraverso l'attivazione o la disattivazione dei geni consistono in:

- Rimodellamento della cromatina dovuta sia a processi di metilazione del DNA che a modificazione degli istoni
- Silenziamento genico dovuto all'alterazione del pathway dei piccoli RNA non codificanti (microRNA)

Questi processi alterano l'accessibilità fisica alle regioni del genoma sulle quali si legano proteine e enzimi deputati all'espressione genica e quindi alterano l'espressione del gene.

Rimodellamento della cromatina

La cromatina può assumere due diverse conformazioni. Quando essa è rilassata significa che è predisposta all'attività trascrizionale, mentre quando è condensata risulta disattivata temporaneamente o permanentemente. Questo *status* conformazionale dipende da vari fattori, tra cui anche la presenza di marcature epigenetiche ovvero "impronte chimiche" attaccate agli istoni oppure al DNA. Queste impronte indicano se i geni corrispondenti devono essere trascritti e quanto la cromatina dovrebbe essere addensata. (Figura 1) Un singolo gene potrebbe essere più o meno attivo in base alle marcature della cromatina (Il codice epigenetico della mente di Eric J. Nestler. www.lescienze.it).

Le modifiche epigenetiche sono realizzate da una serie di enzimi, alcuni dei quali aggiungono le "impronte" ed altri le rimuovono.

Condizioni fisiologiche o patologiche e l'ambiente possono influenzare l'attività dei geni regolando il comportamento degli enzimi e di conseguenza la marcature e la ristrutturazione della cromatina. Talvolta le marcature durano per poco tempo, magari per consentire alla cellula di rispondere rapidamente a una stimolazione intensa. Il più delle volte le "impronte" rimangono attaccate per mesi o per anni, o addirittura per tutta la vita dell'organismo.

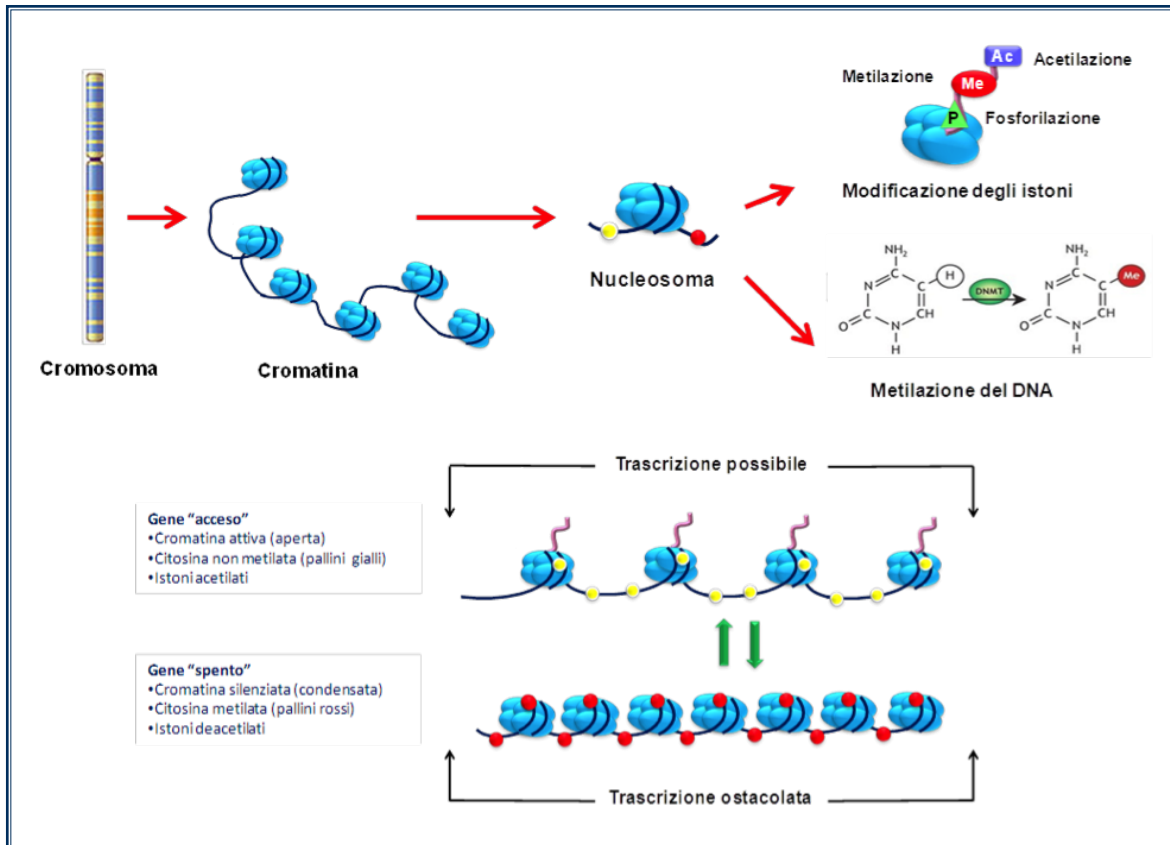


Figura 1. Il rimodellamento della cromatina.

Metilazione

La metilazione del DNA è il più frequente meccanismo epigenetico e si verifica quasi esclusivamente attraverso il legame di un gruppo metile in posizione 5 dell'anello della citosina presente in sequenze nucleotidiche CpG del DNA, ad opera della famiglia di enzimi DNA metiltransferasi.

La metilazione del DNA sembra essere determinata da almeno tre DNA metiltransferasi (DNMT), DNMT1, DNMT3a, e DNMT3B, che catalizzano il trasferimento di un gruppo metilico dall' S-adenosil-L-metionina alla citosina del DNA, e che sono limitate a sequenze simmetriche CG nei mammiferi.

La metiltransferasi DNMT1 è la più abbondante rinvenuta nelle cellule somatiche ed è responsabile per il mantenimento della metilazione del DNA. Le altre due metiltransferasi DNMT3a e DNMT3B sono fondamentali nello sviluppo embrionale nei mammiferi e sono indispensabili per le metilazioni che avvengono "de novo" durante l'impianto embrionale. Tutti e tre gli enzimi non soltanto cooperano, ma possono partecipare nelle funzioni di formazione e di mantenimento della metilazione.

La 5-metil-citosina rappresenta il 2-5% di tutte le citosine presenti nei genomi dei mammiferi e si trova principalmente nelle sequenze di nucleotidiche CpG del DNA (Millar et al., 2003; Lister et al., 2009; Rossella et al., 2009).

La struttura cromatinica è correlata con lo stato di metilazione del DNA. Le regioni attive, dove i geni sono espressi, sono associate con l'ipometilazione delle regioni CpG, essendo queste regioni target dei fattori di trascrizione. Di contro, l'ipermetilazione comporta da una parte un'interferenza diretta sui residui metilici nelle regioni di legame dei fattori di trascrizione, e dall'altra parte la formazione di una configurazione "chiusa" della cromatina associata all'inattività genica (Jones PA, 2002; Ehrlich M, 2002; Casati L, 2010).

Modificazioni degli istoni

Un altro meccanismo epigenetico ben studiato e più complesso è la modificazione degli istoni.

Il DNA nucleare è costituito da cromatina organizzata in nucleosomi formati da un core costituito da 8 proteine basiche detti istoni (due per ogni istone H2A, H2B, H3 e H4), intorno al quale si avvolge la doppia elica del DNA. Due nucleosomi sono intervallati dal DNA linker che interagisce con l'istone H1 per produrre un maggior compattamento cromatinico.

Gli istoni, oltre ad avere la funzione di assemblare il DNA e conferire la struttura alla cromatina, hanno il compito specifico di modulare l'accesso fisico dei fattori nucleari al DNA. L'associazione dell'ottamero istonico con il DNA è dinamica per permettere l'accesso al DNA ad altre proteine che devono mediare la regolazione della trascrizione ed è modulata da grossi complessi proteici di rimodellamento nucleosomico.

Inoltre le code N-terminali istoniche che sporgono dal nucleosoma possono subire una serie di modificazioni attraverso meccanismi di metilazione, acetilazione, fosforilazione, ubiquitinazione e sumoilazione che possono verificarsi su almeno 30 siti per ciascun nucleosoma. Ciò evidenzia la forte attività di modulazione che può essere prodotta dalle molteplici possibili combinazioni di modifiche che possono avvenire su una varietà di siti presenti negli istoni. L'acetilazione e la fosforilazione sono reversibili e dinamiche e determinano una riduzione delle cariche positive delle code istoniche; generalmente l'acetilazione degli istoni è associata all'attivazione trascrizionale, mentre i nucleosomi deacetilati sono caratteristici della cromatina condensata e trascrizionalmente inattiva.

La metilazione è una modificazione più stabile ed è coinvolta nel mantenimento a lungo termine dello stato di espressione. L'effetto della metilazione dipende dal tipo di istoni e dalla posizione della lisina nella code, anche se principalmente questa modificazione causa un blocco trascrizionale nelle regioni di eterocromatina.

In risposta ai segnali ambientali ed altro, i fattori di trascrizione specifici e i repressori trascrizionali reclutano gli enzimi che modificano gli istoni ai geni specifici e definiscono il profilo gene-specifico di modificazione degli istoni.

I processi di modificazione degli istoni e la metilazione del DNA sono interdipendenti e agiscono in modo combinato per modulare l'accessibilità al DNA attraverso l'alterazione della conformazione cromatinica, con conseguente esposizione dei siti di legame per i fattori di trascrizione che giocano un ruolo regolatore diretto nell'espressione genica (Casati et al., 2010).

MicroRNA

Oltre ai processi di rimodellamento della cromatina, esistono altri meccanismi che entrano in gioco nella modulazione dell'epigenoma. Si tratta dell'azione dei microRNA (miRNA), piccole molecole di RNA non codificanti (circa 20-30 nucleotidi) che sono in grado di regolare i livelli di espressione genica a livello post-trascrizionale.

I microRNA sono presenti in tutti gli eucarioti superiori e in alcune specie di lievito. Alcuni miRNA vengono codificati da specifici loci genici, mentre altri sono contenuti all'interno di regioni introniche di geni che codificano proteine.

Sono espressi nel nucleo in forma di precursori più lunghi detti pri-miRNAs che vengono successivamente processati da una endo-ribonucleasi di tipo III detta Drosha in frammenti di 70-100 nucleotidi detti pre-miRNA. (Figura 2)

A loro volta, i pre-miRNA, vengono esportati nel citoplasma e maturati in miRNA da parte di un'altra RNasi di tipo III nota come Dicer. Un singolo filamento di questi miRNA viene poi caricato nel complesso di silenziamento RNA-indotto (RISC), insieme ad una

o più proteine Argonata (Ago), ed indirizzato sul suo bersaglio col quale si lega per complementarità delle basi, garantendo in tal modo un'estrema specificità di azione.

A questo punto i miRNA possono regolare l'espressione genica in diversi modi (Sturchio et al., 2008):

- la degradazione dell'mRNA bersaglio nota anche come RNA interference o iRNA,
- il blocco della traduzione dell'mRNA bersaglio,
- l'inibizione della trascrizione

La scelta tra inibizione della traduzione e degradazione del trascritto bersaglio dipende dal livello di complementarità di sequenza tra il miRNA e mRNA; nel caso in cui ci sia un perfetto appaiamento avviene il taglio dell'mRNA mediato dallo stesso pathway dell'RNA interference (Bartel, 2004).

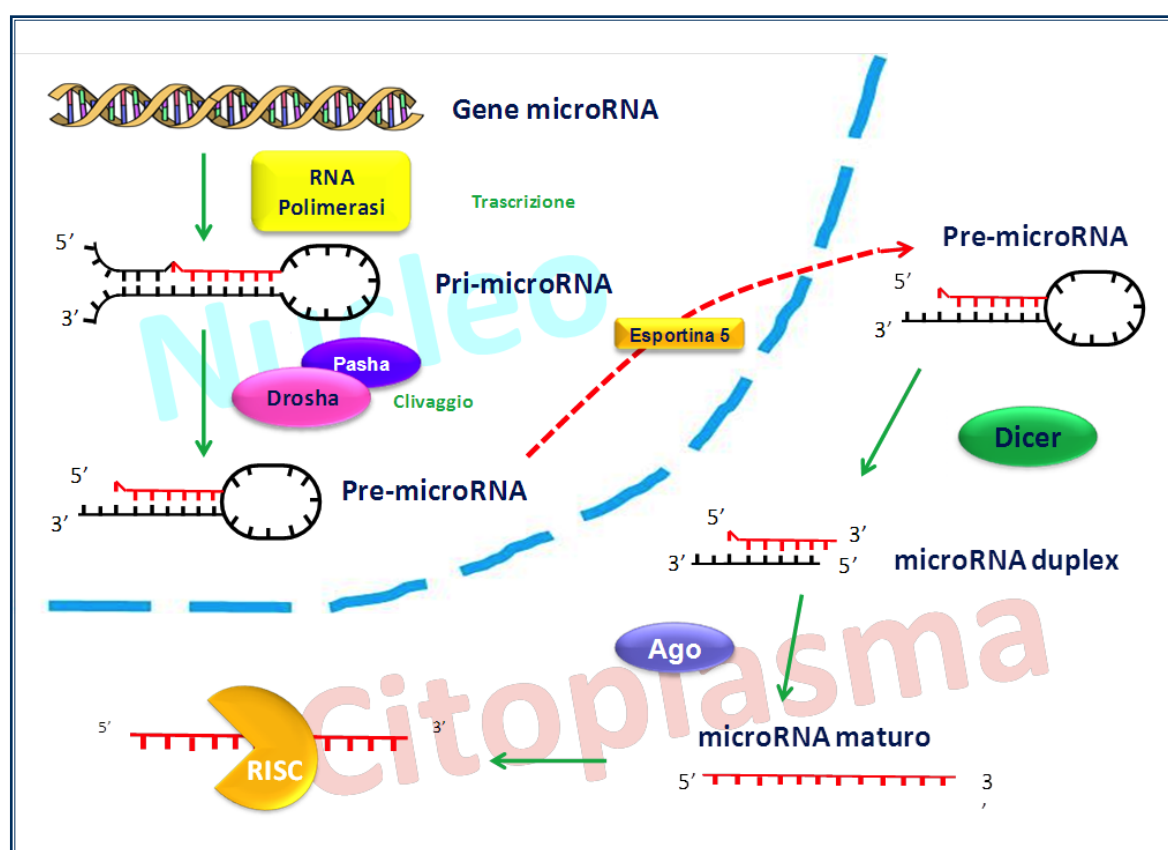


Figura 2. Biogenesi e processamento dei microRNA.

Se le due molecole non sono esattamente complementari si ha l'inibizione reversibile della traduzione. Generalmente un miRNA inibisce la traduzione di più geni e ogni gene è regolato da più miRNA a formare un pattern complesso e combinatoriale di regolazione dell'espressione genica (Lai, 2002).

Oltre al loro ruolo di regolatori dell'espressione genica, infatti, sembra che i miRNA abbiano anche un ruolo importante sia nel controllo della metilazione del DNA, avendo come potenziali target anche gli RNA messaggeri di enzimi deputati alla metilazione del DNA, sia nella regolazione della struttura della cromatina apportando delle modificazioni a livello degli istoni (Lyle R, 2000; Ying SY, 2005). A sua volta l'espressione dei miRNA può essere regolata da fattori epigenetici in quanto è possibile che i miRNA presenti negli introni possano essere trascritti da promotori presenti in regioni CpG regolate dalla metilazione del DNA.

È importante sottolineare come la relazione tra espressione dei miRNA e fattori epigenetici possa mediare l'impatto della riprogrammazione epigenetica in risposta a segnali specifici su un gruppo di altri geni, e come i miRNA stessi possano agire modificando a loro volta la struttura della cromatina al punto da essere considerati regolatori dei meccanismi di metilazione del DNA e delle modificazioni degli istoni (Chuang JC, 2007). (Figure 3-4).

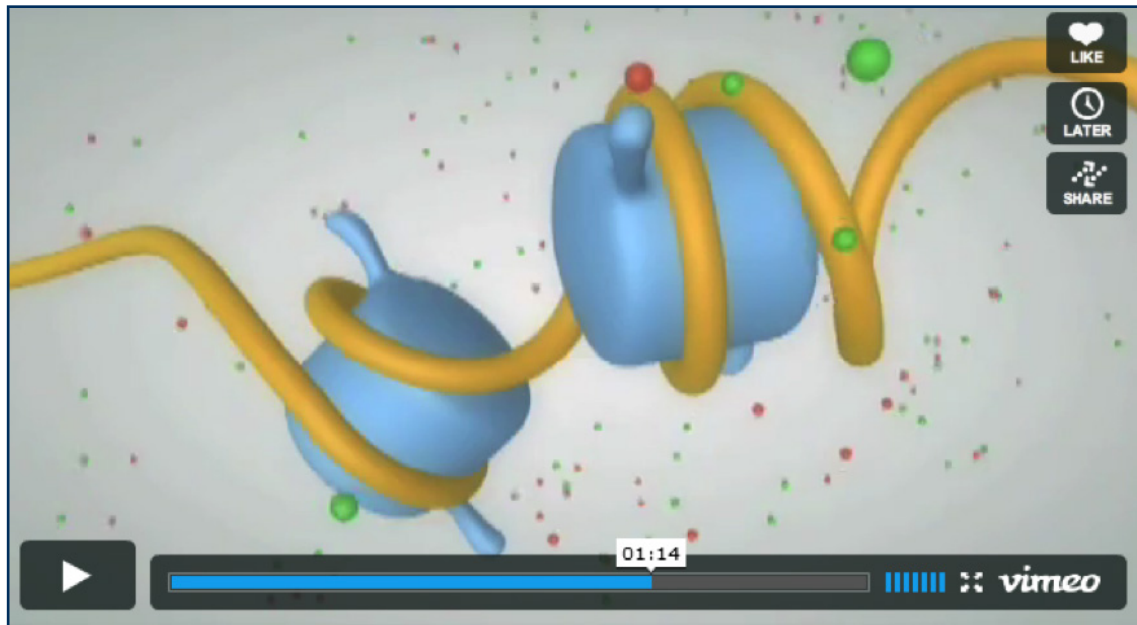


Figura 3. Video introduttivo disponibile sul sito <http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/intro/>. L'epigenetica in breve.

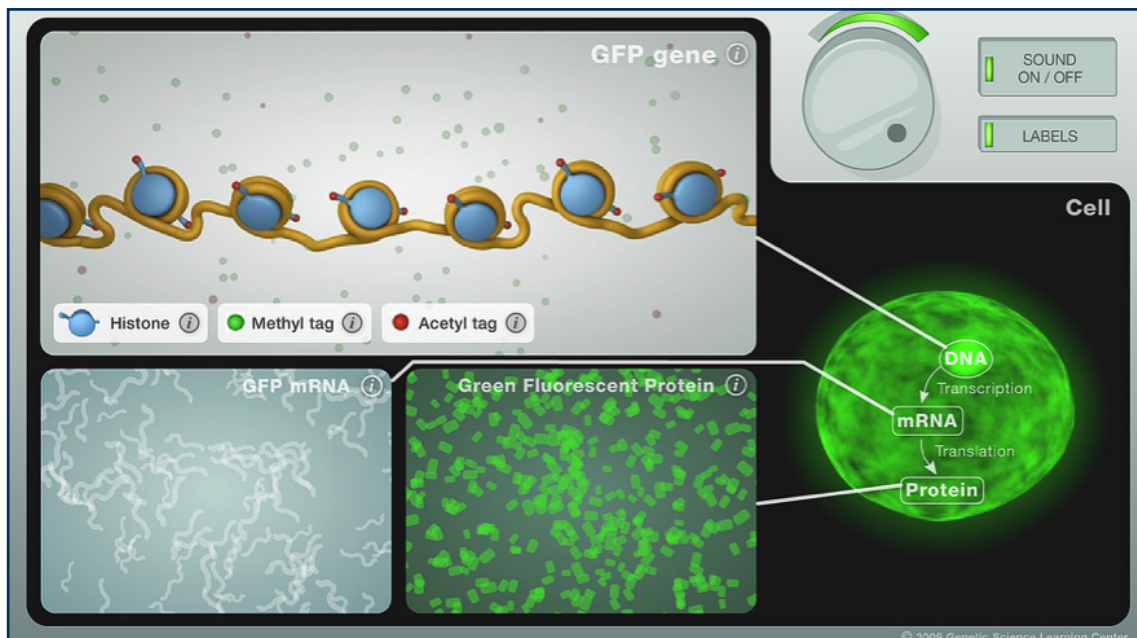


Figura 4. Video interattivo disponibile sul sito <http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/control/>. Muovendo la manopola si può vedere come il diverso grado di compattamento della cromatina influenza poi l'espressione genica di una cellula.

Epigenetica e ambiente

Evidenze scientifiche indicano che sia nell'uomo sia nelle piante l'epigenoma è un target importante delle modificazioni ambientali. Le piante ad esempio, pur non avendo un vero e proprio sistema nervoso, possono "memorizzare" i cambiamenti stagionali e in alcune specie biennali questa capacità è fondamentale per produrre fiori durante la primavera. Anche l'esposizione al freddo durante la stagione invernale induce delle modifiche a livello della cromatina che silenziano i geni coinvolti nella fioritura. Durante la stagione primaverile, quando ci sono le condizioni migliori per la riproduzione, tali geni sono riattivati.

Nell'uomo l'adattamento del materiale genetico ai cambiamenti ambientali può predisporre ad una maggiore suscettibilità allo sviluppo di malattie e all'invecchiamento. Le alterazioni epigenetiche possono verificarsi anche durante tutto l'arco della vita sebbene la programmazione epigenetica sia stabilita all'inizio della vita e di conseguenza, il periodo evolutivo rappresenta la fase di massima sensibilità alle influenze ambientali. Anche l'ambiente post-natale ha un impatto importante sulla salute e svolge un ruolo cruciale nel generare la vulnerabilità per lo sviluppo di malattie croniche. È ormai riconosciuto che uno stato avverso socio-economico durante l'infanzia rende l'organismo vulnerabile allo sviluppo di malattie croniche in età adulta, relative, ad esempio, alla pressione sanguigna, al colesterolo, ai valori del fibrinogeno e a sintomi depressivi (Power et al., 2007).

Anche l'esposizione del feto durante la vita intrauterina può determinare dei cambiamenti nella programmazione genica: per esempio, la cura materna nel ratto può influenzare il termine di programmazione di espressione nel recettore del gene glucocorticoide nell'ippocampo (Weaver et al., 2001).

Diversi fattori ambientali potrebbero essere coinvolti, da soli o in combinazione, nel produrre cambiamenti nei profili epigenetici degli individui. Per esempio recentemente è stato dimostrato che coppie di anziani gemelli eterozigotici, che vivono separatamente in luoghi diversi, sono esposti a differenze epigenetiche in misura maggiore rispetto a coppie di gemelli monozigotici allevati insieme. La dimostrazione delle modificazioni epigenetiche che si accumulano con l'invecchiamento supporta l'ipotesi della perdita del normale pattern epigenetico (età e ambiente-correlata) come un possibile meccanismo per il tardo insorgere delle malattie comuni (Casati et al., 2010) (Figura 5).

Per capire l'impatto dell'ambiente sull'epigenoma, è necessario prendere in considerazione due scenari: 1) lo sviluppo embrionale e 2) la vita adulta. La necessità di differenziare tra la vita prenatale e postnatale nasce dall'impatto differenziale che una variazione epigenetica può avere sull'organismo. In generale, i cambiamenti epigenetici che si verificano durante lo sviluppo embrionale avranno un impatto molto maggiore sul totale stato epigenetico dell'organismo, in quanto le alterazioni che si verificano nelle cellule staminali embrionali singole possono essere trasmesse nelle divisioni mitotiche consecutive e interesseranno molte più cellule rispetto alle alterazioni che si verificano in cellule staminali adulte e/o somatiche durante lo sviluppo postnatale. Anche se questa possibilità è plausibile, resta da confermare. In finale il tipo di modifica e la posizione genomica di tali cambiamenti epigenetici possono determinare un diverso stato clinico, accanto ad altre variabili casuali e al background genetico del singolo organismo (Aguilera et al., 2010).



Figura 5. Video disponibile sul sito <http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/twins/> relativo all'epigenetica di gemelli identici.

In teoria, le condizioni ambientali durante lo sviluppo embrionale possono portare a modificazioni epigenetiche permanenti (Fauque et al., 2007) e possono essere determinate principalmente da due fattori: 1) il fenotipo specifico della madre all'interno della placenta, le caratteristiche, quali la dimensione dell'utero e la disponibilità di nutrienti, e 2) lo stile di vita della madre, che determina i fattori ambientali a cui l'embrione è esposto.

Anche se poco è attualmente noto riguardo le modalità con cui il fenotipo della madre e la placenta possano influenzare gli epigenotipi della prole [è stato suggerito che l'obesità materna può portare a specifiche alterazioni epigenetiche della progenie (Waterland et al., 2008)], vi è una grande quantità di informazioni riguardanti le condizioni ambientali della donna durante la gravidanza che influenzano i fattori epigenetici specifici della prole. La condizione ambientale maggiormente studiata nella madre che interessa l'epigenotipo della prole è la dieta materna. Recenti esperimenti condotti sui topi hanno dimostrato che il colore del pelo, che può essere marrone, giallo o a chiazze, secondo il grado di metilazione del gene *agouti* durante lo sviluppo embrionale, è influenzato dalla dieta (Aguilera et al., 2010). L'allele *agouti* regola la produzione di pigmento nei follicoli del pelo del topo. Topi gialli e pezzati sono obesi e soggetti a diabete e cancro, in contrasto con i topi completamente *agouti*, noti come pseudoagoutis, magri e non diabetici. Il fenotipo dei topi *agouti* dipende dall'espressione della proteina *agouti*, che è regolata dallo stato di metilazione di una regione di DNA ripetuto nella zona del promotore *agouti* (Morgan et al., 1999). Se prima e durante la gravidanza le madri vengono nutrite con supplementi a base di acido folico o vitamina B12, che sono ricchi in gruppi metilici, la progenie presenterà soprattutto pelo di colore marrone, mentre le madri nutrite normalmente (senza supplemento) avranno progenie con pelo giallo. Aumenta permanentemente in questo modo la metilazione tessuto-specifica del gene *agouti* nella prole (Waterland et al., 2003; Waterland et al., 2006) (Figura 6). In linea con tale osservazione, anche l'esposizione in utero ad una dieta ad alto contenuto di grassi modifica il pattern di metilazione di promotori leptina e ER nel ratto (Milagro et al., 2009; Yenbutr et al., 1998).

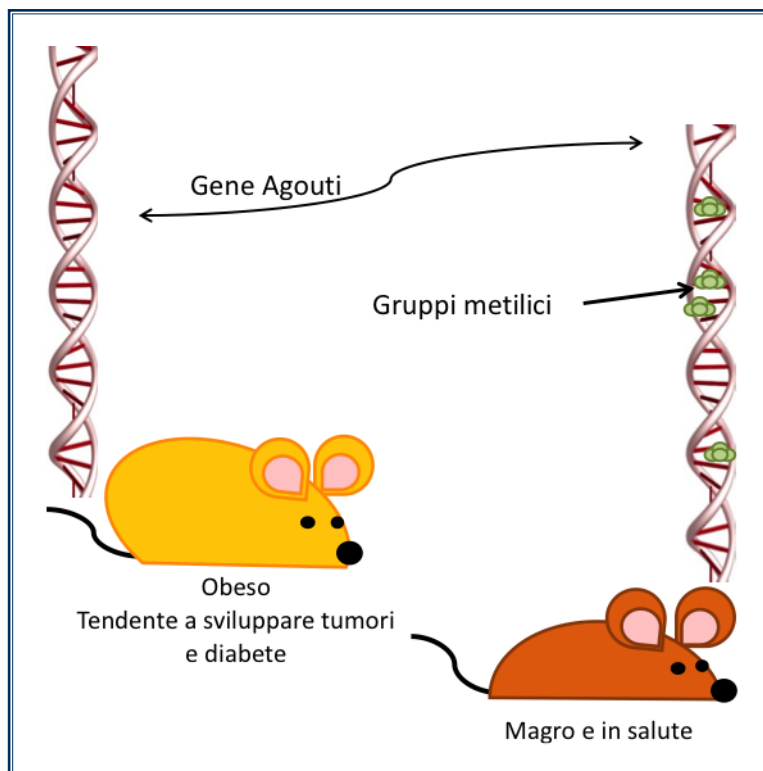


Figura 6. Il gene *agouti* regola la produzione di pigmento nei follicoli del pelo dei topi, e durante lo sviluppo embrionale, è influenzato dalla dieta.

Altri esempi di modulazione epigenetica in risposta a fattori ambientali includono la down-regolazione di geni coinvolti nella funzione delle cellule B pancreatiche in ambienti anormali intrauterini (Simmons et al., 2005) e specifici profili di metilazione del DNA della progenie associati alla dieta materna (Lillycrop et al., 2005; Lillycrop et al., 2008).

Alcuni ricercatori hanno dimostrato che, sia la malnutrizione sia una dieta limitata di proteine in ratte gravide e topi possono causare cambiamenti stabili nella regolazione epigenetica del recettore dei glucocorticoidi e di alcuni geni perossisomiali nel fegato della prole giovanile (Lillycrop et al., 2005; Lillycrop et al., 2008) e degli adulti (Burdge et al., 2007). È interessante notare che cambiamenti epigenetici dieta-dipendente sono associati con un'alterata espressione di RNA messaggero di questi geni e dei loro geni bersaglio.

Nell'uomo, Heijmans e collaboratori dimostrano che una sfida nutrizionale nella prima infanzia può provocare un cambiamento di metilazione del DNA che è rilevabile 60 anni dopo, suggerendo, come negli studi su animali, l'ambiente nelle prime fasi di vita può indurre alterazioni a lungo termine per la regolazione epigenetica di geni. Heijmans e collaboratori hanno riferito ipometilazione del promotore del fattore di crescita-2 insulino-simile nel DNA genomico isolato da sangue intero da individui che sono stati esposti in utero durante la carestia olandese rispetto ai fratelli non esposti dello stesso sesso (Heijmans et al., 2008). Lo stesso gruppo aveva dimostrato che il promotore del fattore di crescita insulino-simile era ipometilato in individui le cui madri erano state esposte a carestie (Tobi et al., 2009).

L'effetto di fattori ambientali specifici sulla status epigenetico di organismi adulti è stato ampiamente studiato tuttavia i meccanismi molecolari relativi all'alterazione dei segnali epigenetici indotti da agenti ambientali sono ancora poco compresi e rappresentano un affascinante campo di studi (Feinberg et al., 2007, Feinberg et al., 2006).

Nell'uomo i fattori ambientali che possono influire sullo stato epigenetico durante la vita adulta possono essere divisi in quattro gruppi: la dieta, il luogo di vita e/o i luoghi

di lavoro, i trattamenti farmacologici, e le abitudini malsane.

Per capire in che modo i fattori ambientali possono influenzare l'epigenotipo di un organismo, è importante considerare che gli organismi superiori sono costituiti da più tessuti e che, gli effetti dei fattori ambientali sulla epigenotipo di un organismo possono essere tessuto o cellula-specifico (perché la specifico stato epigenetico di un tessuto rende questo tessuto più resistente alle alterazione epigenetiche ambientalmente indotte). Il grado di esposizione di un tessuto a uno specifico fattore ambientale può anche determinare la sua capacità di indurre alterazioni epigenetiche specifiche all'interno di tale tessuto. Ad esempio, è facile immaginare che, se le radiazioni UV hanno un effetto specifico su un particolare fattore epigenetico, allora questo sarebbe molto più evidente nella pelle, poiché è esposta alla radiazione solare, piuttosto che nel muscolo, che non lo è.

Uno degli esempi più evidenti di come il tipo di dieta possa influenzare i fattori epigenetici è l'assunzione di folati.

L'acido folico (vitamina B9) è importante per l'epigenetica, perché è necessario per la rimetilazione dell'omocisteina, una reazione chimica chiave della via metabolica che sintetizza la S-adenosil metionina, il gruppo donatore metilico degli istoni e delle reazioni di metilazione del DNA. La quantità di assunzione di folato nella dieta può essere associata con lo stato epigenetico dell'organismo (Keyes et al., 2007, Kotsopoulos et al., 2008) e, carenze alimentari da folati provocano numerose alterazioni della salute che sono più evidenti quando si verificano durante lo sviluppo embrionale (Poulsen et al., 2007). Nei ratti, la restrizione proteica materna durante la gravidanza porta, nella prole, ad una perdita di metilazione del promotore del gene associato al metabolismo del glucosio, nei tessuti quali fegato, polmone e fegato (Burdge et al., 2007). La metionina, un altro composto dietetico coinvolto nella via metabolica che sintetizza la S-adenosil metionina (SAM), è anche coinvolto nelle malattie epatiche epigenetica-dipendenti (Avila et al., 2002). La SAM introdotto dalla dieta, è il donatore metilico universale per trasferasi metilici ed è esclusivamente fornita dal metabolismo del carbonio folato-mediata. Pertanto una dieta arricchita o povera di folato può influenzare l'attività della DNA metiltrasferasi e del profilo di metilazione del DNA, di conseguenza influenzando anche l'espressione genica.

Il Selenio è una sostanza alimentare che modifica lo stato epigenetico di un organismo a livello della metilazione del DNA e della modificazione degli istoni (Xiang et al., 2008). Certi polifenoli alimentari, come l'epigallocatechina-3-gallato di tè verde e genisteina della soia possono prevenire il cancro per mezzo di meccanismi epigenetici. Recentemente, altre sostanze presenti in natura in alcuni alimenti, come il butirrato in formaggi, il disolfuro di diallile in aglio e sulfurafano nei broccoli, sono state identificate come inibitrici dell'Istone Deacetilasi (HDAC), e un ruolo putativo per alcuni di questi è stato proposto in chemioprevenzione attraverso l'interruzione della progressione del ciclo cellulare incontrollata o dall'induzione dell'apoptosi attraverso una maggiore acetilazione e derepressione di geni, come P21 e BAX. L'effetto della dieta sullo stato epigenetico di un organismo può essere così importante che è stato anche descritto che una dieta ricca di grassi può essere associata con ipermetilazione di specifici promotori di DNA di geni oncosoppressori.

I fattori epigenetici possono essere alterati da sostanze farmacologiche sebbene l'evidenza per quest'ultima sia limitata. Un esempio è il dietilstilbestrolo, un farmaco usato da milioni di donne in gravidanza per prevenire aborti spontanei e molti altri disturbi in gravidanza, che è attualmente associata ad un aumentato rischio di cancro al seno, adenocarcinoma a cellule chiare della vagina e della cervice, e ad anomalie riproduttive. È stato proposto che gli effetti sulla salute drammatici del dietilstilbestrolo possono essere mediati da meccanismi epigenetici, poiché questo farmaco è stato dimostrato alterare l'espressione della DNA metiltrasferasi e della metilazione del DNA genomico.

Il luogo di vita e/o di lavoro può determinare il livello di esposizione a molti fattori ambientali che sono potenzialmente in grado di alterare lo stato epigenetico. Ad esempio, è ovvio che la composizione chimica degli xenobiotici dell'atmosfera e dell'acqua in una città è diversa da quella di un ambiente rurale. Anche se non è del tutto certo che questi fattori ambientali siano responsabili di alterazioni epigenetiche, forti associazioni tra questi elementi sono stati riscontrati. Uno dei migliori esempi a questo proposito è la recente osservazione che, nel tessuto pleurico, almeno 24 loci CpG hanno alterazioni legate alla metilazione dell'amianto, ognuno dei quali è rappresentato da un aumento di metilazione. Altri tipi di composti chimici che sono noti alterare la metilazione dei livelli di DNA sono gli ioni metallici. Per esempio, gli inquinanti ambientali come il cromo, cadmio, nichel e arsenico nonché radiazioni ionizzanti e ultraviolette sono stati tutti associati con alterazione nei profili epigenetici e hanno dimostrato ridurre i livelli di metilazione attraverso l'inibizione dell'attività della DNA metiltransferasi.

I migliori modificatori studiati dell'epigenoma sono gli interferenti endocrini, un ampio gruppo di composti ambientali con un ampio spettro di azioni che perturbano diversi sistemi endocrini e che non solo sono in grado di influenzare l'epigenoma in animali esposti in utero, ma tali alterazioni, qualora si verificano in cellule germinali, possono essere trasmesse di generazione in generazione.

Strumenti farmacologici e altre forme d'intervento possono potenzialmente modificare il naturale modello epigenetico o l'inversa programmazione epigenetica, che può essere deleteria. In effetti, diversi farmaci epigenetici sono attualmente nella fase dei test clinici per la cura del cancro e di malattie psichiatriche. Ulteriori agenti ambientali in grado di alterare il profilo dell'epigenoma, le infezioni, le tossine ambientali, i distruttori endocrini, il deperimento e il fumo sono i più studiati. Alterazioni alcol-indotte dell'epigenoma si riferiscono alla loro capacità di aumentare la metilazione nei promotori genici: queste sono state associate al silenziamento indotto dalla metilazione di geni oncosoppressori in cancro del colon-retto. Anche il fumo è stato dimostrato aumentare la metilazione di geni oncosoppressori in studi caso-controllo umani e nei topi e ridurre lo stato di metilazione di oncogeni nel cancro umano in linee cellulari. Il profilo epigenetico di un animale ospite può essere direttamente modificato da un'infezione batterica, aumentando o diminuendo la metilazione, a seconda dell'agente infettivo. La metilazione aberrante dei geni della mucosa gastrica è un riscontro comune negli esseri umani infettati con *Helicobacter Pylori* ed è un evento precoce nella carcinogenesi gastrica. Il cambiamento nel profilo epigenetico in risposta ad infezione può giocare un ruolo nello sviluppo di disturbi immunitari correlati e tumori precedentemente associati con agenti infettivi. Anche se la metilazione del DNA genomico viene cancellato più tra fecondazione e pre-impianto, molte modificazioni epigenetiche, acquisite in gravidanza o nel periodo fetale in cellule germinali, possono essere trasmesse di generazione in generazione.

Il bisfenolo A è associato con una maggiore massa corporea, la funzione riproduttiva ridotta e specifici cambiamenti nella metilazione del DNA in topi agouti: queste alterazioni del DNA sono presenti anche in cellule germinali e sono trasmesse in modo trans generazionale. Inoltre la prole maschile di ratti, esposta nel periodo perinatale al bisfenolo A mostra un spermatogenesi alterata a partire dalla prima fino alla terza generazione. Tale riduzione sembra essere legata ad una perturbazione dell'espressione proteica del profilo di coregolatori dei recettori steroidei (ad esempio recettore steroide coattivatore-1, SRC-1, o 300/CBP /proteine cointegrator-associata, p / CIP) coinvolti nella regolazione della spermatogenesi (Casati et al., 2010).

Il caso Arsenico

L'Arsenico (As) è un metalloide poliedrico rinvenuto in molti ambienti terrestri ed acquatici sia nelle sue forme inorganiche (iAS) che organiche. La principale causa della sua presenza è da attribuire principalmente a fattori naturali, quali i processi di pedogenesi, l'attività biologica e quella vulcanica (Smedley e Kinniburgh, 2002) e attività

antropiche, tra cui quella mineraria, combustione di rifiuti, produzione di energia con combustibili fossili, uso di pesticidi e fertilizzanti a base di arsenico che hanno contribuito ad incrementare l'inquinamento da arsenico di suoli ed acque.

L'accumulo ambientale di arsenico, seguito dalla sua naturale mobilizzazione, è uno dei principali argomenti in materia di salute pubblica. L'Arsenico inorganico, infatti, è stato classificato dall'International Agency for Research on Cancer (IARC) come Gruppo 1, ovvero "Cancerogeno per gli umani" a causa della sua capacità di indurre cancro alla pelle, polmoni, fegato, vescica e reni.

Il meccanismo di cancerogenesi indotto dall'iAs non è noto, ma sembra essere legato a fenomeni di diversa natura quali lo stress ossidativo, co-carcinogenesi con altri tossici ambientali e fenomeni epigenetici che alterano la metilazione del DNA influenzando la programmazione nelle fasi precoci della vita e l'esordio delle malattie nelle fasi tardive.

Per quanto riguarda i fenomeni epigenetici, studi sperimentali recenti mostrano che l'esposizione ad iAs è associata sia ad ipermetilazione che ipometilazione a seconda della concentrazione del metallo, della durata dell'esposizione e del tipo di organismo, tessuto o cellula coinvolti. In particolare l'esposizione ad iAs può alterare i livelli di metilazione del DNA sia globale che di promotori genici, apportare modificazioni istoniche (acetilazione, metilazione, fosforilazione) e modificare l'espressione di miRNAs (Ren 2010).

Nell'uomo il metabolismo dell'iAs prevede una conversione della forma pentavalente (iAsV) in quella trivalente (iAsIII), con successiva metilazione da parte dell'arsenico-metiltransferasi (AS3MT) a forme arsenicali monometilate e dimetilate (MMA, DMA, rispettivamente), escrete infine nelle urine. Le reazioni di riduzione e metilazione richiedono la disponibilità di gruppi metilici per la formazione di S-adenosil-metionina (SAM) che trasferisce gruppi metilici all'arsenico nel suo stato trivalente, e richiedono la presenza di glutatione per la riduzione di arsenico pentavalente (Sturchio et al., 2010) Il meccanismo proposto con cui l'arsenico influenza la metilazione del DNA, e quindi i meccanismi epigenetici, consiste nella competizione della metiltransferasi per la SAM. In pratica, in presenza di un eccesso di arsenico, la SAM viene consumata per la detossificazione del metallo e l'impovertimento di tale cofattore può imporre limitazioni sul suo normale utilizzo nelle reazioni di metilazione cellulare, tra cui la metilazione del DNA ad opera della DNMTs e la metilazione istonica ad opera dell'istone metiltransferasi.

Tuttavia gli studi riguardanti i pattern di metilazione del DNA indotti dall'esposizione ad arsenite non sono sempre coerenti e le discrepanze riscontrate riguardanti la metilazione globale del DNA sono ancora in fase di chiarimento.

Non sono ancora stati effettuati studi sistematici di epigenomica in popolazioni umane esposte ad arsenico o in pazienti con cancro arsenico-associato. Tali studi potrebbero aiutare a chiarire la relazione tra l'esposizione all'arsenico, la disregolazione epigenetica, e la carcinogenesi e i recenti progressi tecnologici stanno permettendo l'acquisizione di nuove informazioni a riguardo (Ren, 2010).

Funzioni

Sviluppo

Lo sviluppo dei mammiferi inizia a partire dallo zigote totipotente, che dà luogo ad un organismo con centinaia di tipi cellulari diversi. La differenziazione cellulare dipende da modifiche nell'espressione dei geni che si realizzano durante lo sviluppo.

I diversi fenotipi cellulari, quindi, derivano dalla stessa sequenza genomica attraverso

il controllo di sottoinsiemi di geni, che vengono espressi in modo specifico in ciascun tipo di cellula (Cortessis VK et al., 2012).

In genere i geni tessuto specifici nei tessuti in cui non devono essere espressi sono metilati, mentre gli stessi geni sono demetilati nei tessuti in cui vengono espressi. Molti geni costitutivi invece (geni housekeeping) sono preceduti da isole CpG che in genere rimangono demetilate (Casati L et al., 2010).

La differenziazione cellulare avviene grazie alla cancellazione e alla creazione di markers epigenetici (etichette chimiche) specifici per ogni linea cellulare, in un processo chiamato "riprogrammazione epigenetica" (Cortessis VK et al., 2012) (Figura 7).

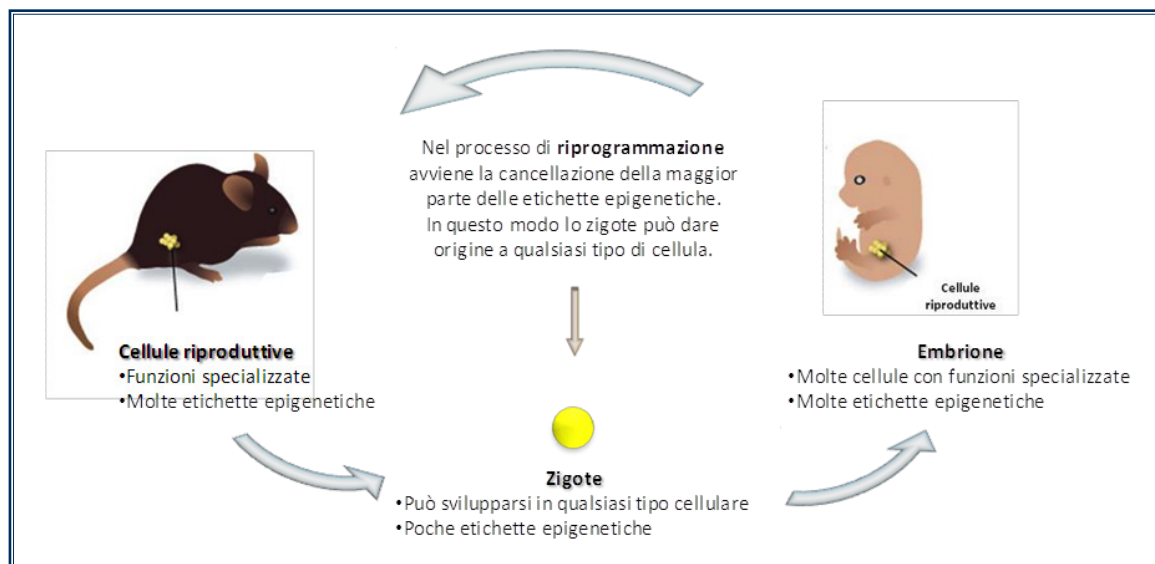


Figura 7. Il processo di riprogrammazione resetta l'epigenoma dell'embrione precoce in modo che possa formare ogni tipo di cellula del corpo. Per essere trasmessi alla generazione cellulare successiva, le etichette epigenetiche non devono essere cancellati durante la riprogrammazione. Modificata da <https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/inheritance/>.

I pattern di metilazione del DNA infatti subiscono una riprogrammazione in coincidenza con due punti principali del ciclo di sviluppo, immediatamente dopo la fecondazione nello zigote e durante la formazione delle cellule germinali primordiali (PGC), che sono i progenitori diretti di spermatozoi e ovociti.

Dopo la formazione dello zigote si verifica un primo processo di demetilazione globale, che ripristina il potenziale evolutivo e solo in seguito riprende il processo di metilazione del DNA con l'impegno verso un destino cellulare distinto. (Seisenberger S. et al., 2012)

I pattern di metilazione del DNA relativi agli spermatozoi e agli ovociti vengono riprogrammati nello zigote dopo la fecondazione, ma i genomi contribuito da ciascun genitore, impacchettati indipendentemente nei pronuclei, seguono percorsi distinti e separati che coinvolgono un ampio rimodellamento epigenetico; le dinamiche di metilazione del DNA sono ben visibili nell'asimmetria tra questi pronuclei. Il genoma paterno è spogliato di gran parte della sua metilazione in un processo globale e mentre il genoma materno è invece parzialmente demetilato.

Le caratteristiche "epigenetiche" (o la loro mancanza) definiscono lo sviluppo dello zigote e promuovono la differenziazione verso un distinto destino cellulare nelle future generazioni di cellule (Hemberger M. et al., 2009).

L'identità cellulare in seguito viene stabilmente ereditata da una divisione cellulare all'altra, attraverso il sistema di mantenimento della metilazione del DNA, che avviene attraverso il processo di mitosi (Seisenberg S. et al., 2012).

Sono state fornite descrizioni dettagliate della metilazione del DNA durante lo sviluppo

dei tessuti, nel corso di studi condotti nel topo, che costituisce un utile modello nello studio della riprogrammazione epigenetica dello sviluppo dei mammiferi (Trasler, 2009).

Si ritiene che questi estesi cambiamenti dell'assetto epigenetico consentono allo zigote di cancellare le marcature epigenetiche ereditate dai gameti (ad eccezione dell'imprinting parentale) e quindi riprendere la totipotenza dello sviluppo.

La riprogrammazione dello sviluppo può portare a profonde differenze epigenetiche tra i due alleli.

L'associazione tra l'espressione genica mono allelica e la metilazione del DNA è stata riconosciuta, sia nel processo di inattivazione dell'X nelle femmine (Boggs et al., 2002; Sharp et al., 2011), sia nell'imprinting genomico parentale (Ferguson-Smith, 2011), ma ora ci sono evidenze del suo coinvolgimento anche nell'espressione mono allelica di loci autosomici non soggetti ad imprinting (Harris et al., 2010; Tarutani Y. and Takayama S., 2011).

Il pattern epigenetico della cromatina che si instaura durante lo sviluppo può influenzare la propensione a successivi cambiamenti epigenetici.

Un esempio di questo è la predisposizione dei geni ai quali si legano le proteine dei complessi Polycomb (inibiscono l'espressione di specifici geni bersaglio) nelle cellule staminali all'acquisizione di anomalie di metilazione del DNA nei processi di invecchiamento e nel cancro (Ohm et al., 2007; Schlesinger et al., 2007; Teschendorff et al., 2010; Widschwendter et al., 2007).

Fino a poco tempo fa si credeva che il pattern dell'epigenoma si stabilizzasse nelle prime fasi dello sviluppo fetale, ma da studi recenti si è visto che cambia in risposta all'ambiente per tutta la vita dell'individuo.

Si riscontrano differenze epigenetiche significative in coppie di gemelli monozigoti (genoma identico) e la discordanza cresce con il crescere dell'età e con la diversificazione delle abitudini e degli ambienti di vita (Fraga et al., 2005) (Figura 8).

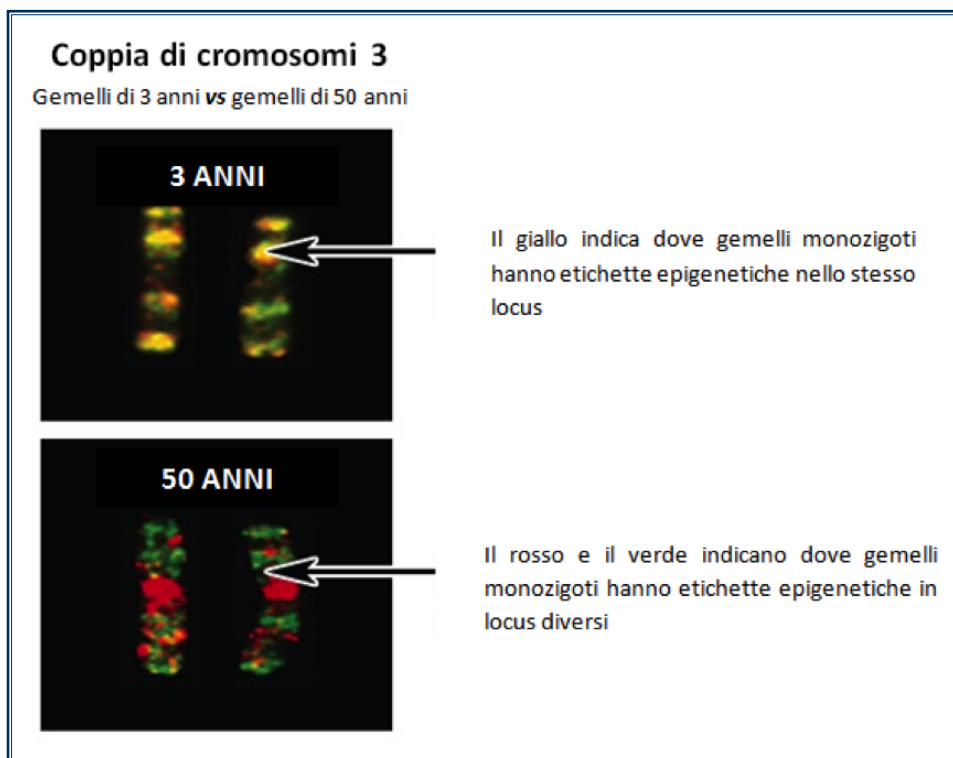


Figura 8. In giallo le regioni dove i gemelli hanno marcature epigenetiche nella stessa posizione, in rosso e verde dove le marcature sono in posizione diversa. A 50 anni la diversità è molto evidente.
Modificata da <https://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/twins/>

Imprinting genomico e inattivazione del cromosoma X

L'imprinting genomico e l'inattivazione del cromosoma X, sono meccanismi presenti nei mammiferi e costituiscono dei tipici esempi di asimmetria parentale dell'epigenoma.

La complementazione funzionale tra epigenotipi paterno e materno è necessaria per il normale sviluppo, la crescita e il comportamento, perché i geni espressi paternamente e/o maternamente (PEGs e MEGs) giocano un ruolo essenziale in questi processi (Renfree et al., 2013; Kelsey and Feil, 2013).

L'imprinting genomico è un meccanismo di regolazione genica, che instaura una sorta di memoria cellulare per cui uno dei due alleli di un gene viene escluso selettivamente dall'attivazione, in base al genitore (madre o padre) da cui l'allele è stato ricevuto. Questo meccanismo riguarda un ristretto numero di geni, che hanno un ruolo rilevante nel differenziamento e nello sviluppo e viene attivato solo per un certo locus.

L'imprinting può avere origine materna, in questo caso viene silenziato l'allele materno ed espresso l'allele paterno o origine paterna, se viene silenziato l'allele paterno ed espresso quello materno.

Queste specifiche modificazioni parentali avvengono durante la gametogenesi e consistono in fenomeni di metilazione del DNA e di modificazioni post-traduzionali degli istoni, che portano alla formazione di domini allele-specifico attivi e/o repressi nelle regioni di imprinting (Weaver et al., 2009).

La differente metilazione di un determinato locus genico ad esempio costituisce una sorta di "impronta", che impone l'espressione di uno solo dei due alleli di quel determinato locus genico, o quello materno o quello paterno. La metilazione del DNA rappresenta un marker per la distinzione delle due copie del gene altrimenti identiche. Lo schema di metilazione viene ereditato dopo la replicazione del DNA. Nei geni sottoposti a imprinting, quindi sarà sempre espresso o l'allele materno o paterno.

Nel caso in cui siano presenti, in un locus regolato attraverso l'imprinting, un allele normale soggetto ad imprinting e un allele mutato, ad esempio per una delezione, non soggetto ad imprinting, si osserverà nell'individuo che possiede questi alleli un fenotipo patologico. Viceversa, una mutazione in un gene che non sarà espresso perché sottoposto a imprinting potrebbe passare inosservata. È stato stimato che nell'uomo circa 200 geni sono sottoposti a imprinting genomico.

L'inattivazione del cromosoma X è un processo che avviene esclusivamente nelle cellule femminili, consiste nella soppressione dell'attività di un cromosoma X dei due cromosomi X ereditati dalla madre ed è necessario per compensare il "dosaggio" dei geni ereditati dal padre (XY) e dalla madre (XX). In questo modo quindi il livello di espressione di geni localizzati sui cromosomi sessuali è paragonabile in entrambi i sessi, anche se maschi e femmine hanno un corredo diverso di cromosomi sessuali.

I fattori epigenetici in questo processo fondamentale per la vita della cellula giocano un ruolo chiave.

Il cromosoma X viene reso trascrizionalmente silente tramite impacchettamento in un'unità densa di etero cromatina, che forma una caratteristica struttura inerte definita corpo di Barr (Figura 9); il risultato di tale processo è un'attenuata espressione, in tutte le cellule, dei geni portati dai cromosomi X, e dei fenotipi da essi manifestati (i cosiddetti caratteri legati al sesso). Il cromosoma X inattivo risulta quindi avere il DNA fortemente metilato e istoni ipoacetilati rispetto all'omologo attivo.

L'inattivazione del cromosoma X, chiamata anche effetto Lyon o lyonizzazione, è un normale processo biologico che avviene in tutte le femmine di mammifero e che risulta essere fondamentale in quanto la trascrizione dei geni presenti in entrambi porterebbe ad una pericolosa overespressione dei loro prodotti, che viene così evitata inattivando

done uno dei due.

Una volta che una cellula somatica ha inattivato un cromosoma X, quello stesso rimane inattivo nelle sue discendenti. L'inattivazione non avviene nelle cellule germinali, in quanto questo causerebbe la mancata espressione dei geni legati al sesso nello zigote.

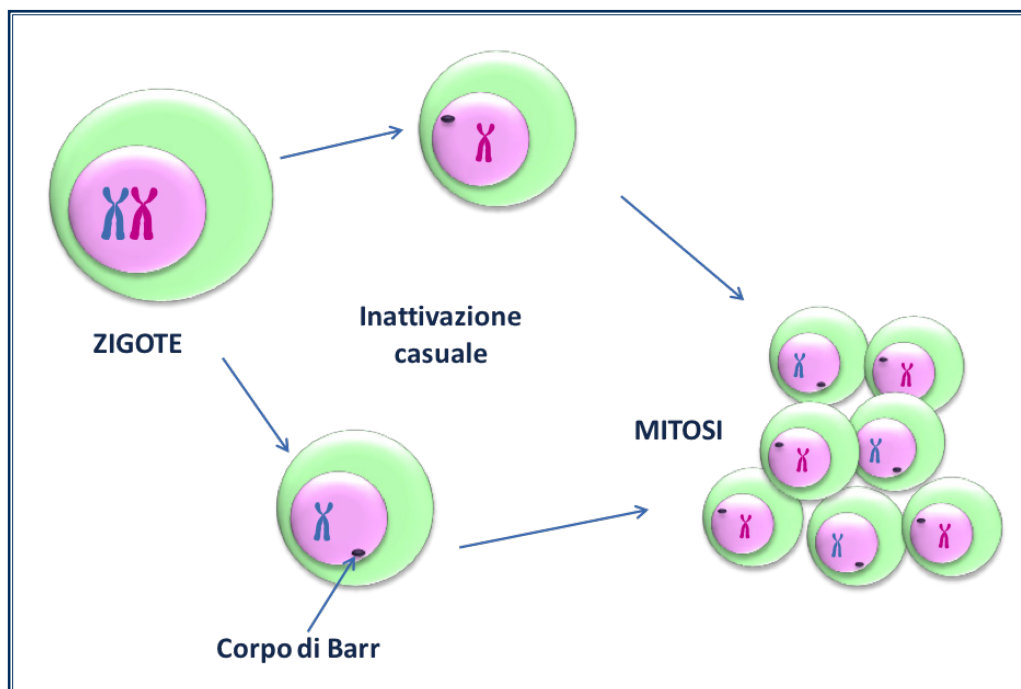


Figura 9. Inattivazione del cromosoma X. Modificata da Mc Graw Hill Companies Inc.

Solo cellule pluripotenti, come le staminali (ES), le cellule embrionali pluripotenti indotte staminali (iPS) e le cellule germinali primordiali (PGC) hanno attivi due cromosomi X. (Maherali N. et al., 2007; Chuva de Sousa Lopes SM et al., 2008)

Organismi non-mammiferi possono adottare altri meccanismi di compensazione del dosaggio del gene, ad esempio in *Caenorhabditis elegans* si verifica la downregolazione di ciascuno dei due cromosomi X femminili, mentre in *Drosophila melanogaster* una upregolazione del cromosoma X paterno (Kohda and Ishino, 2012).

La scelta di quale dei due cromosomi X debba essere inattivato è assolutamente casuale nella quasi totalità dei mammiferi e cellule diverse di uno stesso organismo possono avere un differente X attivo (e, conseguentemente, l'espressione di alleli diversi per geni presenti in eterozigosi sui due cromosomi), ne risulta che tutte le femmine di mammifero sono dei mosaici (Okamoto et al., 2004).

Il tipico esempio del fenomeno dell'inattivazione dell'X è costituito dalla pezzatura del pelo di alcuni gatti, detti gatti calico, infatti è sul cromosoma X che si trova il gene che determina il colore del pelo.

I gatti *calico* sono sempre femmine, hanno quindi due cromosomi X in ogni cellula. Il gene del colore del pelo presenta due alleli che danno luogo rispettivamente a pelo di colore rosso o nero. Nei gatti di sesso femminile (XX), viene "spento" o represso un cromosoma X in ogni cellula e se una femmina eredita un allele di ciascun tipo (rosso e nero) avrà il manto a macchie di entrambi i colori.

Dato che il processo di inattivazione è casuale anche clonando un gatto calico non se ne otterrebbe mai un altro con il mantello uguale, nonostante i due individui siano geneticamente identici.

Ruolo nell'evoluzione

Negli organismi pluricellulari l'epigenetica viene ritenuta principalmente un meccanismo coinvolto nella differenziazione, ma gioca anche un ruolo molto importante

nell'evoluzione. Ci sono infatti numerosi studi che supportano l'idea di eredità epigenetica trans generazionale. Sono stati riportati infatti più di 100 casi di fenomeni di eredità epigenetica transgenerazionale in una vasta gamma di organismi, tra procarioti, piante e animali. (Jablonka et al., 2009)

Sebbene la maggior parte di questi tratti epigenetici multigenerazionali vengano progressivamente persi nell'arco di più generazioni, rimane la possibilità che l'epigenetica multigenerazionale possa essere un aspetto dell'evoluzione e dell'adattamento.

L'epigenetica fornisce una spiegazione su come possano avvenire adattamenti immediati negli ambienti in continua evoluzione (Campbell et al., 2011; Dulac, 2010) e come questi adattamenti possano verificarsi per tutta la durata della vita. (Campbell et al., 2011)

Quando la sequenza del DNA della regione non è mutata questa modifica è reversibile. Si è osservato che i cambiamenti epigenetici possono verificarsi in risposta ad esposizioni ambientali, ad esempio topi trattati con alcuni integratori alimentari mostrano cambiamenti epigenetici che interessano l'espressione del gene Agouti, riguardante il colore della pelliccia, il peso e la propensione a sviluppare il cancro. (Cooney et al., 2002; Waterland and Jirtle, 2003)

L'avvento dell'epigenetica ha portato alcuni studiosi a rivalutare le teorie di Lamarck, tanto che si è arrivati a parlare di rivincita di Lamarck. Si è infatti osservato come il fenotipo di un individuo non sia solo l'espressione delle informazioni contenute nel DNA, ma sia fortemente influenzato anche dall'ambiente, che può agire sul genoma mediante meccanismi di tipo epigenetico; degli studi condotti evidenziano inoltre la possibilità di trasmettere alla progenie alcune modificazioni epigenetiche, quali quelle causate dalle infezioni virali o dalla nutrizione materna.

Implicazioni

I cambiamenti epigenetici sono necessari per il normale sviluppo dell'organismo e per mantenere lo stato di salute, in quanto controllano molte funzioni cellulari, ad esempio, come e quando alcuni geni devono essere attivati e disattivati per aiutare l'organismo a crescere e a svilupparsi (Simmons, 2008; National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 2008).

Allo stesso tempo però essi possono causare l'attivazione o il silenziamento alterato di alcuni geni durante le diverse fasi della crescita e dello sviluppo e quindi possono anche essere responsabili di alcuni stati patologici.

Ad esempio, alcuni geni che normalmente svolgono un'azione protettiva contro il cancro (geni oncosoppressori), possono essere silenziati attraverso alcuni segnali epigenetici, aumentando così il rischio di sviluppare il cancro. Gli scienziati ancora non capiscono fino in fondo, perché alcuni markers epigenetici spengono i geni di cui abbiamo bisogno per rimanere in buona salute, o accendono geni che possono causare le malattie (Aguilera et al, 2010).

Nel corso della vita, si accumulano diversi cambiamenti epigenetici e questo rende più o meno probabile che nel tempo alcuni geni vengano accesi o spenti. L'accumulo di cambiamenti epigenetici è parte del normale processo di invecchiamento, ma può anche aumentare la probabilità che alcuni geni vengano marcati in modo tale da portare allo sviluppo di malattie legate all'età, come ad esempio il cancro o il diabete (Aguilera et al., 2010).

Molte patologie sono causate da una combinazione di diversi tipi di cambiamenti in molti geni differenti. Come avviene per le mutazioni anche alcuni markers epigenetici possono essere trasmessi dai genitori ai figli (National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 2008).

Finora, gli scienziati sono stati in grado di collegare solo alcune patologie a modificazioni epigenetiche (Simmons, 2008; Beaudet, 2003; Egger et al., 2004). Si sta appena iniziando a scoprire i cambiamenti specifici che contribuiscono a tutte le varie malattie, dato che quasi ogni malattia complessa è probabilmente causata, in parte, da cambiamenti epigenetici.

La maggior parte delle malattie multifattoriali e le malattie ad eziologia non-mendeliana sono o potrebbero essere indotte da alterazioni dell'epigenoma. Fra queste, sono in primo piano i tumori, le sindromi neurodegenerative, l'autismo, le sindromi che coinvolgono le instabilità cromosomiche e ritardo mentale e, in generale, le malattie associate all'invecchiamento, ma anche patologie come obesità, diabete e patologie cardiovascolari (Fuso, 2012).

PATOLOGIA	SINTOMATOLOGIA	EZIOLOGIA
Sindrome ATR-X	Disabilità intellettiva, α -talassemia.	Mutazioni nel gene ATRX, ipometilazione di sequenze specifiche e satelliti.
Sindrome dell'X fragile	Instabilità cromosomica, disabilità intellettiva.	Espansione e metilazione di ripetizioni CGC nel FMR1 5, metilazione del promotore.
Sindrome ICF	Instabilità cromosomica, deficit intellettivo.	Mutazione DNMT3b, ipometilazione del DNA.
Sindrome di Angelman	Disabilità intellettiva.	Deregolazione di uno o più geni soggetti ad imprinting al15q11-13 (materno).
Sindrome di Prader Willi	Obesità, disabilità intellettiva.	Deregolazione di uno o più geni soggetti ad imprinting al15q11-13 (paterno).
BWS	Organomegalia	Deregolazione di uno o più geni soggetti ad imprinting al 11p15.5 (es. IGF2).
Sindrome di Rett	Disabilità intellettiva.	Mutazione MeCP2.
α-talassemia (un caso)	Anemia	Metilazione delle isole CpG dell' α 2-globina, delezione dell'HBA1 e HBQ1.
Vari tipi di cancro	Instabilità microsattelliti.	Metilazione de novo di MLH1.
	Interruzione del pathway di p53 e Rb, proliferazione incontrollata.	Metilazione de novo di promotori di diversi geni.
	Interruzione del complesso di rimodellamento della cromatina SWI-SNF.	Mutazioni in SNF5, BRG1, BRM.
	Overespressione di IGF2, silenziamento di CDKN1C.	Perdita dell'imprinting.
Leucemia	Disturbi ematopoiesi.	Traslocazioni cromosomiche che coinvolgono HATs e HMTs.
Sindrome di Rubinstein-Taybi	Disabilità intellettiva.	Mutazione nelle proteine di binding CREB (acetilazione degli istoni).
Sindrome Coffin-Lowry	Disabilità intellettiva.	Mutazione di Rsk2 (fosforilazione degli istoni).

Modificata da Egger G. et al., Nature 2004 429, 459.

Disordini legati all'imprinting

I fattori epigenetici regolano diversi processi fisiologici necessari il corretto sviluppo, tra cui come abbiamo visto sono alla base del fenomeno dell'imprinting genetico e una loro alterazione può portare ad alcune condizioni patologiche peculiari.

La condizione detta disomia uniparentale si verifica quando una persona riceve due copie di un cromosoma, o una parte di un cromosoma, da un genitore e nessuna copia dall'altro genitore. (Robinson, 2000)

In molti casi la disomia uniparentale probabilmente non ha alcun effetto sulla salute o sullo sviluppo, poiché la maggior parte dei geni non sono soggetti ad imprinting e non fa differenza se un gene è ereditato dalla madre o dal padre. Se però, i geni coinvolti dal fenomeno di disomia uniparentale sono sottoposti a imprinting genomico, il soggetto può mancare di tutte le copie attive di alcuni geni essenziali. Questa perdita di funzione del gene può portare a ritardo dello sviluppo, ritardo mentale, o altri disturbi (Beaudet, 2003).

Diverse malattie genetiche possono derivare da disomia uniparentale o da un alterato pattern epigenetico che interferisce con il normale imprinting genomico (Beaudet, 2003).

Le condizioni più note includono la sindrome di Prader-Willi, caratterizzata da un'alimentazione incontrollata e obesità, e la sindrome di Angelman, che causa ritardo mentale e disturbi del linguaggio. Entrambi questi disturbi possono essere dovuti alla stessa mutazione genetica, ovvero da disomia uniparentale oppure da altri errori di imprinting di geni che coinvolgono il braccio lungo del cromosoma 15 e la sindrome che il bambino svilupperà dipende dal fatto che abbia ereditato la mutazione dal padre o dalla madre (Knoll et al., 1989). Altre condizioni, come la sindrome di Beckwith-Wiedemann (un disturbo caratterizzato da una crescita accelerata e un aumento del rischio di tumori cancerosi), sono associati ad anomalie dei geni impressi sul braccio corto del cromosoma 11.

Cancro

I cambiamenti epigenetici possono essere associati anche a diversi tipi di cancro, infatti il cancro è stata la prima patologia umana ad essere stata correlata a cambiamenti nei meccanismi epigenetici (Simmons, 2008).

Tuttavia è improbabile che le sole modifiche epigenetiche possano causare qualsiasi tipo di cancro, al contrario la maggior parte dei tumori sono causati dall'accumulo nel tempo di diverse mutazioni e cambiamenti epigenetici in molti geni diversi.

In diversi studi su cellule tumorali umane sono stati ampiamente evidenziati l'alterazione della metilazione del DNA, le modifiche degli istoni e i cambiamenti nei pattern dei miRNA (Kanwal and Gupta, 2011; Lovat et al., 2011; Sharma et al., 2010).

Nei tumori maligni il pattern di metilazione dei geni risulta alterato e si osserva una graduale ipometilazione del genoma, in concomitanza con un'ipermetilazione delle isole CpG che normalmente non sono metilate (Baylin and Jones, 2011; Feinberg, 2007).

L'ipermetilazione delle isole CpG nelle regioni del promotore di geni oncosoppressori è associata al loro silenziamento. Risulta essere un evento importante nella genesi di molti tumori ed è considerata un meccanismo frequente di inattivazione di geni coinvolti nel controllo del ciclo cellulare, nella riparazione del DNA, nel metabolismo dei cancerogeni, nell'interazione cellula-cellula, nel differenziamento, nell'apoptosi e nell'angiogenesi.

In molti tumori (pancreas, stomaco, prostata, colon) sono stati evidenziati processi anomali di metilazione e/o acetilazione che coinvolgono geni che codificano per gli enzimi che modificano gli istoni, quali acetiltransferasi istoniche, metiltransferasi, de-

metilasi, deacetilasi.

Recenti studi infine hanno dimostrato che i profili di espressione di microRNA differiscono tra tessuti sani e tessuti tumorali e tra vari tipi di tumore. La down-regolazione dei sottogruppi di microRNA potrebbe produrre la perdita della funzione di oncosoppressore per microRNA, come mostrato ad esempio per gli oncogeni RAS e BCL2.

L'ipermetilazione del DNA nella regione regolatrice dei miRNA invece è un meccanismo alla base della down-regolazione dei microRNA nei tumori.

TIPO DI TUMORE	DISORDINE EPIGENETICO
Colon	Ipermetilazione isole CpG (hMLH1, p16 ^{INK4a} , p14 ^{ARF} , RARB2, SFRP1 e WRN), ipometilazione globale del genoma, ipermetilazione di microRNA (miR-124a), perdita di imprinting di IGF2, mutazione di modificatori degli istoni (EP300 e HDAC2), diminuzione delle forme monoacetilate e trimetilate dell'istone H4.
Mammella	Ipermetilazione isole CpG (BRCA1, E-caderina, TMS1 e recettore degli estrogeni), ipometilazione globale del genoma.
Polmone	Ipermetilazione isole CpG (p16 ^{INK4a} , DAPK e RASS1A), delezione di CBP e del fattore di rimodellamento della cromatina BRG1, ipometilazione globale del genoma.
Glioma	Ipermetilazione isole CpG (enzima di riparazione del DNA MGMT, EMP3 e THBS1).
Leucemia	Ipermetilazione isole CpG (p15 ^{INK4b} , EXT1 e ID4), traslocazione di modificatori degli istoni (CBP, MOZ, MORF, MLL1, MLL3 e NSD1).
Linfoma	Ipermetilazione isole CpG (p16 ^{INK4b} , p73, enzima di riparazione del DNA MGMT), diminuzione delle forme monoacetilate e trimetilate dell'istone H4.
Vescica	Ipermetilazione isole CpG (p16 ^{INK4a} , TPEF/HPP1), ipometilazione globale del genoma, ipermetilazione di microRNA (miR-127).
Rene	Ipermetilazione isole CpG (VHL), ipometilazione globale del genoma, perdita di imprinting di IGF2.
Prostata	Ipermetilazione isole CpG (GSTP1), amplificazione genica della polycomb istone metiltransferasi EZH2, modificazione aberrante degli istoni H3 e H4.
Esofago	Ipermetilazione isole CpG (p16 ^{INK4b} e p14 ^{ARF}), amplificazione genica di istone acetilasi JMJD2C/GASC1.
Stomaco	Ipermetilazione isole CpG (hMLH1 e p14 ^{ARF}).
Fegato	Ipermetilazione isole CpG (SOCS1 e GSTP1), ipometilazione globale del genoma.
Ovaio	Ipermetilazione isole CpG (BRCA1).

Modificata da Egger G. et al., Nature 2004 429, 459.

Ereditarietà

“L'ereditarietà “forte” è determinata dalla sequenza delle basi del DNA. La trasmissione dei caratteri connessa all'epigenetica è un processo invece “soft”, perché può essere instabile a causa dell'ambiente. È un meccanismo lento ma costante, che viene determinato giorno dopo giorno.” (Sir David Charles Baulcombe professore della Royal Society e capo del Dipartimento di Scienze Botaniche presso l'Università di Cambridge).

L'epigenetica fornisce una memoria molecolare della nostra esperienza passata e gli effetti dell'ambiente in cui viviamo possono essere trasmessi ai figli. Evidenze scientifiche infatti dimostrano che i cambiamenti epigenetici possono essere trasmessi nelle generazioni successive così come avviene per le mutazioni. In particolare, gli effetti di epigenetica possono essere trasmessi dai genitori ai figli attraverso la meiosi (Camp-

bell IC, 2011; Rakyan VK, 2012) e la mitosi (Lim AL, 2012).

La relazione tra ambiente e geni e la possibilità che i cambiamenti epigenetici possano essere trasmessi alla progenie aprono un importante capitolo sull'ereditarietà delle malattie.

Infatti non solo la sequenza del DNA, sulla quale l'individuo non ha possibilità di intervenire, può determinare il rischio di malattia di figli e nipoti, ma anche l'ambiente in cui si vive e gli stili di vita che si adottano.

Alcuni ricercatori consultando i registri delle nascite e dei decessi della città di Overkalix (Nord della Svezia) hanno dimostrato che gli effetti di un ambiente negativo si riflettono sulle generazioni future. Gli episodi di carestia che si sono verificati durante la vita dei nonni influenzano infatti l'aspettativa media di vita dei nipotini, dimostrando così che un effetto ambientale può essere ereditato (Pembrey et al., 2006).

Alla luce di questo ne deriva l'importanza dello stile di vita che si conduce e dal momento che la predisposizione e l'origine di patologie come il cancro (ma anche di determinanti della longevità) può essere attribuita anche a mutazioni epigenetiche ogni individuo avrà una responsabilità in più nel condurre la propria vita in modo sano e nell'aderire ai consigli di prevenzione.

Questo cambia radicalmente le nostre idee (non solo sul cancro) e i ricercatori iniziano a pensare che le mutazioni epigenetiche e quelle del DNA rispettino una precisa gerarchia, e non è detto che sia il DNA al primo posto. Per questo motivo molti gruppi di ricerca nel mondo stanno cercando di capire il peso reale dell'epigenetica.

Considerando che le mutazioni epigenetiche, probabilmente presenti in tutti i tumori, sono farmacologicamente reversibili si può pensare di intervenire efficacemente, e questo potrebbe condurre a risultati importanti nella lotta contro diverse forme tumorali.

Epigenetica e comportamento

Gli studi sull'epigenetica vengono molto considerati anche nell'ambito della psicologia, in quanto possono fornire elementi utili a comprendere come l'espressione dei geni, influenzata non solo dall'ambiente, ma anche dalle esperienze, (Champagne and Mashoodh, 2012) possa portare a differenze individuali nei comportamenti, nella cognizione, nella personalità e nella salute mentale.

I cambiamenti epigenetici infatti non si verificano solo nel feto, ma anche in tutti gli individui cumulativamente per tutta la durata della vita (Campbell et al., 2011.) Dal momento che le modifiche epigenetiche possono essere trasmesse anche da una generazione a quella successiva (Goto T. et al., 1998), gli psicologi evuzionisti concordano sul fatto che i moderni tratti e comportamenti umani possono essere considerati come il frutto di adattamenti vantaggiosi all'ambiente (Kail et al., 2011).

Ad esempio possono essere tramandati alcuni cambiamenti epigenetici che derivano dalla crescita in un ambiente caratterizzato dalla presenza o meno di cure parentali (Oz et al., 2009). Le cure parentali precoci rivestono un ruolo centrale nello sviluppo psicologico umano, ed al tempo stesso, abusi e abbandono precoce possono portare ad una vasta gamma di disturbi cognitivi ed emotivi (Masterpasqua, 2009).

Studi sugli animali mostrano che le prime cure materne possono influire sull'espressione di alcuni geni e che le cure materne precoci influenzano la reattività della prole allo stress. In particolare, in uno studio condotto su topi, sono stati esaminati gli effetti della toelettatura tramite leccamento della mamma nei confronti dei cuccioli.

Un frequente leccamento dei piccoli da parte della mamma ha comportato un effetto positivo a lungo termine sulla reattività dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA). Il frequente leccamento è stato correlato alla diminuzione della metilazione a livello della citosina e degli istoni del promotore del gene del recettore per i glucocorticoidi (GR) dell'ippocampo e alla riduzione dei livelli di ACTH nelle ghiandole surrenali con diminuzione dei livelli di cortisolo. Al contrario le minori cure parentali si traduce in aumento del rilascio di cortisolo (Masterpasqua, 2009).

L'aumentato rilascio di cortisolo, attraverso l'asse HPA, come reazione allo stress psicologico è ormai un fenomeno conosciuto e consolidato (Guyton, 2000; Parkinson et al., 1997).

Da questo studio emerge che i cuccioli che avevano ricevuto meno cure parentali erano più inclini a sviluppare stress.

La ricerca ha dimostrato che esclusivamente l'ambiente di cura parentale precoce ha influenzato l'espressione genica e la risposta allo stress, al prescindere dal genotipo materno.

Quando alcuni cuccioli sono stati tolti a madri più distratte e affidati a madri più amorevoli sono stati invertiti i cambiamenti epigenetici legati a una maggiore risposta allo stress e viceversa. Questa ricerca fornisce la prova che esiste un meccanismo epigenetico di fondo su come la risposta allo stress nella prole è stata determinata dalla madre adottiva, non dalla madre genetica (Masterpasqua, 2009).

Variazioni epigenetiche stabili nelle cure parentali possono essere tramandate da una generazione a quella successiva, dalla madre alla prole femminile, infatti le femmine che hanno ricevuto maggiori cure parentali sono diventate a loro volta madri più amorevoli. Viceversa, le femmine che hanno ricevuto meno cure parentali diventano madri meno attente e più stressate (Figure 10-11).

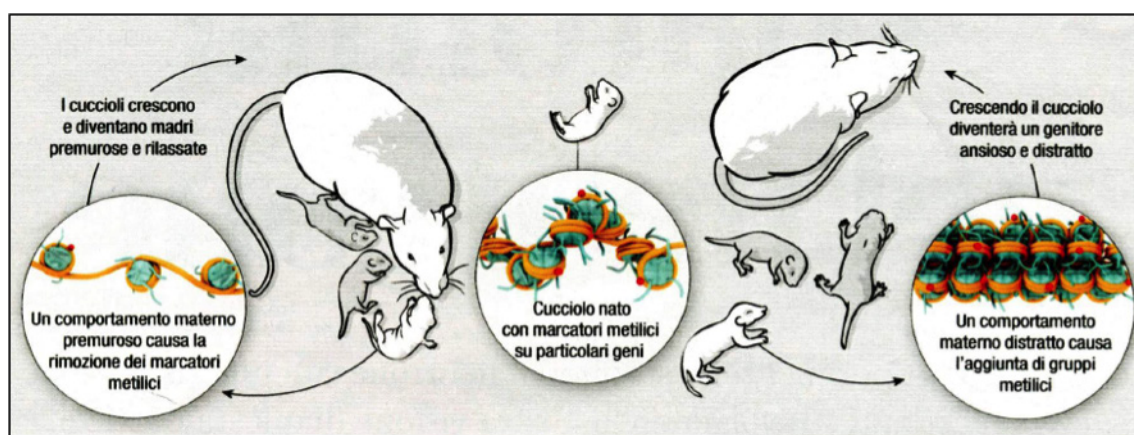


Figura 10. Studio condotto su topi in cui sono stati esaminati gli effetti della toelettatura tramite leccamento. Modificata da Eric Nestler, "Il codice epigenetico della mente", *Le Scienze*, Febbraio 2012.

La ricerca ha evidenziato nei cuccioli allevati da madri più amorevoli la presenza di metilazione del DNA correlata a una maggiore espressione di un gene del recettore degli estrogeni nella regione mediale preottica dell'ipotalamo che è l'area del cervello collegata al nutrimento materno e la cura (Champagne et al., 2006).

Dal momento che gli esseri umani mostrano la stessa risposta del cortisolo allo stress (Baum et Contrada, 2010) i modelli animali hanno forti implicazioni per gli esseri umani (Szyf et al., 2008).

Negli esseri umani è stata dimostrata la relazione tra esposizione prenatale all'**umore** materno ed espressione genica, con l'aumento di reattività allo stress nella prole. Sono

stati esaminati tre gruppi di bambini: quelli nati da madri trattate per la depressione con inibitori della ricaptazione della serotonina, quelli nati da madri con depressione non in trattamento, e quelli nati da madri non affette. L'esposizione prenatale all'umore depresso/ansioso della mamma era associato ad un aumento della metilazione del DNA del gene del recettore glucorticoidi. A sua volta, questo era legato alla maggiore reattività dell'asse HPA allo stress, misurata come aumento di cortisolo salivare in bambini di tre mesi di età, dal momento che l'aumento dei livelli di cortisolo è associato all'aumento dello stress (Oberlander et al., 2008; Parkinson et al., 1997).

I risultati erano indipendenti dal fatto che le madri fossero trattate farmacologicamente per la depressione (Oberlander et al., 2008).

Numerosi studi condotti dimostrano che l'ambiente influenza cambiamenti epigenetici legati alla cognizione, come **apprendimento** e **memoria**. (Miller, 2010; Fischer et al., 2007) Studi condotti utilizzando topi con una vasta neurodegenerazione e con perdita sinaptica nel cervello anteriore ha indicato che l'arricchimento di stimoli ambientali ha contribuito a ripristinare l'apprendimento spaziale e le memorie a lungo termine (Fischer et al., 2007).

Altri studi hanno dimostrato il ruolo dell'epigenetica anche nel declino della memoria associato all'età (Miller, 2010), infatti topi anziani mostrano maggiori cambiamenti epigenetici (diminuzione dell'acetilazione degli istoni ed espressione genica ridotta) nell'ippocampo che è la zona del cervello legata all'apprendimento.

Utilizzando degli agenti chimici per aumentare l'acetilazione degli istoni si ottiene un miglioramento delle prestazioni nei ratti anziani (Peleg et al., 2010).

Le influenze ambientali ed epigenetiche sembrano lavorare insieme anche per aumentare il rischio di **dipendenza** (Wong et al., 2011). Ad esempio, è stato dimostrato che lo stress ambientale è alla base di un aumentato rischio nell'uso di sostanze (Andersen et Teicher, 2009), dato che alcol e farmaci possono essere utilizzati come via di fuga per far fronte allo stress (Carver, 2010).

Una volta che l'uso della sostanza comincia, tuttavia, le alterazioni epigenetiche possono aggravare ulteriormente i cambiamenti biologici e comportamentali associati con la dipendenza (Wong et al., 2011).

Anche l'uso della sostanza a breve termine può produrre cambiamenti epigenetici duraturi nel cervello, attraverso la metilazione del DNA e la modificazione degli istoni (Wong et al., 2011).

In diversi studi sull'uso di alcol, nicotina, cocaina, anfetamine e oppiacei sono stati osservati cambiamenti epigenetici in grado di modificare l'espressione genica, che a sua volta aumenta la vulnerabilità dell'individuo e il ricorso all'uso ripetuto di sostanze. Inoltre, l'aumento dell'uso di queste sostanze risulta in ancora maggiori cambiamenti epigenetici nelle aree piacere-ricompensa del cervello (Wong et al., 2011; Renthal et Nestler, 2008).

Pertanto, i cambiamenti nelle aree di piacere-ricompensa contribuiscono alla comparsa di cambiamenti neurali e comportamentali duraturi, connessi con l'aumento della probabilità di dipendenza, il mantenimento della dipendenza e la ricaduta (Wong et al., 2011).

È stato anche dimostrato che il consumo di alcol può produrre cambiamenti epigenetici che provocano l'aumento del desiderio di alcol e svolgere un ruolo nella progressiva perdita di controllo del consumo di alcol (Naassila, 2011).

Alcune alterazioni possono essere anche a lungo termine, come si evidenzia nei fumatori che mostrano cambiamenti epigenetici connessi con l'assunzione di nicotina anche

dieci anni dopo la cessazione dell'assunzione(Launay et al., 2009).

Pertanto, le modificazioni epigenetiche (Wong et al., 2011) possono essere alla base di alcuni cambiamenti comportamentali che generalmente sono associati alla dipendenza. Questi includono: le abitudini ripetitive che aumentano il rischio di malattia e di problemi personali e sociali che hanno bisogno di gratificazione immediata, alti tassi di recidiva dopo il trattamento e la sensazione di perdita di controllo (Marlatt et al., 1988).

La prova della presenza di cambiamenti epigenetici correlati all'assunzione di alcool, nicotina ed oppiacei è derivato da studi condotti direttamente sull'uomo (Bönsch et al., 2004). Utilizzando modelli animali invece sono stati condotti studi sui cambiamenti epigenetici legati all'assunzione di anfetamine e cocaina.

Da questi studi è emerso che l'assunzione di queste sostanze da parte dei padri ha influenzato negativamente la prole in termini di memoria spaziale più povera, diminuzione dell'attenzione e diminuzione del volume cerebrale (He et al., 2006).

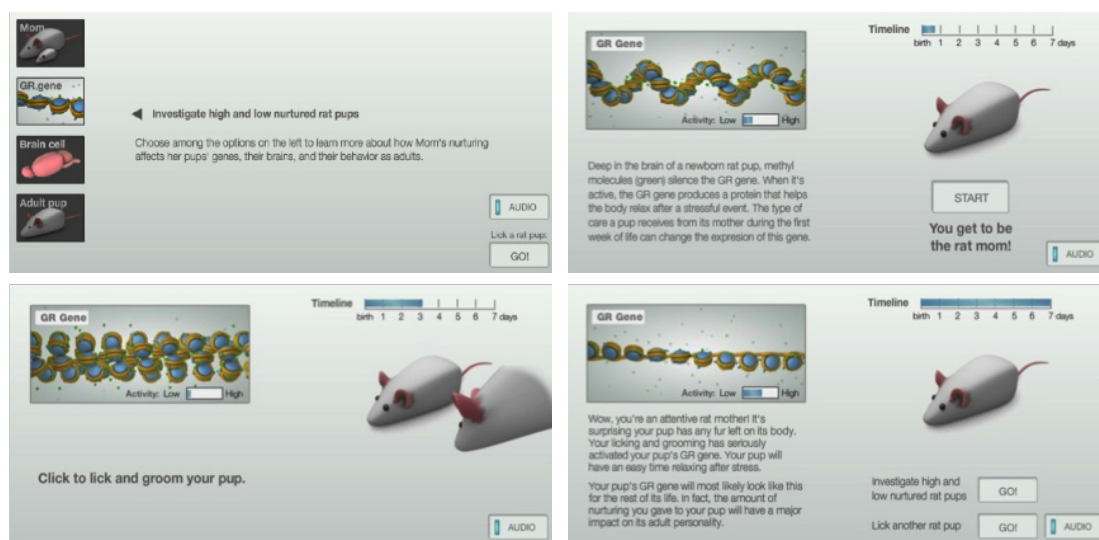


Figura 11. Gioco interattivo disponibile sul sito <http://learn.genetics.utah.edu/content/epigenetics/rats/>.

Ruolo bioinformatico

La bioinformatica è una scienza relativamente giovane applicabile a molteplici campi della biologia. Come il nome stesso suggerisce, si tratta di una materia interdisciplinare che coniuga conoscenze e dati biologici all'informatica.

Senza l'utilizzo di strumenti computazionali e di potenti processori molti dati biologici prodotti da esperimenti di laboratorio non potrebbero mai essere analizzati e non arriverebbero mai ad avere un senso.

Per fare un esempio banale, quando si fa un esperimento di sequencing di RNA o DNA, la company a cui ci si affida per il sequenziamento produce in output dei file di dati raw grandi diverse decine di GB.

Dentro quei file c'è scritto quali sono le sequenze di RNA o DNA che abbiamo mandato a sequenziare, sequenze che possono andare dalle 50 ai 100 nucleotidi ciascuna e che in qualche modo possono arrivare a coprire l'intero trascrittoma o frammenti d'interesse di genoma di intere cellule.

A dirla così potrà sembrare poco ma in realtà ogni cellula possiede quantità enormi di DNA, finemente "impacchettato" in strutture tondeggianti dette nucleosomi, che servo-

no a condensarlo in qualcosa di infinitamente piccolo. I nucleosomi sono poi intervallati da sequenze di DNA nudo, detto linker, a formare una collana di perle in cui il DNA è la catenina e le perle sono i nucleosomi.

Se noi volessimo immaginariamente "spacchettare" i nucleosomi troveremmo dinanzi a noi una collana senza perle incredibilmente lunga, capace di arrivare a coprire una distanza pari a quella che c'è tra la terra e il sole, andata e ritorno, per svariate volte!

Ecco spiegata l'importanza dei nucleosomi, riuscire a comprimere qualcosa di incredibilmente lungo, il DNA, in qualcosa di incredibilmente piccolo, la cellula.

In realtà la funzione dei nucleosomi è anche un'altra: rendere più o meno accessibile certi frammenti di DNA al macchinario della Polimerasi che serve per la trascrizione dello stesso. Immaginate questi nucleosomi come una sorta di ingombro fisico che rendono più o meno facile alla Polimerasi il transito sull'autostrada del DNA, ecco spiegato cosa sono le regioni di cromatina più aperta o chiusa.

Ma chi è che contribuisce a rendere tali "ingombri" più o meno presenti, più o meno by-passabili? I fattori che modellano la cromatina.

Essi operano in sinergia con altri fattori, proteine, piccoli RNA, lunghi RNA non codificanti in modo da creare infinite combinazioni di modificazioni delle code istoniche dei nucleosomi, influenzando così la condensazione del DNA, l'accessibilità o meno di certe zone, la trascrizione o il silenziamento di certi geni, il destino cellulare, infine il destino stesso dell'essere umano.

Tutto parte dal piccolo per estendere la propria influenza a macchia d'olio su tutto il resto, come increspature nell'acqua in cui dalla caduta di un piccolo sasso possono derivare movimenti lontani.

Ecco che la bioinformatica entra in gioco per dare un senso a tutto ciò.

Se io volessi studiare in laboratorio, con determinati esperimenti, in che modo e dove precisamente un certo fattore "x" (che noi sappiamo modificare la cromatina) si lega al DNA, dovrei fare un esperimento chiamato ChIP-seq, ovvero immuno-precipitazione della cromatina seguita da sequencing. Può sembrare qualcosa di estremamente complicato (e in effetti lo è a livello pratico) ma vediamo nel dettaglio di che cosa si tratta: immunoprecipitare la cromatina vuole dire prendere un anticorpo che noi sappiamo legarsi al nostro fattore "x" di interesse che siede sul DNA. Tramite il legame specifico di questo anticorpo alla proteina "x" di interesse andiamo a selezionare solo determinate zone di DNA legate e influenzate dalla proteina stessa e non le altre. Quindi rompiamo e degradiamo il DNA che non è legato da "x" e che non c'interessa e mandiamo a sequenziare solo il DNA che originariamente era legato dalla proteina "x".

In questo modo avremo una "fotografia" precisa di quali sono le sequenze del DNA su cui "x" si lega, cercheremo di capire perché "x" si lega proprio lì e non altrove, in che modo il legame di "x" influenza tutto il panorama circostante di nucleosomi e tante altre domande biologiche possono venire in mente allo sperimentatore. Spesso sono i dati stessi, che mentre vengono analizzati, suggeriscono nuovi interessanti spunti, è una ricerca continua di senso che non ha mai una fine perché ogni punto di arrivo costituisce nuovi punti di partenza.

Ma torniamo al nostro sequenziamento. Avete le sequenze di DNA di interesse legate dal fattore "x", cosa c'è scritto dentro? ATCGGCTTATGG o TAGAATTGCCATT o ancora TAAGTATGGATTT... e così all'infinito? Il numero di combinazioni possibili delle quattro lettere che compongono il DNA aumenta esponenzialmente all'aumentare della lunghezza delle vostre sequenze. Qui entrano in gioco le company di sequencing, voi gli spedite le vostre sequenze e attendete la risposta.

Dopo qualche settimana di trepidante attesa la company vi dice che i dati del vostro sequencing sono pronti e che i file di output sono stati depositati su un repository privato di cui solo voi conoscete la password oppure in alternativa qualche corriere sta per consegnarvi un hard disk contenente al suo interno i file.

Ora che avete finalmente scaricato sul vostro computer i file inizia la vera e propria analisi bioinformatica dei dati.

Prima di tutto bisogna vedere com'è venuto il sequencing. A volte può capitare che dopo tanto lavoro di laboratorio e tanta attesa il sequenziatore non abbia fatto appieno il suo lavoro e vi abbia restituito delle sequenze non completamente "pulite", ovvero invece di dirvi che in posizione "n" del vostro DNA c'è una A o una T o una G o una C c'è una "N".

"N" vuol dire che il sequenziatore non ha capito che nucleotide c'era in quella posizione e, per evitare di buttare via l'intera sequenza, ha messo una lettera "non identificata".

Per avere un'indicazione della qualità dell'output si fa affidamento ad un programma bioinformatico chiamato Fastqc (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Tale programma ha anche un'interfaccia grafica oltre che la classica riga di comando (merce molto rara in campo bioinformatico) il che lo rende particolarmente amichevole da usare e di facile interpretazione. Esso valuta quante sequenze di DNA avete, quanto sono lunghe, quanto sono pulite o sporche la quantità di duplicati e tante altre informazioni tecniche.

Se il risultato del Fastqc non ci piace particolarmente, non è detto che dobbiamo buttar via tutto l'esperimento, semplicemente possiamo prendere particolare accortezza per ripulire un po' i nostri dati o ancora possiamo fare valutazioni delle nostre analisi alla luce dei campanelli di allarme che il quality check preliminare ci ha inviato.

Per fare un esempio pratico, se il fastqc ci dice che ognuna delle nostre sequenze è lunga 100 nt e che il sequenziamento è venuto bene fino all' 80esima posizione, mentre dall'81esima in poi iniziano ad apparire delle fastidiose "N", noi possiamo utilizzare dei programmi di "Trimming" (ovvero di taglio) che tagliano dall' 80esima posizione in poi (es. <http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic> oppure <http://code.google.com/p/cutadapt/>).

Non è un problema buttare via una parte della sequenza (purchè la porzione tagliata non superi di gran lunga la porzione che tratteniamo) e questo può essere un buon compromesso per continuare a lavorare sui nostri dati in maniera più tranquilla.

Un paio di programmi bioinformatici di trimming molto utilizzati sono "Trimmomatic" e "Cutadapt", essi vanno scaricati sul proprio pc e si corrono entrambi da riga di comando attraverso uno script che prevede l'immissione dell'input, le opzioni di taglio, in che formato voglio che sia il mio output, ecc... Sono sempre disponibili on line i manuali con la spiegazione di ciascuna opzione utilizzabile.

A seconda di quanto sono grandi i vostri file di input impiegherete più o meno tempo per tagliare le vostre sequenze, se avete pochi piccoli file allora ve la sbrigherete in un paio d'ore, altrimenti se i vostri file sono tanti e grandi diverse decine di GB ciascuno non vi basterà una giornata di lavoro intera. Il lato positivo è che una volta che avete preparato il vostro script di taglio e lo avete reso eseguibile, potete lanciarlo da riga di comando, magari di sera prima di andare a dormire e il pc rimarrà acceso tutta la notte e farà il resto. Al mattino vi risveglierete con un output bello pronto e potrete continuare la vostra analisi.

A questo punto bisogna rispondere ad una domanda fondamentale: da dove derivano le sequenze che ho nei miei file? Da quali cromosomi, da che posizioni, qual è la loro origine?

Qui entrano in gioco i programmi di "mapping" di cui il più famoso è Bowtie (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/index.shtml>) ma potrei citarvene tantissimi altri. Per semplificare, attraverso il famoso "Progetto genoma umano" di cui tanto si è parlato anche al telegiornale qualche anno fa, noi conosciamo la sequenza dell'intero genoma dell'essere umano. Ci sono voluti oltre 20 anni e sforzi sinergici provenienti da laboratori di tutto il mondo ma alla fine il puzzle è stato completato. Ora che abbiamo un'enciclopedia così vasta e completa qualunque bioinformatico può prendere i dati del proprio esperimento e andare a ricercare nel mare magnum delle sequenze dell'intero genoma umano da dove derivano quelle del proprio sequencing. È come se noi avessimo solo un campione di una popolazione molto più vasta, ma col nostro campione a far da esca possiamo risalire alle posizioni originali dei nostri frammenti di DNA legati dal famoso fattore "x" che abbiamo immunoprecipitato con l'anticorpo. Quindi finalmente possiamo dare un senso a tutto l'esperimento e rispondere alla domanda iniziale: dove si lega "x"?

x si lega a tali cromosomi, a tali posizioni, quindi modifica tali zone della cromatina. E se ci venisse in mente di sapere con chi collabora "x"? Magari, attraverso uno studio approfondito della letteratura riguardante "x", ci è venuto in mente di verificare una possibile interazione con "y"...

Potremmo quindi utilizzare altri strumenti bioinformatici tra qui i BedTools (<http://bedtools.readthedocs.org/en/latest/>) per incrociare i nostri dati di ChIP-seq di "x" con dati pubblici di ChIP-seq di "y" prodotti, nello stesso tipo di cellule su cui stiamo lavorando noi, da un altro laboratorio completamente indipendente dal nostro e depositati su database di fama mondiale come ad esempio UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/>). Chi lo sa che non venga fuori qualcosa di interessante che possa suggerire un'interazione. Se il responso bioinformatico fosse "sì, qui potrebbe esserci collaborazione tra x e y..." allora la controparte sperimentale del laboratorio potrebbe ideare nuovi esperimenti da fare in laboratorio per verificare il tutto.

Quindi il bioinformatico non è da intendersi come puro analizzatore di dati che se ne sta al pc a scrivere strani codici tutto il giorno davanti ad uno schermo nero che sembra matrix, ma è anche una figura professionale con una profonda conoscenza della biologia, in grado di interpretare biologicamente i dati prodotti dal proprio team di ricerca e di indirizzare verso nuovi filoni esplorativi il gruppo stesso.

Bibliografía

<http://nihroadmap.nih.gov/roadmap15update.asp>.

Aguilera O, Fernández AF, Muñoz A. and Fraga MF. (2010) Epigenetics and environment: a complex relationship *J Appl Physiol* 109: 243–251.

Andersen SL, Teicher MH (April 2009). “Desperately driven and no brakes: developmental stress exposure and subsequent risk for substance abuse”. *Neurosci Biobehav Rev* 33 (4): 516–24. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.09.009. PMC 2688959. PMID 18938197.

Avila MA, Garcia-Trevijano ER, Martinez-Chantar ML, Latasa MU, Perez-Mato I, Martinez-Cruz LA, del Pino MM, Corrales FJ, Mato JM. S-adenosylmethionine revisited: its essential role in the regulation of liver function. *Alcohol* 27: 163–167, 2002.

Bartel DP. (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism and function. *Cell*. 116: 281-297.

Baum A, Contrada RJ (2010). *The Handbook of Stress Science: Biology, Psychology, and Health*. New York: Springer Publishing Company. pp. 77–100. ISBN 0-8261-1471-7.

Baylin SB, Jones PA. (2011) A decade of exploring the cancer epigenome—biological and translational implications. *Nat. Rev. Cancer* 11:726–734.

Beaudet, A. (2003y). The role of imprinting defects in Angelman syndrome, autism, and other disorders. Retrieved July 24, 2012, from http://www.nichd.nih.gov/about/meetings/2003/ppb_fetalgrowth/Documents/beaudet_pdf.pdf (PDF - 1.13 MB).

Boggs BA, Cheung P, Heard E, Spector DL, Chinault AC, Allis CD. (2002) Differentially methylated forms of histone H3 show unique association patterns with inactive human X chromosomes. *Nat. Genet.*, 30:73–76.

Bönsch D, Lenz B, Reulbach U, Kornhuber J, Bleich S (December 2004). “Homocysteine associated genomic DNA hypermethylation in patients with chronic alcoholism”. *J Neural Transm* 111 (12): 1611–6. doi:10.1007/s00702-004-0232-x. PMID 15565495.

Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA. Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *Br J Nutr* 97: 435–439, 2007.

Campbell IC, Mill J, Uher R, Schmidt U. (January 2011) “Eating disorders, gene-environment interactions and epigenetics”. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35 (3): 784–93. DOI 10.1016/j.neubiorev.2010.09.012. PMID 20888360.

Carver C (2010). “Coping”. In Baum A, Contrada RJ. *The Handbook of Stress Science: Biology, Psychology, and Health*. New York: Springer Publishing Company. p. 223. ISBN 0-8261-1471-7.

Casati L, Colciago A, Celotti F. (2010) Epigenetic Mechanisms In Health And Diseases. *Brasília Med.*, 48(2):209-218.

Champagne FA, Mashoodh R (2012). “Genes in context: Gene-environment interplay and the origins of individual differences in behaviour”. *Current Directions in Psychological Science* 18 (3): 127–131. doi:10.1111/j.1467-8721.2009.01622.x.

Champagne FA, Weaver IC, Diorio J, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. (June 2006) Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor-alpha1b promoter and estrogen receptor-alpha expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology* 147 (6): 2909–15. DOI 10.1210/en.2005-1119. PMID 16513834.

Cooney, CA, Dave, AA, and Wolff, GL. (2002) Maternal Methyl Supplements in Mice Affect Epigenetic Variation and DNA Methylation of Offspring. *Journal of Nutrition* 132 (8 Suppl): 2393S–2400S. PMID 12163699. available online.

Cortessis VK, Thomas DC, Levine AJ, Breton CV, Mack TM, Siegmund KD, Haile RW, Laird PW. (2012) Environmental epigenetics: prospects for studying epigenetic mediation of exposure–response relationships. *Hum. Genet.*, 131:1565–1589. DOI 10.1007/s00439-012-1189-8.

Chuang JC. (2007) Epigenetics and MicroRNAs. *Pediatr. Res.* 61: 24R–29R.

Chuva de Sousa Lopes SM, Hayashi K, Shovlin TC, Mifsud W, Surani MA, McLaren A. (2008) X chromosome activity in mouse XX primordial germ cells. *PLoS Genet.* 4, e30. DOI 10.1371/journal.pgen.0040030.

Dulac C. (June 2010) “Brain function and chromatin plasticity”. *Nature* 465 (7299): 728–35. DOI 10.1038/nature09231. PMC 3075582. PMID 20535202.

Egger, G., Liang, G., Aparicio, A., & Jones, P. A. (2004). Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*, 429, 457–463.

Ehrlich M. (2002) DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene*; 21, 5400–13.

Fauque P, Jouannet P, Lesaffre C, Ripoche MA, Dandolo L, Vaiman D, et al. Assisted Reproductive Technology affects developmental kinetics, H19 Imprinting Control Region methylation and H19 gene expression in individual mouse embryos. *BMC Dev Biol.* 2007; 7:116.

Feinberg AP. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature* 447: 433–440, 2007.

Feinberg AP. (2007) Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature* 447:433–440.

Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet* 7: 21–33, 2006.

Ferguson-Smith AC. (2011) Genomic imprinting: the emergence of an epigenetic paradigm. *Nat. Rev. Genet.*, 12:565–575.

Ficociello B, Sturchio E, Minoia C, Casorri L, Imbriani M, Signorini S. (2010) Epigenetica ed esposizione ambientale a xeno biotici. *G. Ital. Med. Lav. Erg.*; 32:1, 13–22.

Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai LH (May 2007). “Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling”. *Nature* 447 (7141): 178–82. doi:10.1038/nature05772. PMID 17468743.

Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, Heine-Suner D, Cigudosa JC, Urioste M, Benitez J, Boix-Chornet M, Sanchez-Aguilera A, Ling C, Carlsson E, Poulsen P, Vaag A, Stephan Z, Spector TD, Wu YZ, Plass C, Esteller M. (2005) Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 102:10604–10609.

Fuso A. Aging and Disease: the epigenetic bridge. 2012; 519-544. In: Tollefsbol, T (ed) Epigenetic in Human disease. 592 pp. June 2012. Academic Press/Elsevier).

Goto T, Monk M (June 1998). "Regulation of X-chromosome inactivation in development in mice and humans". *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (2): 362–78. PMC 98919. PMID 9618446.

Guyton AC (2000). *Textbook of Medical Physiology - 10th Edition*. Philadelphia: W.B. Saunders. pp. 14, 33–36, 914, 916. ISBN 0-7216-8677-X.

Harris RA, Wang T, Coarfa C, Nagarajan RP, Hong C, Downey SL, Johnson BE, Fouse SD, Delaney A, Zhao Y, Olshen A, Ballinger T, Zhou X, Forsberg KJ, Gu J, Echipare L, O'Geen H, Lister R, Pelizzola M, Xi Y, Epstein CB, Bernstein BE, Hawkins RD, Ren B, Chung WY, Gu H, Bock C, Gnirke A, Zhang MQ, Haussler D, Ecker JR, Li W, Farnham PJ, Waterland RA, Meissner A, Marra MA, Hirst M, Milosavljevic A, Costello JF. (2010) Comparison of sequencing-based methods to profile DNA methylation and identification of monoallelic epigenetic modifications. *Nat. Biotechnol.* , 28:1097–1105.

He F, Lidow IA, Lidow MS (2006). "Consequences of paternal cocaine exposure in mice". *Neurotoxicol Teratol* 28 (2): 198–209. doi:10.1016/j.ntt.2005.12.003. PMID 16458479.

Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD et al. (2008) Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 105, 17046– 17049.

Hemberger M, Dean W, Reik W. (2009) Epigenetic dynamics of stem cells and cell lineage commitment: digging Waddington's canal. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*, 10, 526–537. DOI 10.1038/nrm2727.

Il codice epigenetico della mente di Eric J.Nestler. www.lescienze.it

Jablonka E, Gal R. (giugno 2009) Transgenerational Epigenetic Inheritance: Prevalence, Mechanisms, and Implications for the Study of Heredity and Evolution. *The Quarterly Review of Biology* 84 (2): 131–176. DOI:10.1086/598822. PMID 19606595.

Jones PA. (2002) The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat. Rev. Genet.*; 3: 415-428.

Kail RV, Barnfield A (2011). *Children and Their Development, Second Canadian Edition with MyDevelopmentLab*. Toronto: Pearson Education Canada. ISBN 0-13-255770-3.

Kanwal R, Gupta S. (2011) Epigenetic modifications in cancer. *Clin. Genet.* 81:303–311.

Kelsey G, Feil R. (2013) New insights into establishment and maintenance of DNA methylation imprints in mammals. *Phil. Trans. R Soc B*, 368, 20110336. DOI 10.1098/rstb.2011.0336.

Keyes MK, Jang H, Mason JB, Liu Z, Crott JW, Smith DE, Friso S, Choi SW. Older age and dietary folate are determinants of genomic and p16-specific DNA methylation in mouse colon. *J Nutr* 137: 1713–1717, 2007.

Knoll J.H.M., Nicholls R.D., Magenis R.E., Graham J.M. Jr, Lalande M., Latt S.A. (1989). Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome deletion but differ in parental origin of the deletion. *American Journal of Medical Genetics* 32 (2): 285–290. DOI:10.1002/ajmg.1320320235. PMID 2564739.

- Kohda T, Ishino F. (2012) Embryo manipulation via assisted reproductive technology and epigenetic asymmetry in mammalian early development. *Phil. Trans. R Soc B* 368: 20120353. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2012.0353>.
- Kotsopoulos J, Sohn KJ, Kim YI. Postweaning dietary folate deficiency provided through childhood to puberty permanently increases genomic DNA methylation in adult rat liver. *J Nutr* 138: 703–709, 2008.
- Lai EC. (2002) MicroRNAs are complementary to 3'UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation. *Nat. Genet.* 30: 363-364.
- Launay JM, Del Pino M, Chironi G, Callebert J, Peoc'h K, Mégnien JL, Mallet J, Simon A, Rendu F (2009). "Smoking induces long-lasting effects through a monoamine-oxidase epigenetic regulation". *PLoS ONE* 4 (11): e7959. doi:10.1371/journal.pone.0007959. PMC 2775922. PMID 19956754.
- Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA, Burdge GC. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *J Nutr* 135: 1382–1386, 2005.
- Lillycrop KA, Phillips ES, Torrens C, Hanson MA, Jackson AA, Burdge GC. Feeding pregnant rats a protein-restricted diet persistently alters the methylation of specific cytosines in the hepatic PPAR alpha promoter of the offspring. *Br J Nutr* 100: 278–282, 2008.
- Lim AL, Ferguson-Smith AC (April 2010). "Genomic imprinting effects in a compromised in utero environment: implications for a healthy pregnancy". *Semin. Cell Dev. Biol.* 21 (2): 201–8. doi:10.1016/j.semcdb.2009.10.008. PMID 19879952.
- Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, Hawkins RD, Hon G, Tonti-Filippini J et al. (2009) Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature* 462: 315–322.
- Lovat F, Valeri N, Croce CM. (2011) MicroRNAs in the pathogenesis of cancer. *Semin. Oncol.* 38:724–733.
- Lyle R. (2000) The imprinted antisense RNA at the Igf2r locus overlaps but does not imprint Mas1. *Nat. Genet.* 25: 19-21.
- Maherali N, Sridharan R, Xie W, Utikal J, Eminli S, Arnold K, Stadtfeld M, Yachechko R, Tchieu J, Jaenisch R, Plath K, Hochedlinger K. (2007) Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell* 1, 55–70. DOI 10.1016/j.stem.2007.05.014.
- Marlatt GA, Baer JS, Donovan DM, Kivlahan DR (1988). "Addictive behaviors: etiology and treatment". *Annu Rev Psychol* 39: 223–52. doi:10.1146/annurev.ps.39.020188.001255. PMID 3278676.
- Masterpasqua F (2009). "Psychology and epigenetics". *Review of General Psychology* 13 (3): 194–201. doi:10.1037/a0016301.
- Milagro FI, Campion J, Garcia-Diaz DF, Goyenechea E, Paternain L, Martinez JA. High fat diet-induced obesity modifies the methylation pattern of leptin promoter in rats. *J Physiol Biochem* 65: 1–9, 2009.
- Millar D, Holliday R, Grigg G. (2003) Five not four: history and significance of the fifth base. In: Beck S, Olek A (eds). *The Epigenome, Molecular Hide and Seek*. Wiley-VCH Verlag GmbH Co. KGaA: Weinheim, pp 3–20.

- Miller G (July 2010). "Epigenetics. The seductive allure of behavioral epigenetics". *Science* 329 (5987): 24–7. doi:10.1126/science.329.5987.24. PMID 20595592.
- Morgan HD, Sutherland HG, Martin DI, Whitelaw E. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat Genet* 23: 314–318, 1999.
- Naassila M (2011). "Epigenetics in alcohol addiction: New mechanisms for new treatments?". *Alcohol and Alcoholism* 46 (Suppl 1): i1–63. doi:10.1093/alcalc/agr085. PMID 21863600.
- National Institute of Neurological Disorders and Stroke. (2008) NIH announces new initiative in epigenomics. Retrieved July 24, 2012, from http://www.ninds.nih.gov/news_and_events/news_articles/pressrelease_New_Initiative_Epigenomics.htm.
- Oberlander TF, Weinberg J, Papsdorf M, Grunau R, Misri S, Devlin AM (2008). "Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses". *Epigenetics* 3 (2): 97–106. PMID 18536531.
- Ohm JE, McGarvey KM, Yu X, Cheng L, Schuebel KE, Cope L, Mohammad HP, Chen W, Daniel VC, Yu W, Berman DM, Jenuwein T, Pruitt K, Sharkis SJ, Watkins DN, Herman JG, Baylin SB. (2007) A stem cell-like chromatin pattern may predispose tumor suppressor genes to DNA hypermethylation and heritable silencing. *Nat. Genet.*, 39:237–242.
- Okamoto I, Otte A, Allis C, Reinberg D, Heard E. (2004) Epigenetic dynamics of imprinted X inactivation during early mouse development. *Science* 303 (5658): 644–9. DOI 10.1126/science.1092727. PMID 14671313.
- Oz M, Roizen MF (2009). *You: Having a baby: The owner's manual to a happy and healthy pregnancy*. New York: Free Press. pp. 27–43. ISBN 1-4165-7236-8.
- Parkinson CF, McCance KL, Huether SE (1997). *Pathophysiology : The Biologic Basis for Disease in Adults and Children (Study Guide & Workbook)*. St. Louis, USA: Mosby Elsevier Health Science. ISBN 0-8151-3766-4.
- Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, Cota P, Wittnam JL, Gogol-Doering A, Opitz L, Salinas-Riester G, Dettenhofer M, Kang H, Farinelli L, Chen W, Fischer A (May 2010). "Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice". *Science* 328 (5979): 753–6. doi:10.1126/science.1186088. PMID 20448184.
- Pembrey ME, Bygren LO, Kaati G, Edvinsson S, Northstone K, Sjöström M, Golding J; ALSPAC Study Team.(2006 Feb) Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans.*Eur. J. Hum. Genet.*;14(2):159-66.
- Poulsen P, Esteller M, Vaag A, Fraga MF. The epigenetic basis of twin discordance in age-related diseases. *Pediatr Res* 61: 38R–42R, 2007.
- Power C, Atherton K, Strachan DP, Shepherd P, Fuller E, Davis A, et al. Life-course influences on health in British adults: effects of socio-economic position in childhood and adulthood. *Int J Epidemiol.* 2007;36:532-9.
- Rakyan VK, Blewitt ME, Druker R, Preis JI, Whitelaw E (July 2002). "Metastable epialleles in mammals". *Trends Genet.* 18 (7): 348–51. doi:10.1016/S0168-9525(02)02709-9. PMID 12127774.
- Ren X, McHale CM, Skibola CF, Smith AH, Smith MT, Zhang L. An emerging role for epigenetic dysregulation in arsenic toxicity and carcinogenesis. *Review. Environ Health Perspect* 2011; 119(1): 11-19.

- Renfree MB, Suzuki S, Kaneko-Ishino T. (2013) The origin and evolution of genomic imprinting and viviparity in mammals. *Phil. Trans. R Soc B*, 368, 20120151. DOI 10.1098/rstb.2012.0151.
- Renthal W, Nestler EJ (August 2008). "Epigenetic mechanisms in drug addiction". *Trends Mol Med* 14 (8): 341–50. doi:10.1016/j.molmed.2008.06.004. PMC 2753378. PMID 18635399.
- Robinson WP (May 2000). "Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences". *Bioessays* 22 (5): 452–9. doi:10.1002/(SICI)1521-1878(200005)22:5<452::AID-BIES7>3.0.CO;2-K. PMID 10797485.
- Rossella F, Polledri E, Bollati V, Baccarelli A, Fustinoni S. (2009) Development and validation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the assessment of genomic DNA methylation. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23: 2637–2646.
- Schlesinger Y, Straussman R, Keshet I, Farkash S, Hecht M, Zimmerman J, Eden E, Yakhini Z, Ben-Shushan E, Reubinoff BE, Bergman Y, Simon I, Cedar H. (2007) Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for de novo Methylation in cancer. *Nat. Genet.*, 39:232–236.
- Seisenberger S, Peat JR, Hore TA, Santos F, Dean W, Reik W. (2012) Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle: building and breaking epigenetic barriers. *Phil Trans R Soc B* 368:20110330. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2011.0330>.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. (2010) Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 31:27–36
- Sharp AJ, Stathaki E, Migliavacca E, Brahmachary M, Montgomery SB, Dupre Y, Antonarakis SE. (2011) DNA methylation profiles of human active and inactive X chromosomes. *Genome Res*, 21:1592–1600.
- Simmons, D. (2008) Epigenetic influence and disease. *Nature Education* 1(1).
- Simmons R. Developmental origins of adult metabolic disease: concepts and controversies. *Trends Endocrinol Metab* 16: 390–394, 2005.
- Smadley PL, Kinniburgh DG. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 2002; 17: 517-568.
- Sturchio E, Casorri L, Masciarelli E, Bemporad E, Napolitano P, Marconi S, Beni C, Ferrazza P, Minoia C, Masotti A. (2010) "Arsenico: contaminazione ed esposizione ambientale". ISBN 9788889415962.
- Sturchio E, Ficociello B, Minoia C, Biamonti G, Signorini S, Moccaldi A, Imbriani M. (2008) Espressione genica ed esposizione ambientale a xenobiotici: overview e applicazioni G. *Ital. Med. Lav. Erg.*; 30:2, 101-114.
- Szyf M, McGowan P, Meaney MJ (January 2008). "The social environment and the epigenome". *Environ. Mol. Mutagen.* 49 (1): 46–60. doi:10.1002/em.20357. PMID 18095330.
- Tarutani Y, Takayama S. (2011) Monoallelic gene expression and its mechanisms. *Current opinion in plant biology*, 14:608–613.
- Teschendorff AE, Menon U, Gentry-Maharaj A, Ramus SJ, Weisenberger DJ, Shen H, Campan M, Noushmehr H, Bell CG, Maxwell AP, Savage DA, Mueller-Holzner E, Marth C, Kocjan G, Gayther SA, Jones A, Beck S, Wagner W, Laird PW, Jacobs IJ, Widschwendter M. (2010) Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer. *Genome Res*, 20:440–446.

- Tobi EW, Lumey LH, Talens RP et al. (2009) DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet* 18, 4046–4053.
- Trasler JM. (2009) Epigenetics in spermatogenesis. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 306:33–36.
- Waddington CH. (1942) The epigenotype. *Endeavour* 1: 18–20.
- Waterland RA. Assessing the effects of high methionine intake on DNA methylation. *J Nutr* 136: 1706S–1710S, 2006.
- Waterland RA. Do maternal methyl supplements in mice affect DNA methylation of offspring? *J Nutr* 133: 238; author reply 239, 2003.
- Waterland RA, Dolinoy DC, Lin JR, Smith CA, Shi X, Tahiliani KG. Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at axin fused. *Genesis* 44: 401–406, 2006.
- Waterland RA and Jirtle RL. (agosto 2003) Transposable elements: Targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Molecular and Cellular Biology* 23 (15): 5293–5300. DOI 10.1128/MCB.23.15.5293-5300.2003. PMID 12861015.
- Waterland RA, Travisano M, Tahiliani KG, Rached MT, Mirza S. Methyl donor supplementation prevents transgenerational amplification of obesity. *Int J Obes (Lond)* 32: 1373–1379, 2008.
- Weaver IC, La Plante P, Weaver S, Parent A, Sharma S, Diorio J, et al. Early environmental regulation of hippocampal glucocorticoid receptor gene expression: characterization of intracellular mediators and potential genomic target sites. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;185:205-18 30.
- Weaver JR, Susiarjo M, Bartolomei MS. (2009) Imprinting and epigenetic changes in the early embryo. *Mamm. Genome.* Sep-Oct;20(9-10):532-43. DOI 10.1007/s00335-009-9225-2. Epub 2009 Sep 16.
- Widschwendter M, Fiegl H, Egle D, Mueller-Holzner E, Spizzo G, Marth C, Weisenberger DJ, Campan M, Young J, Jacobs I, Laird PW. (2007) Epigenetic stem cell signature in cancer. *Nat. Genet.*, 39(2):157–158.
- Wong CC, Mill J, Fernandes C (March 2011). “Drugs and addiction: an introduction to epigenetics”. *Addiction* 106 (3): 480–9. doi:10.1111/j.1360-0443.2010.03321.x. PMID 21205049.
- Xiang N, Zhao R, Song G, Zhong W. Selenite reactivates silenced genes by modifying DNA methylation and histones in prostate cancer cells. *Carcinogenesis* 29: 2175–2181, 2008.
- Yenbutr P, Hilakivi-Clarke L, Passaniti A. Hypomethylation of an exon I estrogen receptor CpG island in spontaneous and carcinogeninduced mammary tumorigenesis in the rat. *Mech Ageing Dev* 106: 93–102, 1998.
- Ying SY. (2005) Intronic microRNAs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 326: 515-520.

Il Progetto è stato realizzato grazie al contributo assicurato dal Ministero della Salute, Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione.

