

1°Congresso Regionale della Società Italiana di Biochimica Clinica
e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC) - Sezione Sicilia

Il Ruolo della Medicina di Laboratorio in Medicina Clinica

Palermo, 7-8 Ottobre 2004

Palazzo Chiaramonte Steri, Sede del Rettorato, Piazza Marina 61, Palermo

Presidenti Onorari

Prof. Salvatore Macaione

Prof. Antonino Bono

Presidenti

Prof. Marcello Ciaccio

Prof. Stefano Miccichè

Comitato Scientifico

Prof. Antonino Bono (Palermo)

Prof. Vittorio Calabrese (Catania)

Prof. Marcello Ciaccio (Palermo)

Prof. Giuseppe Falliti (Palermo)

Prof. Franco Ferrara (Agrigento)

Prof. Riccardo Ientile (Messina)

Prof. Salvatore Macaione (Messina)

Prof. Stefano Miccichè (Cefalù, Palermo)

Con il Patrocinio

Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca

Ministero della Salute

Università degli Studi di Palermo

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Presidenza della Regione Sicilia

Provincia Regionale di Palermo

Città di Palermo

LETTURE MAGISTRALI

Medicina Molecolare: stato dell'arte e prospettive

Francesco Salvatore

CEINGE-Biotecnologie Avanzate and Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II, Via Sergio Pansini 5, 80131 Napoli, Italy

I successi nel campo della Medicina sono stati negli ultimi anni del tutto rilevanti sia in conseguenza delle enormi conoscenze che si sono ottenute, sia nella ricerca sulle basi molecolari e cellulari dei fenomeni biologici e sulle loro alterazioni in caso di patologia, sia nel campo della ricerca traslazionale che direttamente dal banco di lavoro porta alla ricerca e ritrovamento di nuovi farmaci direttamente rivolti al bersaglio molecolare, sia, infine, a causa dell'enorme sviluppo della diagnostica strumentale, particolarmente quella per immagine. Su questa base, tuttavia, v'è da segnalare che la Medicina di Laboratorio riuscirà a dare il massimo contributo al processo clinico complessivo quando il mondo del laboratorio riuscirà ad integrarsi con maggiore efficacia e determinazione con i curanti, attraverso un "nuovo modo" di fornire gli elementi fisiopatologici che derivano dalle informazioni analitiche ottenute in laboratorio. Il "modo nuovo" va da una nuova modalità di refertazione fino all'inclusione di un commento fisiopatologico, ed all'ottenimento di un "nuovo modo" di ottenere la richiesta di indagini di laboratorio che siano indirizzate non come elenco banale di tests di laboratorio, ma piuttosto come valutazione di funzioni biochimico-fisiologiche normali o alterate, complessive di organi, tessuti e sistemi, lasciando così al laboratorio la possibilità di approfondire un percorso diagnostico da un quadro di prima istanza a quello più approfondito e di dettaglio, senza impedire -ovviamente- la libera scelta del curante di effettuare singole specifiche richieste che egli ritenesse comunque utili, e sempre formulando i percorsi diagnostici di cui sopra, d'intesa con gli stessi clinici: su questi aspetti v'è certamente difficoltà, ma le "colpe" del Laboratorio non sono poche. La Biologia Molecolare Clinica rivendica la cultura di indagini sempre più approfondite ed estese sugli elementi "genici" del nostro genoma per apprezzarne l'integrità o le alterazioni causa di malattia, e si prospetta come uno dei campi più affascinanti della moderna Medicina Molecolare, dovendo tuttavia salvaguardare, tra l'altro, sia le caratteristiche di affidabilità classiche del Laboratorio Clinico da un lato, sia prospettando il rischio di malattia in maniera quantitativamente valutata, e perciò fornendo elementi di grande valore per la "evidence based medicine".

L'iperomocisteinemia: plasticità neuronale e malattie neurodegenerative

Riccardo Ientile

Cattedra di Biochimica Clinica, Dipartimento di Scienze Biochimiche, Fisiologiche e della Nutrizione, Università degli Studi di Messina

L'omocisteina è un aminoacido solforato non coinvolto nella sintesi proteica, che viene generato durante il metabolismo della metionina. Esso viene metabolizzato in due vie metaboliche principali: la re-metilazione e la transulfurazione. Nella via della re-metilazione vengono impegnati due pathways metabolici: a) la via della betaina, che avviene nella cellule epatiche, catalizzata dalla betaina omocisteina metiltransferasi; b) la via dei folati regolata dalla metionina sintasi e dalla metilen-tetraidrofolato riduttasi (MTHFR). Questo enzima riduce il 5,10-metilen-tetraidrofolato a 5-metiltetraidrofolato, la forma di folato prevalentemente presente nel plasma. Questi, a sua volta, dona il metile tramite una metiltransferasi, cobalamina B₁₂-dipendente, che permette la metilazione di omocisteina a metionina. In condizioni nelle quali è presente un eccesso di metionina o è richiesta cisteina, l'omocisteina viene impegnata nella via della transulfurazione: l'omocisteina condensa con la serina per formare cistationina in una reazione catalizzata dalla cistationina beta-sintetasi, un enzima vitamina B₆ dipendente. Il principale meccanismo di regolazione è determinato dalla concentrazione intracellulare di SAM che funziona da attivatore allosterico della cistationina beta-sintetasi nella via di transulfurazione e da inibitore della (MTHFR). Questa regolazione favorisce la rimetilazione a metionina in condizioni di bassi livelli di metionina. Nonostante i precisi meccanismi molecolari siano ancora sconosciuti, l'omocisteina sembra influenzare le cellule endoteliali e il sistema vascolare, essa infatti: attiva la proliferazione delle cellule muscolari lisce, promuove l'aggregazione di piastrine e leucociti, aumenta l'attività del fattore XII e fattore V diminuendo l'attivazione della proteina C, inibisce l'azione della trombomodulina. In tal modo è possibile che alti livelli di omocisteina possano concorrere a creare un ambiente protrombotico. L'omocisteina, in condizioni normali e in presenza di O₂, reagisce con l'ossido nitrico (NO), formando S-nitroso-omocisteina che rappresenta la via chimica di trasformazione di omocisteina. La produzione di una tale molecola impedisce la formazione di H₂O₂, e inibisce l'aggregazione piastrinica, funzionando da vasodilatatore. Nell'iperomocisteinemia il danno continuamente provocato all'endotelio, riduce la produzione di NO, sia direttamente che indirettamente riducendo la espressione di NO-sintasi. L' omocisteina nel plasma è rapidamente autossidata formando omocistina, disolfuri misti e tiolattone, che può favorire la formazione di specie reattive dell'ossigeno. È stato inoltre dimostrato che l'omocisteina sopprime la espressione della glutatione perossidasi nelle cellule endoteliali e ciò promuove la perossidazione lipidica da parte dei ROS generati durante l'ossidazione di omocisteina. Per i meccanismi sopra esposti un ruolo importante per il mantenimento dei livelli normali di omocisteina viene svolto dall'alimentazione e da un sufficiente apporto vitaminico. Tuttavia una serie di mutazioni presenti sul gene della MTHFR può contribuire a determinare alti livelli di omocisteina. La mutazione in posizione 677 con sostituzione di citosina con timida (C677T), porta alla sostituzione dell'aminoacido alanina con una valina nella posizione 223 della catena proteica dell'enzima. Ne consegue la produzione di una forma dell'enzima MTHFR termolabile, con ridotta attività enzimatica ed alterazioni nel metabolismo della

omocisteina. La trasmissione di questa mutazione è autosomica recessiva, non legata al sesso e può determinare, in coloro che hanno la mutazione su un solo allele, la condizione del portatore sano. Poiché l'attività della MTHFR è legata sia alla concentrazione della vitamina B12 e folati che all'apporto di metionina con la dieta, l'aumento di omocisteina dipende, pertanto, non solo dal difetto genetico ma anche dall'apporto dietetico. La modificazione genetica proprio perché coinvolta nel metabolismo del folato può influenzare lo sviluppo neuronale e malformazioni nel tubo neurale sono state riscontrate in neonati con presenza della mutazione e carenza di folati. Il polimorfismo è comunque molto comune e in alcune popolazioni raggiunge il 40-45%. La forma di MTHFR termolabile (mutazione C677T) è stata riscontrata nel 10-12% della popolazione caucasica, nel 19% dei soggetti con patologie arteriose, nell'11% dei soggetti con trombosi venosa. Inoltre evidenze sulla incidenza della mutazione in soggetti eterozigoti, avvalorano la necessità del normale apporto di folati con l'alimentazione. Indubbiamente l'apporto di folati è anche necessario per lo sviluppo del sistema nervoso svolgendo un ruolo nella neurogenesi e nella morte cellulare programmata. La funzionalità delle sinapsi viene facilmente influenzata da fattori metabolici, e conseguentemente alterazioni sinaptiche e la conseguente degenerazione ricorrono precocemente nelle patologie neurologiche. Numerosi risultati dimostrano che alti livelli di omocisteina possono alterare la funzione delle terminazioni nervose. Nel contesto di osservazioni che evidenziano come la prolungata attivazione dei recettori del glutammato è coinvolta nella patogenesi di numerose patologie neurodegenerative e disordini psichiatrici, è significativo che l'omocisteina può attivare i recettori per il glutammato sia direttamente che indirettamente, dopo trasformazione ad acido omocisteico. Inoltre, l'omocisteina può rendere i neuroni più vulnerabili al fenomeno della eccitotossicità, inducendo danno del DNA. Tuttavia i possibili effetti della omocisteina sull'apprendimento, memoria, e plasticità della sinapsi devono essere determinati. È comunque noto che l'apporto di folati può influenzare i meccanismi coinvolti nella plasticità sinaptica ed è possibile ipotizzare un suo ruolo nella modulazione del danno ischemico. Numerose evidenze sperimentali recentemente hanno collegato alti livelli di omocisteina e malattie neurodegenerative, includendo lo stroke, l'Alzheimer e il Parkinson. Riassumendo, studi clinici e genetici suggeriscono un ruolo per folato ed omocisteina nelle patologie neurologiche e nei disordini psichiatrici. Una migliore comprensione del ruolo che può svolgere in questo contesto l'apporto vitaminico e lo studio delle mutazioni rappresenta un nuovo approccio per prevenire e trattare i disordini neurologici.

