

IV



CONGRESSO NAZIONALE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI PEDIATRIA OSPEDALIERA

Incontri Pediatrici Normanni: XV Congresso Nazionale

“La Pediatria Ospedaliera nel 150° Anno dell'Unità di Italia”

Congresso elettivo per il Nuovo Direttivo SIPO
per medici ed infermieri pediatrici, per il triennio 2011/2014

CAPRI 6-7-8 ottobre 2011
Hotel “La Residenza”

Volume Atti



NUOVE FRONTIERE NELLA DIAGNOSTICA E NELLA CLINICA: LA METABOLOMICA

G. Caramia * - L. Cerretani **

* Emerito di Pediatria e Neonatologia – Ospedale Materno Infantile “G. Salesi” – Ancona

** Dipartimento Scienze degli Alimenti – Università di Bologna – Campus Scienze Alimenti – Cesena

Non hai veramente capito qualcosa
fino a quando non sei in grado di spiegarla a tua nonna.

A. B. Einstein

Con la pubblicazione delle sequenze di DNA del genoma umano, si è aperta una nuova epoca nella storia della biologia molecolare. Questo è stato ottenuto nel 2003, con anticipo sul previsto, indipendentemente dall'impresa privata “Celera Genomics” diretta dall'americano Craig Venter e dal consorzio pubblico “Human Genome Project” diretto da Frank Collins. Il richiamo culturale ed economico del “Progetto Genoma Umano”, la maggiore capacità di dialogo e collaborazione fra ricercatori di discipline solo apparentemente distanti, quali biochimica, immunologia, embriologia, genetica, biologia molecolare e cellulare, alle quali si sono associate informatica, evolucionistica, nanotecnologie ecc., ha favorito il loro confluire in un unico conoscitivo coinvolgendo migliaia ricercatori con molteplici competenze. Questo, a sua volta, ha favorito lo sviluppo di tecnologie e tecniche automatizzate di sequenziamento e i analisi dell'attività genica di straordinaria efficienza. La ricerca ora corre veloce verso nuove frontiere accumulando tutte le informazioni di carattere molecolare del trascrittoma, cioè di tutti i trascritti (RNA messaggeri o mRNA) di un organismo o tipo cellulare, del proteoma, cioè della totalità delle proteine di cellule o di un organismo e del metaboloma, cioè tutti i metaboliti di processi metabolici di una cellula, apparato o di un essere vivente di un sistema biologico in un dato momento. In realtà la metabolomica, ovvero lo studio su larga scala dell'insieme dei metaboliti derivati dalla demolizione di altre molecole in una data specie biologica, presenti in cellule, tessuti, organi e fluidi biologici ed a vari stadi di sviluppo, è stata ideata nel 1970 da A. Robinson il quale, analizzando i modelli cromatografici di urina, aveva notato che centinaia o migliaia di costituenti chimici contenevano informazioni molto utili. Il primo elaborato su questo tema è comparso nel 1971 e successivamente ha pubblicato vari articoli sui metaboliti di liquidi corporei e, con i suoi collaboratori, ha identificato diverse malattie, condizioni estati fisiologici, basati su tali dati (*Pauling 1971*). Riteneva che l'analisi dei fluidi corporei potesse essere ottimizzata per farne uno strumento di misurazione a basso costo, importante dal punto di vista medico e ricco di informazioni, per misurare modifiche guidate dal metabolismo nello stato funzionale, anche quando i costituenti chimici sono tutti nell'intervallo normale. Secondo Robinson, l'importanza di dati, ricchi di informazioni che riflettono lo stato funzionale di un sistema biologico complesso, risiede nella quantità e qualità dei metaboliti. Solo negli anni '90, cioè venti anni dopo si è iniziato a capire il valore di questo approccio ed è stato coniato il termine metaboloma riportato per la prima volta nel 1998 (*Oliver 1998*). Molti dei metodi bioanalitici usati per la metabolomica sono quindi stati adattati, o in alcuni casi semplicemente adottati, dalle tecniche biochimiche attuali.

Così, dopo la scoperta delle sequenze di DNA del genoma umano, la metabolomica, grazie all'impiego combinato di varie tecnologie di analisi quali la spettroscopia a risonanza magnetica nucleare (NMR), la spettrometria di Massa (MS) e la spettroscopia a raggi infrarossi (IR), in quanto oggi non è possibile estrarre tutti i metaboliti in un unico momento e analizzarli con un unico strumento, si è rivelata, attraverso l'utilizzo di metodi di analisi matematiche multivariate, la più innovatrice tra le scienze chiamate “omiche”. Determina infatti, come su riportato, in maniera completa, simultanea e sistematica i metaboliti, prodotti da processi del metabolismo, presenti in biofluidi e tessuti di un organismo vivente. Tali metaboliti, determinati quantitativamente o qualitativamente in maniera non distruttiva, senza o con minimi pretrattamenti del campione stesso, rappresentano le impronte chimiche, una carta di identità lasciata da specifici processi cellulari, e sono la risultante delle interazioni tra: gene, condizioni dell'organismo, ambiente ed abitudini soggettive (*Wang 2010*). Infatti analizzando 40 campioni di urina del mattino, raccolti nell'arco di tre mesi da 22 soggetti sani (11 maschi e 11 femmine, di età compresa fra i 25 e 50 anni), è

stato possibile determinare l'impronta digitale metabolomica di ciascun individuo ed identificarlo rispetto agli altri donatori (*Assfalg 08*). Questo conferma che ogni individuo ha un suo fenotipo metabolico.

Come ora riportato, la metabolomica evidenziando le piccole molecole organiche, che derivano dai vari processi metabolici cellulari, e rivelando come sta funzionando il metabolismo delle cellule di un organo, o apparato o essere vivente con le interazioni tra gene, organismo, stato di salute, età, abitudini soggettive e ambiente permette non solo di distinguere un individuo dall'altro, ma anche di capire se la presenza o l'alterazione di uno o più metaboliti è collegata all'insorgenza di malattie (*Gu 2009; Kawashima 2006; Carraro 2007; Wikoff 2007*). Disporre con facilità dell'impronta metabolomica permette di procedere a screening di massa a basso costo o di identificare profili metabolici e specifici biomarkers, valorizzabili ai fini diagnostici, come nell'asma, di gravità come nella fibrosi cistica e per la certificazione chimica di sistemi biologici (*D'Adamo 2010; Robroeks 2010*). Questo approccio è certamente fondamentale anche per generare nuova informazione sul ruolo dell'eredità nella risposta ai farmaci (farmaco genomica) e per favorire lo sviluppo di farmaci "intelligenti" calibrati sul metabolismo individuale, così da aumentarne l'efficacia minimizzando numero ed entità degli effetti collaterali (*Manolopoulos 2011*).

In ambito pediatrico ulteriori studi hanno confermato l'utilità dell'indagine molecolare nelle urine per una corretta diagnosi dello stato infiammatorio e di alcune caratteristiche dell'asma in base alla presenza di alcuni metaboliti (es. acido urocanico ed acido metil-imidazoleacetico) con possibili conseguenze terapeutiche (*Saude 2011; Mattarucchi 2011*). Anche per la funzionalità renale, la metabolomica si sta rivelando molto interessante in quanto è noto che i tradizionali markers di funzionalità renale, azotemia e creatinemia, risultano alterati quando il danno è conclamato. Il riscontro di alcuni metaboliti, espressione del danno tubulare renale sembra rilevarsi di estremo interesse per una precoce diagnosi di danno acuto più o meno grave che precede le alterazioni ematochimiche ed istologiche (*Al-Ismaili 2011*). Tali reperti sono importanti anche per lo studio di nuovi farmaci per evidenziare imprevisti effetti avversi renali (*Boudonck KJ 2009*). In ambito neonatale i primi studi di metabolomica sono stati condotti sulle urine, per valutare, le differenze metaboliche fra i neonati a termine e pretermine ed identificare i metaboliti discriminanti (*Antonucci 2010; Atzori 2011*); per identificare le differenze metaboliche fra neonati normali per l'età gestazionale e con ritardo di crescita intra uterina (*Dessi 2011*); per valutare, in neonati pretermine con distress respiratorio, il profilo metabolico del lavaggio bronco alveolare prima e dopo la somministrazione di surfattante, durante la ventilazione meccanica e dopo l'estubazione, profilo che sembra aprire nuove possibilità nell'assistenza e prognosi di tali piccoli pazienti (*Fabiano 2011*).

Prospettive inedite si aprono anche nella risposta ai vari nutrienti (nutrigenomica), ed in particolare ai lipidi (lipidomica), coinvolti nell'emostasi e attivazione-risoluzione dell'infiammazione, e sulla interazione tra fattori genetici, nutrienti, stili di vita ecc in malattie quali obesità, diabete, patologie cardiovascolari e neuropsichiche e cancro (*Griffiths 2011*). Ne deriveranno consigli mirati non solo sui nutrienti da assumere e/o eliminare ma anche sui farmaci: quindi diete e terapie personalizzate.

L'avvento delle scienze "omiche" e la disponibilità di nuovi strumenti e tecnologie sta quindi modificando l'approccio alla biologia ed allo studio dello stato di salute e delle varie patologie in quanto permette di collezionare numerosi dati e capire se da questi i processi e le interazioni che determinano i comportamenti biologici, fisiologici o patologici, in vari stadi di sviluppo.

La medicina assume così un'evoluzione circolare o a ritroso in quanto inizialmente, e per molti secoli, è stata una medicina curativa poi, alquanto recentemente, è evoluta verso una medicina preventiva e, con le più recenti tecnologie, verso una medicina predittiva. Ora con la genomica, le scienze "omiche" e le sofisticate tecnologie diventerà sempre più predittiva cioè una medicina che, basandosi sulle informazioni ricavabili da costituzione genetica, alimentazione, stile di vita, ambiente, è in grado di predire in maniera attendibile il rischio di sviluppare specifiche patologie. Questo permetterà di metter in atto tutti i presidi preventivi per quanto riguarda nutrizione, ambiente, attività fisica ecc. per prevenire la loro insorgenza e, se e quando queste saranno comparse, si tornerà alla medicina preventiva-curativa ma con presidi terapeutici personalizzati.