

9. settembre

## Il genotipo influenza le vie dell'insufficienza cardiaca?

*A volte sottovalutiamo l'influenza delle piccole cose*  
Charles W. Chesnutt

L'insufficienza cardiaca umana è una condizione altamente morbosa che colpisce 23 milioni di persone in tutto il mondo.

Emerge nel contesto di una serie di diversi disturbi cardiovascolari, il che ha confermato l'idea che diversi stimoli convergono su un percorso finale comune.

Coerentemente con ciò, le eziologie iniziali non indirizzano i trattamenti per l'insufficienza cardiaca, che sono spesso inadeguati e richiedono interventi meccanici e trapianto cardiaco.

La recente applicazione delle **analisi trascrizionali di sequenziamento dell'RNA a nucleo singolo (snRNAseq)** per caratterizzare la composizione cellulare e gli stati molecolari nel cuore umano adulto sano fornisce un punto di riferimento emergente in base al quale è possibile valutare i cambiamenti correlati alla malattia.

**snRNA-seq** , noto anche come sequenziamento dell'RNA a nucleo singolo , sequenziamento dell'RNA a **nucleo singolo o sNuc-seq** , è un metodo di sequenziamento dell'RNA per profilare l'espressione genica in cellule difficili da isolare, come quelle provenienti da tessuti archiviati o duri essere dissociato.

È un'alternativa all'RNA seq a **singola cellula (scRNA-seq)** , poiché analizza i nuclei invece delle cellule intatte. Inoltre, i nuclei richiesti per **snRNA-seq** possono essere ottenuti rapidamente e facilmente da tessuti freschi, leggermente fissati o congelati, mentre l'isolamento di singole cellule per RNA-seq a singola cellula (**scRNA-seq**) comporta incubazioni ed elaborazioni estese.

Ciò offre ai ricercatori la possibilità di ottenere trascrittomi che non sono così disturbati durante l'isolamento. Il **metodo snRNA-seq** di base richiede 4 passaggi principali: elaborazione dei tessuti, isolamento dei nuclei, smistamento delle cellule e sequenziamento. Per isolare e sequenziare l'RNA all'interno del nucleo, **snRNA-seq** prevede l'utilizzo di un protocollo di dissociazione nucleare rapido e delicato.

Questo protocollo consente di ridurre al minimo i problemi tecnici che possono influenzare gli studi, in particolare quelli riguardanti il comportamento immediato dei geni precoci (IEG) .

Inoltre, la scoperta di **varianti patogene umane** che causano **cardiomiopatia dilatativa (DCM)** e **cardiomiopatia aritmogena (ACM)**, disturbi associati ad alti tassi di insufficienza cardiaca, offre opportunità dirette per valutare **se il genotipo influenza le vie dell'insufficienza cardiaca.**



Tuttavia manca un'identificazione sistematica di molecole e percorsi condivisi e distinti coinvolti nell'insufficienza cardiaca e la conoscenza di questi dati fondamentali potrebbe promuovere lo sviluppo di trattamenti più efficaci.

Un trail che ha coinvolto vari centri di ricerca mondiali coordinati da **Daniel Reichart** del Department of Genetics, Harvard Medical School ha pubblicato lo scorso mese il report



*Reichart D et al*  
**Pathogenic variants damage cell composition  
and single cell transcription in cardiomyopathies.**  
*Science. 2022 Aug 5;377(6606):eabo1984.*

Che ha eseguito **snRNAseq** di tessuti ventricolari espianati da **18 donatori sani** e **61 pazienti con insufficienza cardiaca**.  
Concentrando le analisi su più campioni con varianti patogene nei geni

**DCM ( LMNA , RBM20 e TTN )**  
**nei geni ACM ( PKP2 )**  
**nei campioni negativi per varianti patogene**  
**(PV negativi)**

sono state caratterizzate le **risposte genotipiche stratificate e comuni** di insufficienza cardiaca.

Da **881.081** nuclei isolati dai ventricoli malati e sani sinistro e destro, sono stati identificati:

**10** tipi cellulari principali  
**71** stati trascrizionali distinti

**Risultati:**

I tessuti **DCM** e **ACM** hanno mostrato:

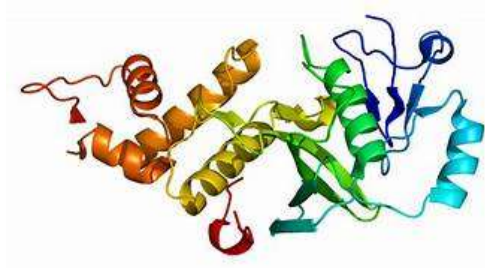
Una significativa deplezione di **cardiomiociti**

Un aumento delle **cellule endoteliali** e **immunitarie**.

Una **fibrosi** espansa nei cuori malati, ma, inaspettatamente, *i fibroblasti* non erano aumentati e mostravano invece *stati trascrizionali alterati* che indicavano un *rimodellamento attivato della matrice extracellulare*.

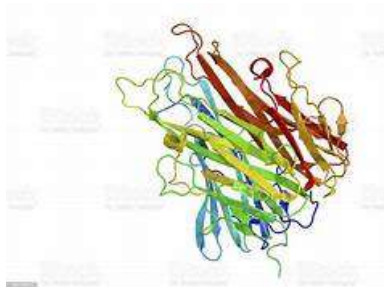
Le analisi stratificate sul genotipo hanno identificato *molteplici cambiamenti trascrizionali* condivisi solo tra i cuori che ospitano varianti patogene o distintivi per individui e sottoinsiemi di genotipi **DCM** e **ACM** che sono stati convalidati mediante *ibridazione in situ fluorescente* a singola molecola.

Attraverso l'analisi dell'espressione dei recettori e dei ligandi in tutte le cellule, sono stati osservati e descritti cambiamenti nella segnalazione e nelle comunicazioni intercellulari, come l'aumento della segnalazione **dell'endotelina** nei cuori *LMNA*



**Endotelina**

**Fattore di necrosi tumorale** nei cuori PKP2



**Fattore di necrosi tumorale**

Sono stati anche identificati specifici *lignaggi cellulari cardiaci* che esprimono geni con polimorfismi comuni identificati in studi di associazione validati *sulla DCM*.

Poiché i risultati indicavano trascrizioni e stati cellulari arricchiti di genotipi, è stato impiegato

l'apprendimento automatico per sviluppare una rete di attenzione grafica per la classificazione multinomiale dei genotipi.

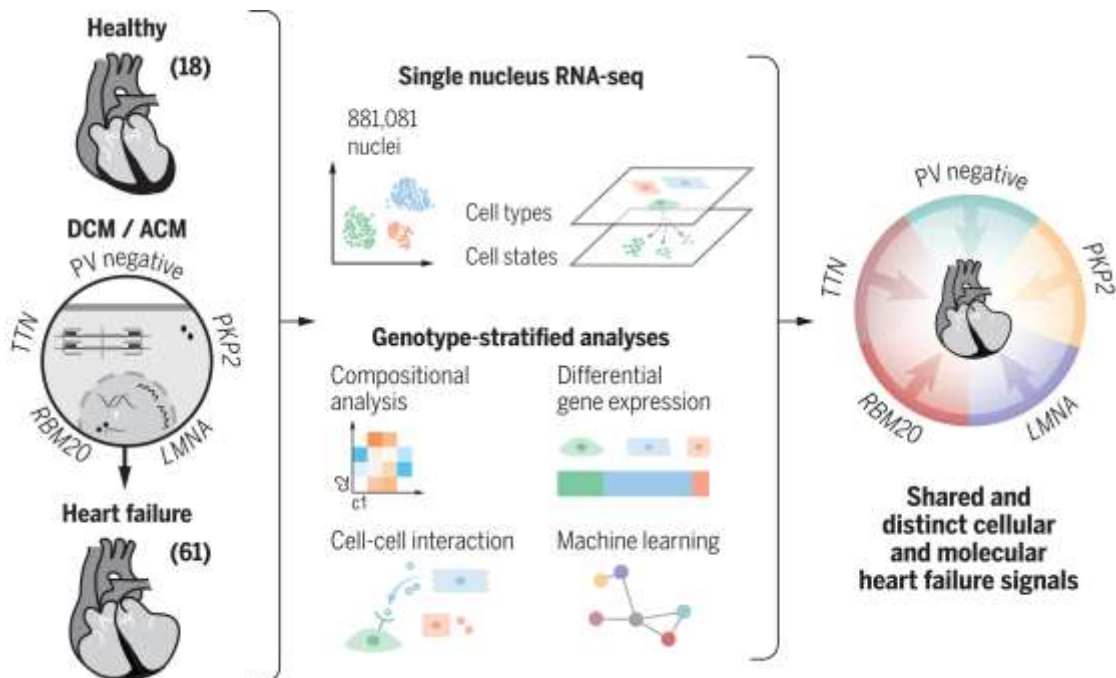
Questa rete ha mostrato una previsione notevolmente elevata dei genotipi per ciascun campione cardiaco, rafforzando così la conclusione **che i genotipi attivano percorsi di insufficienza cardiaca molto specifici.**

## CONCLUSIONE:

La *snRNAseq* di campioni ventricolari umani ha identificato tipi e stati cellulari, segnali molecolari e comunicazioni intercellulari che caratterizzano **DCM e ACM.**

Le architetture cellulari e molecolari che inducono l'insufficienza cardiaca sono condivise e distinte tra i genotipi.

### Analisi stratificate del genotipo dell'insufficienza cardiaca a livello di singolo nucleo.



I trascrittomi di 881.081 nuclei di 61 pazienti con insufficienza cardiaca sono stati profilati e confrontati con le firme trascrizionali di 18 controlli sani. Le analisi stratificate sul genotipo dei tipi cellulari e delle composizioni dello stato cellulare, dell'espressione genica differenziale, delle interazioni cellula-cellula e dell'apprendimento automatico hanno illuminato le firme trascrizionali condivise e distinte risultanti dalle varianti patogene in DCM e ACM.

Questi dati forniscono **obiettivi terapeutici candidati** per la ricerca futura e **opportunità di intervento** per migliorare e personalizzare i trattamenti per le cardiomiopatie e l'insufficienza cardiaca.

## A forty-year-old mariner's warning of our,restless, fast-changing times

*Quaranta anni non vuol dire vecchio.  
Se sei un albero.  
Anonimo*

**Charles Péguy** il discusso scrittore francese nel 1910 nel suo pamphlet *Notre Jeunesse* scriveva che *Quarant'anni è un'età terribile. Perché è l'età in cui diventiamo quello che siamo.* Dopo cento anni il vignettista **Jules Feiffer** si interroga : *a sedici anni ero stupido, confuso e indeciso. A venticinque anni ero saggio, sicuro di sé, propositivo e assertivo. A quarantacinque anni sono stupido, confuso, insicuro e indeciso. Chi avrebbe mai supposto che la maturità è solo una breve pausa durante l'adolescenza?*

Stamattina mentre leggevo una recensione di una equipe di psicologi che raccontava come **la felicità** nel corso della vita segue un percorso a **U**, scende dopo i 20, arriva al punto minimo ai 40, per poi risalire nei decenni seguenti, per riassetarsi su toni positivi , mi sono imbattuto in uno studio pubblicato questa settimana su **BMJ Oncology** che riportava come i casi di cancro negli **adulti sotto i 50 anni in tutto il mondo** sono aumentati di quasi **l'80%** negli ultimi 30 anni, mentre i decessi sono cresciuti di oltre il **25%**.

Lo studio

*Pan H et al*  
**The global, regional, and national early-onset colorectal cancer burden and trends from 1990 to 2019: results from the Global Burden of Disease Study 2019.**  
*BMC Public Health. 2022 Oct 12;22(1):1896.*

è finalizzato a esplorare l'onere globale del cancro a esordio precoce sulla base dello studio **Global Burden of Disease (GBD)**



del 2019 per 29 tumori in tutto il mondo ed ha valutato L'incidenza, i decessi, gli anni di vita corretti per **la disabilità (DALY)** e i fattori di rischio per 29 gruppi di tumori a esordio precoce sono stati ottenuti dal GBD.

L'incidenza globale del cancro a esordio precoce è aumentata del **79,1%** e il numero di decessi per cancro a esordio precoce è aumentato del **27,7%** tra il 1990 e il 2019.

I tumori al seno, alla trachea, ai bronchi, ai polmoni, allo stomaco e al colon-retto a esordio precoce hanno mostrato la mortalità e i **DALY** più elevati nel 2019.

A livello globale, i tassi di incidenza del cancro nasofaringeo e della prostata a esordio precoce hanno mostrato la tendenza all'aumento più rapida, mentre il cancro al fegato a esordio precoce ha mostrato la diminuzione più marcata.

I tumori del colon-retto a esordio precoce avevano **DALY elevati** tra i primi cinque classificati sia per gli uomini che per le donne.

Le regioni con indice sociodemografico (SDI) medio-alto e medio presentavano il tasso più elevato di tumori a esordio precoce.

La morbilità del cancro a esordio precoce aumentava con l'SDI e il tasso di mortalità diminuiva considerevolmente quando l'SDI aumentava da 0,7 a 1.

Le proiezioni indicavano che il numero globale di incidenza e di decessi **per cancro a esordio precoce** aumenterebbero rispettivamente del 31% e del 21% nel 2030.

## Conclusioni

Lo studio è uno dei più grandi nel suo genere e si basa sui dati raccolti dal Global Burden of Disease 2019 ha dimostrato che la morbilità globale del cancro a esordio precoce è aumentata dal 1990 al 2019, mentre la mortalità e i DALY sono leggermente diminuiti. Il tasso di incidenza, mortalità e DALY variava ampiamente tra regioni, paesi e tipi di cancro. Le regioni e i tipi di cancro con il carico più elevato erano rispettivamente le regioni con SDI medio-alto e medio e il cancro al seno a esordio precoce, il cancro TBL, il CRC e il cancro allo stomaco. I fattori di rischio dietetici, l'uso di alcol e il consumo di tabacco sono stati i principali fattori di rischio per i principali tumori a esordio precoce nel 2019. Inoltre, è necessario condurre studi prospettici di coorte sull'intero arco della vita per esplorare l'eziologia dei tumori a esordio precoce. Incoraggiare uno stile di vita sano, compresa una dieta sana, la restrizione del consumo di tabacco e alcol e un'adeguata attività all'aria aperta, potrebbe ridurre il peso del cancro a esordio precoce.

In particolare programmi di screening precoce e prevenzione per migliorare lo stile di vita e la dieta potrebbero aiutare, in particolare tra il gruppo più colpito, le persone di età compresa tra 40 e 49 anni.

Il carico di disabilità e morte tra le persone **di età compresa tra 14 e 49 anni** è stato maggiore per il cancro del colon-retto seguito da altri tipi: seno, polmone e stomaco tumori, meno comunemente associati ai giovani adulti. I ricercatori citano fattori di rischio come il consumo di alcol e tabacco, l'inattività fisica e l'eccesso di peso, fattori associati anche al cancro tra gli anziani.

## Viatico

*Uno degli errori imperdonabili che un uomo possa compiere è trascorrere i suoi primi 40 anni facendo di tutto per rovinarsi i prossimi 40.*

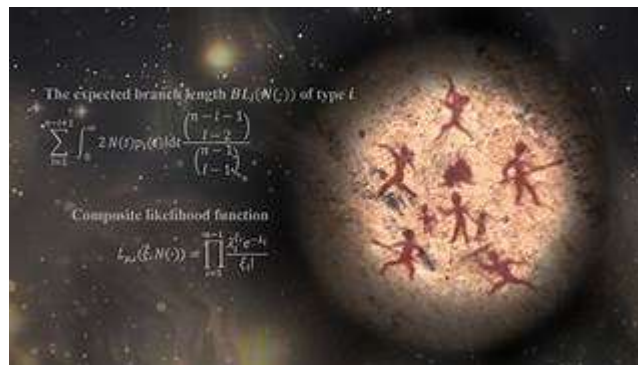


## Noi discendenti dai sopravvissuti al Pleistocene



Per 75 anni **l'orologio dell' Apocalisse** è stato una potente metafora, che rappresenta quanto l'umanità sia vicina all'estinzione a causa di minacce come le armi nucleari. Attualmente impostato su 90 secondi a mezzanotte, l'orologio suggerisce che oggi siamo più vicini alla catastrofe che in qualsiasi momento dal suo debutto nel 1947.

Ma se il meccanismo di allarme del giorno del giudizio fosse esistito circa 900.000 anni fa, si sarebbe potuto stimare che mancasse solo un secondo prima che la mezzanotte segnasse la fine dell'umanità. Un nuovo e interessante studio genetico suggerisce che i nostri antenati si ridussero a soli 1.280 individui riproduttori durante quell'epoca, e che quasi scomparvero dalla terra molto prima che gli esseri umani moderni apparissero sulla scena.



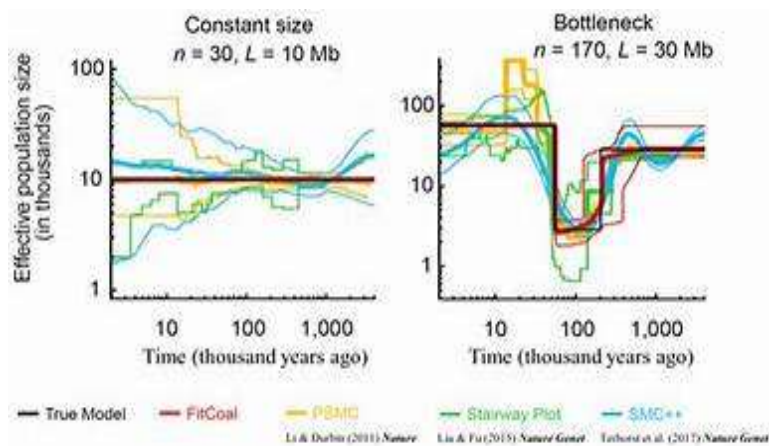
Lo studio, pubblicato giovedì 7 settembre su *Science* dal *AS Key Laboratory of Computational Biology, Shanghai Institute of Nutrition and Health, University of Chinese Academy of Sciences, Chinese*

Hu W et al

### **Genomic inference of a severe human bottleneck during the Early to Middle Pleistocene transition.**

*Science. 2023 Sep;381(6661):979-984.*

ha analizzato i lignaggi genetici di **3.154 esseri umani moderni** per tracciare le loro caratteristiche indietro nel tempo e modellare i modelli di popolazione che con maggiore probabilità hanno prodotto i genomi esistenti. Wangjie Hu, dell'Accademia cinese delle scienze, e colleghi suggeriscono che tra **813.000 e 930.000 anni** fa la popolazione di antichi esseri umani che alla fine avrebbe dato origine alla nostra stessa specie, *l' Homo sapiens* sperimentò quello che i genetisti chiamano un "collo di bottiglia".



Per ragioni sconosciute, forse condizioni ambientali difficili, il loro numero precipitò drasticamente al punto che la nostra stirpe era a un passo dall'estinzione totale. Secondo le stime dello studio, circa il 98,7% dei nostri antenati umani sono stati spazzati via.

"La dimensione stimata della popolazione per il nostro lignaggio ancestrale è minuscola e il collo di bottiglia è durato per un tempo notevolmente lungo, se modellato accuratamente", afferma il paleoantropologo **Chris Stringer**, del Museo di storia naturale di Londra,



"Se questo collo di bottiglia si fosse verificato, avrebbe sicuramente portato i nostri antenati molto vicini all'estinzione".



I genetisti suggeriscono che il collo di bottiglia potrebbe aver portato ad un aumento della consanguineità e ad una conseguente perdita della diversità genetica umana che persiste fino ad oggi. Teorizzano anche che il collo di bottiglia potrebbe aver dato origine a una nuova notevole specie di ominidi. La cronologia del collo di bottiglia corrisponde ad alcune stime genetiche esistenti che fissano lo stesso periodo di tempo in cui apparve un nuovo ominide che potrebbe essere l'ultimo antenato comune delle tre specie dal cervello grande del tardo Pleistocene: Neanderthal, Denisoviani e noi stessi.



**Aaron Ragsdale**, genetista della popolazione *dell'Università del Wisconsin-Madison*, che non è stato coinvolto nella ricerca, afferma che lo studio solleva alcune domande molto intriganti sull'evoluzione umana durante un periodo di tempo in cui sia i dati genetici che quelli fossili sono relativamente scarsi. *"Sono ansioso di vedere se i loro risultati verranno replicati utilizzando altri metodi"*, afferma Ragsdale.

Le fluttuazioni della popolazione, anche quelle di centinaia di migliaia di anni fa, lasciano tracce che possono essere identificate nelle sequenze genomiche degli esseri umani moderni. Per analizzarli, un team di ricercatori guidati da genetisti cinesi ha sviluppato un nuovo strumento chiamato **FitCoal**. I ricercatori hanno utilizzato lo strumento su più di 3.000 individui viventi provenienti da 10 popolazioni africane e 40 popolazioni non africane.

I calcoli di **FitCoal** hanno tracciato le numerose mutazioni genetiche delle popolazioni e la loro probabilità che si verificassero a ritroso nel tempo per arrivare a stime delle dimensioni delle popolazioni esistite in vari momenti della storia evolutiva.

*"I nostri risultati indicano che il grave collo di bottiglia ha portato la popolazione umana ancestrale sull'orlo dell'estinzione e ha completamente rimodellato l'attuale diversità genetica umana"*, scrivono gli autori nello studio.

**Ragsdale** non è convinto che la situazione fosse così terribile. *"Penso che sia un po' esagerato concludere da questi risultati che le popolazioni ancestrali umane fossero sull'orlo dell'estinzione"*, dice. Le dimensioni effettive della popolazione sono spesso molto più grandi di quelle fornite dai metodi di "riproduzione" come **FitCoal**, osserva. L'ipotesi di una piccola popolazione per così tante generazioni potrebbe essere distorta da periodi molto più brevi di riduzione numerica, aggiunge.

### **Cosa potrebbe aver causato il crollo della popolazione?**

Le risposte non si trovano nei dati genetici, ma gli scienziati sanno che quell'epoca vide un cambiamento drammatico negli ambienti terrestri. La **transizione del Pleistocene medio** fu un periodo di significativi cambiamenti climatici compreso un forte raffreddamento in tutto il mondo circa 900.000 anni fa che vide la crescita dei ghiacciai, i mari più freddi, le siccità estese e i monsoni più forti. Le specie selvatiche dell'Africa e dell'Eurasia subirono cambiamenti significativi durante questo periodo.

Molte ricerche hanno dimostrato come i cambiamenti climatici e ambientali abbiano anche contribuito a determinare importanti cambiamenti nell'evoluzione umana.

Ma non sembra che quell'era abbia prodotto un calo della popolazione globale tra le varie specie di ominidi del pianeta che non erano i nostri diretti antenati.



**Nick Ashton**, un archeologo paleolitico del British Museum non coinvolto nello studio, osserva che numerosi siti archeologici in Africa ed Eurasia risalgono al periodo del collo di bottiglia proposto. Ciò suggerisce che qualsiasi crollo demografico ha avuto un impatto solo su un gruppo limitato, forse in Africa, che potrebbe essere stato gli antenati degli esseri umani moderni. *“Cercare le possibili cause del collo di bottiglia proposto sarebbe fruttuoso, che si tratti di siccità regionale, attività vulcanica o altri fattori ambientali”*, afferma.

Sorprendentemente, lo studio suggerisce che i nostri antenati riuscirono a sopravvivere in numeri precariamente piccoli per un tempo estremamente lungo, circa 120.000 anni. Ma quando le condizioni tornarono ad essere favorevoli all'insediamento umano, sia attraverso cambiamenti climatici benefici sia, come teorizzano gli autori, progressi tecnologici come il controllo umano del fuoco, i nostri antenati si ripresero rapidamente. Sembra che intorno a 813.000 anni fa tutte e dieci le popolazioni africane oggetto dello studio fossero aumentate di un fattore 20.

Stringer del Museo di storia naturale osserva che, come altri metodi di ricostruzione delle popolazioni del passato, **FitCoal** si basa su alcune ipotesi e semplificazioni di fattori come i tassi di mutazione. Da quando gli autori hanno messo **FitCoal** a disposizione degli studiosi, aggiunge, la sua accuratezza sarà ulteriormente testata e i ricercatori potrebbero usarlo per indagare sulle popolazioni attraverso altri genomi come quelli di Neanderthal e Denisoviani.

Gli autori dello studio suggeriscono che questo lungo periodo durante il quale i nostri antenati sono sopravvissuti in numero così piccolo potrebbe aver portato all'evoluzione di una specie completamente nuova che potrebbe essere l'ultimo antenato comune degli esseri umani moderni e dei nostri parenti stretti, i Neanderthal e i Denisoviani. **Ashton** sostiene che questa idea si adatta bene ad alcune prove genetiche che suggeriscono che l'antenato comune di queste specie visse tra 500.000 e 700.000 anni fa .

"Ma ci sono altre possibili interpretazioni", osserva. d esempio, gli studi sui fossili, che monitorano i cambiamenti morfologici come la forma del cranio e dei denti, hanno suggerito che i lignaggi si erano già divergenti prima di qualsiasi collo di bottiglia, il che significa che i Neanderthal e i Denisoviani avrebbero evitato il suo impatto.

Il periodo stimato del collo di bottiglia è troppo antico per ricavare un DNA antico, almeno con i metodi attuali. Il DNA di ominide più antico finora recuperato ha solo 400.000 anni. In Africa, culla dell'umanità, il clima rende particolarmente scarsa la conservazione del DNA antico.

Anche i fatti sul terreno, come strumenti di pietra e ossa, sono difficili da trovare, ma esistono numerosi siti di questo periodo chiave. Ulteriori esami di teschi e ossa trovati in vari siti nell'Africa orientale e meridionale, Cina, Indonesia e Spagna potrebbero aiutare gli scienziati a capire se i cambiamenti evolutivi osservati nelle nostre ossa corrispondono a quelli suggeriti dai modelli genetici.

**La teoria genetica** deve essere accuratamente testata rispetto alle prove archeologiche e fossili umane", Ciò si ottiene meglio attraverso una datazione più precisa dei siti attuali e di quelli nuovi che potenzialmente risalgono al collo di bottiglia proposto".