



DIPARTIMENTO  
DI SCIENZE CLINICHE INTERNISTICHE  
ANESTESIOLOGICHE E CARDIOVASCOLARI

SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

## POR FESR 2014-2020

### Avviso Pubblico “Progetti di Gruppi di Ricerca 2020”

“Sviluppo di un kit per la prevenzione dell'osteoporosi basato su rischio genetico e stile di vita”

A0375-2020-36631, CUP: E85F21002350002

# PROGEN

Obiettivo generale del progetto è lo studio e la realizzazione di un modello di predizione della comparsa dei sintomi dell'osteoporosi basati sia sulla definizione del profilo genetico che sulle variabili cliniche quantitative che possono determinarne insorgenza e progressione.

Il progetto ha anche lo scopo di istituire una banca dati che tenga conto sia delle variabili cliniche che genetiche ancora mai realizzato per i pazienti italiani con osteoporosi. La realizzazione e il successo di questo progetto sono possibili solo grazie alla stretta collaborazione tra gruppi di ricerca universitari specializzati, rispettivamente, nella diagnosi e cura dell'osteoporosi e nelle analisi genetiche nell'uomo. Le informazioni ed i risultati ottenuti permetteranno a medici specialisti del settore e nutrizionisti di basarsi su quelle caratteristiche cliniche e genetiche che si dimostreranno più significative per un migliore trattamento o, meglio, per una più efficace prevenzione dei sintomi dell'osteoporosi.

L'utilizzo di metodi non invasivi per ottenere il materiale genetico, quali i prelievi di mucosa buccale, l'applicazione di metodi veloci di estrazione del DNA e la standardizzazione di saggi di laboratorio per la genotipizzazione, rendono rapida ed economica l'analisi di ogni soggetto. Questa procedura tecnologica è infatti realizzabile in laboratori di analisi di livello medio, in quanto la macchina per la RealTime PCR, necessaria alla caratterizzazione genetica dei campioni, è ormai normalmente utilizzata per molte analisi. Il lavoro svolto in questo periodo ha permesso di ottenere un primo campione di pazienti ben caratterizzati sotto il profilo clinico e per il quale è stato ottenuto anche il profilo genetico per specifiche varianti molecolari. Il calcolo delle frequenze alleliche di tali varianti ha innanzitutto permesso di riscontrare livelli di variabilità in accordo con quelli ottenuti in altre popolazioni europee (confronto con la banca dati del Progetto 1000 Genomi). E' stato quindi istituito un registro specifico per ogni individuo che comprendesse sia le informazioni genetiche che cliniche. Le analisi statistiche hanno rilevato interessanti risultati (vedi oltre) che dovranno essere confermati nel proseguo del progetto.

## 1. ATTUAZIONE DEL PROGETTO

### *Fasi e Attività Realizzate*

Per la realizzazione del progetto è stato fondamentale partire dalle già note conoscenze scientifiche sulle varianti genetiche coinvolte nell'osteoporosi ed estendere l'analisi ad altre, di cui esistono pochi dati di letteratura, che potrebbero potenzialmente contribuire alla patologia. Inoltre, per poter effettuare una analisi statistica completa ed applicare successivamente dei modelli predittivi, è di sostanziale importanza istituire per ogni paziente un registro che includa dati genetici e clinici.

WP 1. (da 1.1 a 1.5). Nel primo periodo di attività si è proceduto ad un aggiornamento della letteratura scientifica per individuare i marcatori genetici più predittivi dell'osteoporosi. Sono stati così selezionati alcuni marcatori per i quali ci sono evidenze significative di associazione sia all'osteoporosi in generale che ad alcune specifiche caratteristiche cliniche che possono manifestarsi in modo diversificato nei pazienti. La scelta dei marcatori più idonei è ricaduta sui polimorfismi a singola sostituzione nucleotidica (SNP) per i quali si possono utilizzare rapide tecniche di tipizzazione molecolare.

Sono stati individuati 10 SNP che sono localizzati in geni coinvolti nel metabolismo dell'osso, quali ESR1 (recettore per gli estrogeni), VDR (recettore per la vitamina D), PTH (paratormone, implicato nel modellamento dell'osso), OPG e RANK-L (responsabili del riassorbimento dell'osso).

Per ogni SNP selezionato è stata messa a punto la tecnica molecolare specifica (TaqMan assay) per analizzare il campione dei pazienti. Questa attività è stata svolta dalla assegnista di ricerca Dott.ssa Arianna Viviani.

WP 2. In corso di svolgimento del progetto abbiamo ritenuto più ragionevole posporre questo WP alla seconda fase del progetto.

WP 3. (da 3.1 a 3.6). Riunioni congiunte con i collaboratori del gruppo del Prof. Minisola (Università "La Sapienza", Roma) hanno permesso di definire i criteri di scelta dei pazienti e il protocollo delle valutazioni cliniche necessarie. È stata quindi ottenuta l'autorizzazione per lo svolgimento della ricerca dal comitato etico dell'Università La Sapienza.

È stato selezionato un primo gruppo di 50 pazienti ed è stato istituito un registro con i seguenti dati clinici: sesso, età, età alla menopausa (nelle donne), densità minerale ossea (BMD), indice di massa corporea (BMI), litiasi, presenza di fratture, livello di escrezione urinaria di calcio, livelli sierici di calcio, fosforo, vitamina D e paratormone.

Per ogni paziente è stato ottenuto un campione biologico (tampone buccale o prelievo sanguigno) per la successiva analisi genetica. La Dott.ssa Viviani ha estratto il DNA dai 50 pazienti ed ha preceduto alla loro caratterizzazione genetica per i 10 SNP selezionati. Sono stati inoltre genotipizzati anche 50 individui sani che rappresentano il campione di controllo da utilizzare per il confronto con il campione dei pazienti.

Una prima analisi dei dati genetici ottenuta nei pazienti e nei controlli ha permesso il calcolo delle frequenze alleliche delle varianti e il confronto con quelle presenti nelle banche dati del Progetto 1000 Genomi. Non sono state evidenziate differenze significative nelle frequenze dei 10 SNP rispetto ad altre popolazioni europee. Per le correlazioni tra tutte le variabili cliniche e tra variabili cliniche e genetiche è stata utilizzata una analisi multidimensionale utilizzando il programma "Sparse Principal Components" (sparsepc). L'analisi tra le variabili cliniche ha mostrato delle correlazioni già note in letteratura, confermando la corretta diagnosi di osteoporosi nel nostro campione, ed altre nuove, che devono essere confermate con l'aumento del campione nella seconda fase del progetto.

Per quanto riguarda l'analisi di correlazione tra i dati l'associazione tra variabili cliniche e varianti genetiche, risultati molto preliminari confermerebbero anche nel nostro campione italiano la presenza di associazione tra varianti nel gene ESR1 e l'osteoporosi.

## **2. VARIAZIONI**

Rispetto al progetto approvato sono intervenute le seguenti variazioni:

1 – Per quanto riguarda il reclutamento del personale assegnista da dedicare interamente a questo progetto (OdR dell'università di Tor Vergata) è stato necessario allargare la platea dei partecipanti al bando di concorso anche a laureati senza un titolo di studio post-laurea.

2 - Il Prof. Minisola, responsabile dell'OdR dell'Università La Sapienza, si è ritirato per pensionamento il 31/10/2022 ed il suo posto è stato preso dalla Dott.ssa Jessica Pepe, che comunicherà ufficialmente a breve la sua partecipazione al progetto.

3 - A causa del protrarsi delle problematiche relative all'epidemia Covid, il processo amministrativo di richiesta di bando di concorso per un assegno dell'OdR della Sapienza ha subito un forte rallentamento. Questo ha determinato l'espletamento del concorso nel mese di dicembre 2022 con presa di servizio dell'assegnista a gennaio 2023. L'importo per il primo anno dell'assegno previsto per La Sapienza non è stato quindi rendicontato. Anche in questo caso, per ampliare la platea dei partecipanti, si è preferito bandire un posto per semplici laureati magistrali.

Purtroppo, lo svolgimento del progetto ha subito per i primi 6 mesi un rallentamento dovuto alla persistenza dell'emergenza Covid. In particolare, l'arruolamento di pazienti da parte dei collaboratori clinici della Sapienza si è reso molto difficile per le limitazioni di accesso alle strutture sanitarie ancora fortemente impegnate nella gestione dell'emergenza. Questo ha determinato una notevole diminuzione del campionamento che si spera di recuperare, almeno in parte, nel corso del prossimo anno.