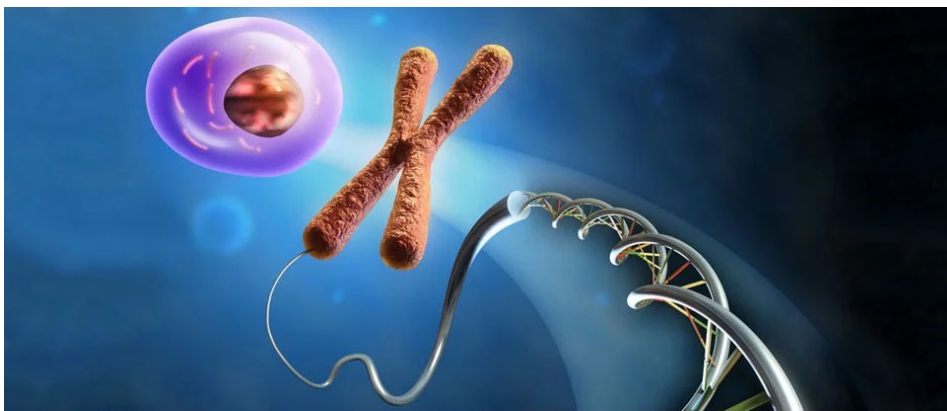




Centro Università degli Studi di Milano - Scuola per la diffusione delle Bioscienze

SANO O MALATO?

Dall'albero genealogico al DNA e ritorno



Università degli Studi di Milano

Le mutazioni geniche

Le mutazioni geniche sono cambiamenti della sequenza o del numero di nucleotidi di un individuo. Sono errori genetici che risultano particolarmente gravi se avvengono nella fase di replicazione del DNA e possono coinvolgere sia le cellule somatiche sia le cellule germinali. Quando avvengono nelle cellule somatiche possono essere alla base dell'insorgenza di tumori, mentre quando coinvolgono le cellule germinali possono determinare anomalie congenite nei figli.

Le mutazioni possono essere di tipo spontaneo, come errori nell'inserimento dei nucleotidi durante la replicazione del DNA, o indotte da:

agenti fisici

- radiazioni ad alta energia che danno origine a ioni e radicali liberi ad effetto mutageno
- raggi UV, che causano legami anomali fra le basi azotate come i dimeri di timina
- esposizione ad alte temperature

chimici

- sostanze chimiche con una struttura molecolare simile a quella delle normali basi azotate del DNA e che vengono incorporate al loro posto
- sostanze chimiche che agiscono da mutageni modificando direttamente la struttura chimica e le proprietà delle basi.

Le mutazioni geniche (fig. 1) si classificano in:

- **inserzione** (aggiunta di 1-2 basi) o **delezione** (perdita di 1-2 basi): causano shift di tutte le triplette a valle della mutazione. Questi due tipi di mutazioni, dette FRAMESHIFT (scorrimento della cornice di lettura) producono un prodotto genico fortemente alterato o non funzionante.
- **sostituzione di una base**: Alcune mutazioni dovute alla sostituzione di una base sono MUTAZIONI SILENTI perché producono una tripletta sinonimo di quella originale (per via della degenerazione del codice genetico) e, di conseguenza, il prodotto genico non cambia. Può anche accadere che la tripletta mutata codifichi per un aminoacido diverso da quello originale (MUTAZIONE MISSENSO) e quindi la struttura della proteina, e di conseguenza la sua funzione specifica, potrebbe essere amplificata, ridotta oppure non modificata. Questo aspetto è alla base della variabilità genetica su cui lavora la selezione naturale e risulta quindi fondamentale per il processo evolutivo. Talvolta invece, il cambiamento di una base azotata determina la sostituzione di un aminoacido fondamentale per la struttura tridimensionale della proteina compromettendone la funzione. La sostituzione può inoltre introdurre una tripletta di stop (UAA-UGA-UAG): in questo caso la mutazione interromperà la sintesi del prodotto genico generando una proteina incompleta (MUTAZIONE NON SENSO).
- **mutazioni che alterano lo splicing**: interessa una sequenza nucleotidica cruciale per il meccanismo di splicing di un trascritto primario di RNA; come conseguenza si avrà il blocco o la modificazione dello schema di splicing di quel trascritto, con la mancata produzione del mRNA corrispondente o la produzione di un mRNA modificato.

- **mutazioni dinamiche:** dovute alla espansione di una tripletta di DNA.

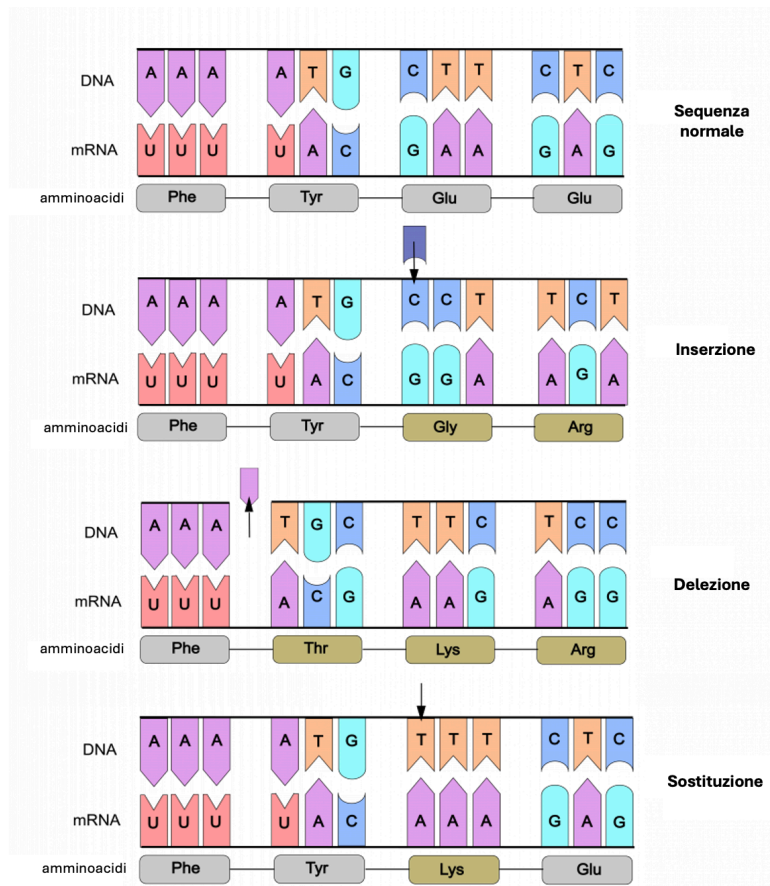


Fig.1 Schema che illustra alcuni tipi di mutazioni genetiche

Che cosa e' il pedigree?

Uno degli aspetti della genetica è lo studio dei meccanismi con cui i geni sono trasmessi dai genitori ai figli. A tale scopo i genetisti effettuano accoppiamenti tra organismi della stessa specie, per analizzare la trasmissione dei caratteri. Nella genetica umana, gli accoppiamenti sperimentali ovviamente non sono possibili. Molte delle nostre conoscenze sull'ereditarietà dei caratteri umani derivano perciò dalla analisi degli alberi genealogici o pedigree.

In pratica, il pedigree è la rappresentazione sistematica della storia familiare attraverso l'uso di simboli standardizzati (Fig.2). Il pedigree viene stilato partendo da un'intervista ai componenti di una famiglia, al fine di ricostruirne la storia (anamnesi); in questo modo è possibile seguire la trasmissione di un dato carattere attraverso parecchie generazioni in una famiglia. Le generazioni si indicano con i numeri romani; gli individui di ciascuna generazione si indicano con i numeri arabi.

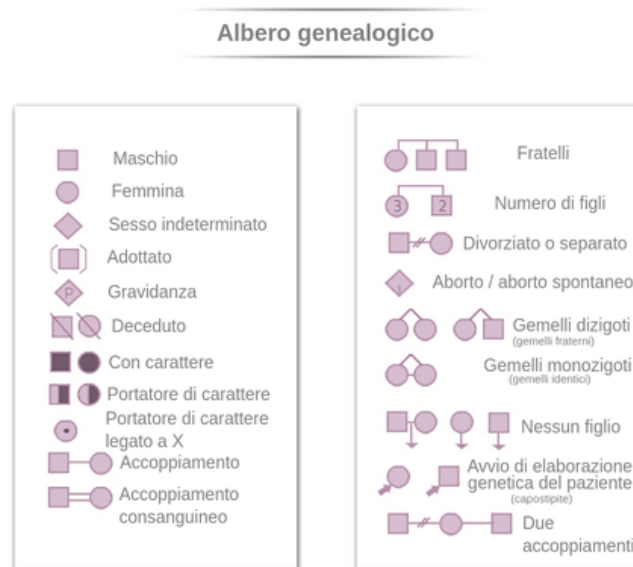


Fig. 2. Simboli utilizzati per rappresentare gli alberi genealogici

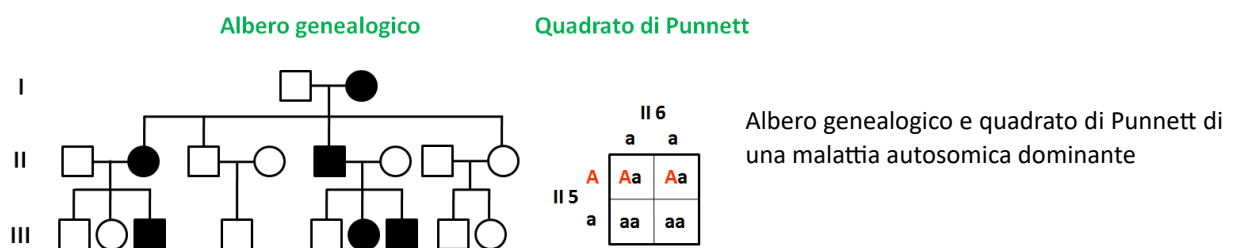
Analisi dei pedigree

L'analisi del pedigree permette di determinare se il carattere ha una modalità di trasmissione recessiva o dominante, e se il gene in questione è localizzato su un autosoma o su un cromosoma sessuale. Permette, in ultima analisi, di informare i membri di una famiglia sulla probabilità di trasmettere delle malattie genetiche ai propri figli.

Dall'analisi di un pedigree si può determinare (talvolta non in modo univoco, in quanto un pedigree può essere compatibile con più di una modalità di trasmissione ereditaria) come viene trasmesso un dato carattere. Analizziamo le caratteristiche dei pedigree relativi a caratteri:

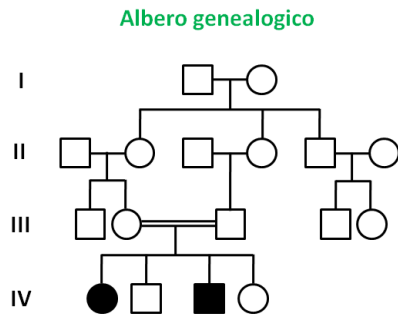
- autosomici recessivi (AR)
- autosomici dominanti (AD)
- legati al cromosoma X recessivi (XR)
- legati al cromosoma X dominanti (XD)
- legati al cromosoma Y

Trasmissione autosomica dominante



Caratteristiche: possono essere affetti sia i maschi sia le femmine; gli individui affetti possono essere presenti in tutte le generazioni e hanno sempre un genitore affetto. Poiché i geni responsabili di malattie autosomiche dominanti sono rari, in genere gli individui affetti sono eterozigoti. Rarissimi sono gli omozigoti, che possono nascere solo da genitori entrambi eterozigoti. Ogni affetto (eterozigote) ha il 50% di probabilità di avere figli malati; individui non affetti del pedigree che sposano individui non affetti hanno discendenti non affetti. Genitori entrambi affetti (eterozigoti) possono avere figli sani (25%), mentre genitori di un bambino malato possono essere sani: in questo caso si può dedurre che la malattia origina da una nuova mutazione verificatasi durante la formazione di un gamete (mutazione “de novo”).

Trasmissione autosomica recessiva



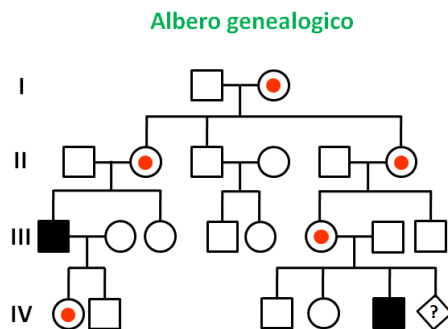
Quadrato di Punnett

		III 3	
		A	a
III 2	A	AA	Aa
	a	Aa	aa

Albero genealogico e quadrato di Punnett di una malattia autosomica recessiva

Caratteristiche: possono essere affetti sia i maschi sia le femmine; in genere gli individui affetti hanno genitori sani (portatori asintomatici). I genitori entrambi portatori sani hanno il 25% di probabilità di avere figli malati ad ogni gravidanza; l'incidenza della malattia aumenta in caso di consanguineità. Tutti i figli di genitori entrambi affetti (omozigoti) sono a loro volta affetti.

Trasmissione X-linked recessiva



Quadrato di Punnett

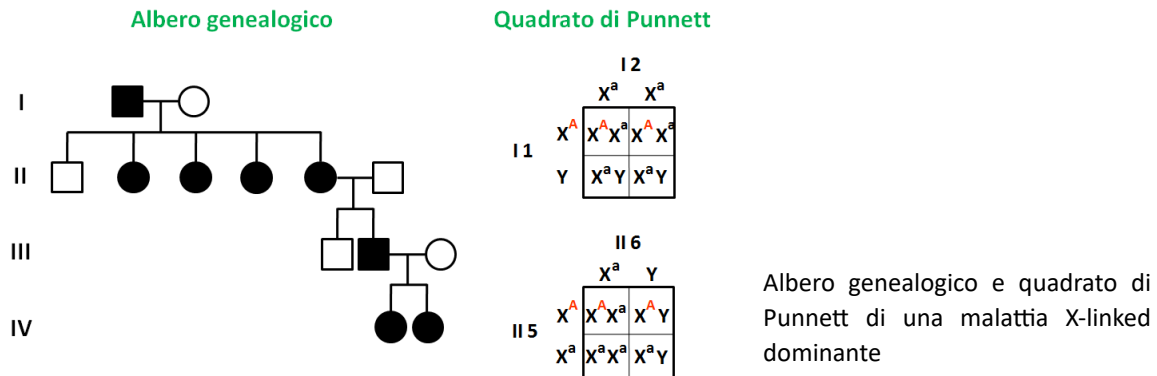
		III 2	
		X ^A	X ^A
III 1	X ^a	X ^A X ^a	X ^A X ^a
	Y	X ^A Y	X ^A Y

		III 7	
		X ^A	Y
III 6	X ^A	X ^A X ^A	X ^A Y
	X ^a	X ^A X ^a	X ^a Y

Albero genealogico e quadrato di Punnett di una malattia X-linked recessiva

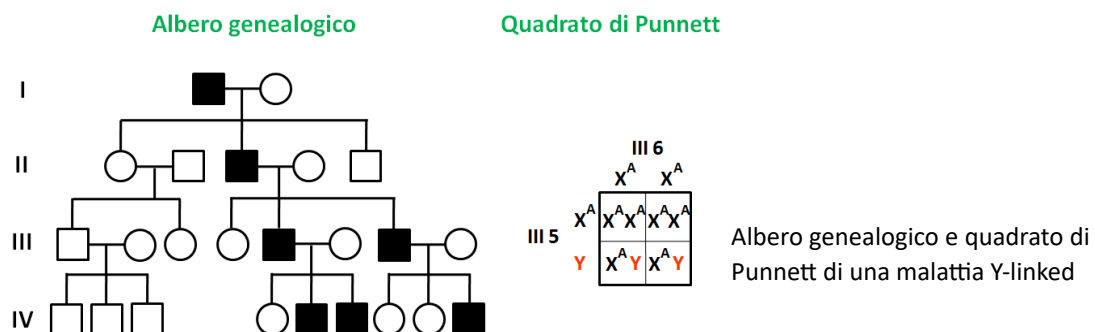
Caratteristiche: la frequenza della malattia è maggiore nei maschi che nelle femmine, le quali possono essere portatrici sane. Le donne portatrici hanno un rischio del 50% di avere figli maschi malati; i maschi affetti hanno figlie portatrici sane e figli maschi sani, mentre la madre di un individuo affetto è portatrice sana. Il carattere si trasmette a zig-zag con maschi affetti in generazioni diverse (eredità diagonica). Madri portatrici di una mutazione recessiva sul cromosoma X hanno il 50% di probabilità di avere figlie portatrici.

Trasmissione X-linked dominante



Caratteristiche: maschi affetti generano solo femmine affette e figli maschi sani. Femmine eterozigoti affette trasmettono il carattere al 50% dei figli siano essi maschi o femmine. La frequenza della malattia nelle femmine è solitamente doppia di quella nei maschi.

Trasmissione Y-linked



Caratteristiche: i pochi caratteri individuati si manifestano solo nei maschi e sono trasmessi direttamente da padre a figlio.

Le malattie associate ad uno o più geni sono elencate nel catalogo online OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*), <http://www.omim.org/>, una banca dati che contiene informazioni sui geni umani e sulle malattie genetiche realizzata e mantenuta dall'NCBI, il *National Center for Biotechnology Information*. La banca contiene la descrizione dei geni e delle malattie ad essi associate, i quadri clinici e i riferimenti bibliografici, oltre a link a sequenze e ad altre risorse web. Si tratta della versione on-line del testo "*Mendelian Inheritance in Man*", a cura del genetista medico Victor A. McKusick e di un gruppo di colleghi della Johns Hopkins University e di altre istituzioni. La banca dati è aggiornata

quotidianamente e si raggiunge tramite un link dalla homepage dell'NCBI: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Schede informative di malattie monogeniche

Malattie legate a mutazioni puntiformi:

Scheda 1: ANEMIA FALCIFORME (SCD) #OMIM 141900.0243

L'anemia falciforme, chiamata anche DREPANOCITOSI o SICKLE- CELL DISEASE (dal nome greco e inglese usato rispettivamente per indicare la parola italiana "falce"), è una malattia ereditaria **autosomica recessiva** caratterizzata dalla classica forma a falce che hanno i globuli rossi degli individui affetti.

Cause: questa malattia è causata da una mutazione nel gene che codifica la **catena beta della emoglobina** (Hb). L'Hb è una grossa proteina contenuta nei globuli rossi che ha la funzione di catturare l'ossigeno nei polmoni e trasportarlo ai vari tessuti dai quali raccoglie l'anidride carbonica prodotta dal metabolismo cellulare per trasportarla ai polmoni. Negli adulti l'emoglobina è costituita da quattro catene polipeptidiche, due di tipo alfa e due di tipo beta (Fig.3). Nel gene che codifica per la catena beta dell'emoglobina di un individuo affetto dalla malattia, si verifica una mutazione puntiforme (sostituzione di una T con una A): nelle catene beta degli individui affetti un amminoacido acido glutammico è sostituito dall'amminoacido valina, determinando così la formazione di una emoglobina patologica, chiamata **emoglobina S** (Hb S). Quando questo tipo di emoglobina cede l'ossigeno che trasporta, come avviene, per esempio, a livello dei capillari periferici nei tessuti, subisce un cambiamento di forma: le molecole di HbS tendono ad aggregarsi in strutture allungate che conferiscono rigidità al globulo rosso e la classica **forma a falce** (Fig. 3). Impediti così a scorrere normalmente nei capillari, vasi piccolissimi in cui i globuli passano solo grazie alla loro elasticità, questi globuli alterati provocano pericolose occlusioni. L'anemia è dovuta alla fragilità dei globuli rossi falcemici che lisano con facilità e vengono rimossi dal circolo a livello della milza.

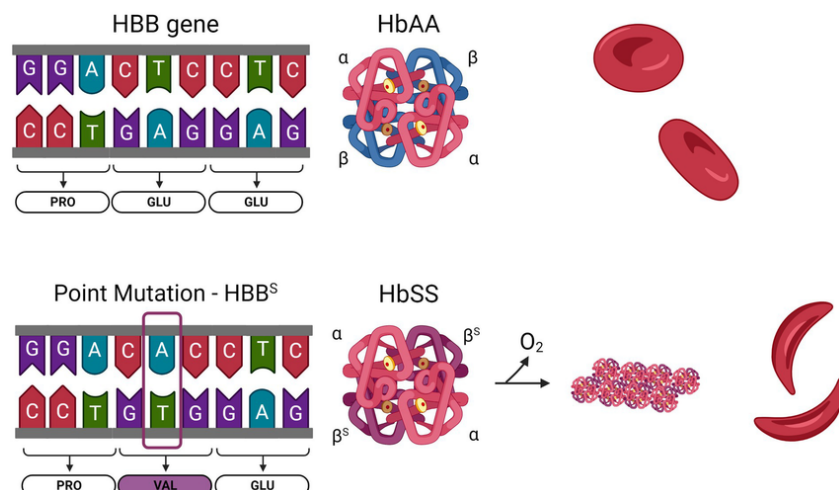


Fig. 3. Confronto fra DNA, proteina e globulo rosso di un individuo sano e di un individuo affetto da anemia falciforme

Manifestazioni patologiche: la malattia si manifesta nei primi due anni di vita con un **ampio spettro di sintomi** a carico di organi e sistemi diversi, legati all'aumentata distruzione dei globuli rossi (emolisi) che contengono emoglobina S (la vita media di un globulo rosso falcemico è di soli 20 giorni anziché di 120, come invece avviene per i globuli rossi normali). Si verificano frequentemente crisi da **occlusione dei vasi** sanguigni e accumulo di cellule falciformi nella milza, l'organo deputato alla distruzione dei globuli rossi. La **lisi dei globuli rossi** causa anemia cronica con conseguente ittero, scarso sviluppo fisico, ritardo mentale e insufficienza cardiaca. L'insufficiente apporto di sangue a vari distretti causa danni a diversi tessuti e organi, infarti cerebrali (ictus), necrosi ossee, sindrome polmonare acuta che può risultare letale, crisi dolorose improvvise di durata variabile, tumefazioni dolorose al dorso delle mani e dei piedi (dactilite). **L'accumulo di globuli rossi falcemici nella milza** la costringe ad un iperlavoro e ne provoca ingrossamento e fibrosi con riduzione della funzionalità e conseguente aumento della suscettibilità alle infezioni.

Terapia: Sono frequentemente utilizzati vari **farmaci** in grado di attenuare i sintomi e rendere più sopportabile la vita per i malati. Per esempio si usano antidolorifici per sedare le crisi dolorifiche, antibiotici e vaccini per curare e prevenire le infezioni, trasfusioni di sangue che diluiscono i globuli rossi anomali e riducono le complicanze legate al sovraccarico di lavoro della milza. Dal 1995 si sta sperimentando un farmaco antitumorale chiamato idrossiurea che aumenta la produzione di emoglobina fetale (HbF), ma che ha notevoli effetti collaterali. Si può inoltre ricorrere **al trapianto di midollo osseo**. Da fine 2023 sono state approvate, prima negli Stati Uniti e poi in Europa, le prime due terapie per l'anemia falciforme basate sull'editing genetico con CRISPR: una, nota con il nome commerciale di Casgevy, sviluppata da Vertex Pharmaceuticals e CRISPR Therapeutics, si basa sul prelievo delle cellule staminali ematopoietiche del paziente che in laboratorio vengono sottoposte a editing genetico per la riattivazione del gene della emoglobina fetale, un gene che solitamente è spento durante la vita adulta; i pazienti trattati produrranno emoglobina fetale (HbF) la quale, pur non essendo funzionale al 100%, riesce a compensare la mancanza di emoglobina adulta funzionante, migliorando la gestione della malattia.

L'altra terapia, nota con il nome commerciale di Lyfgenia e sviluppata da Bluebird bio, si basa sull'introduzione, nelle cellule staminali ematopoietiche prelevate dal paziente, di un lettore lentivirale che contiene una copia funzionale del gene della emoglobina beta. In questo modo, la copia del gene mutata verrà sostituita dalla copia funzionale.

Frequenza dell'allele dell'anemia falciforme: questa malattia è rara in Europa ma molto frequente in Africa, tra gli afroamericani e in genere nelle zone malariche del pianeta. Questa diversa distribuzione è dovuta al fatto che i globuli rossi degli individui portatori (eterozigoti) hanno maggiore resistenza verso il *Plasmodium falciparum*, l'agente della malaria, rispetto ai globuli rossi dei soggetti sani. Questo vantaggio genetico degli eterozigoti ha favorito il mantenimento dell'allele dell'anemia falciforme nelle zone malariche.

Scheda 2: IPERCOLESTEROLEMIA FAMILIARE TIPO A (FH) #OMIM 143890

Delle varie forme di **ipercolesterolemia familiare** (FH), la ipercolesterolemia di tipo A è una malattia ereditaria **autosomica dominante**, caratterizzata da un elevato livello di **colesterolo** nel sangue dovuto a un difetto del recettore che consente l'ingresso del colesterolo nelle cellule. Il colesterolo è un composto steroideo molto importante per le cellule animali in quanto è un componente essenziale delle membrane.

Il colesterolo, sia quello prodotto *ex novo* (principalmente dalle cellule del fegato) che quello introdotto con la dieta, circola nel sangue in particelle lipoproteiche; se è presente in eccesso, favorisce la formazione di placche all'interno delle arterie (fenomeno detto **aterosclerosi**) che portano alla loro occlusione.

La **colesterolemia**, cioè la quantità di colesterolo totale nel sangue, si misura in milligrammi per decilitro di sangue (mg/dl). Nelle analisi, oltre al valore del colesterolo totale, viene riportato anche il valore delle lipoproteine. Queste comprendono:

- le **lipoproteine LDL** (Low Density Lipoprotein: lipoproteina a bassa densità) che contengono il colesterolo che verrà assorbito dalle cellule in seguito al legame delle LDL al recettore specifico sulla membrana cellulare. Se le LDL sono in eccesso, rispetto alla capacità di assorbimento dei vari tessuti, il colesterolo può depositarsi sulla parete interna delle arterie formando le placche aterosclerotiche;
- le **lipoproteine HDL** (High Density Lipoprotein: lipoproteina ad alta densità) che raccolgono il colesterolo in eccesso da tutti gli organi e lo trasportano al fegato dove viene eliminato nella bile. Questo colesterolo viene chiamato "colesterolo buono", anche se, in realtà, non esiste un colesterolo "buono" e uno "cattivo", in quanto è sempre lo stesso colesterolo che viene trasportato da proteine diverse.

CAUSE

La forma più comune di FH di tipo A è la forma eterozigote (1 su 500 nati vivi) in cui i valori di colesterolemia vanno da 220 a 550 mg/dl; nella forma omozigote, molto più grave, ma anche più rara (1 su 1.000.000 nati vivi), i valori di colesterolemia sono compresi tra 550 e 1000 mg/dl.

La FH di tipo A è dovuta alle alterazioni di un gene, situato sul cromosoma 19, che codifica per una **proteina recettore** localizzata sulla membrana cellulare, che ha la funzione di captare le LDL e permettere l'entrata nelle cellule. Una volta trasportate all'interno delle cellule, le LDL vengono degradate dagli enzimi lisosomiali e il colesterolo liberato inibisce l'enzima 3-idrossi-3-metil-glutaril-CoA riduttasi, necessario per la sintesi di nuovo colesterolo. Se manca il recettore di membrana o è prodotto in quantità insufficiente (come negli eterozigoti) o ne è prodotta una forma alterata, le LDL si accumulano nel sangue dando origine alle placche aterosclerotiche e la sintesi di colesterolo intracellulare aumenta. Sono state individuate circa 150 mutazioni di questo gene: in alcuni casi il **recettore è difettivo** e non lega le LDL, in altri ha ridotta affinità per le LDL, oppure lega le LDL ma non è in grado di internalizzarle.

MANIFESTAZIONI PATOLOGICHE

La formazione di **placche aterosclerotiche** (ateromi) rende difficile la circolazione del sangue e può essere causa di **problemi cardiocircolatori**, con rischio di infarto che, pur variando da persona a persona, è comunque legato al valore della colesterolemia. Tipici sintomi di FH è la comparsa (dopo i 30-40 anni negli eterozigoti, entro i primi 4 anni negli omozigoti) di accumuli di grasso chiamati **xantomi** a livello dei tendini (negli eterozigoti) o nella cute dei gomiti e delle ginocchia (negli omozigoti), xantelasmi (accumuli di grasso all'esterno dell'occhio) e arco corneale (piccola lunetta che si forma dentro l'occhio alla periferia della cornea). Tuttavia, nel 40% degli eterozigoti gli xantomi possono essere assenti del tutto, e anche le altre manifestazioni patologiche, come gli xantelasmi possono essere assenti o manifestarsi in forma lieve. In questi casi, l'eterozigote può scoprire di essere affetto da FH solo in seguito a controlli ematici casuali e forse troppo tardi per instaurare una adeguata terapia. In assenza di trattamenti specifici, gli uomini intorno ai 35 anni e le donne intorno ai 45 anni hanno alto rischio di andare incontro a gravi problemi cardiocircolatori.

Negli omozigoti il quadro clinico è più grave. I sintomi sono riscontrabili entro i primi 4 anni di vita e i problemi cardiocircolatori compaiono già nell'infanzia, determinando molto spesso la morte per infarto prima dei 20 anni.

TERAPIA

Le semplici raccomandazioni dietetiche non sono sufficienti a ridurre le manifestazioni patologiche di questa malattia, perché l'organismo produce comunque colesterolo di per sé. I pazienti adulti vengono trattati con le statine, potenti inibitori dell'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril-Co A riduttasi che è necessario, come già detto, per la sintesi del colesterolo. Insieme alle statine vengono somministrate anche delle resine che sequestrano il colesterolo sotto forma di acidi biliari e ne permettono l'espulsione con le feci, e l'ezetimide che inibisce selettivamente l'assorbimento di colesterolo a livello intestinale. E' importante, in ogni caso, evitare tutti i fattori di rischio di malattie cardiovascolari, come fumo, alcool, stress e tenere sotto controllo la pressione arteriosa.

Negli omozigoti la terapia d'elezione è però rappresentata dalla LDL- aferesi che consiste, ogni due settimane circa, nella rimozione extracorporea delle LDL dal sangue con una speciale apparecchiatura.

Mutazioni determinate da espansione del numero di triplette

Nei geni esistono porzioni di DNA con triplette ripetute in tandem che normalmente si stabilizzano tra una generazione e l'altra.

E' stato osservato che regioni con un alto numero di ripetizioni in tandem di alcune particolari triplette (CAG, CCG, CGG, GAA, CTG) risultano essere veri punti caldi per questo genere di mutazione. Il modello proposto per spiegare questa amplificazione è la formazione di anse, strutture in cui ripetizioni in tandem si appaiano sullo stesso filamento (Fig. 4). Al momento della replicazione, queste strutture causerebbero instabilità della DNA polimerasi che verrebbe indotta a ripetere l'inserzione di triplette, aumentandone il numero.

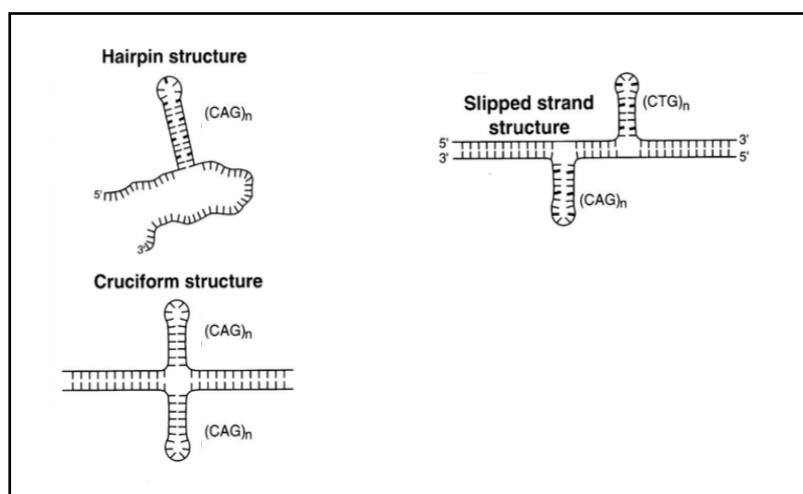


Fig. 4. Tipiche formazioni a uncino presenti in tratti di DNA con ripetizioni di basi.

Meccanismo molecolare dell'espansione di triplette

Il meccanismo molecolare alla base del fenomeno dell'aumento del numero di triplette identiche in un tratto del DNA è detto "**slippage**" o slittamento della replicazione, e consiste nell'aggiunta di più triplette.

Il meccanismo è simile a quello che genera le mutazioni FRAMESHIFT, solo che nel caso dello "slippage" si ha lo scivolamento con l'inserzione di gruppi di triplette identiche.

Come mostrato in figura 5, lo "slippage" sul filamento di DNA in fase di neosintesi porta all'espansione di una o più triplette. Lo "slippage" sul filamento di DNA stampo porta ad una delezione di triplette (più raro, non mostrato nella figura).

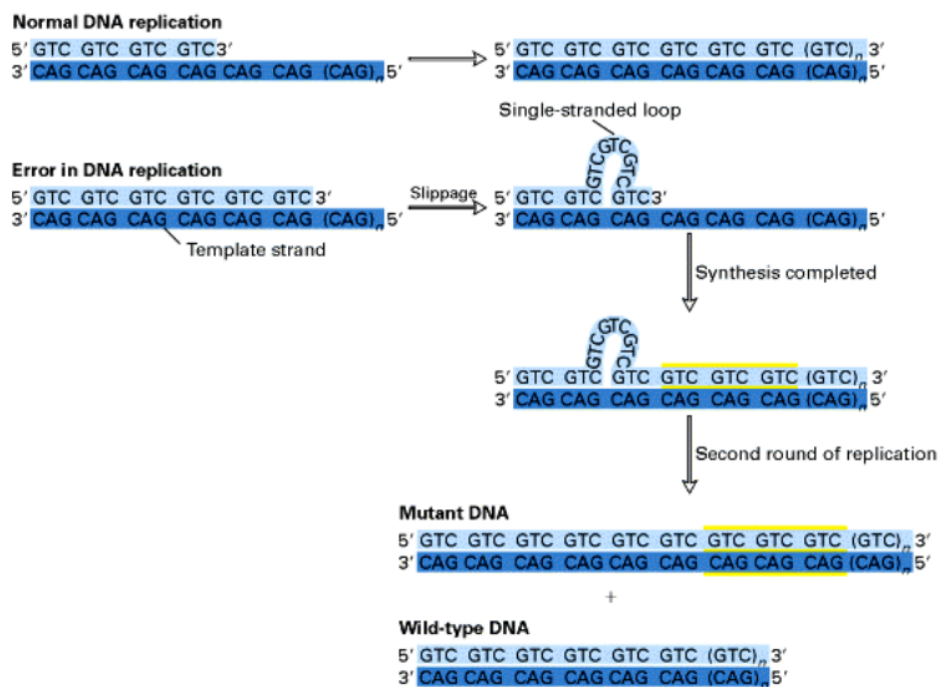


Fig. 5. Meccanismo dello slippage che porta all'inserimento di triplette aggiuntive

Patologie causate da espansione di triplette (TRED, Trinucleotide Repeat Disorders)

A causa delle espansione di triplette si genera una condizione di **instabilità mitotica**, se sono coinvolte linee cellulari somatiche, o **meiotica**, se sono coinvolte linee germinali e quindi con trasmissione alle generazioni successive.

L'**instabilità mitotica** determina la presenza di espansioni di triplette differenti all'interno dello stesso tessuto e tra tessuti differenti. Produce dunque un mosaicismo tissutale.

L'**instabilità meiotica** determina la trasmissione alle generazioni successive di una espansione di diversa ampiezza. E' anche alla base del meccanismo dell'**anticipazione** ovvero del fatto che la gravità della malattia aumenta da una generazione alla successiva e i sintomi della patologia si manifestano prima.

L'**instabilità meiotica** è in grado anche di spiegare il fenomeno della **pre-mutazione** nei portatori sani, nei quali il "valore soglia" delle ripetizioni non è stato superato e pertanto non si manifesta alcun sintomo.

Le conseguenze sono ovviamente differenti a seconda della regione in cui si trova l'espansione di triplette:

- **Espansione di triplette in regioni non codificanti:** nella regione 5' UTR (sindrome dell'X-fragile), nella regione 3' UTR (distrofia miotonica) o in un introne (atassia di Friedrich).
- **Espansione di triplette in regioni codificanti:** la mutazione è responsabile della sintesi di una proteina mutata nella sua sequenza, con lunghe ripetizioni di uno

stesso amminoacido, con conseguente perdita della funzionalità o manifestazione di tossicità (es. corea di Huntington).

Malattie legate ad espansione di triplette:

Scheda 1: COREA DI HUNTINGTON

#OMIM 143100

La malattia di Huntington (HD: Huntington Disease), o corea di Huntington, è una malattia genetica neurodegenerativa del sistema nervoso centrale che colpisce la coordinazione muscolare e porta ad un declino cognitivo e a problemi psichiatrici.

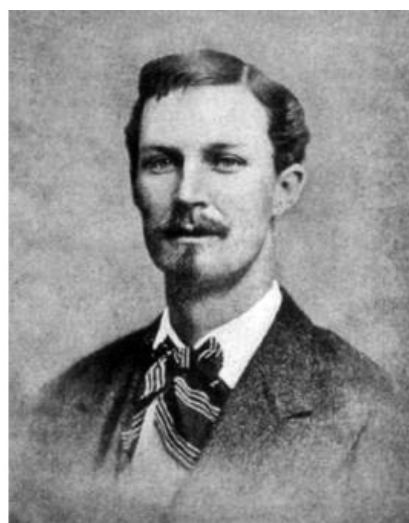
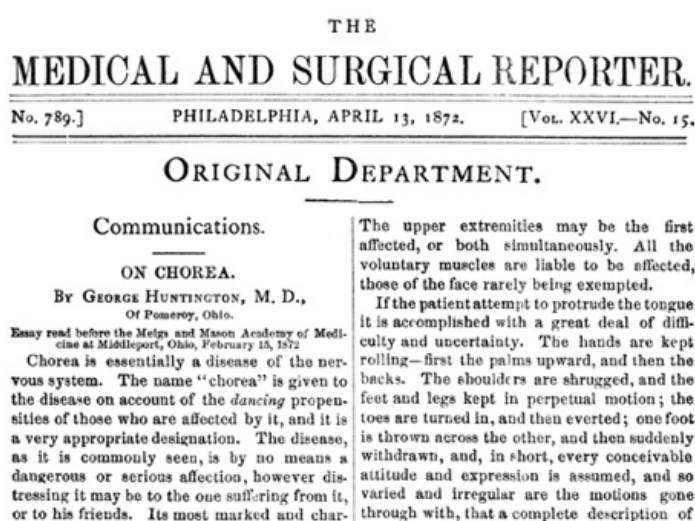


Fig. 6. Articolo originale pubblicato nel 1872 dal dott. George Huntington.

Le zone del cervello più colpite sono quelle correlate ai movimenti e quelle legate alla memoria a breve termine. La prima descrizione completa della malattia fu fatta dal medico George Huntington, da cui il nome, nel 1872 (Fig. 6).

FREQUENZA

La prevalenza nella popolazione caucasica è stimata in 1/10.000-1/20.000. Esordisce tipicamente durante la mezza età; in alcuni casi i sintomi si manifestano prima dei 20 anni, con disturbi del comportamento e difficoltà di apprendimento (malattia di Huntington giovanile, JHD). E' la malattia genetica che, nei quadri clinici neurologici, si manifesta più frequentemente con movimenti involontari anomali. Questi movimenti ricordano una danza da cui deriva il nome della malattia: in greco *chorea* significa danza.

È molto più comune nelle persone di discendenza europea occidentale rispetto a chi è di origine asiatica o africana: questo perché, nella popolazione di discendenza

europea, l'allele del gene dell'huntingtina con ripetizioni di CAG tra 28 e 35 è molto più frequente.

CAUSE

La malattia è causata da una mutazione in una delle due copie (alleli) del gene che codifica per la proteina chiamata huntingtina, presente sul cromosoma 4. Si tratta di una mutazione autosomica dominante. La base genetica della malattia è stata scoperta nel 1993 grazie ad una ricerca internazionale guidata dalla Hereditary Disease Foundation.

La mutazione consiste in un aumento eccessivo di ripetizioni della tripletta nucleotidica CAG, che codifica per l'amminoacido glutammina (Gln o Q). L'individuo è sano se ha meno di 35 ripetizioni, è malato se ne ha più di 40. Tra 35 e 40 ripetizioni l'individuo può sviluppare la malattia, nel caso avvenga un'espansione del numero di triplette nel corso della vita.

L'espansione avviene in vari stadi dello sviluppo, in diversi tipi di cellule, ed è sensibile al sesso del genitore che la trasmette. Si è osservato, ad esempio, che l'allele HD trasmesso per via paterna è più propenso ad espandere il numero di triplette. Per questo motivo, un individuo con padre affetto da HD ha più probabilità di sviluppare la malattia di uno con madre affetta da HD.

Quando l'huntingtina è mutata

Il gene che produce la proteina chiamata huntingtina (HTT) è IT15 (Interesting Transcript 15). Viene espresso in tutte le cellule di mammifero con concentrazioni maggiori nel cervello (nucleo striato) e nel testicolo, e moderate quantità nel fegato, cuore e polmoni.

Le ripetizioni eccessive di Gln nell'huntingtina mutata (**mHtt**) causano la formazione di aggregati di huntingtina nel cervello, tossici per i neuroni.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

I sintomi fisici della malattia possono iniziare a qualsiasi età, ma più frequentemente tra i 35 e i 40 anni (insorgenza tardiva). I primi sintomi sono collegati a problemi dell'umore o della cognizione a cui segue una generale mancanza di coordinazione e una andatura instabile. La distonia (ad es. il torcicollo) può essere il primo segno della malattia di Huntington. Il linguaggio e la deglutizione diventano gradualmente più problematici, con il rischio di soffocamento. Tutti i pazienti sviluppano ipocinesia (rallentamento o riduzione dei movimenti spontanei) e rigidità. Con l'avanzare della malattia i movimenti non coordinati del corpo diventano sempre più evidenti e sono accompagnati da un calo delle capacità mentali e dalla insorgenza di problemi comportamentali e psichiatrici. Le complicanze, come la polmonite, le malattie cardiache e i danni fisici da cadute, riducono l'aspettativa di vita a circa 20 anni a partire dall'esordio dei sintomi.

Scheda 2: ATASSIA DI FRIEDREICH

#OMIM 229300

Phenotype-Gene Relationships

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance (in progress)	Phenotype mapping key	Gene/Locus	Gene/Locus MIM number
9q21.11	Friedreich ataxia	229300	AR	3	FXN	606829

L'ataxia di Friedreich (FRDA) è una malattia neurodegenerativa che interessa il midollo spinale e il cervelletto. Consiste nella progressiva perdita della coordinazione muscolare che quindi rende difficoltosa l'esecuzione di alcuni movimenti volontari. Questa forma di atassia, descritta nel 1863 dal Dr. Friedreich in famiglie con alti livelli di consanguineità, ha una modalità di trasmissione autosomica recessiva.

FREQUENZA

La frequenza della patologia nella popolazione caucasica è stimata in 1:29000-50000. L'incidenza è molto più bassa negli asiatici e nei soggetti di discendenza africana. La frequenza dei portatori è stimata essere 1:60-120.

CAUSE

Nel 97% dei casi la malattia è dovuta all'espansione della tripletta GAA. Nel primo introne del gene FXN sul cromosoma 9 (9q21.11) gli individui sani presentano un numero di ripetizioni da 5 fino a circa 33 volte (la maggior parte meno di 12) della tripletta GAA. Sono portatori di premutazione i soggetti con ripetizioni che vanno da 34 a 65, mentre nelle persone malate la tripletta si trova ripetuta da 66 fino a 1700 volte (la maggior parte fra 600 e 1200). Il gene FXN codifica per una proteina della famiglia delle frataxine. Si tratta di una proteina mitocondriale che lega il ferro e ne controlla l'ingresso nei mitocondri ed è coinvolta nella respirazione cellulare. Le ripetizioni eccessive provocano una diminuzione di livello sia degli mRNA che della proteina, che viene prodotta solo in minima parte. Cause della malattia sembrano essere un aumento della concentrazione di ferro libero all'interno dei mitocondri con gravi danni della funzione respiratoria e stress ossidativo (da radicali liberi in eccesso) delle cellule. Le cellule maggiormente colpite sono i neuroni del midollo spinale, della corteccia e del cervelletto.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

I primi sintomi sono la difficoltà nella corsa e nelle attività sportive in genere, una goffaggine generale e scarsa coordinazione (ataxia) durante la deambulazione.

La malattia comporta una progressiva perdita della coordinazione motoria: vengono colpiti generalmente per primi gli arti inferiori, provocando instabilità nel cammino. Successivamente compaiono disturbi nella coordinazione delle mani e nell'articolazione della parola. Frequentemente si manifestano cardiopatia e diabete. Mediamente 15 anni dopo l'esordio della malattia si ha perdita della deambulazione e molti sono i pazienti

costretti all'uso della sedia a rotelle. L'intelligenza non appare compromessa ma possono essere presenti problemi di udito, di vista (fissazione instabile dello sguardo) e di deglutizione. Il numero di ripetizioni della tripletta è inversamente proporzionale all'età di esordio della patologia e al tempo che intercorre tra l'esordio e la dipendenza dalla sedia a rotelle mentre è direttamente proporzionale alla prevalenza della cardiomiopatia.

TERAPIA E PROGNOSI

Si utilizzano farmaci per ridurre la sintomatologia dovuta allo stress ossidativo. I pazienti con cardiopatia vengono trattati con anticoagulanti, antiaritmici e pacemaker, mentre quelli con diabete mellito di solito necessitano dell'insulina. Assume particolare importanza il trattamento terapeutico riabilitativo con l'utilizzo di protesi e sedia a rotelle che aiutano a mantenere uno stile di vita attivo. La vita media è di circa 40 anni, a seconda dell'età di esordio e della comparsa del diabete e della cardiomiopatia. Il decesso è essenzialmente dovuto alla cardiopatia e alla broncopolmonite.

DIAGNOSI

La conferma diagnostica viene effettuata mediante l'analisi molecolare che identifica le mutazioni nel gene FXN.

L'analisi molecolare è effettuata sui pazienti e loro familiari oppure come test prenatale, attraverso la villocentesi o l'amniocentesi. Si utilizzano due metodiche che sono fra loro complementari: la PCR, rapida ma che può rivelarsi problematica per gli individui eterozigoti, e il southern blot che permette di diagnosticare con precisione le mutazioni.

Il southern blot prevede che il DNA, tagliato con enzimi di restrizione, venga sottoposto ad elettroforesi su gel di agarosio e successivamente trasferito su un filtro di nitrocellulosa o nylon: l'uso di sonde radioattive o fluorescenti consente di identificare una sequenza bersaglio perchè complementare a quella delle sonde.

Scheda 3: X-FRAGILE

#OMIM 300624

La sindrome dell’X fragile, o sindrome di Martin-Bell, è la causa più frequente del ritardo mentale ereditario nei maschi dopo la sindrome di Down.

Prende nome dal sito "fragile" del cromosoma X che appare, dagli studi di laboratorio, come “rotto” (fig. 7).

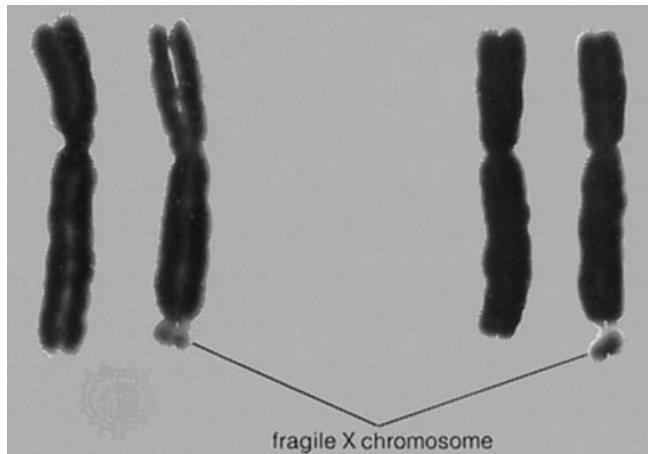


Fig. 7. Tipica forma del cromosoma X di una persona affetta da sindrome dell’X fragile: si può notare la tipica strozzatura nel braccio lungo del cromosoma.

Al contrario della sindrome di Down, che solitamente colpisce un individuo per famiglia, la sindrome dell’X fragile può colpire più componenti della stessa famiglia ed altri parenti. Per esempio, è abbastanza comune che due fratelli siano colpiti oppure anche due cugini, oppure nipote e zio. Perciò, diagnosticare questa patologia in un bambino ha implicazioni genetiche di primaria importanza anche per il resto della famiglia, sia che si tratti di parenti vicini che di parenti lontani, che potrebbero essere portatori sani del gene X fragile (allele premutato) senza saperlo, e pertanto correre il rischio di generare figli affetti.

FREQUENZA

Questa patologia colpisce: 1 maschio su 4000 e 1 femmina su 6000.

CAUSE

Questa sindrome è una malattia genetica causata dalla mutazione del gene FMR1 (*Fragile X Mental Retardation-1*), situato sul braccio lungo del cromosoma X (Xq27.3), che genera una strozzatura nella regione terminale dove è situato il gene.

L’X fragile è causata da una mutazione dinamica che interessa l’espansione progressiva di triplette CGG nella regione 5’ UTR del gene FMR1. Conseguenza della espansione è il silenziamento del gene e l’assenza della proteina FMRP (*Fragile X Mental Retardation Protein*). Questa proteina, espressa soprattutto nel testicolo e nel cervello, è implicata nello sviluppo delle connessioni neuronali del cervello. Il suo ruolo nel testicolo non è stato ancora chiarito.

Normalmente il numero di triplette CGG contenute nel 5'UTR è compreso tra le 6 e le 54 copie; un'espansione tra 55 e 200 copie definisce un soggetto premutato portatore sano di X fragile, in grado di produrre la proteina; gli affetti hanno più di 200 copie della tripletta CGG. La trasmissione può avvenire in maniera asintomatica oppure può innescare un'ulteriore espansione fino a raggiungere la mutazione completa; la sindrome ha una trasmissione dominante legata al cromosoma X con penetranza ridotta nelle femmine. Può essere trasmessa dalla madre ai propri figli (maschi o femmine) e dal padre a tutte le figlie femmine (il gene FMR1 non può essere trasmesso dal padre ai figli maschi, a cui passano solo il cromosoma Y).

Il gene FMR1 può esistere nello stadio di premutazione in una famiglia per parecchie generazioni senza che causi alcuni problemi di sviluppo ma può espandersi nel passaggio da una generazione all'altra (Fig. 8). La tendenza all'espansione si verifica maggiormente quando la premutazione è trasmessa per via materna.

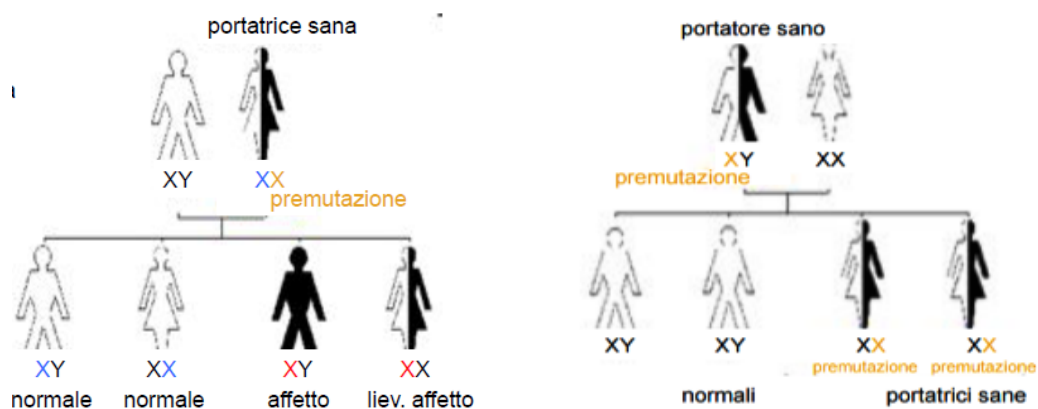


Fig. 8. A sinistra: trasmissione per via materna. La tendenza all'espansione si verifica maggiormente quando la premutazione è trasmessa per via materna; durante la maturazione dell'ovulo la premutazione può espandersi e diventare mutazione completa.

A destra: trasmissione per via paterna: quando la premutazione è trasmessa dal padre rimane stabile; le figlie femmine riceveranno la premutazione senza che avvengano variazioni nel numero delle triplette CGG. I figli maschi ricevono dal padre il cromosoma Y, pertanto non sono a rischio di ereditare la premutazione.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Si accompagna comunemente a disturbi del comportamento e ad altri problemi dello sviluppo, come disfunzioni specifiche dell'apprendimento, autismo e difficoltà comportamentali significative. I sintomi della malattia sono spesso più lievi nelle femmine rispetto ai maschi.

La patologia non compare alla nascita, si manifesta progressivamente, dai primi mesi di vita alla pubertà.

TERAPIA E PROGNOSI

Non esiste una terapia risolutiva.

È però possibile il trattamento dei sintomi per migliorare la qualità della vita dei pazienti, combinando l'impiego di varie categorie di psicofarmaci per trattare autolesionismo, comportamento aggressivo e autismo. Per disturbi d'ansia e ossessivo-compulsivi vengono usati gli stimolanti e inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI).

Data la plasticità del cervello dei bambini, l'intervento precoce è molto importante al fine di favorire l'integrazione sociale e il recupero.

Oltre ai farmaci, devono quindi essere presi in considerazione gli interventi possibili in molti settori, come educazione, istruzione, riabilitazione, interventi logopedici, fisioterapici, e occupazionali, tutti diretti a migliorare l'autonomia dei pazienti.

DIAGNOSI

Essendo un fenotipo con manifestazioni lievi alla nascita, la diagnosi clinica della sindrome dell'X fragile è difficile nei bambini.

Le famiglie all'interno delle quali sia presente un soggetto affetto dalla sindrome possono avvalersi di una consulenza genetica che possa informarle sul rischio di incidenza della malattia.

Sebbene sempre più individui e famiglie colpiti da sindrome dell'X fragile vengano identificati, essa rimane ancora largamente sconosciuta e sottovalutata. Eppure una diagnosi precoce è di grande importanza per le famiglie, ai fini di avere una consulenza genetica appropriata e quindi un intervento precoce, che migliora le possibilità di condurre una vita produttiva e soddisfacente.

La diagnosi (anche prenatale sui villi coriali o sul liquido amniotico) può essere effettuata mediante l'analisi del cariotipo che evidenzia la forma tipica che il cromosoma X ha negli affetti; l'indagine dell'espansione della tripletta può essere eseguita tramite test basati sulla reazione a catena della polimerasi (PCR).

Malattie legate a delezione del DNA:

Scheda 4: DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE #OMIM 310200

FREQUENZA

La Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) è una malattia degenerativa della muscolatura con trasmissione X-linked recessiva, che colpisce 1 su 3.500-5.000 maschi nati vivi.

CAUSE

La distrofia muscolare è dovuta alla mutazione del gene DMD localizzato sul cromosoma X, che produce una grossa proteina chiamata distrofina, composta di 3.685 aminoacidi.

La distrofina è una proteina citoplasmatica a forma di bastoncino che connette, attraverso la membrana, il citoscheletro di una fibra muscolare con la matrice extra-cellulare. In realtà forma un complesso proteico molto articolato di cui la distrofina è solo una parte (Fig. 9).

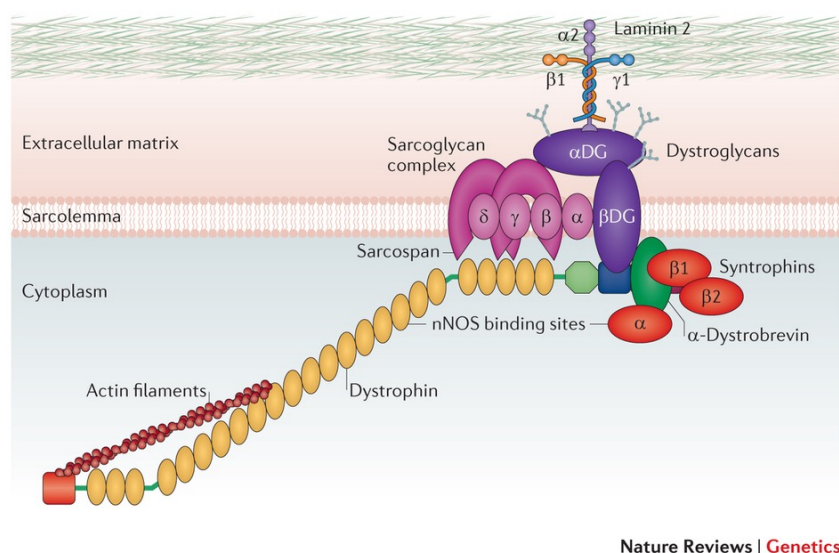


Fig. 9. La distrofina ha la funzione di connettere la membrana al citoscheletro, rappresentato dai filamenti di actina (in rosso) delle cellule del muscolo scheletrico e del muscolo cardiaco. La distrofina (in giallo) è ancorata alla membrana sarcoplasmatica mediante un complesso glicoproteico (β-distroglicano, sarcoglicano, sintrofina, distrobrevina) agganciato alla matrice extracellulare.

La mancanza di distrofina induce degenerazione e morte delle cellule delle fibre muscolari che vengono sostituite da tessuto connettivo fibrotico.

Mutazioni nel gene della distrofina causano distrofie di diversa severità, dalla forma grave come la distrofia muscolare di Duchenne (DMD; [310200](#)) a quella meno severa come la distrofia muscolare di Becker (BMD; [300376](#)). Le analisi del DNA dei pazienti con DMD evidenziano delezioni che provocano un frameshift, ovvero uno slittamento nella lettura del DNA, che produce un mRNA errato, per cui la distrofina non viene prodotta o viene rapidamente degradata.

Anche le mutazioni che causano la distrofia muscolare di Becker (BMD) sono prevalentemente (80-85% dei casi) grandi delezioni. Le delezioni però mantengono il modulo di lettura consentendo la produzione di una proteina più corta, ma semi-funzionale. Circa 24% delle mutazioni sono eventi *de novo*.

MANIFESTAZIONI CLINICHE

Gli individui affetti vanno incontro a progressiva degenerazione della muscolatura; inizialmente viene interessata la muscolatura scheletrica, successivamente anche la muscolatura cardiaca e respiratoria. Non vengono invece interessati i muscoli oculari estrinseci (quelli che consentono di muovere gli occhi) ed è poco coinvolta la muscolatura mimica del volto. L'esordio avviene nella prima infanzia e i bambini affetti possono presentare ritardo nelle tappe dello sviluppo motorio o ritardo globale. I bambini affetti da DMD non sono di solito capaci di correre o saltare. La malattia ha un'evoluzione rapida e il bambino sviluppa un'andatura caratteristica "a papera", e un caratteristico modo di alzarsi da terra "arrampicandosi" su se stesso (Fig. 10). I bambini con DMD hanno difficoltà a salire le scale e cadono frequentemente. La perdita della deambulazione autonoma avviene tra i 6 e i 13 anni; dopo la perdita della deambulazione, si sviluppano rapidamente le contratture articolari e la scoliosi. La cardiomiopatia e l'insufficienza respiratoria rappresentano la causa di morte dei pazienti all'inizio della vita adulta.

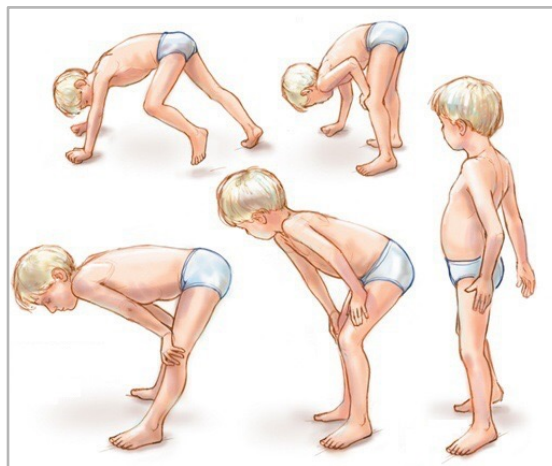


Fig. 10. Tipici movimenti di un paziente affetto da DMD per sollevarsi da terra.

TRASMISSIONE

A parte rare eccezioni, soltanto i maschi ne sono affetti, mentre le femmine portatrici sono in genere asintomatiche. Solo il 5% presentano sintomi che insorgono fra i 16 e i 48 anni e possono variare da una modesta generalizzata debolezza all'incapacità di movimento (inattivazione sbilanciata del cromosoma X).

Vi sono anche casi nei quali le madri non sono portatrici e la malattia è dovuta a una “nuova mutazione” avvenuta nella gametogenesi.

DIAGNOSI

La diagnosi prenatale (tra la IX e l'XI settimana) è possibile nelle famiglie nelle quali la diagnosi sia stata confermata con le analisi molecolari. È molto importante la consulenza genetica: il rischio di ricorrenza è del 50% nei feti maschi di una madre portatrice. Le sorelle dei pazienti possono avere una probabilità del 50% di essere portatrici. La patologia è associata anche ad un'elevata concentrazione di creatina-fosfo-chinasi (CPK) nel siero. L'enzima muscolare citoplasmatico esce dal muscolo perché la sua membrana è degenerata. Il dosaggio elevato della CPK nel plasma può indicare femmine portatrici della malattia (il valore della CPK in femmine portatrici è 100/200 volte superiore alla media).

TERAPIA E PROGNOSI

Per la gestione della DMD è essenziale un approccio multidisciplinare, in genere basato su fisioterapia associata a trattamento farmacologico con corticosteroidi che servono a mantenere la massa e la forza muscolare. È necessario un regolare monitoraggio della funzionalità cardiaca. La chirurgia può essere utile per la correzione della scoliosi e la ventilazione notturna è efficace per il trattamento dell'insufficienza respiratoria restrittiva.

La DMD ha una prognosi sfavorevole e l'aspettativa di vita è significativamente ridotta. Il decesso si verifica di solito all'inizio della vita adulta.

8. Siti web

<http://www.genecards.org>

<http://www.uniprot.org>

<http://www.omim.org>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

<http://www.orpha.net/>

<http://www.atassia.it/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1281/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC125466/>

http://www.nature.com/cr/journal/v18/n1/fig_tab/cr20085f2.html#figure-title

<http://www.dnatube.com/video/607/tri-nucleotide-repeat>

www.osservatoriomalattierare.it/

www.disabilitaintellettive.it/