

**NS5KGMYP**

**SCIENZE BIOLOGICHE**  
**(30857)**

**PATOLOGIA GENERALE**  
**(1019206)**



# Malattie mendeliane

o

# malattie monogeniche



"Sono convinto che non passerà molto tempo prima che il mondo intero riconosca i risultati del mio lavoro."



GREGOR MENDEL



# Quanto è frequente la mutazione di un gene??

Qualsiasi cambiamento PERMANENTE del patrimonio genetico è un evento «CASUALE» e relativamente raro.

La frequenza di mutazioni spontanee è in relazione a tre fattori:

- 1. Grandezza del gene-** più lungo è il gene maggiore è la probabilità che muti. **Distrofia muscolare di Duchenne e tipo Becker** gene della **distrofina** più di 2,4 megabasi –proteina da 3685 aa)
- 2. Sequenza nucleotidica**  
piccole sequenze ripetute rappresentano degli 'hot spot' per le mutazioni
- 3. Intrinseca alla natura chimica del DNA**  
particolarmente regioni ricche in C-G

## Frequenza di mutazione nell'uomo:

1 gamete su un milione è portatore di una mutazione ad un determinato locus.

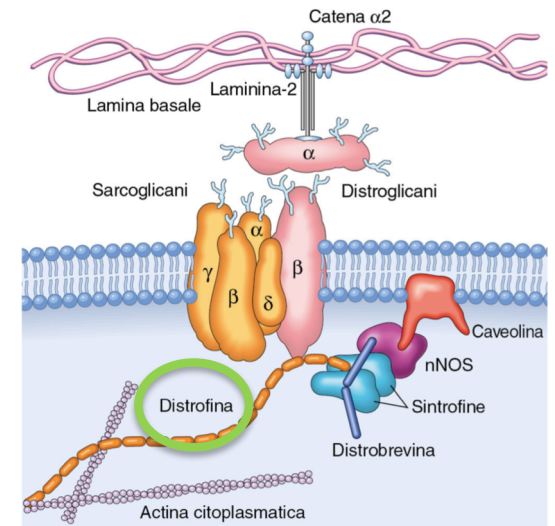
Nel genoma umano ci sono circa 20.000 geni.

In totale i gameti portatori di mutazione a un qualsiasi locus codificante saranno

$$20.000 \times 10^{-6} = 2\%$$

## Come si originano le mutazioni?

- Errori di incorporazione alla replicazione (la maggioranza)
- Errata correzione di danni spontanei o di danni indotti da MUTAGENI



complesso distrofina-glicoproteine

# Malattie Mendeliane: difetti monogenici (mutazioni di singoli geni con ampio effetto)

- **in genetica**, il carattere (o l'allele) è dominante se l'eterozigote è indistinguibile dall'omozigote
- in medicina la malattia è:
  - **dominante**: fenotipo clinicamente manifesto con 1 allele mutato
  - **recessiva**: fenotipo clinicamente manifesto con 2 alleli mutati (omozigote o eterozigote composto)
- Autosomiche dominanti (es. Ipercolesterolemia Familiare)
- Autosomiche recessive (es. Fibrosi cistica)
- Sex-Linked (**X-linked**) (es. Distrofia muscolare di Duchenne/Becker, Emofilia A)

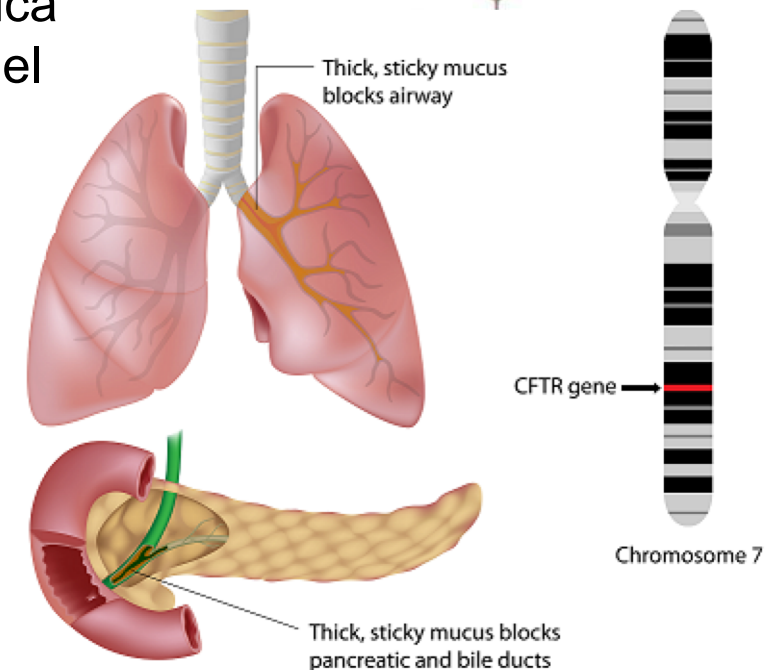
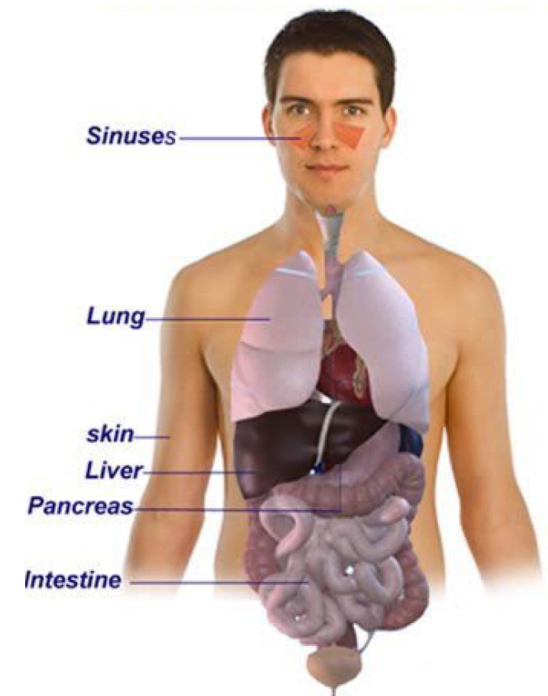
## Basi biochimiche e trasmissioni ereditarie di alcune patologie

Patologia	Proteina patologica	Tipo/Funzione della proteina
<b>Trasmissione autosomica dominante</b>		
<b>Ipercolesterolemia familiare</b>	Recettore per LDL	Recettore di trasporto
Sindrome di Marfan	Fibrillina	Strutturale di supporto: matrice extracellulare
Sferocitosi ereditaria	Spectrina, anchirina o proteina 4.1	Strutturale di supporto: membrane eritrocitarie
Neurofibromatosi di tipo I	Neurofibromina-I (NF-I)	Regolazione della crescita
Rene policistico dell'adulto	Policistina-I (PKD-I)	Interazioni intercellulari e cellula-matrice
<b>Trasmissione autosomica recessiva</b>		
<b>Fibrosi cistica</b>	Regolatore transmembrana della FC	Canale ionico (canale del cloro CFTR: CF transmembrane conductance regulator)
Fenilchetonuria	Fenilalanina idrossilasi	Enzima
Malattia di Tay-Sachs	Esosaminidasi	Enzima
Immunodeficienza combinata grave	Adenosina deaminasi	Enzima
Talassemia $\alpha$ e $\beta^*$	Emoglobina	Trasporto di ossigeno
Anemia falciforme*	Emoglobina	Trasporto di ossigeno
<b>Trasmissione recessiva legata all'X</b>		
Emofilia A	Fattore VIII	Coagulazione
<b>Distrofia muscolare di Duchenne/Becker</b>	Distrofina	Strutturale di supporto: membrana cellulare
Sindrome dell'X fragile	FMRP	Traduzione dell'mRNA

# Fibrosi cistica

(mucoviscidosi)

- Malattia genetica **a trasmissione autosomica recessiva**
- Incidenza: 1:2500-1:3000 (in Italia)
- Incidenza del portatore sano: 1:25-1:30
- Gene responsabile: **CFTR** (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) che codifica per un canale ionico di trasporto del cloro ( $\text{Cl}^-$  e del bicarbonato  $\text{HCO}_3^-$ ) che mappa sul **cromosoma 7**
- Elevato numero di varianti fenotipiche (mutazioni diverse del gene CFTR e geni modificatori)
- Sopravvivenza migliorata negli ultimi anni
- **Quadro clinico principale:** infezioni polmonari ricorrenti e croniche; insufficienza pancreatica
- Complicanze cardiopolmonari sono la principale causa di morte



# Segni e sintomi della Fibrosi cistica

## Aspetti generali

- Deficit della crescita (malassorbimento)
- Carenza di vitamine (vitamine A,D,E,K)

## Naso e seni paranasali

- Polipi nasali
- Sinusiti

## Fegato

- Steatosi epatica
- Ipertensione portale

## Colecisti

- Cirrosi biliare secondaria
- Icttero ostruttivo neonatale
- Colelitasi

## Ossa

- Osteoartropatia ipertrofica
- Dita a bacchetta di tamburo
- Artrite
- Osteoporosi

## Intestino

- Ileo da meconio
- Peritonite da meconio
- Prolasso rettale
- Invaginazione
- Volvolo
- Colonopatia fibrosante (stenosi)
- Appendicite
- Atresia intestinale
- Sindrome di ostruzione intestinale distale
- Ernia inguinale

## Polmoni

- Bronchiectasia
- Bronchite
- Bronchiolite
- Polmonite
- Atelectasia
- Emottisi
- Pneumotorace
- Malattia reattiva delle vie aeree
- Cuore polmonare
- Insufficienza respiratoria
- Ostruzione mucoide dei bronchi
- Aspergillosi broncopolmonare allergica

## Cuore

- Ipertrofia del ventricolo destro
- Dilatazione arterie polmonari

## Milza

- Ipersplenismo

## Stomaco

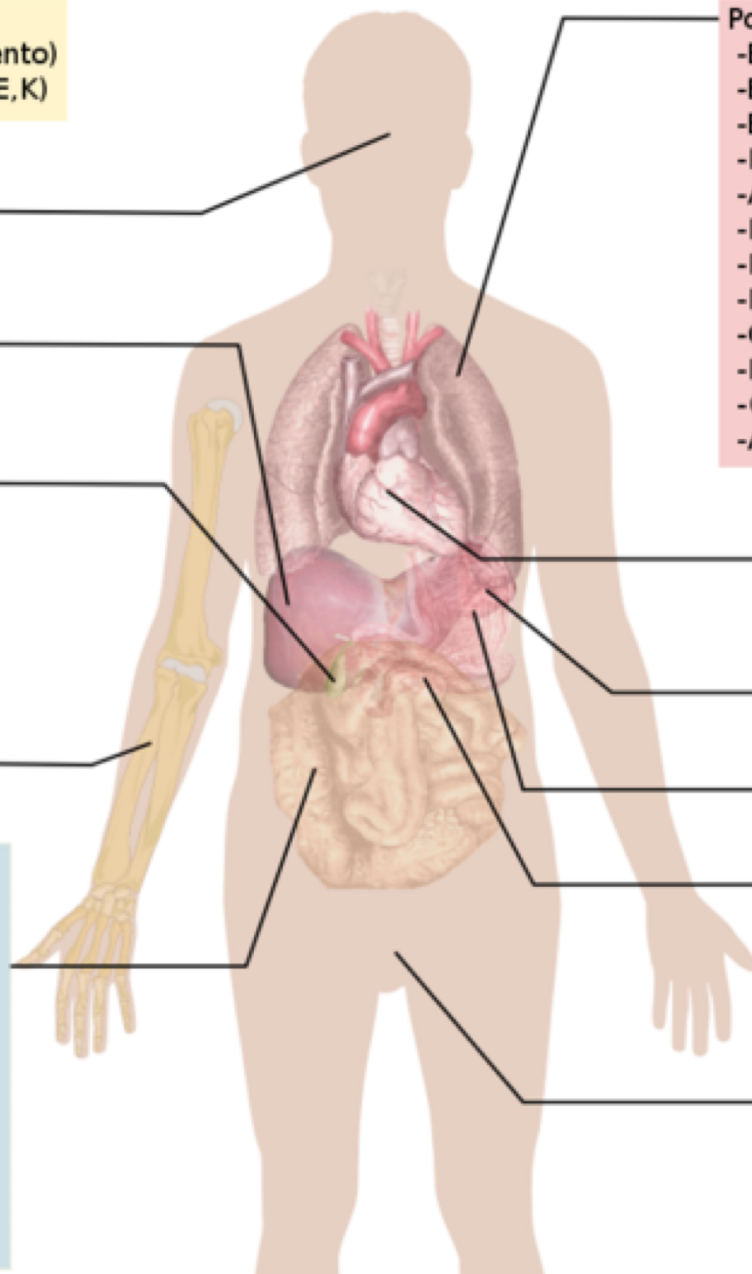
- Malattia da reflusso gastroesofageo

## Pancreas

- Pancreatiti
- Carenza di insulina
- Iperglicemia sintomatica
- Diabete

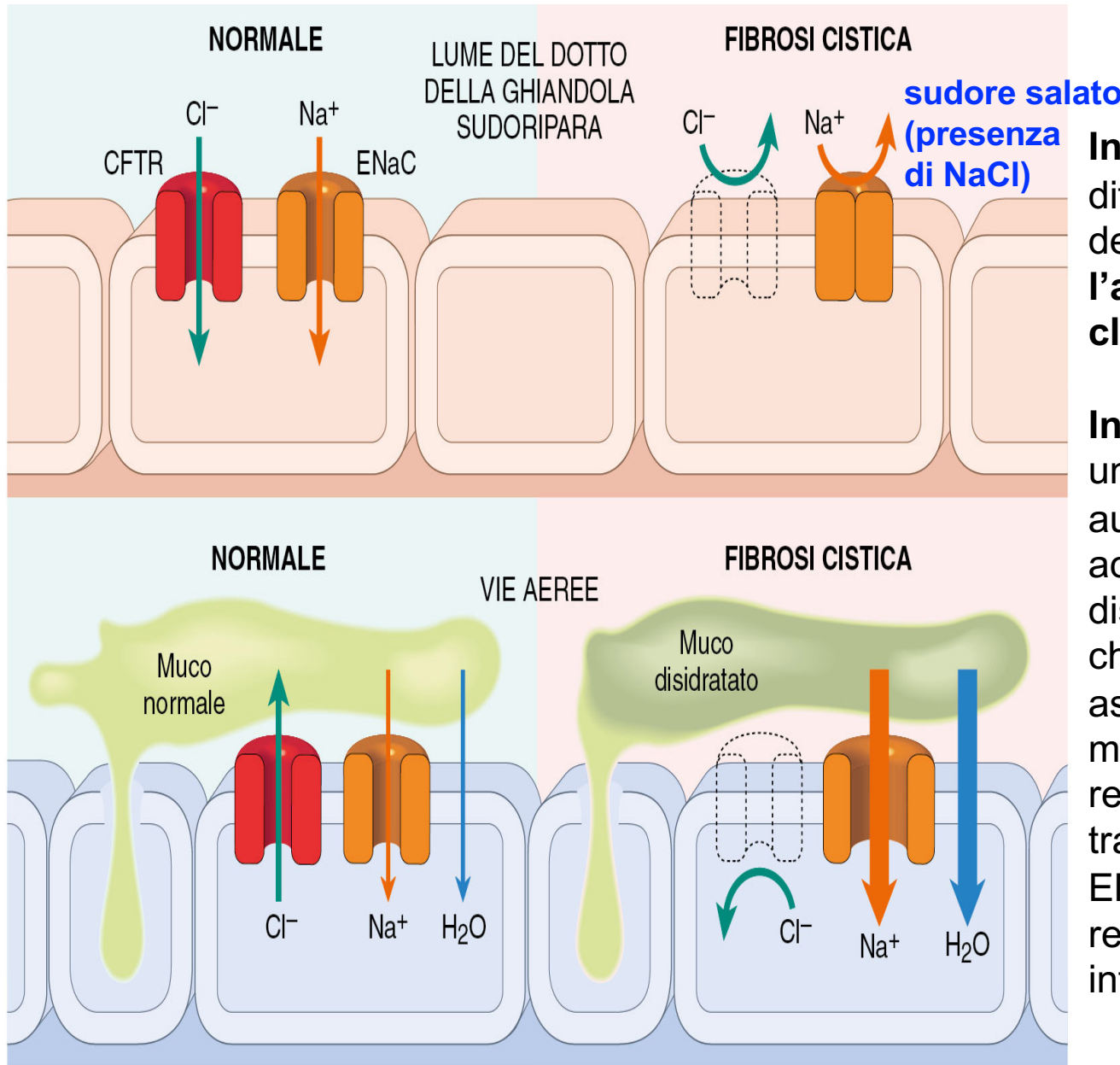
## Apparato riproduttivo

- Infertilità (aspermia, assenza condotti deferenti)
- Amenorrea
- Ritardo della pubertà



# FC: difetto del canale del cloro

Le conseguenze del deficit del trasporto di cloro sono **tessuto-specifiche**



**In alto:** Nella Fibrosi cistica (FC) un difetto del canale del cloro dei dotti delle ghiandole sudoripare causa **l'aumento della concentrazione di cloruro di sodio nel sudore.**

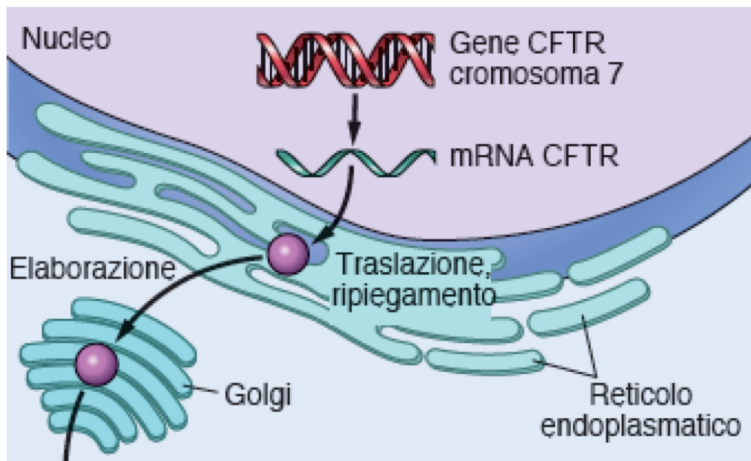
**In basso:** i pazienti con FC hanno una ridotta secrezione di cloro, con aumentato riassorbimento di sodio e acqua nelle vie aeree, che causa la disidratazione dello strato di muco che riveste le cellule epiteliali e si associa a difetto della clearance mucociliare e tappi di muco. CFTR, regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica; ENaC, canale epiteliale del sodio responsabile della conduzione intracellulare di sodio.



# CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator

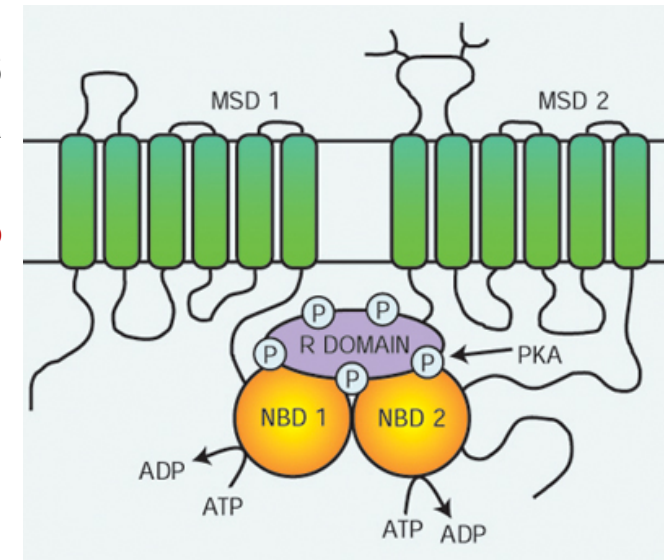
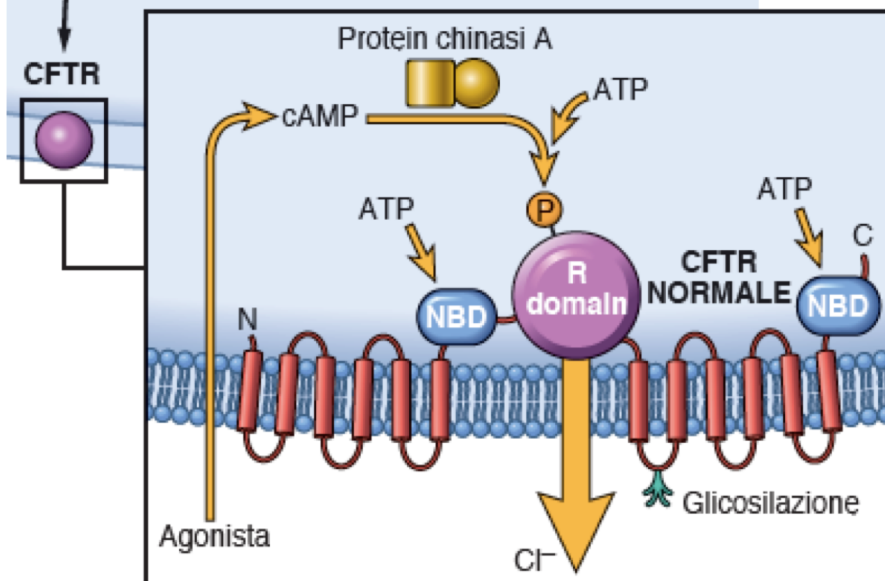
Trasportatore del cloro e del bicarbonato (1480 aa)

**MSD-1 e 2** (Membrane Spanning Domain) ciascuno costituito da 6 segmenti ad  $\alpha$ -elica che attraversano la membrana, collegati da un loop intracellulare. **NBD-1 e -2** (Nucleotide Binding Domain) domini citoplasmatici che legano e idrolizzano ATP. **Dominio regolatorio R**: regola apertura e chiusura del canale mediante fosforilazione.



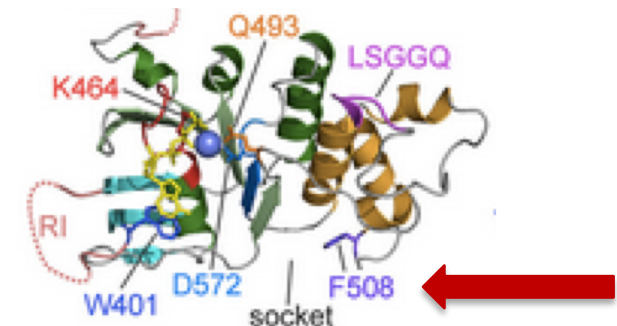
Gene clonato nel 1989.

Identificate >1300 **mutazioni** patogene classificate come **gravi** (con disfunzione assoluta) o **lievi** (con disfunzione parziale) in base al fenotipo clinico.



**Mutazione grave F508del**: Circa il 70% dei malati di FC nel mondo è portatore di questa mutazione. I pazienti **F508del/F508del** hanno insufficienza pancreatica.

**NBD-1**



# Fibrosi cistica: classi di mutazioni di CFTR

Normal	I	II	III	IV	V	VI
CFTR defect	No functional CFTR protein	CFTR trafficking defect	Defective channel regulation	Decreased channel conductance	Reduced synthesis of CFTR	Decreased CFTR stability
Type of mutations	Nonsense; frameshift; canonical splice	Missense; aminoacid deletion	Missense; aminoacid change	Missense; aminoacid change	Splicing defect; missense	Missense; aminoacid change
Specific mutation examples	Gly542X Trp1282X Arg553X 621+1G→T	Phe508del Asn1303Lys Ile507del Arg560Thr	Gly551Asp Gly178Arg Gly551Ser Ser549Asn	Arg117His Arg347Pro Arg117Cys Arg334Trp	3849+10kbC→T 2789+5G→A 3120+1G→A 5T	4326delTC Gln1412X 4279insA

**Classe I: alterata sintesi proteica** - per terminazione prematura/non c'è produzione di proteina (mutante null).

**Classe II: alterazioni del ripiegamento/elaborazione e trasporto proteina** - degradazione precoce/assenza della proteina.

**Classe III: alterata regolazione** - si produce una proteina non funzionante per assenza di legame e idrolisi ATP.

**Classe IV: ridotta conduttanza** - quantità normale di proteina con conduzione ridotta di cloruro (mut nei domini transmembranari).

**Classe V: riduzione quantitativa** - si produce una proteina normale ma in quantità ridotte.

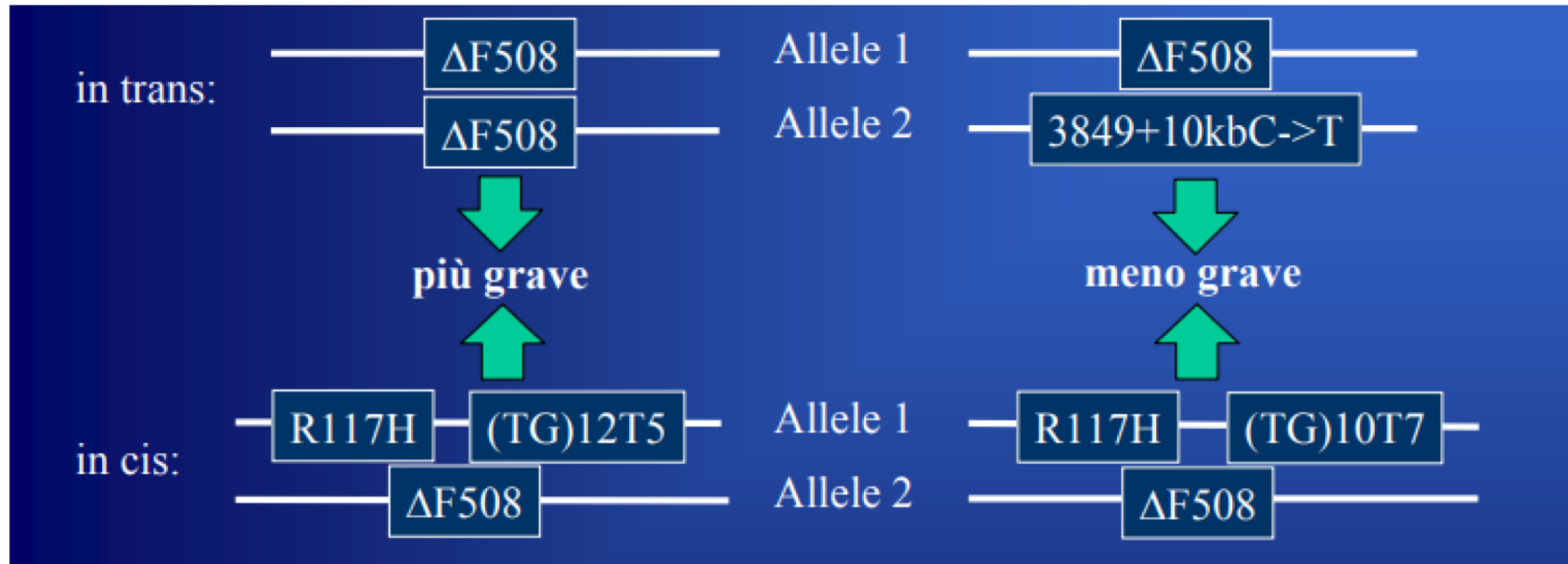
**Classe VI: diminuzione della stabilità in membrana** di proteine mature e funzionali.

In **rosso** le mutazioni gravi (disfunzione assoluta) ed in **blu** le mutazioni lievi (disfunzione parziale)  
(Esempi di espressività variabile)

# Fonti di variabilità fenotipica nella Fibrosi Cistica

**Intrageniche:** combinazioni di diverse mutazioni del CFTR

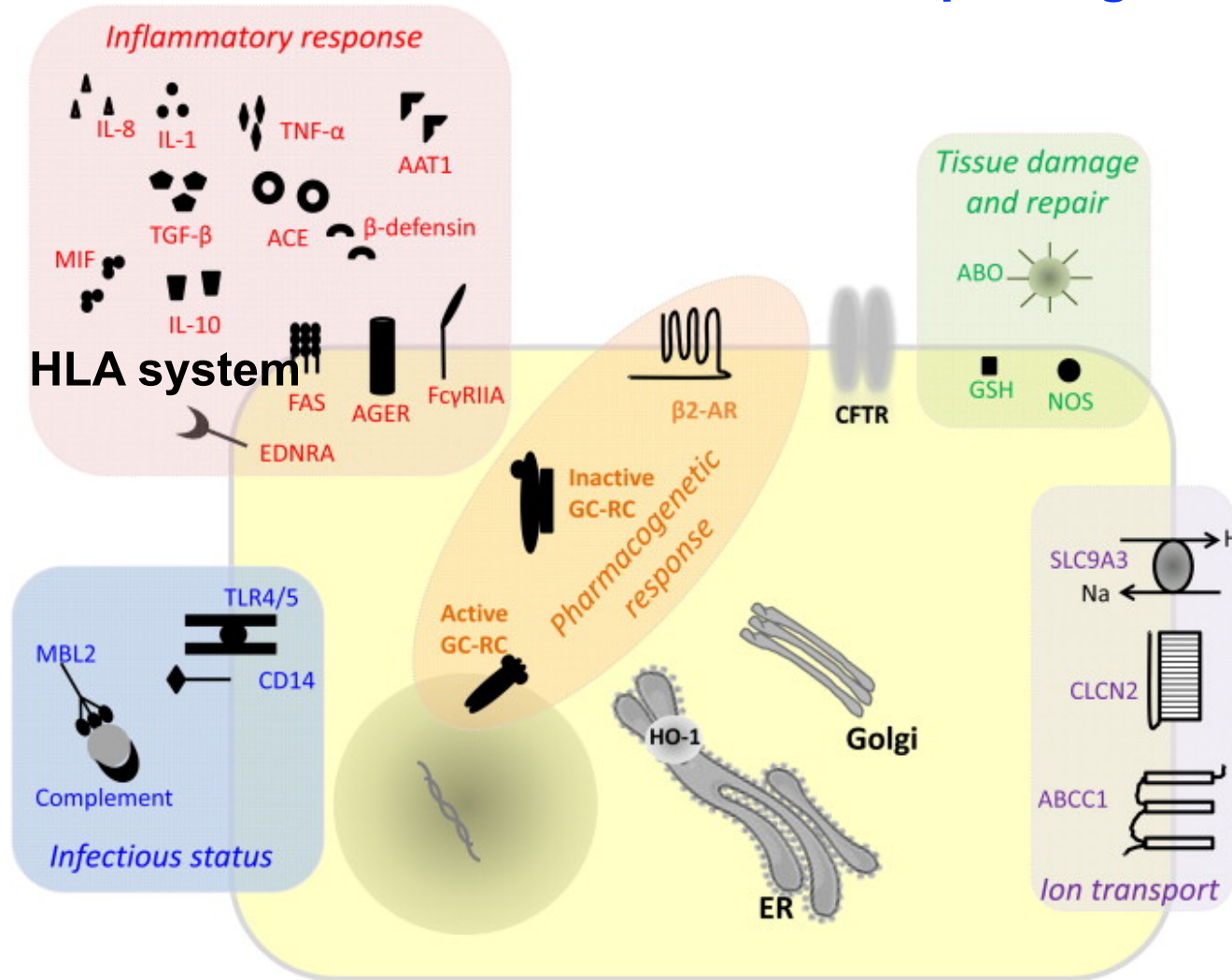
I malati di FC sono spesso eterozigoti composti



**Extrageniche:** effetto di altri geni (diversi dal CFTR) **modificatori** del fenotipo coinvolti nel/la:

- risposta infiammatoria
- stato infettivo
- danno tissutale e riparo
- trasporto ionico
- risposta farmacogenetica

# Geni modificatori associati ai meccanismi fisiopatologici della FC



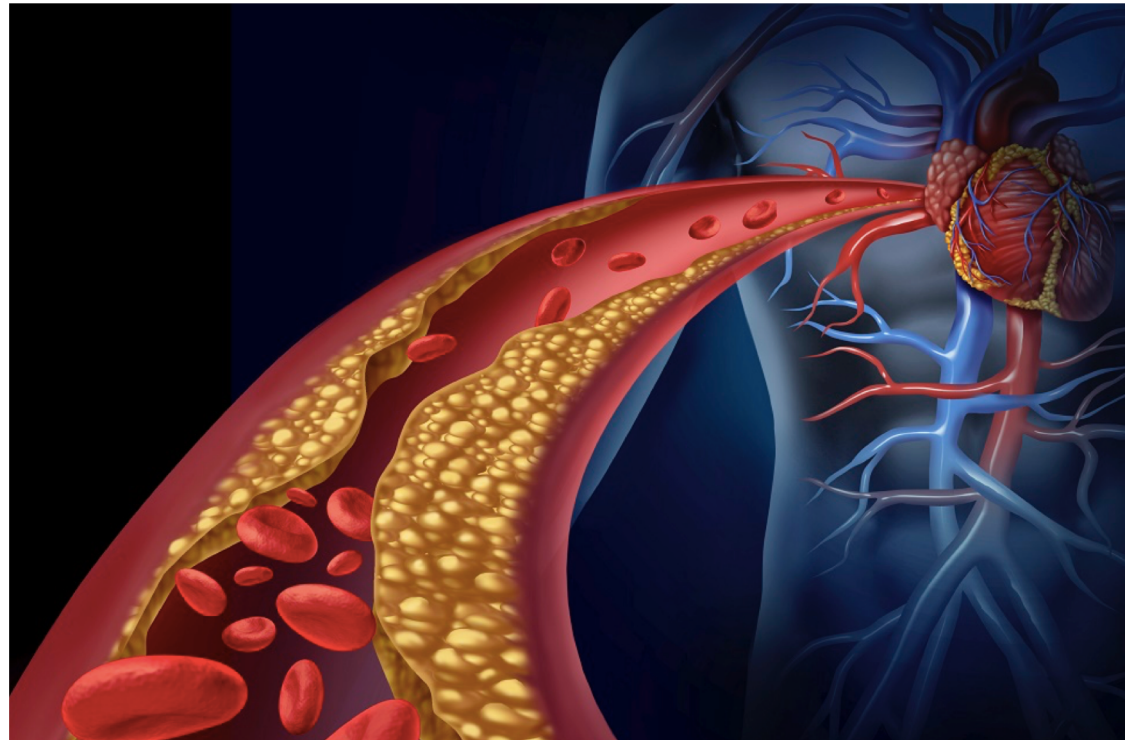
Genes are clustered in the following boxes: Inflammatory response, Infectious response, Tissue damage and repair, Pharmacogenetic response, and Ion transport. TLR, Toll-Like Receptor; **MBL, Mannose-Binding Lectin**; IL, Interleukin; TNF, Tumor Necrosis factor; TGF, Transforming Growth Factor; AAT, alpha-1 antitrypsin; ACE, Angiotensin Converting Enzyme; MIF, Macrophage Migratory Inhibitory Factor; EDNRA, endothelin receptor type A; GC-RC; Glucocorticoid (GC) receptor; GSH: Glutathion; NOS, Nitric Oxyde synthases; CLCN2: Chloride Channel 2; ABCC1: ATP-Binding Cassette, Subfamily C, Member.

# Modulazione dell'espressione fenotipica di una malattia mendeliana

- può essere modificata da altri geni → **GENI MODIFICATORI**
- **ETEROGENEITÀ ALLELICA** fenomeno per il quale mutazioni diverse dello stesso gene portano a fenotipi uguali o molto simili (ma possono comunque generare differenze quantitative e qualitative. es. Fibrosi cistica con e senza insufficienza pancreatica; distrofia di Duchenne e di Becker);

# Ipercolesterolemia Familiare (FH)

- Malattia genetica a **trasmissione autosomica dominante**; è tra le malattie mendeliane più comuni
- **Prevalenza:** 1:500 nella forma eterozigote nella popolazione generale;  
1:1000000 nella forma omozigote

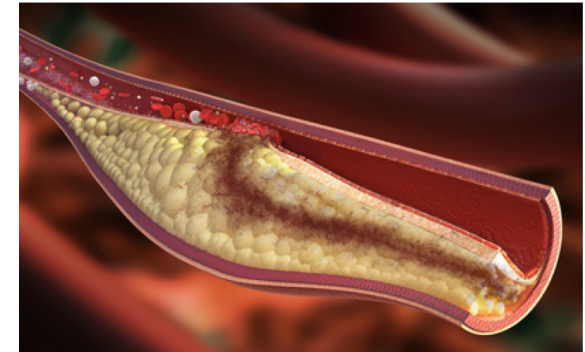


- Causata da mutazioni del **recettore per le lipoproteine a bassa densità LDLR** (80-85% dei casi) o da mutazioni di altri geni (ApoB nel 5-10% dei casi; PCSK9 1-2%; ApoE; LDLRAP1)
- Le LDL (lipoproteine a bassa densità) trasportano il 70% del colesterolo plasmatico

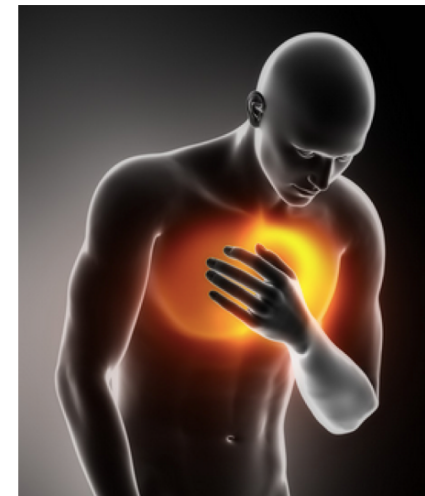
# Ipercolesterolemia familiare (FH)



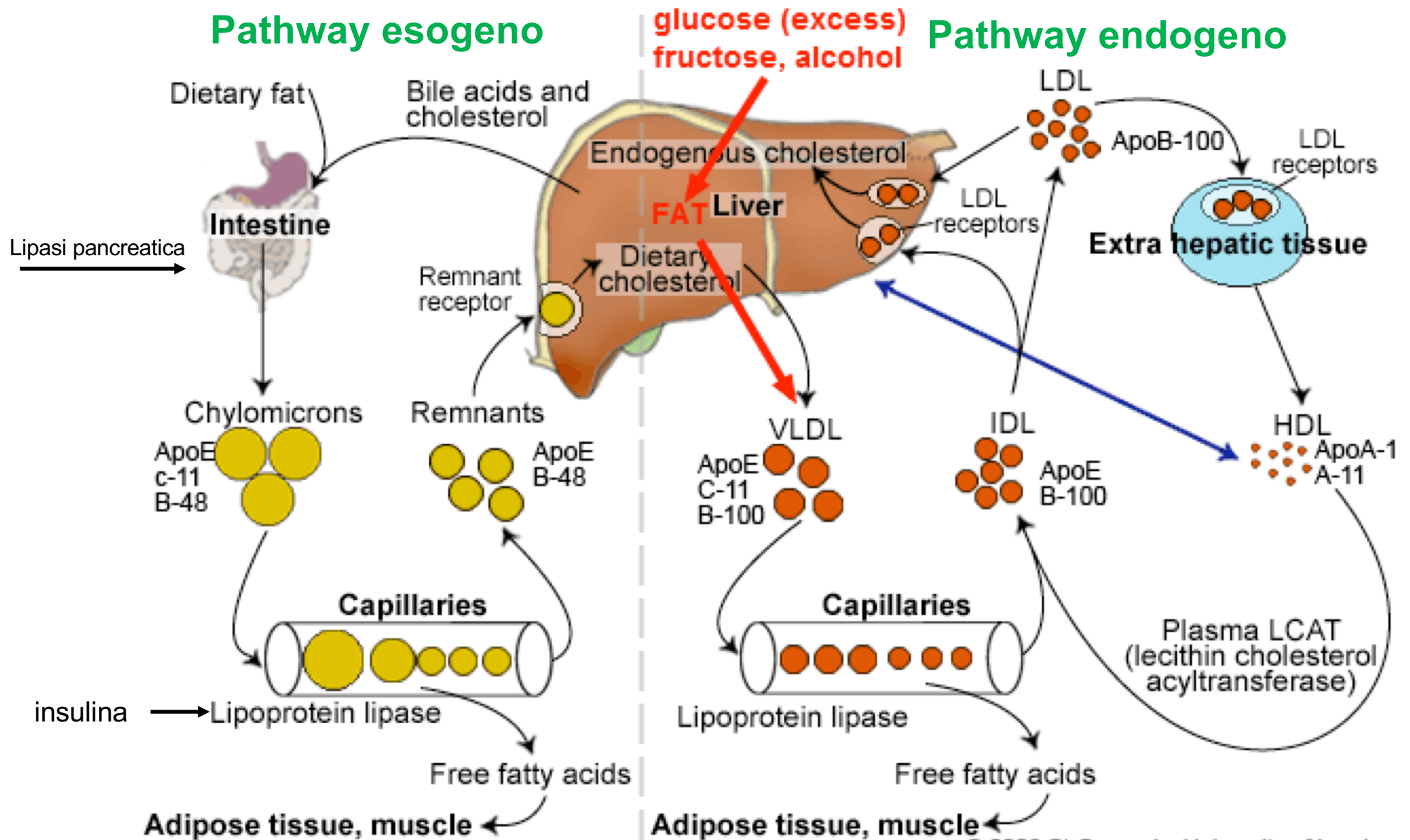
- Le mutazioni del LDLR compromettono il trasporto intracellulare ed il catabolismo delle LDL.
- Negli eterozigoti per mutazioni LDLR la colesterolemia aumenta di 2-3 volte, in quelli omozigoti di 5-6 volte.



- Gli eterozigoti manifestano la malattia in età adulta con comparsa di xantomi (accumulo di lipidi lungo le guaine tendinee) e **complicazioni dell'aterosclerosi (coronaropatie)**.
- Gli omozigoti (rari) manifestano la patologia nell'infanzia con xantomi cutanei e **complicazioni gravi dell'aterosclerosi (cardiopatía ischemica in età giovanile)**

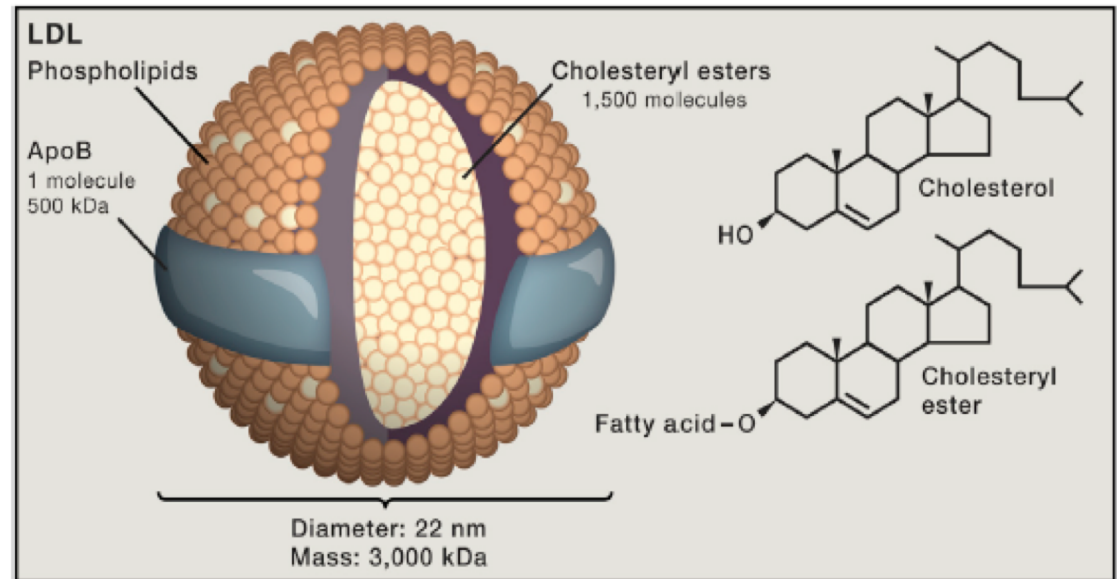
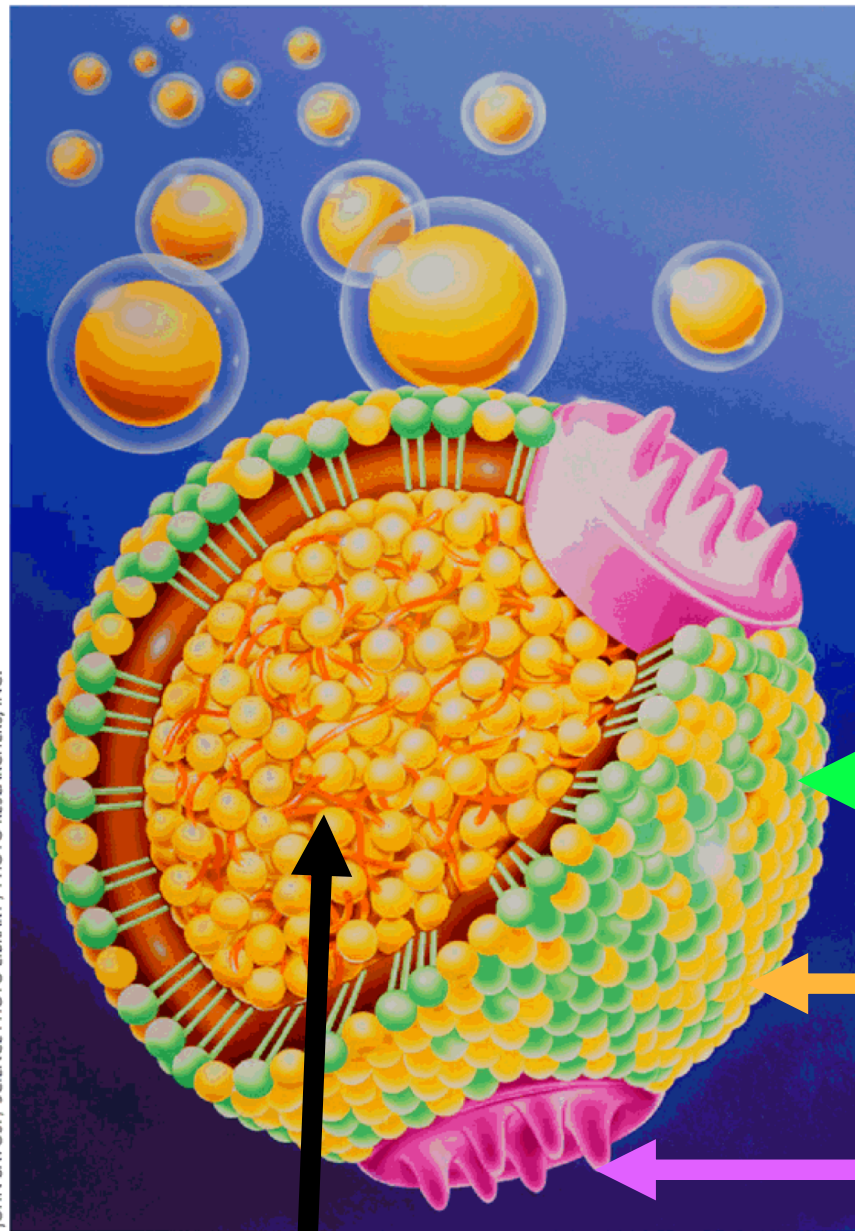


# Principali tappe metaboliche del trasporto del colesterolo e dei trigliceridi nel plasma





# Struttura di una lipoproteina a bassa densità (LDL)



**Fosfolipidi**

**Colesterolo libero**

**Apolipoproteina B-100**

**Esteri del colesterolo e trigliceridi**

**Il recettore per le LDL  
interagisce con ApoB100**



**LDL** lipoproteina a bassa densità (o colesterolo “cattivo”) valore desiderabile <130 mg/dl

- correlazione positiva tra un’alta concentrazione plasmatica di LDL (>130 mg/dl) ed il rischio di patologie cardiovascolari.



**HDL** lipoproteine ad alta densità (o colesterolo “buono”) valore desiderabile >40 mg/dl

- correlazione negativa tra un’alta concentrazione plasmatica di HDL (>60 mg/dl) ed il rischio di patologie cardiovascolari. **Ruolo protettivo**

## I pazienti con ipercolesterolemia familiare hanno alti livelli sierici di LDL

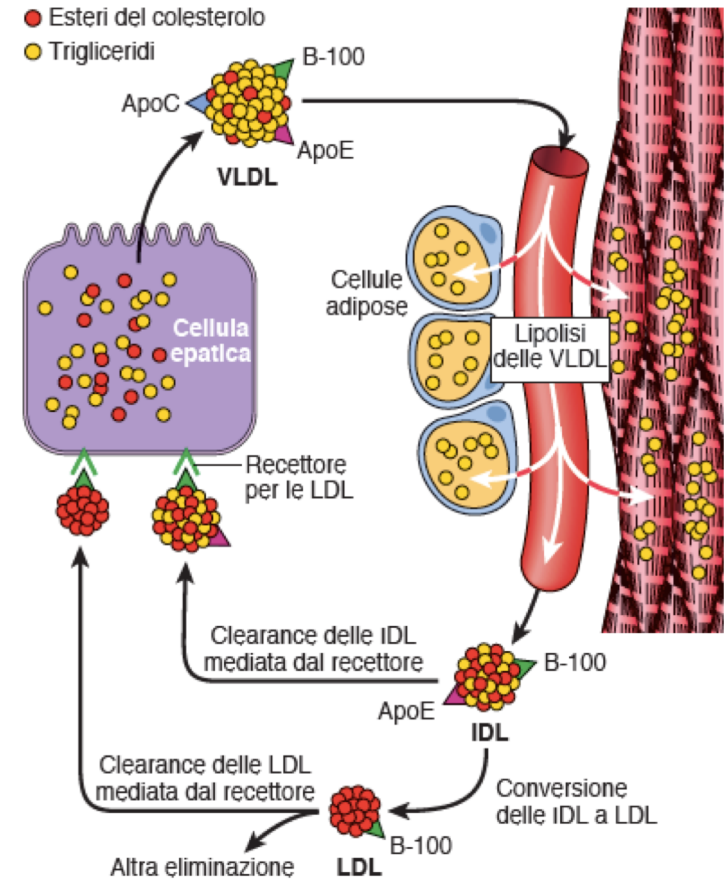
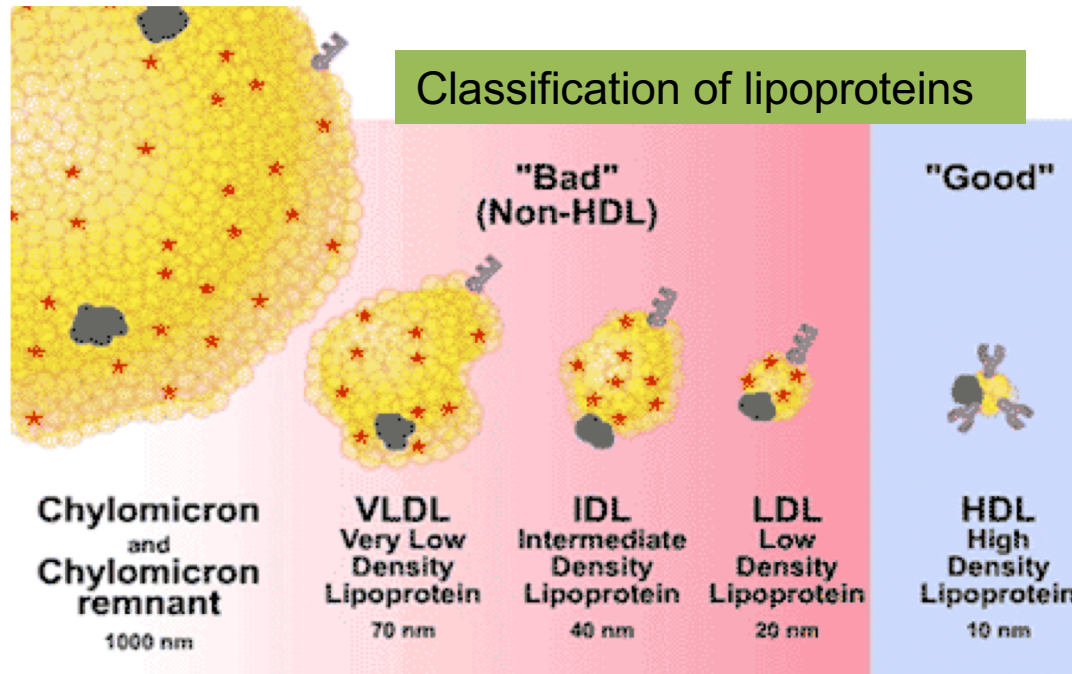


Figura 5.6 Metabolismo della lipoproteina a bassa intensità (LDL) e ruolo del fegato nella sua sintesi e nella sua rimozione. La lipolisi della proteina a bassissima densità (VLDL) mediante lipasi lipoproteica nei capillari libera trigliceridi, che sono quindi immagazzinati in cellule adipose e usati come fonte di energia nei muscoli scheletrici. ApoC, Apolipoproteina C; ApoE, apolipoproteina E; B-100, apolipoproteina B-100 (ApoB); IDL, lipoproteina a media intensità.

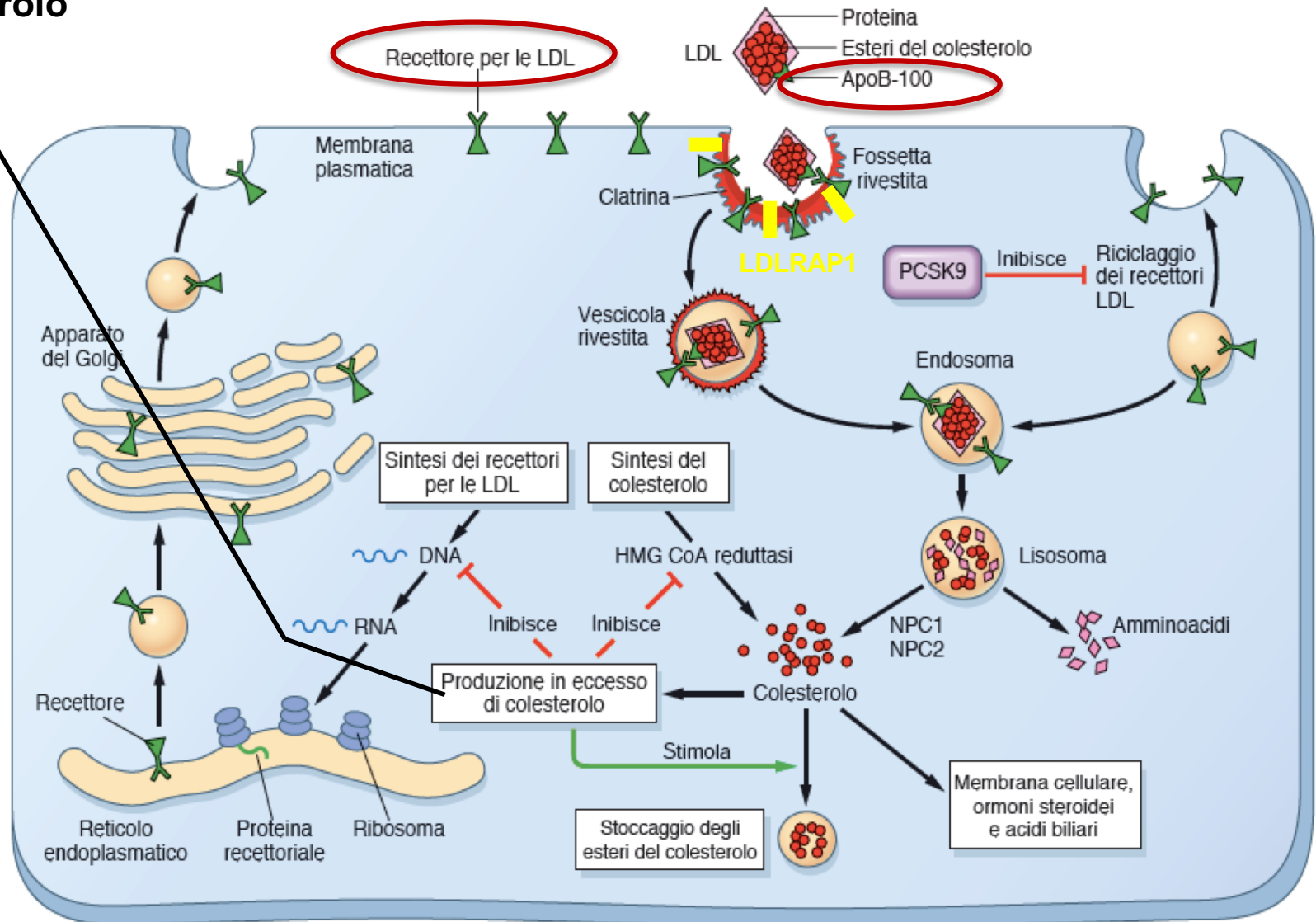
# Recettori per le LDL (LDLR) e regolazione del metabolismo del colesterolo

## Eccesso di colesterolo



induce

1. Inibizione della 3-idrossi-3 metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reduttasi. Diminuisce la sintesi di colesterolo. **HMG-CoA reduttasi è inibita dalle statine (farmaci)**
2. Inibizione della sintesi del recettore LDL
3. Attivazione dell'acil-CoA-aciltransferasi (ACAT o SOAT) ed esterificazione del colesterolo libero
4. Up-regolazione di PCSK9 che riduce il riciclaggio del LDLR



# Recettore LDL

- Il gene è stato clonato nel 1985
- Mappa sul cromosoma 19 e codifica per una proteina di 839 aa
- Sono state identificate >2000 mutazioni di LDLR responsabili della FH

Le mutazioni sono divise in cinque classi:

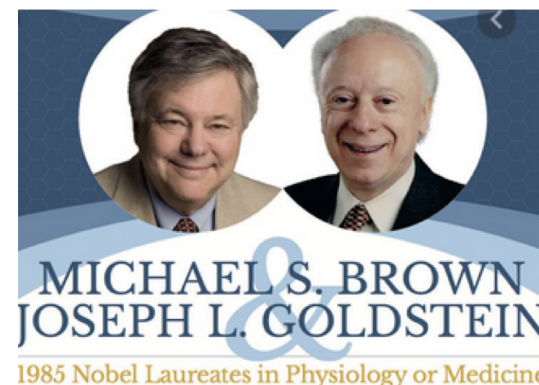
**Classe I** sono molto rare e determinano assenza della sintesi di LDLR;

**Classe II** più diffuse con sintesi ma difetti conformazionali che impediscono il trasporto da RE al Golgi;

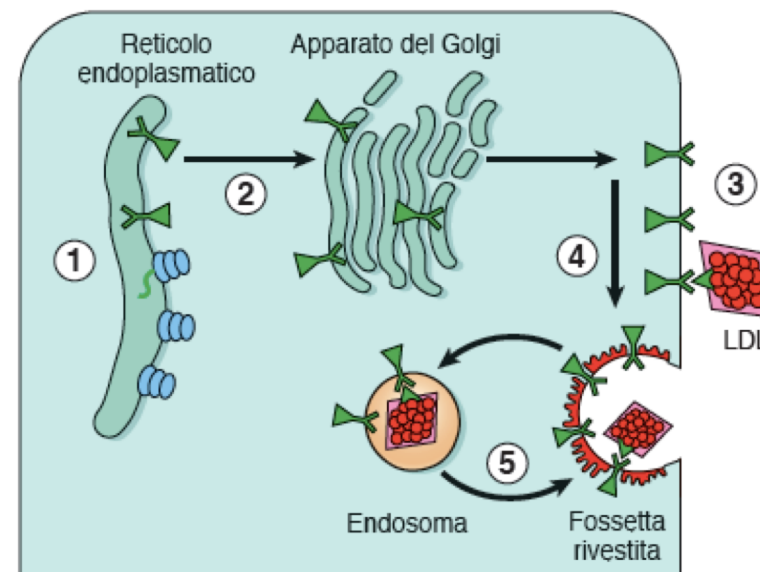
**Classe III** c'è espressione di recettori LDL che non legano correttamente LDL;

**Classe IV** ci sono difetti nell'internalizzazione dei complessi LDL/LDLR mediata da vescicole rivestite di clatrina;

**Classe V** i complessi LDL/LDLR sono internalizzati ma restano intrappolati negli endosomi perché LDL e recettore non si dissociano.



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1985 was awarded jointly to Michael S. Brown and Joseph L. Goldstein "for their discoveries concerning the regulation of cholesterol metabolism."



Classe della mutazione	Sintesi	Trasporto	Legame	Raggruppamento	Riciclaggio
I	X				
II	→	X			
III	→	→	X		
IV	→	→	→	X	
V	→	→	→	→	X

# Aterosclerosi precoce nei soggetti con ipercolesterolemia familiare

L'ateroma è la lesione tipica dell'aterosclerosi

Proliferazione del muscolo liscio, deposizione di collageno e di lipidi extracellulari

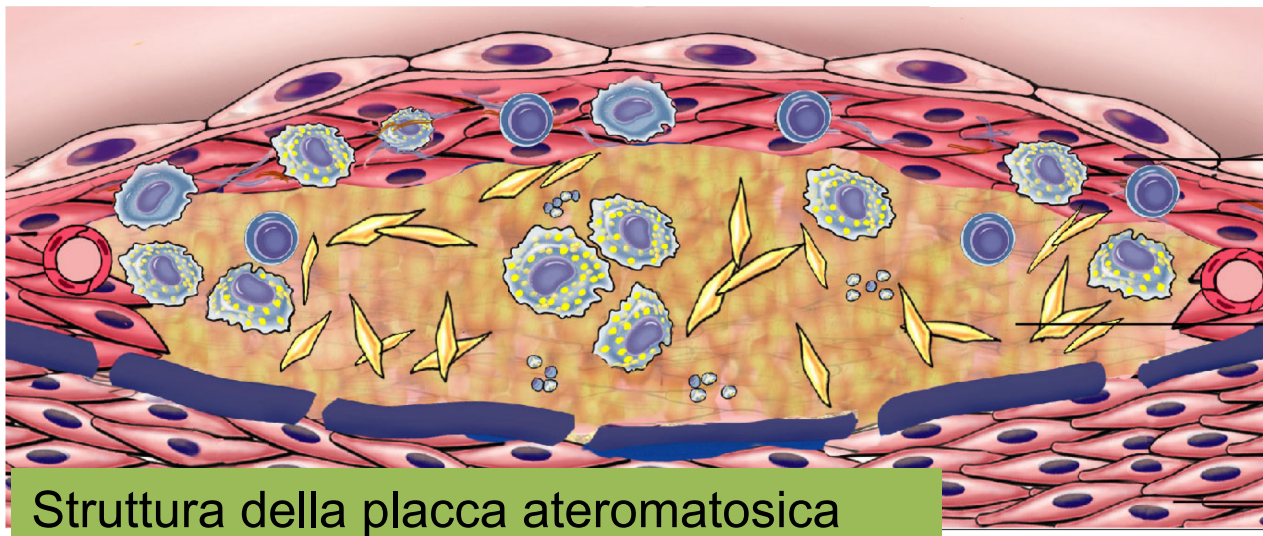
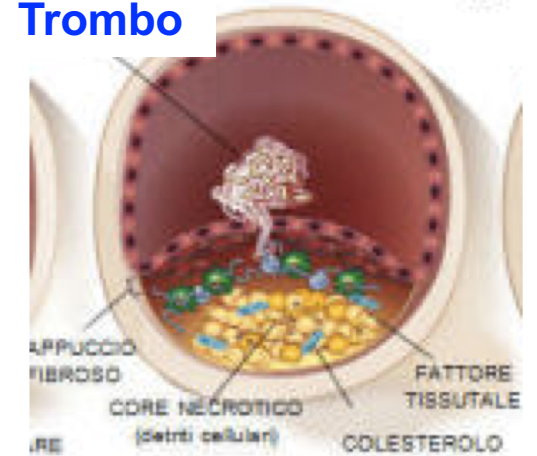


La malattia colpisce le arterie elastiche e muscolari (aorta, coronarie, cerebrali, carotide, mesenteriche e femorali)

**LDL ossidate**



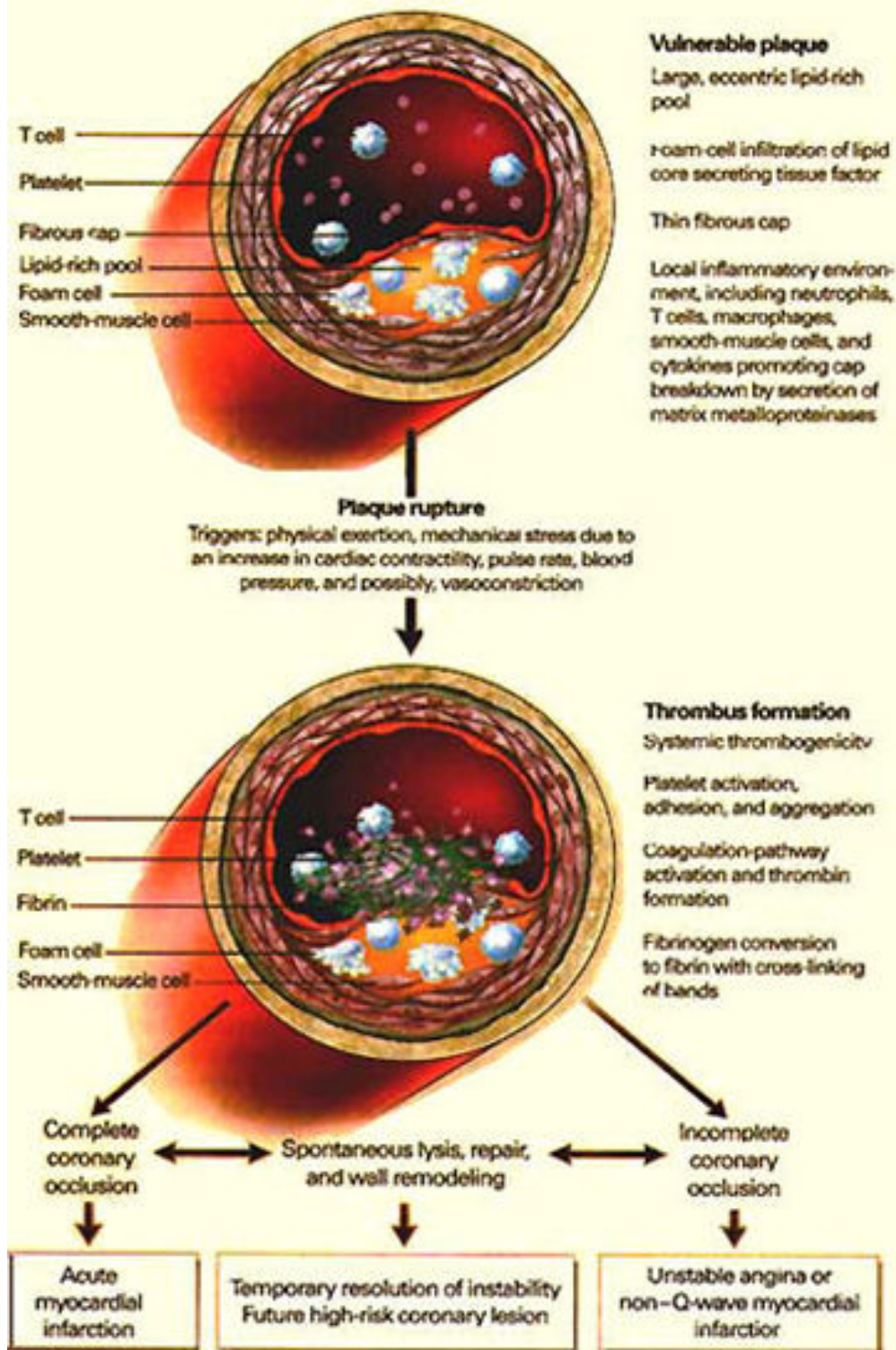
**Trombo**



CAPPUCCIO FIBROSO (cellule muscolari lisce, macrofagi, cellule schiumose, linfociti, collagene, elastina, proteoglicani, angiogenesi)  
 CORE CENTRALE NECROTICO (detriti cellulari, cristalli di colesterolo, cellule schiumose, calcio)

MEDIA

Struttura della placca ateromatosa



Placca instabile



Rottura della placca



Formazione del trombo