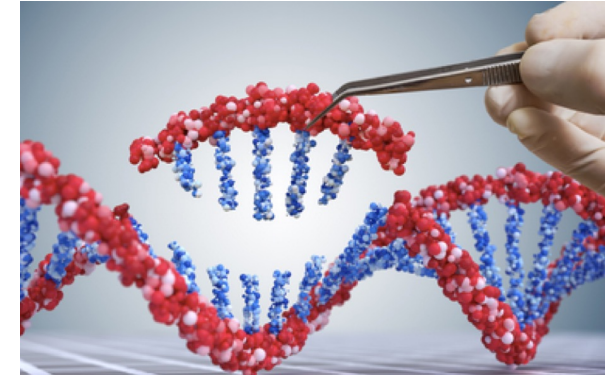
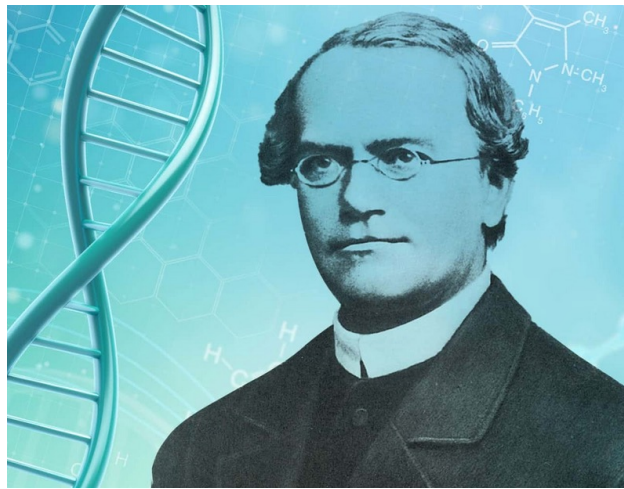
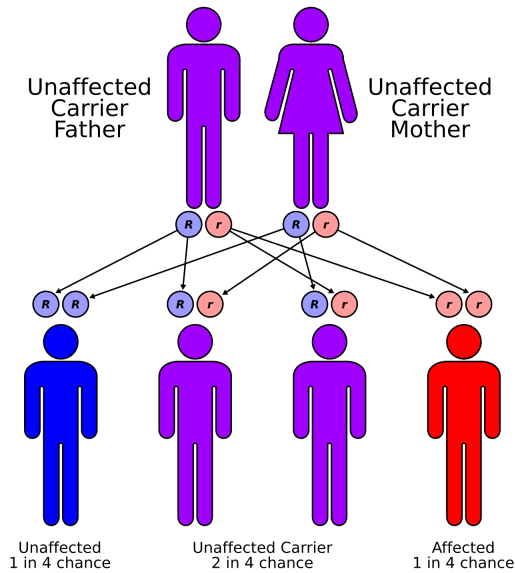


CCQ4JYNE
SCIENZE BIOLOGICHE
(30857)

PATOLOGIA GENERALE
(1019206)



Malattie mendeliane o malattie monogeniche



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** mutazioni gene della **distrofina** più di 2,4 megabasi (proteina 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.

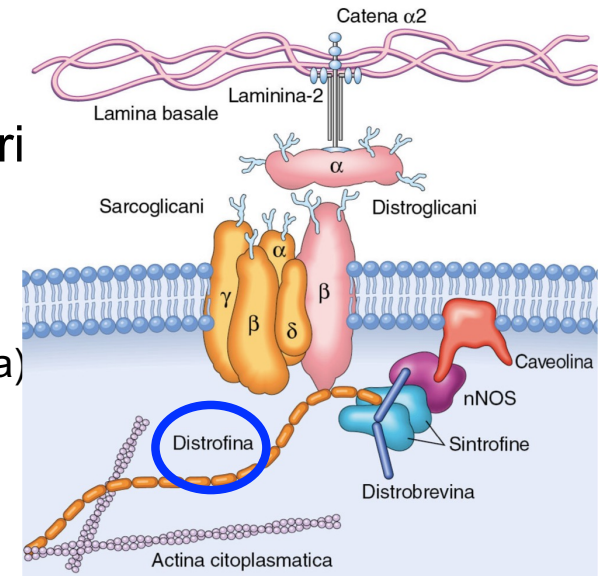
Nel genoma umano ci sono circa 20.000 geni.

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 mutazione è:
 - **dominante**: se il fenotipo è clinicamente manifesto con 1 allele mutato
 - **recessiva**: se il fenotipo è clinicamente manifesto con 2 alleli mutati (omozigote o eterozigote composto)

Le malattie mendeliane possono essere:

- Autosomiche dominanti (es. Ipercolesterolemia Familiare)
- Autosomiche recessive (es. Fibrosi cistica)
- Sex-Linked (**X-linked**) (es. Distrofia muscolare di Duchenne/Becker, Emofilia A)

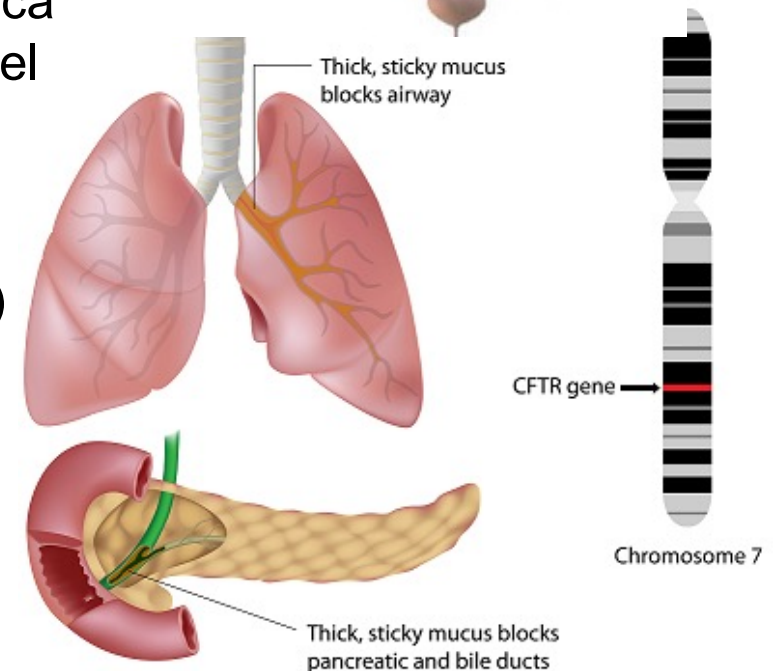
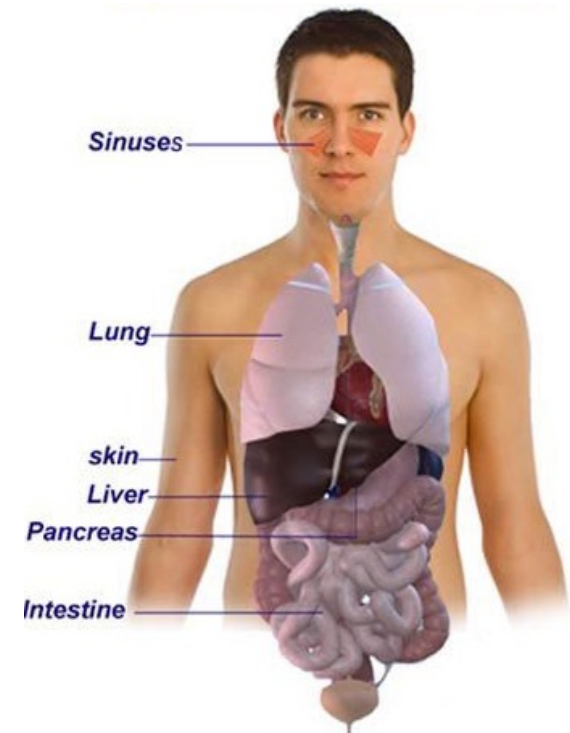
Basi biochimiche e trasmissioni ereditarie di alcune patologie mendeliane

Patologia	Proteina patologica	Tipo/Funzione della proteina
Trasmissione autosomica dominante		
Ipercolesterolemia familiare	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
Trasmissione autosomica recessiva		
Fibrosi cistica	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 α e β^*	Emoglobina	Trasporto di ossigeno
Anemia falciforme*	Emoglobina	Trasporto di ossigeno
Trasmissione recessiva legata all'X		
Emofilia A	Fattore VIII	Coagulazione
Distrofia muscolare di Duchenne/Becker	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** (Cl^- e del bicarbonato HCO_3^-) che mappa sul **cromosoma 7**
- Elevato numero di varianti fenotipiche (mutazioni diverse del gene CFTR ed, inoltre, 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
- Ittero 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

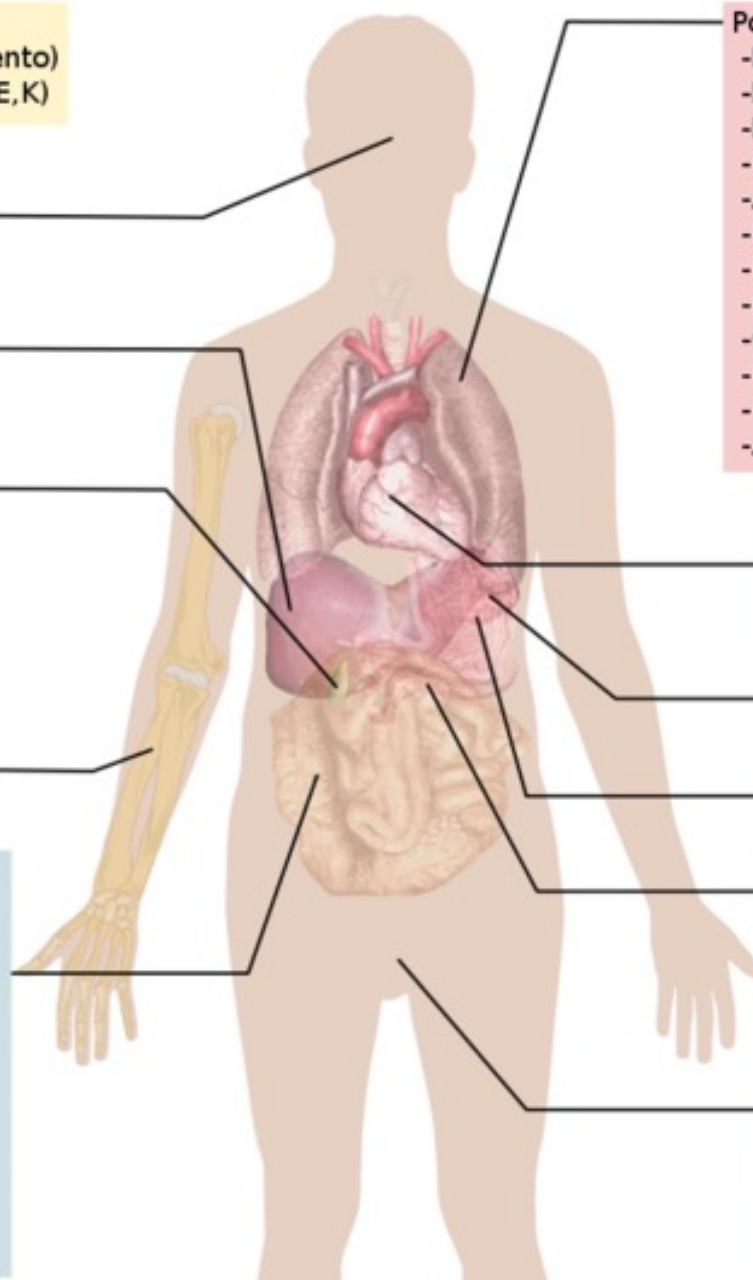
- Malattia da reflusso gastroesofageo

Pancreas

- Pancreatiti
- Carenza di insulina
- Iperglicemia sintomatica
- Diabete

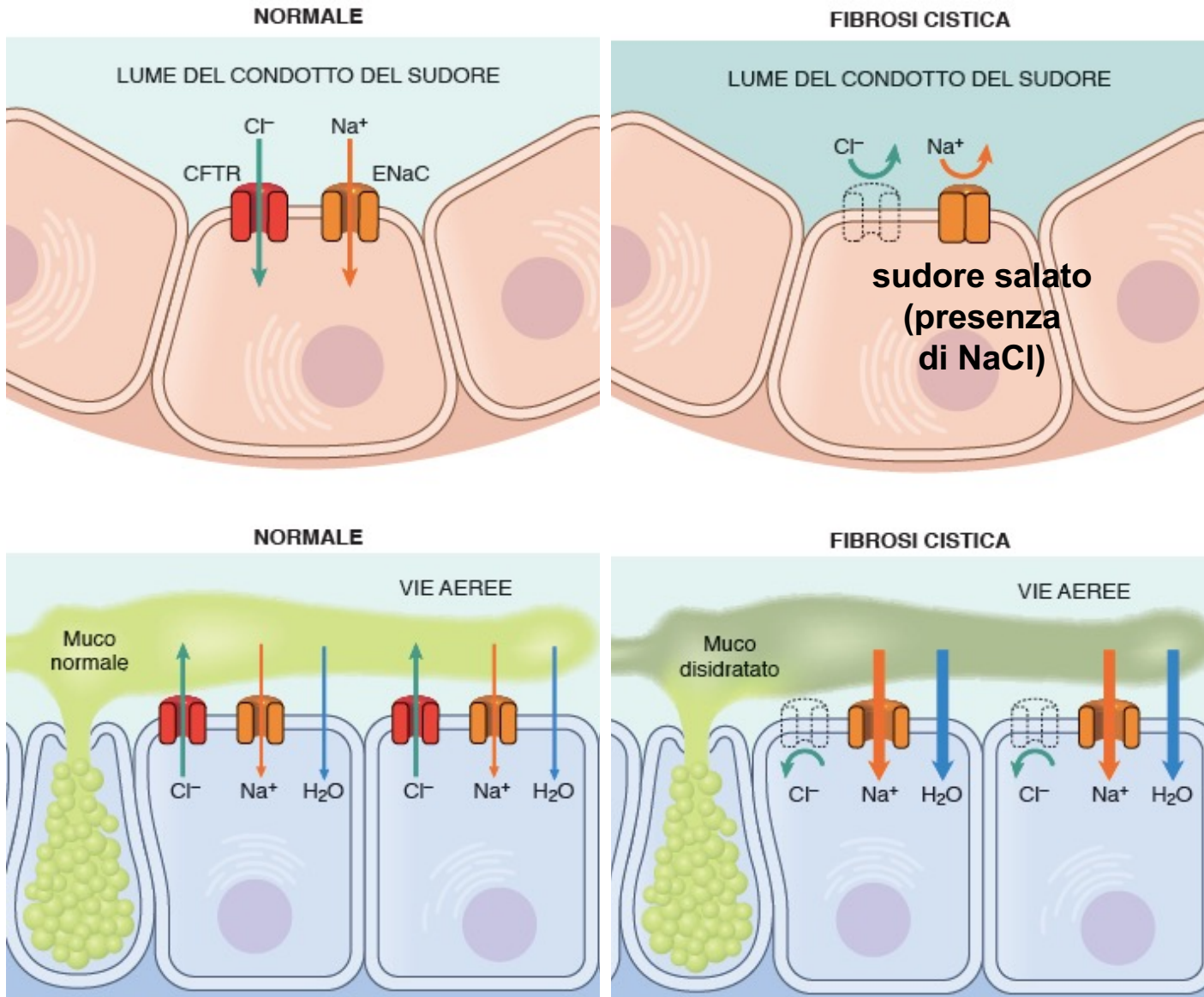
Apparato riproduttivo

- 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 deficit dell'attività mucociliare e tappi di muco.

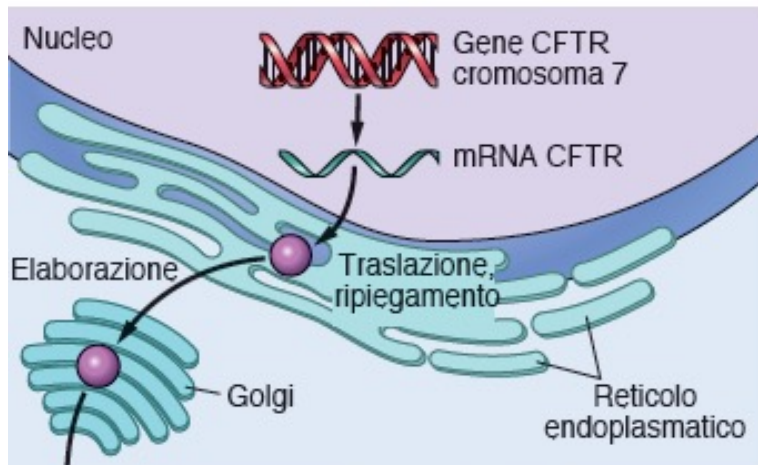
CFTR, regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica; ENaC, canale epiteliale del sodio responsabile della conduzione intracellulare di sodio.

CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator

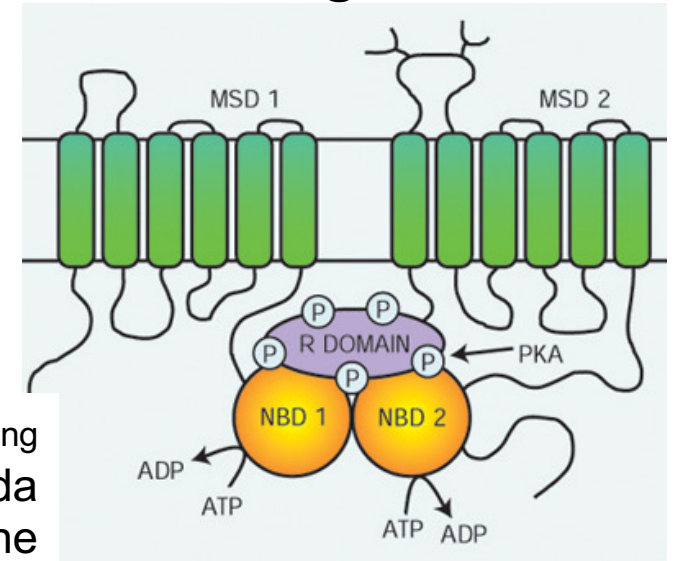
Trasportatore del cloro e del bicarbonato (1480 aa)

Gene clonato nel 1989.

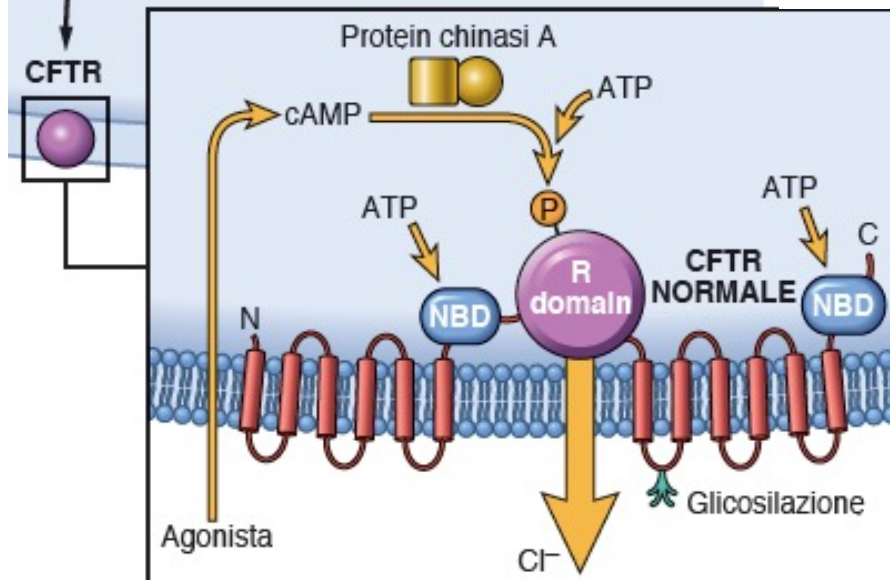
Identificate >1300 **mutazioni** patogene classificate come **gravi** (con disfunzione assoluta) o **lievi** (con disfunzione parziale) in base al fenotipo clinico.



MSD-1 e 2 (Membrane Spanning Domain) ciascuno costituito da 6 segmenti ad α -elica che attraversano la membrana, collegati da loop intracellulari.

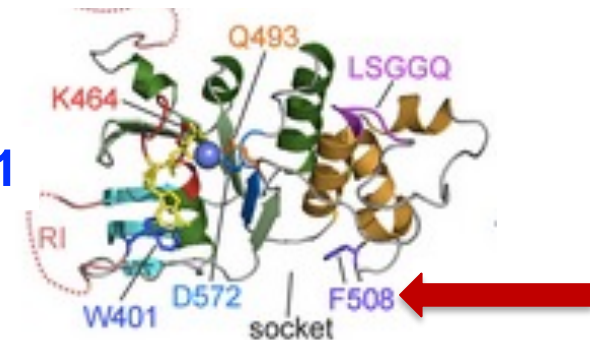


NBD-1 e -2 (Nucleotide Binding Domain) domini citoplasmatici che legano e idrolizzano ATP. **Dominio regolatorio R:** regola apertura e chiusura del canale mediante fosforilazione.

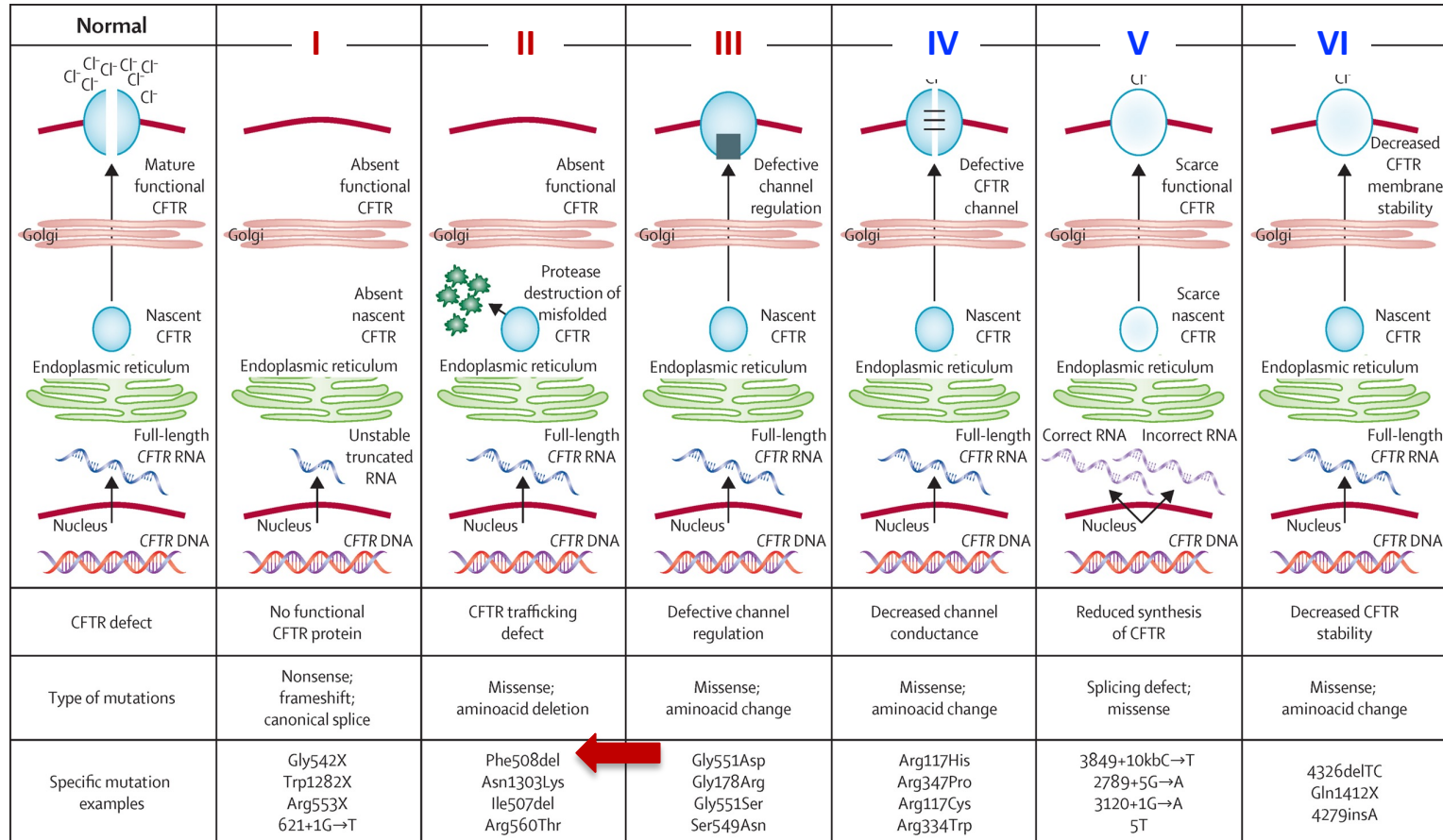


Mutazione grave F508del: Circa il 70% dei malati di FC nel mondo è portatore di questa mutazione. I pazienti **F508del/F508del** hanno insufficienza pancreatica.

NBD-1



Fibrosi cistica: classi di mutazioni di CFTR



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- attività <10%) ed in **blu** le mutazioni lievi (disfunzione parziale-attività<20%) (Esempi di espressività variabile)

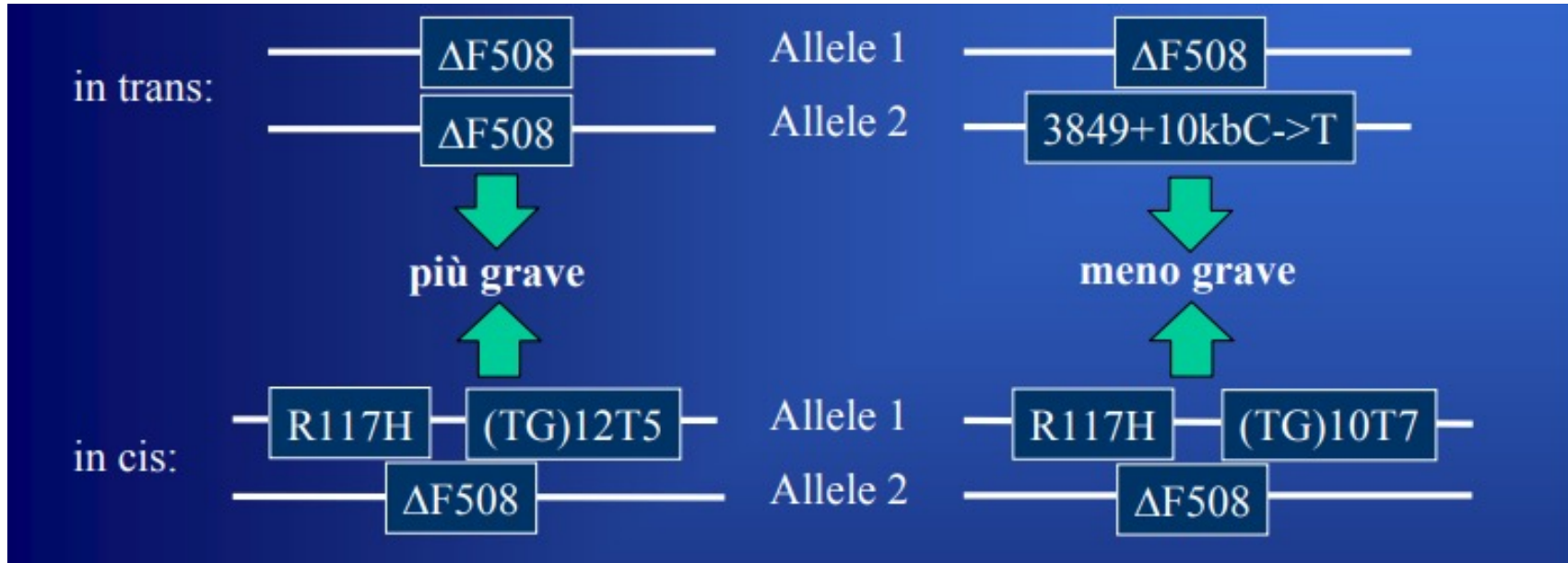
Fibrosi cistica: diverse manifestazioni cliniche causate da mutazioni di CFTR da quelle più gravi a quelle asintomatiche

Livello della funzione CFTR	<5%	<10%	<20%	50%
Cavità nasali	Sinusite cronica grave	Sinusite cronica moderata	Percentuale aumentata di sinusite cronica	
Polmoni	Malattia polmonare grave	Malattia polmonare variabile	Percentuale aumentata di malattia polmonare	
Ghiandole sudoripare	Elevata percentuale di cloro nel sudore	Percentuale intermedia di cloro nel sudore		
Pancreas	Insufficienza pancreatica	Sufficienza pancreatica		
Intestino	Ileo da meconio	Sindrome da ostruzione intestinale distale		
Dotti deferenti	Assenza dei dotti deferenti		Maggiore rischio di assenza dei dotti deferenti	

Fonti di variabilità fenotipica nella Fibrosi Cistica

Intrageniche: combinazioni di diverse mutazioni del CFTR

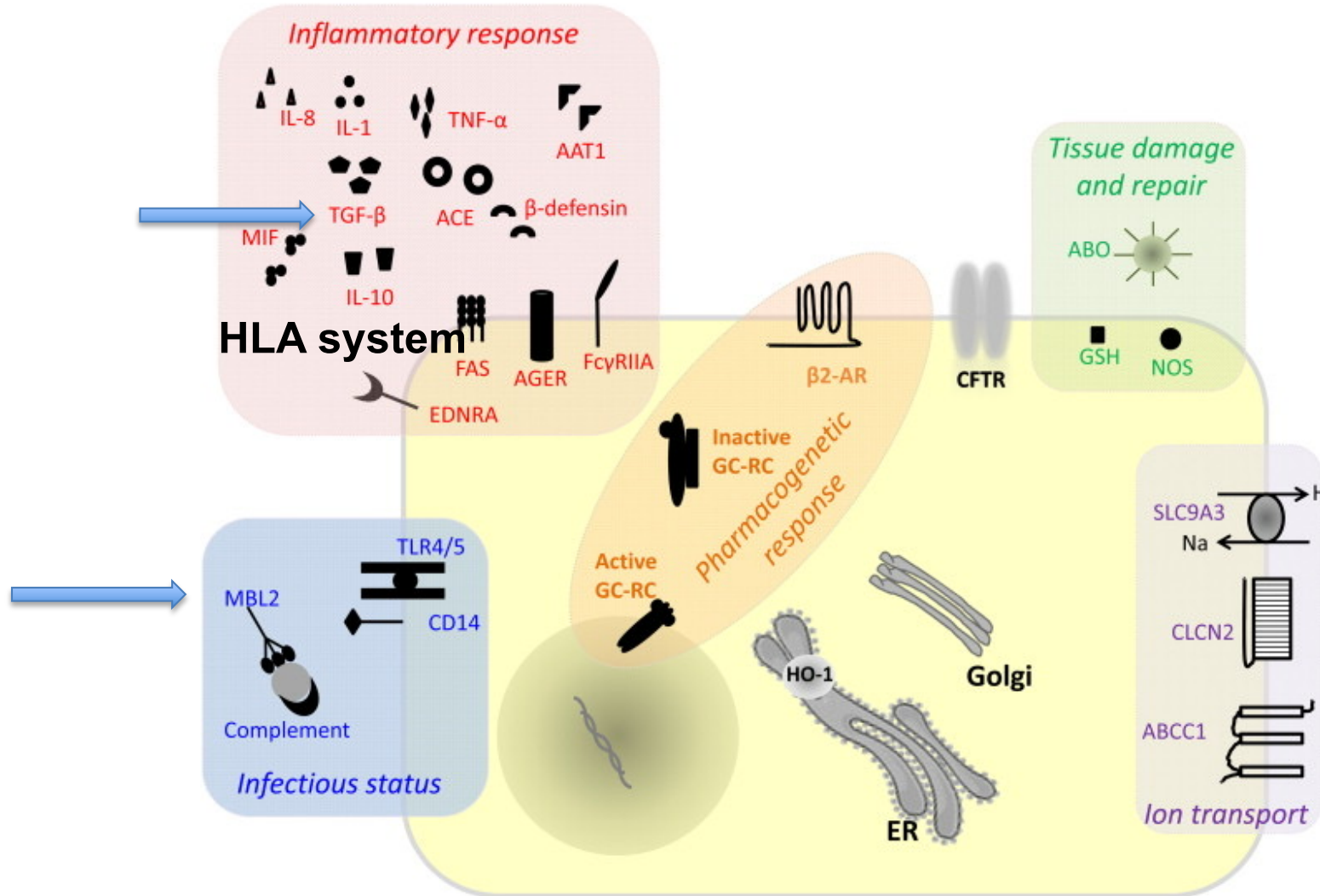
I malati di FC sono spesso **eterozigoti composti**



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

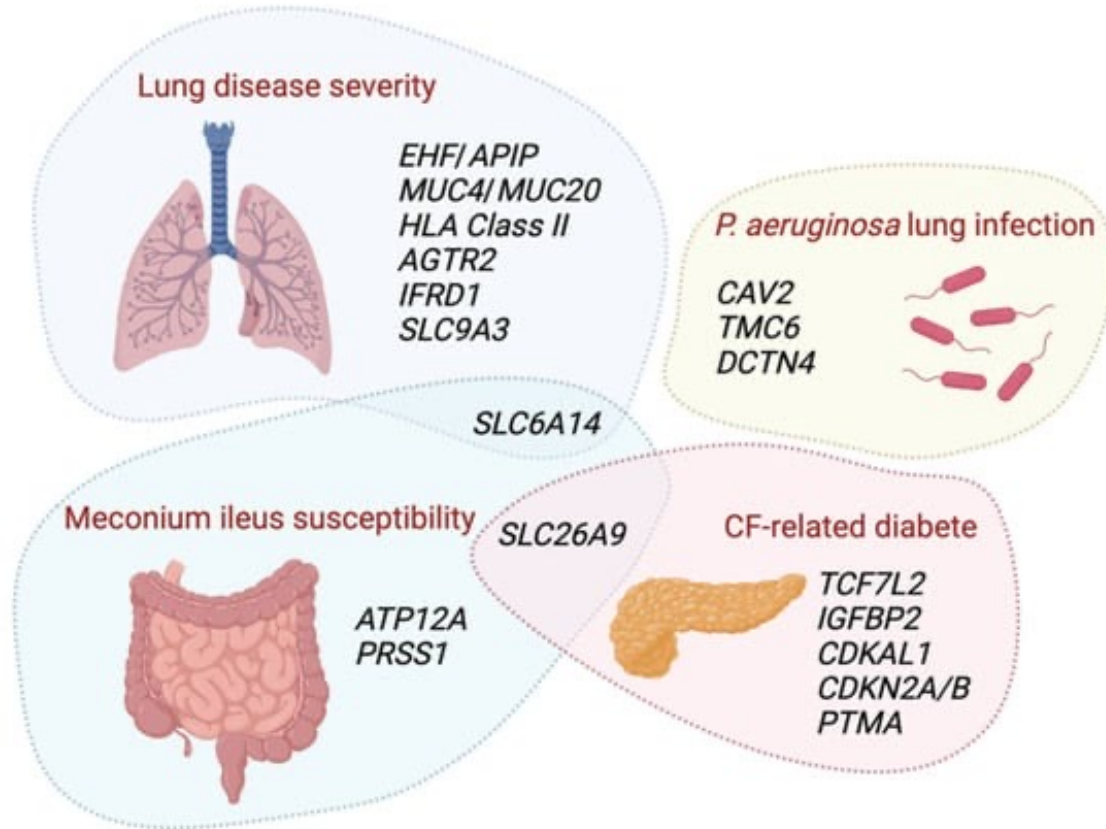
- risposta infiammatoria
- stato infettivo
- danno tissutale e riparo
- trasporto ionico
- risposta farmacogenetica

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.

Geni modificatori associati ai meccanismi fisiopatologici della FC



'Geni modificatori' dei tratti fenotipici della fibrosi cistica (FC). Rappresentazione schematica dei geni identificati mediante studi di associazione a livello del genoma (GWAS) e sequenziamento dell'intero esoma (WES) associati all'eterogeneità delle complicanze della FC (gravità della malattia polmonare, infezione polmonare da *Pseudomonas aeruginosa*, suscettibilità all'ileo da meconio e diabete correlato alla FC).

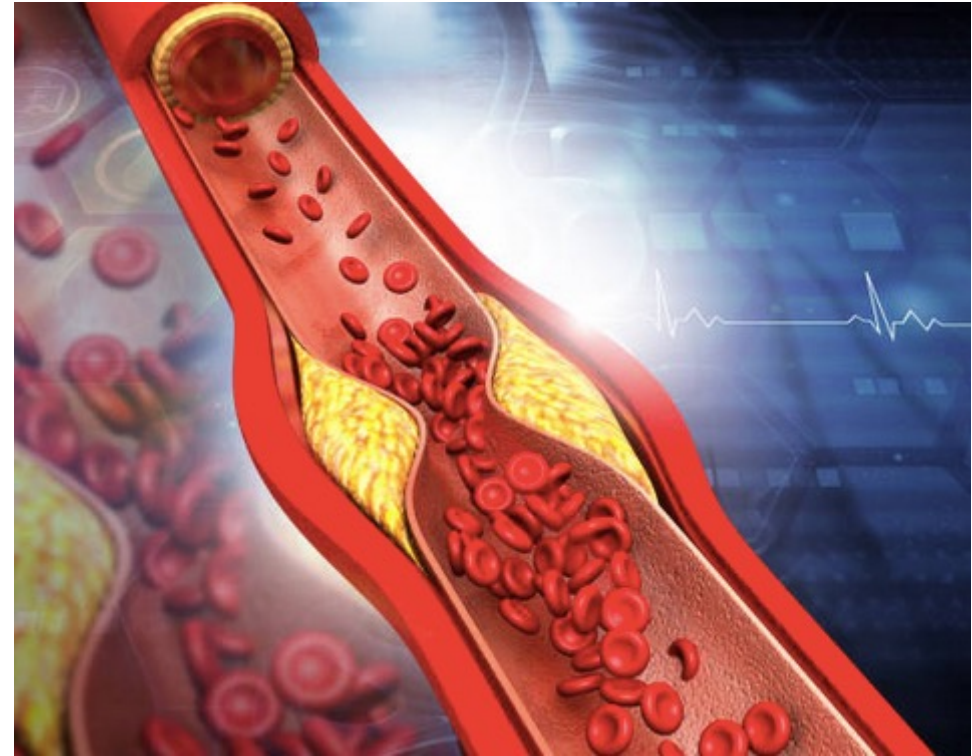
Abbreviazioni (alfabetico ordine): angiotensin II receptor type 2 (AGTR2), Apaf-1 interacting protein (APIP), ATPase H⁺/K⁺ transporting non-gastric alpha2 subunit (ATP12A), Caveolin 2 (CAV2), class II major histocompatibility complex (HLA Class II), cyclin dependent kinase 5 regulatory associated protein 1-like 1 (CDKAL1), cyclin dependent kinase inhibitor 2A/B (CDKN2A/B), Dynactin subunit 4 (DCTN4), Ets Homologous Factor (EHF), Interferon Related Developmental Regulator 1 (IFRD1), insulin-like growth factor-binding protein 2 (IGFBP2), mucin 4 (MUC4), mucin 20 (MUC20), prothymosin alpha (PTMA), serine protease 1 (PRSS1), solute carrier family 26 member 9 (SLC26A9), solute carrier family 6 member 14 (SLC6A14), solute carrier family 9 member A3 (SLC9A3), transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) and Transmembrane channel like 6 (TMC6).

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:** 1:250-1:500 nella forma eterozigote nella popolazione generale; 1:1000000 nella forma omozigote

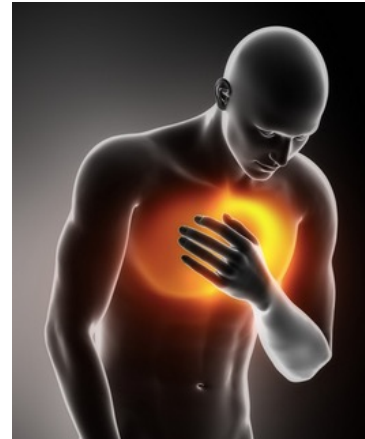


- Causata da mutazioni del **recettore per le lipoproteine a bassa densità LDLR** (80-85% dei casi) o da mutazioni di altri geni (**ApoB** nel 5-10% dei casi; **PCSK9** 1-2%; **ApoE**; **LDLRAP1**) esempio di **eterogeneità genetica**
- Le LDL (lipoproteine a bassa densità) trasportano il 70% del colesterolo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

Ipercolesterolemia familiare (FH)



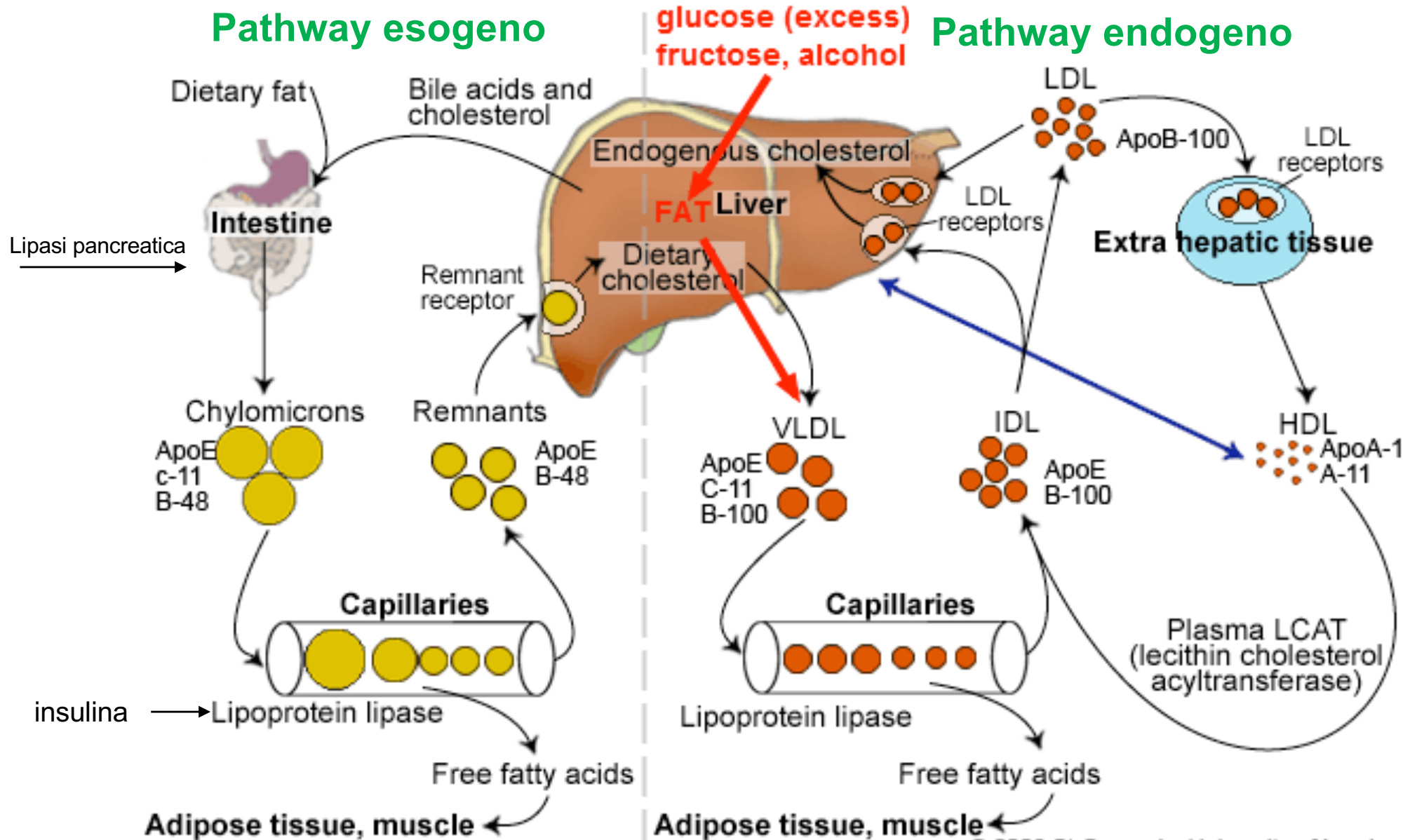
- Le mutazioni del LDLR compromettono il trasporto intracellulare ed il catabolismo delle LDL.
- Negli eterozigoti per mutazioni LDLR la colesterolemia aumenta di 2-3 volte, in quelli omozigoti di 5-6 volte.



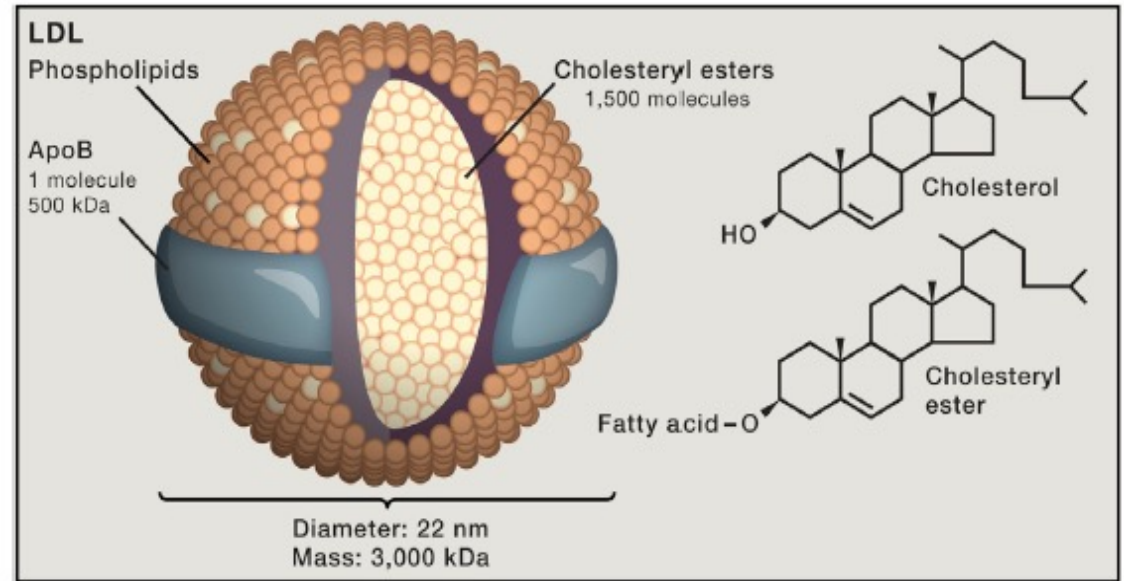
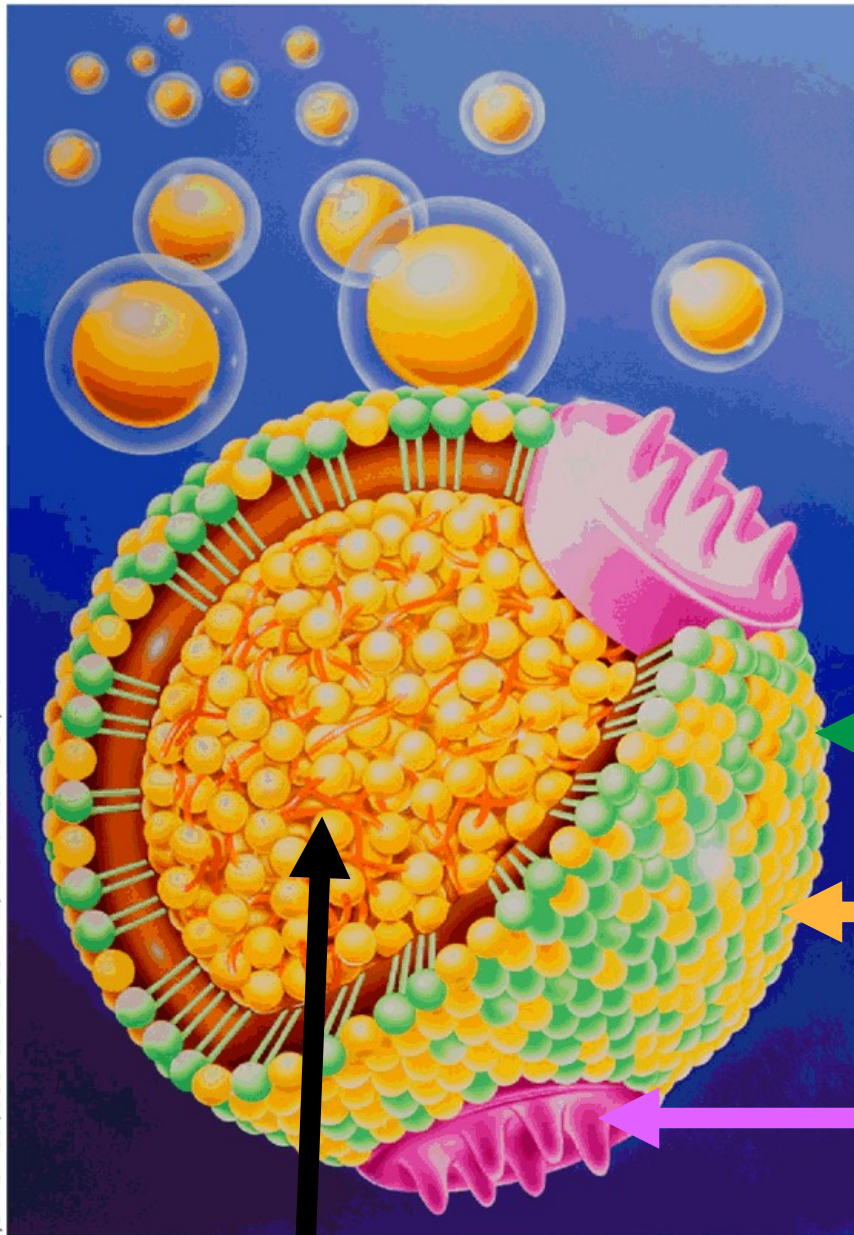
- Gli eterozigoti manifestano la malattia in età adulta con comparsa di xantomi (accumulo di lipidi lungo le guaine tendinee) e **complicazioni dell'aterosclerosi (coronaropatie)**.
- Gli omozigoti (rari) manifestano la patologia nell'infanzia con xantomi cutanei e **complicazioni gravi dell'aterosclerosi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



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

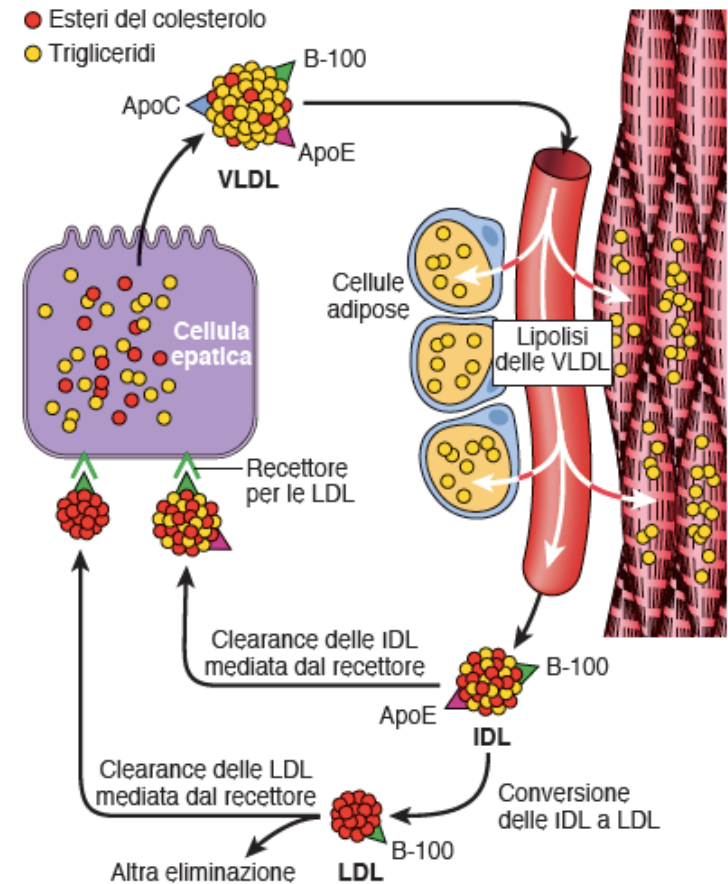
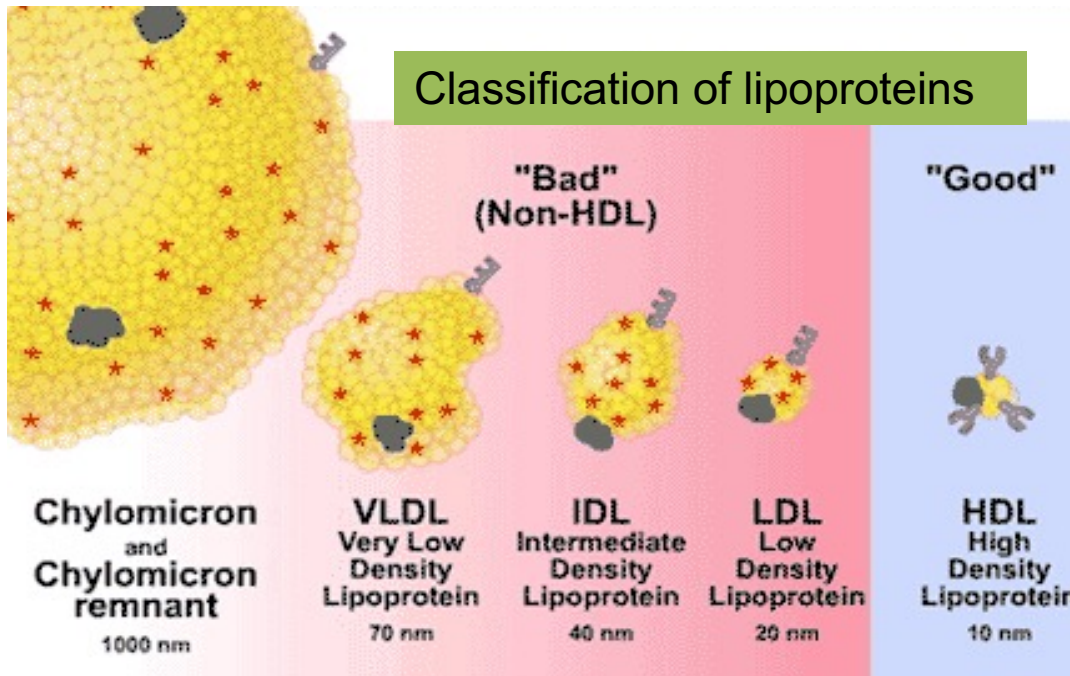


Figura 5.6 Metabolismo della lipoproteina a bassa intensità (LDL) e ruolo del fegato nella sua sintesi e nella sua rimozione. La lipolisi della proteina a bassissima densità (VLDL) mediante lipasi lipoproteica nei capillari libera trigliceridi, che sono quindi immagazzinati in cellule adipose e usati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

Classification of lipoproteins

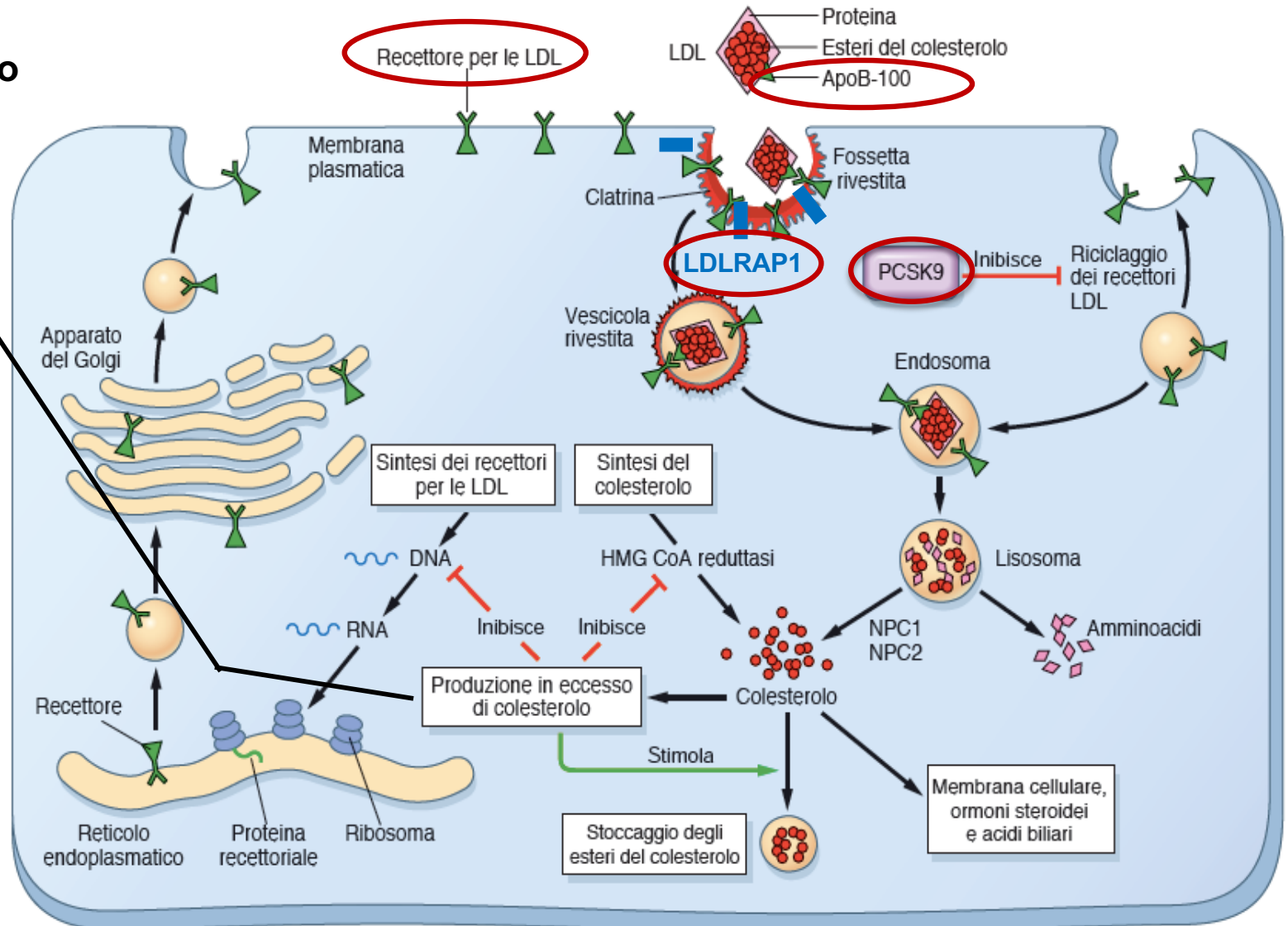


Recettori per le LDL (LDLR) e regolazione del metabolismo del colesterolo

Eccesso di colesterolo induce



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



Sono cerchiati in rosso i prodotti di geni mutati nella FH

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:

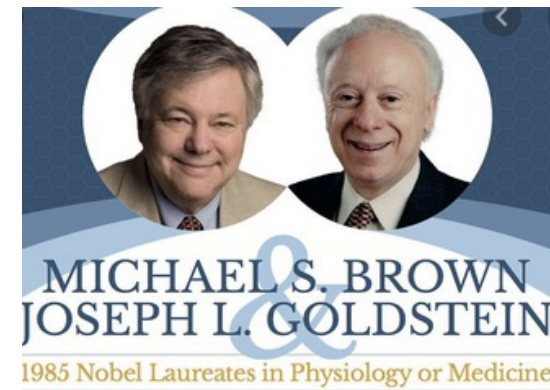
Classe I sono molto rare e determinano assenza della sintesi di LDLR;

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

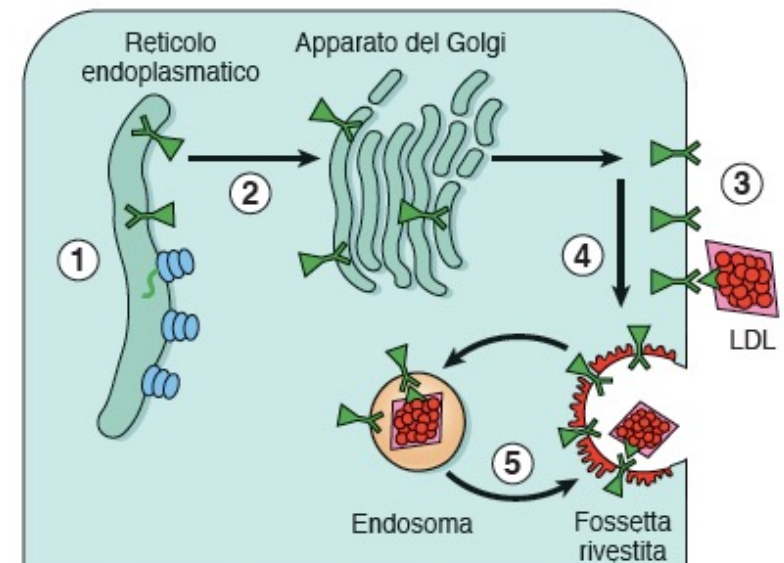
Classe III c'è espressione di recettori LDL che non legano correttamente LDL;

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.



Il premio Nobel per la fisiologia o la medicina del 1985 fu assegnato congiuntamente a Michael S. Brown e Joseph L. Goldstein "per le loro scoperte sulla regolazione del metabolismo del colesterolo."



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 collagene e di lipidi extracellulari

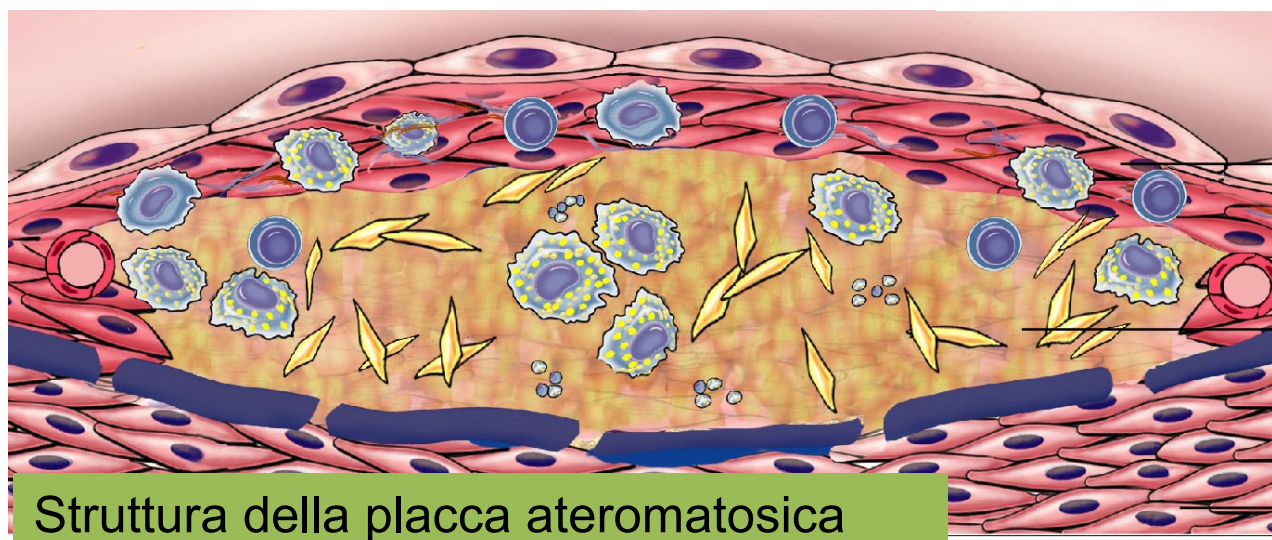
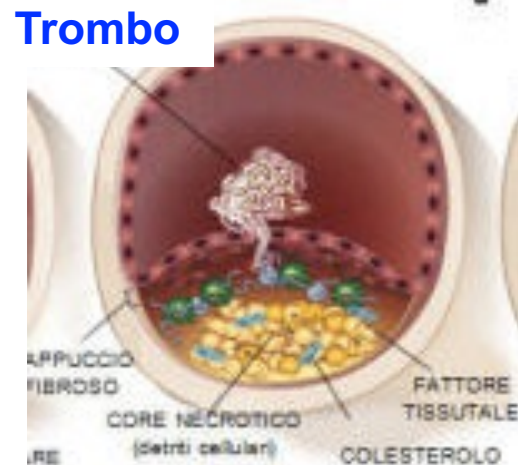


La malattia colpisce le arterie elastiche e muscolari (aorta, coronarie, cerebrali, carotide, mesenteriche e femorali)

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

