



Genetica Medica

Tecniche di fisiopatologia cardiocircolatoria e perfusione cardiovascolare (Università degli Studi di Bari Aldo Moro)



Scan to open on Studocu



GENETICA MEDICA

PROGRAMMA 2022/2023

- **Introduzione alla genetica medica.** Il genoma umano: struttura e funzione dei geni.
- **Le mutazioni:** classificazione, meccanismi responsabili dell'insorgenza ed effetto sul fenotipo. Sistemi di riparo delle mutazioni ed instabilità genomica. Effetti delle mutazioni somatiche: protooncogeni e geni oncosoppressori.
- **Il ciclo cellulare.** Mitosi e meiosi. Citogenetica: la cromatina, grandezza e morfologia dei cromosomi umani e analisi del cariotipo. Anomalie cromosomiche e diagnosi prenatale. Citogenetica molecolare.
- **Alberi genealogici.** Ereditarietà mendeliana: autosomica dominante, autosomica recessiva e X-linked. Ereditarietà mitocondriale. Imprinting genomico

Lezione del 11/01/2023

LA GENETICA È LA SCIENZA CHE STUDIA LE MODALITÀ DI TRASMISSIONE DEI CARATTERI
EREDITARI

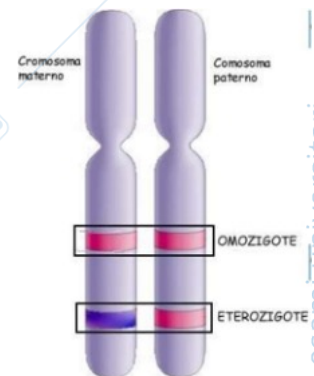
ESMEPIO: il colore degli occhi, distrofia muscolare ecc.. caratteri che possono essere fenotipi normali o patologici)

I CARATTERI EREDITARI SONO DETERMINATI DAI GENI

Un gene è *un tratto di DNA che contiene le informazioni per la sintesi di una determinata proteina, responsabile di un carattere ereditario.*

I geni sono costituiti da **alleli** (forma alternativa di un gene), uno di origine materna e uno paterno:

- quando gli alleli sono uguali si parla di individuo **omozigote**,
- se sono diversi **eterozigote**. (I maschi sono tutti emozigoti per il cromosoma sessuale perché avranno sempre una sola copia del cromosoma X)



L'INSIEME DI TUTTI I GENI DELL'INDIVIDUO È IL GENOTIPO

Il genotipo è tutto quello che si trova nei cromosomi. Invece, l'insieme dei caratteri di un individuo è detto **fenotipo**; quindi il fenotipo è tutto ciò che possiamo osservare di un individuo, come altezza, colore degli occhi.

DEFINIZIONI

- **Gene** = un segmento di DNA che codifica per una proteina o per uno specifico RNA
- **Allele** = una forma alternativa di un gene
- **Omozigote** = un individuo che possiede due alleli identici
- **Eterozigote** = un individuo che possiede due alleli diversi
- **Emizigote** = un individuo che possiede una sola copia di un gene o di una sequenza di DNA (maschi sono emizigoti per il cromosoma X)

IL SERVIZIO DI GENETICA MEDICA

Servizio assistenziale complesso che prevede il coinvolgimento ideale di più figure professionali adeguatamente addestrate: Medici e Biologi, Tecnici di laboratorio, Infermieri e Personale amministrativo

La genetica medica è una materia multidisciplinare in cui si possono distinguere:

- **Genetica clinica:** basata sul fenotipo clinico, consulenti genetisti medici per la definizione della diagnosi
- **Genetica Medica:** disciplina medica che si occupa della diagnosi delle malattie genetiche e partecipa all'assistenza dei pazienti e dei loro familiari con (i) la definizione della diagnosi, (ii) la stima dei rischi di ricorrenza, (iii) coadiuvando i percorsi di screening sugli individui affetti e/o sui familiari
- **Genetica molecolare:** genetisti biologi per l'esecuzione di test molecolari e identificazione di geni malattia

- **Citogenetica:** studio del **cariotipo** (*insieme di tutti i geni del nostro organismo*) che permette l'individuazione di malattie a carico dei diversi geni (come queste malattie e mutazioni si trasmetteranno ai figli e il rischio di trasmissione)

CONSULENZA GENETICA

L'obiettivo della consulenza genetica è quello di aiutare il probando, la coppia o la famiglia a...

Si compone di diversi momenti:

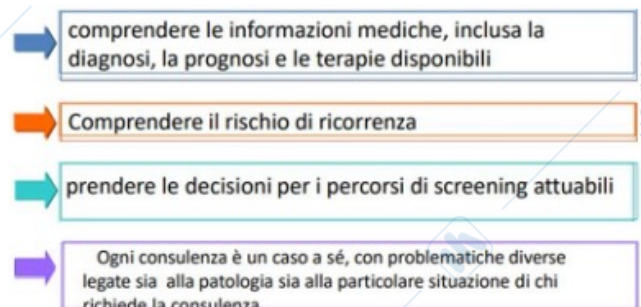
1. **Raccogliere informazioni** (anamnesi personale e familiare del probando) riguardo la malattia e sull'individuo malato (non uscirà mai la presenza di un portatore sano, questa informazione viene fuori solo dopo un'indagine genetica molecolare) e si va ad individuare dove è presente la mutazione (cosa che si deve fare sapendo dove andare a cercare).
2. Creazione di un **albero genealogico** (Pedigree) (si prendono in considerazione soprattutto i defunti) che permette di capire se ci sono dei fattori che fanno insorgere la malattia.
3. Richiedere una visita specialistica per **individuare la mutazione**
4. **Calcolo del rischio:** comprendere quanto la malattia è frequente e la sua probabilità di trasmissione. È la possibilità che una condizione patologica a base genetica presente nel probando si verifichi nuovamente in altri membri appartenenti alla stessa famiglia. Il calcolo del rischio si basa sull'accertamento della modalità di trasmissione della malattia, sui dati strumentali e di laboratorio disponibili e sulla posizione del probando all'interno della famiglia. Il rischio genetico può essere fornito in termini probabilistici o con un valore percentuale.
5. **La consulenza con il paziente:** è il momento in cui lo specialista in genetica medica comunica al probando o ai suoi familiari le informazioni ottenute e le possibili conseguenze. Viene definita e fatta presente la mutazione.

La consulenza non dev'essere mai direttiva e quindi non deve influenzare le possibili decisioni del probando o della famiglia inoltre va accompagnata da uno psicologo che serve da sostegno per affrontare la consapevolezza della malattia genetica

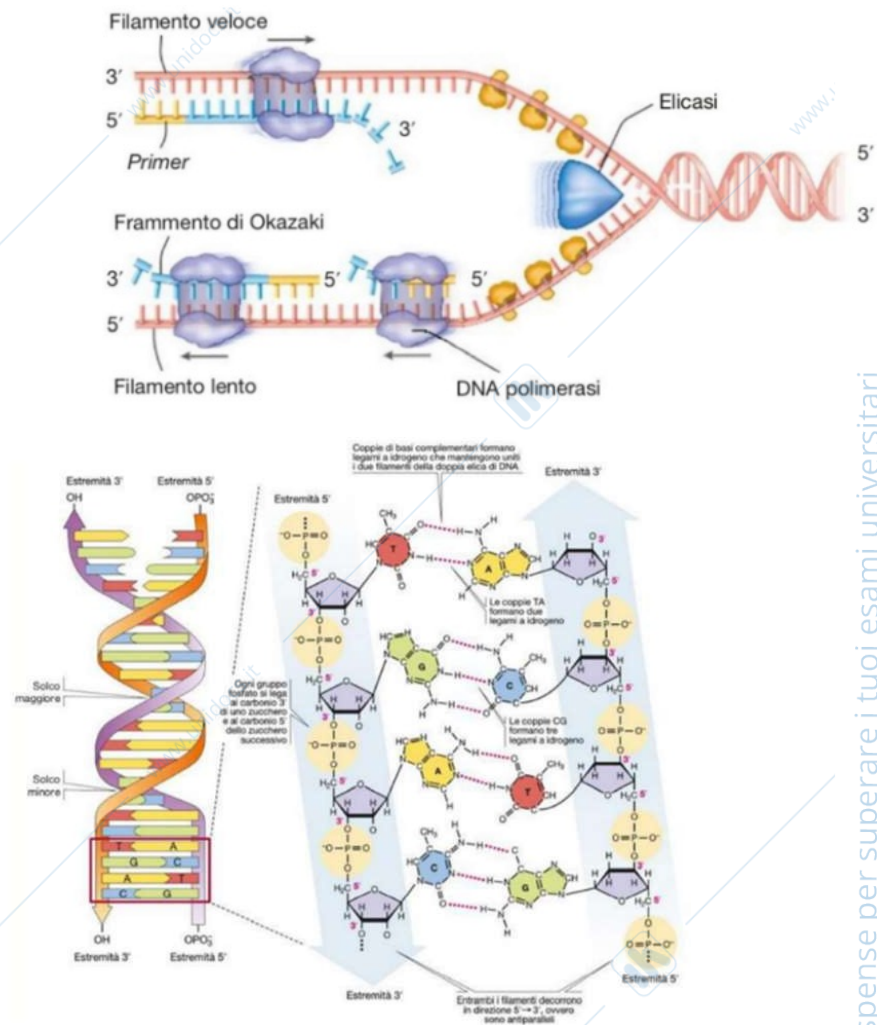
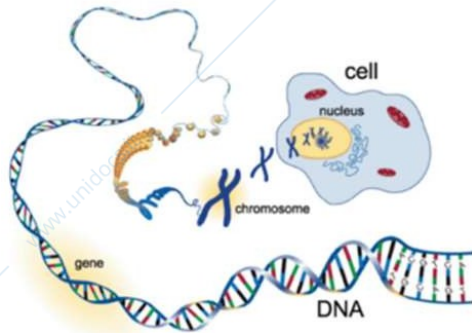
L'obiettivo della consulenza genetica è quello di aiutare il probando, la coppia o la famiglia a...

La *diagnosi precisa* della malattia costituisce premessa fondamentale e necessaria per poter effettuare la consulenza genetica. Può essere esclusivamente clinica, ovvero basata sulla valutazione del medico specialista e su dati derivati da indagini strumentali, oppure può richiedere l'impiego di test genetici

L'acquisizione dei dati, la comunicazione dei risultati e il sostegno psicologico adeguato, in caso di conferma di malattia genetica, sottolineano come lo specialista in genetica medica abbia la necessità di avvalersi della collaborazione di altri professionisti, medici e non medici, per raggiungere gli obiettivi della consulenza genetica stessa



IL GENOMA UMANO



Il DNA: Acido Desossiribonucleico

- Il DNA è la molecola che contiene l'**INFORMAZIONE GENICA** utile affinché la cellula possa accrescersi, funzionare correttamente e replicarsi.
 - Il DNA è un **POLIMERO** composto da più monomeri: i nucleotidi.
 - Il DNA ha una struttura a **DOPPIA ELICA** antiparallela
- Struttura: **NUCLEOTIDE** (monomero) a sua volta composto da:

1. Zucchero (5C) , deossiribosio
2. Gruppo Fosfato (-)
3. Base azotata:
 - - Adenina (A)
 - - Citosina (C)
 - - Guanina (G)
 - - Timina (T)

I nucleotidi sono legati tra loro mediante **LEGAMI IDROGENO**.

Nel DNA, l'Adenina si lega sempre e solo alla Timina (**A-T**); la Citosina sempre e solo alla Guanina (**C-G**)

REPLICAZIONE DEL DNA

Avviene nel momento in cui a partire da una cellula madre si vanno a formare due cellule f

iglie, quindi il materiale genetico della cellula madre deve essere replicato per poi dividersi nelle due cellule figlie.

1. La doppia elica si apre, attraverso l'azione dell'enzima ELICASI che rompe i legami H tra le basi formando la **bolla di replicazione**
2. Definito semiconservativo perché un filamento dei due funge da stampo e l'altro è creato da nuova sintesi. La replicazione avviene attraverso l'enzima DNA polimerasi, questo enzima utilizzando il filamento stampo, aggiungerà i nucleotidi uno dopo l'altro secondo la regola della complementarità. (es. A → T)
3. La sintesi del filamento di nuova sintesi non avviene in maniera identica sui due filamenti stampo: il filamento 3' → 5' viene chiamato "*filamento veloce*" in quanto la DNA polimerasi lavora solo in direzione 5' → 3', l'altro *filamento* 3' → 5' viene invece chiamato *lento*. Mentre sul filamento veloce (3' → 5') verranno aggiunti i nucleotidi uno dopo l'altro senza interruzioni, sul filamento 3' → 5' invece, verranno aggiunti dei nucleotidi in maniera discontinua (solo successivamente verranno uniti). Si formano dei frammenti di nuova sintesi chiamati frammenti Okazaki, che verranno successivamente uniti da una DNA ligasi.

TRASCRIZIONE DEL DNA

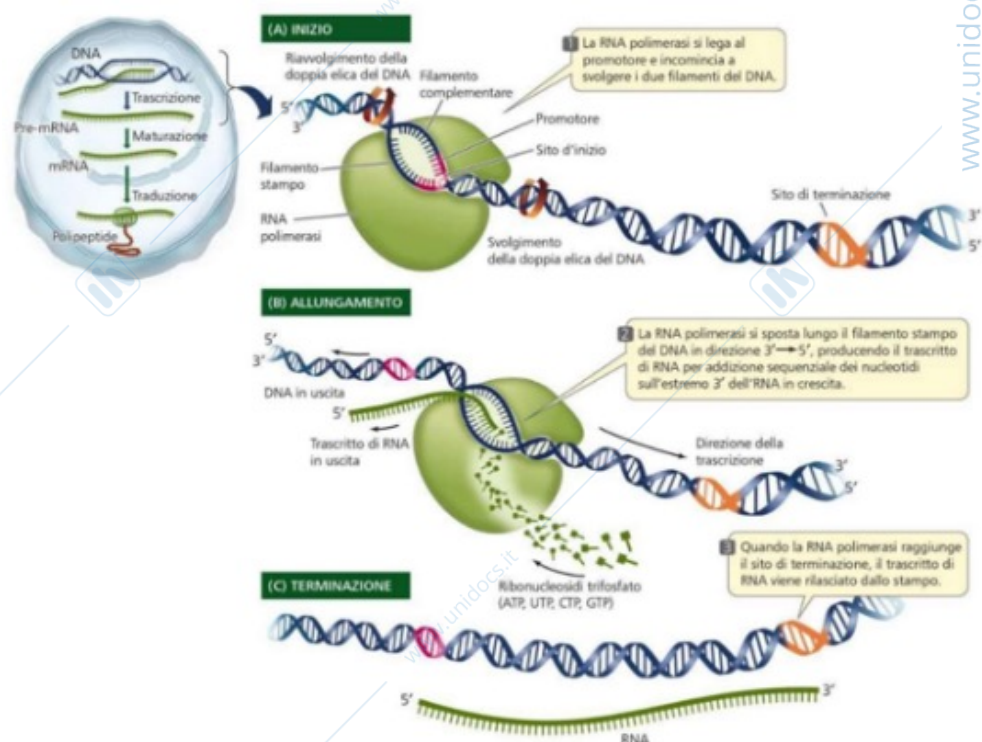
CONSENTE DI GENERARE UNA MOLECOLA DI RNA A PARTIRE DA UNA MOLECOLA DI DNA.

L'RNA contiene anch'esso le informazioni genetiche, è formato da nucleotidi, però a singolo filamento. I nucleotidi del RNA sono costituiti da:

- Zucchero → ribosio
- Gruppo fosfato
- Basi azotate (Adenina, Citosina, Guanina, Uracile)

Abbiamo un **sito di inizio della trascrizione** (una specifica sequenza di DNA) che viene riconosciuto dall'**RNA**

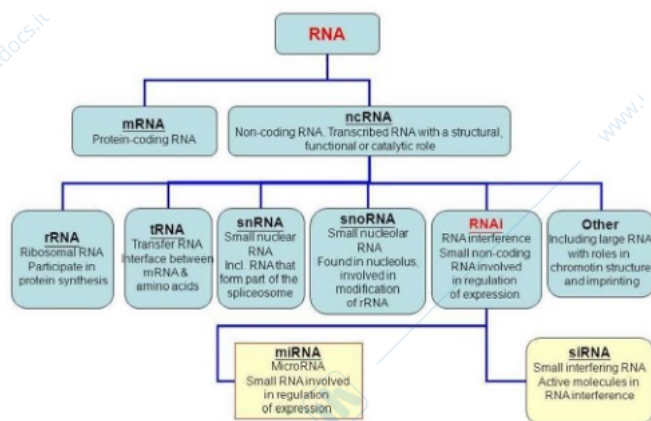
polimerasi (enzima responsabile della trascrizione) che si lega in corrispondenza di un promotore. Quest'ultimo attaccandosi al sito di inizio permette l'apertura della doppia elica del DNA e un solo filamento fungerà da stampo. Anche in questo processo si sfrutta la regola della complementarità, ma in corrispondenza di una Timina corrisponderà un Uracile sul filamento dell'RNA. L'RNA polimerasi aggiunge nucleotidi fino al codone di



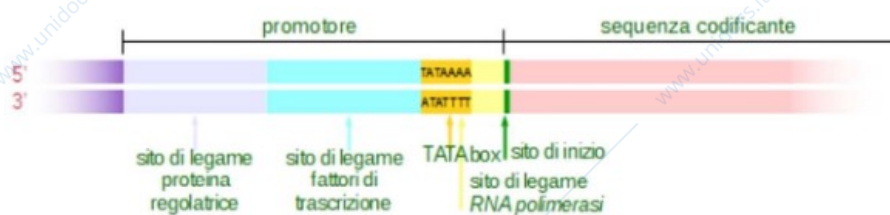
stop (**sito di terminazione della trascrizione**), a questo punto l'RNA si stacca.

Abbiamo diversi tipi di RNA:

- mRNA → RNA messaggero
- ncRNA → RNA non codificante (che non fungono da messaggeri per la sintesi delle proteine):
- tRNA → RNA transfer (per la sintesi di proteine)
- rRNA → RNA ribosomiale (per la sintesi di proteine)
- RNAI → RNA che interferiscono con la sintesi proteica di altre proteine determinano una regolazione dell'espressione genica



Promotore e fattori di trascrizione

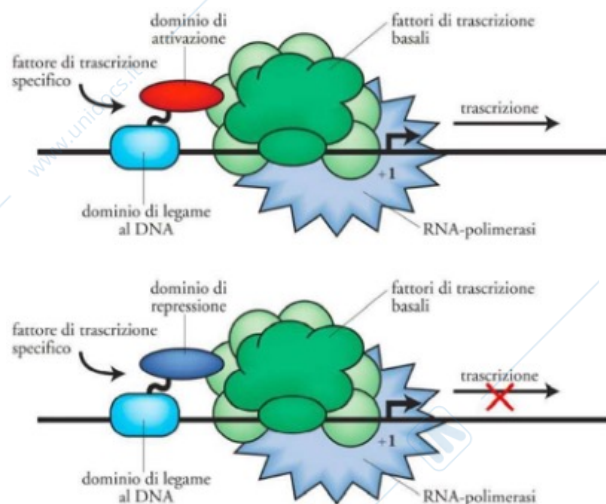


Sono specifiche sequenze di DNA (sequenze consenso) localizzate a monte del sito di inizio della trascrizione a cui si lega la RNA polimerasi per iniziare la sintesi di RNA. La RNA polimerasi si lega in corrispondenza della **sequenza TATAbox** (contiene tante adenine e Timine).

A monte della TATAbox abbiamo un sito di legame per le proteine chiamate **fattori di trascrizione** che facilitano o inibiscono l'attività della RNA polimerasi:

- **Enhancer**, attivano l'RNA polimerasi e ne aumentano la velocità, funziona meglio;
- **Silencer**: il fattore rallenterà o impedirà la trascrizione.

I fattori di trascrizione sono tessuto specifici: i geni sono tutti uguali in tutte le cellule dell'organismo ma a seconda della funzione del tessuto e; nello specifico, della cellula vengono inibite l'espressione di alcuni geni rispetto ad altri (a seconda del tessuto in cui si trova la cellula) (tessuto muscolare → miosina)



STRUTTURA DEL GENE

Il gene è costituito da:

- 10 a 100 **esoni**, ovvero sequenze codificanti
- **introni**, sequenze non codificanti, si trovano in mezzo ad ogni esone;

Possono essere regolatori del processo di trascrizione: la probabilità che un nucleotide sia mutato rispetto alla sequenza di riferimento è altissima, tali mutazioni se si trovano all'interno di introni non fanno danni; se si trovano negli esoni invece daranno vita alla malattia. Gli introni sono talmente grandi che riducono la probabilità di formazioni di mutazioni a livello delle sequenze codificanti.

A monte del primo esone c'è un **5'UTR**, ovvero una piccola sequenza che non viene tradotta. Anche alla fine del gene ci sarà un **3'UTR**, che non verrà tradotto. Questo servirà a regolare tutto il processo di trascrizione e traduzione.

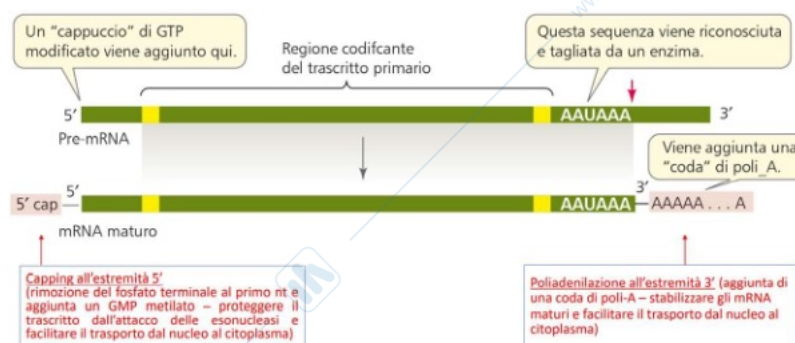
Abbiamo: promotore, **5'UTR**, esoni ed introni alternati, **3'UTR**



A SEGUITO DELLA TRASCRIZIONE L'RNA DEVE SUBIRE DELLE MODIFICAZIONI.

Ovvero deve subire una maturazione dell'RNA messaggero prima che questo possa fungere da stampo per la sintesi delle proteine:

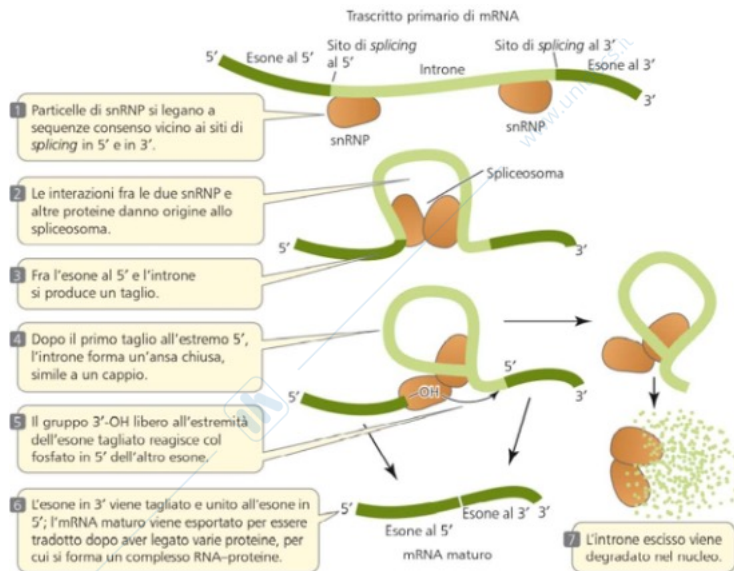
- **Capping al 5'**: l'aggiunta di nucleotidi modificati all'estremità 5', che proteggono l'mRNA dall'attacco di *esonucleasi* (enzimi che tagliano l'RNA), oppure per facilitare il trasporto all'interno del citoplasma
- **Poliadenilazione al 3'**, all'estremità 3' viene aggiunta una coda di poli-A a stabilizzare l'estremità 3'.



Questo permette di stabilizzare e chiudere l'RNA per essere trasportato

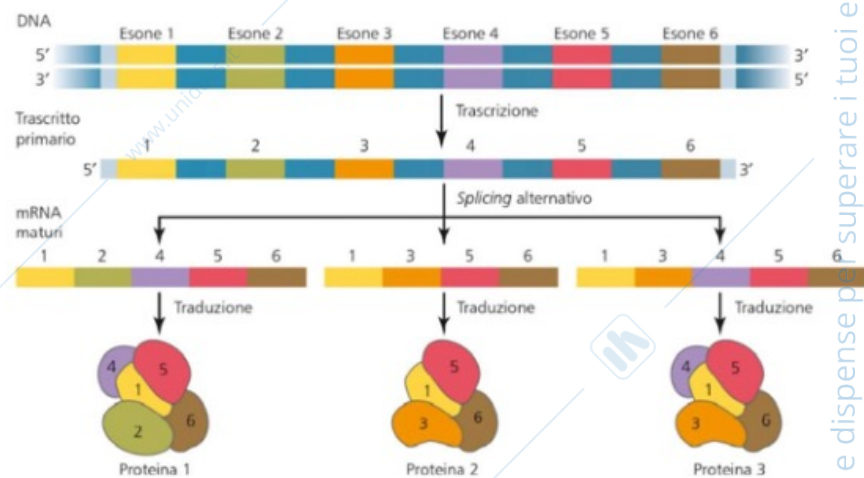
- Ultima trasformazione per la maturazione è lo **splicing** (rende l'RNA tutto codificante in proteine) che taglia gli introni:

Delle piccole proteine nucleari si legano all'estremità degli introni (Grazie a dei nucleotidi che si trovano all'inizio e alla fine dell'introne sequenza specifica) e si uniscono tra di loro (complesso dello spliseosona), si forma un cappio e grazie ad un enzima si romperà il legame e l'introna viene distrutto. Questo rende l'RNA messaggero maturo.



Splicing alternativo

SPLICING ALTERNATIVO: ASSEMBLAGGIO DIFFERENZIALE DEGLI ESONI (UN TRASCritto CONTERRÀ ALCUNI ESONI, L'ALTRO TRASCritto CONTERRÀ DEGLI ALTRI GENERANDO DIVERSE ISOFORME PROTEICHE TUTTE FUNZIONANTI).



Esiste un processo di **splicing**

alternativo: da una sequenza di DNA potrebbero essere prodotte differenti sequenze di RNA: vengono assemblati gli esoni in maniera differente per generare diverse **isoforme** di proteina (se ne viene prodotta solo una delle possibile composizione), proteine funzionanti ma formate da diverse composizioni di esoni (non ci sono tutti gli esoni di partenza, ma solo alcuni). Questo tipo di splicing permette di far passare delle mutazioni silenziose senza un fenotipo patologico.

TRASDUZIONE

L'mRNA messaggero viene portato nel citoplasma per poter creare una proteina

CONSENTE DI GENERARE UNA PROTEINA CARATTERIZZATA DA UNA SEQUENZA AMMINOACIDICA A PARTIRE DA UNA SEQUENZA NUCLEOTIDICA DELL'MRNA.

Le proteine sono responsabili dei caratteri ereditari e quindi del fenotipo.

Codice Genetico

La sequenza di basi viene letta a tre a tre, ovvero ogni 3 nucleotidi corrisponde 1 amminoacido. La tripletta viene chiamata codone ed il codice di lettura è un codice a triplette. Il codice genetico è definito universale e ridondante: diversi nucleotidi che codificano per lo stesso amminoacido.

		Seconda lettera					
		U	C	A	G		
Prima lettera	U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGU Cisteina UGC UGA Codone di stop UGG Triptofano	U	C
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC CAA Glutammina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	A	G
	A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina; codone d'inizio	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG	U	C
G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido aspartico GAC GAA Acido glutammico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG	A	G	

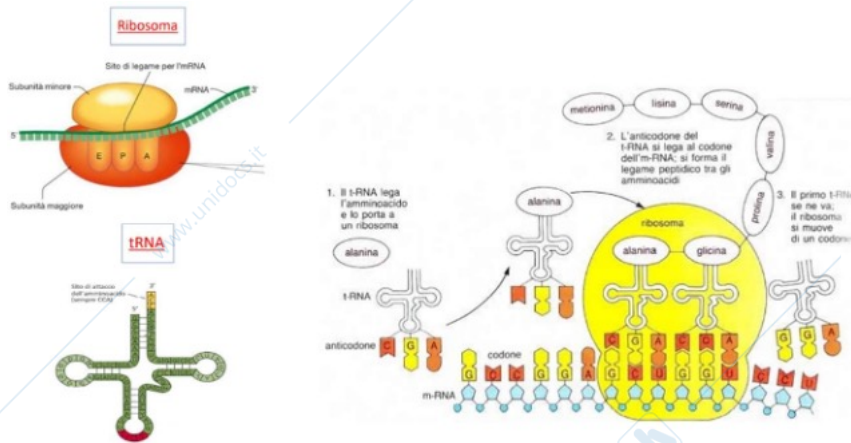
$4^3 = 64$ combinazioni 20 amminoacidi

Processi della traduzione

La trascrizione avviene all'interno di strutture cellulari chiamate **ribosomi**. Essi sono caratterizzati da una subunità minore e una maggiore. Tra queste due subunità passerà l'mRNA che verrà tradotto.

A favorire la traduzione genetica ci sarà il **tRNA**, una forma di RNA non codificante.

Il tRNA ha una forma a trifoglio ramificato ed è caratterizzato da parte bassa definita anticodone, e alla sua estremità 3' ci sarà invece legato l'amminoacido.

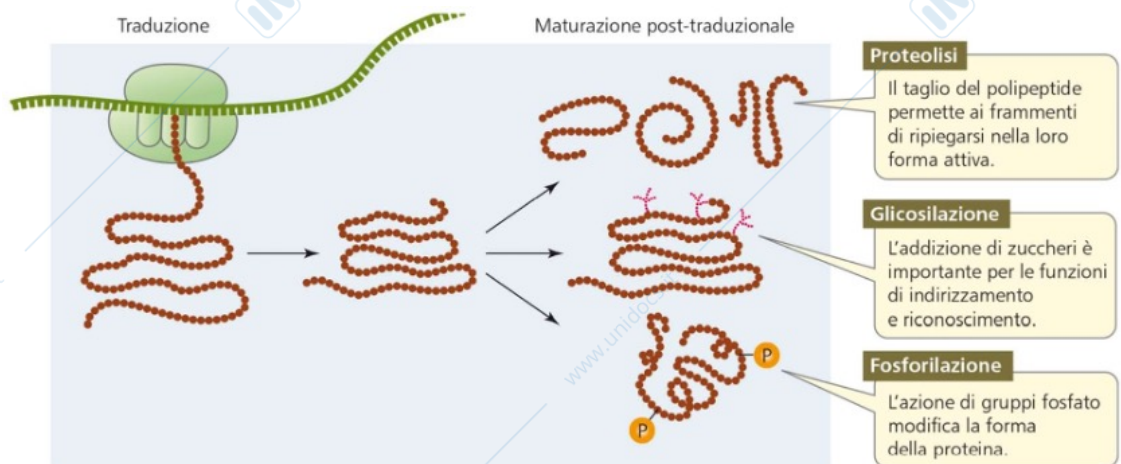


Traduzione genetica Codoni di inizio e terminazione



Modificazioni post-traduzionali

Anche la proteina deve subire delle maturazioni



Un po' di storia

1859 Charles Darwin pubblica "l'origine delle specie" formulando la teoria dell'evoluzione e come essa agisce attraverso la selezione naturale.

1865 Nasce l'era della genetica quando Gregor Mendel, studiando come vengono ereditati i caratteri di pisello, formula le leggi principali dell'ereditarietà, che sono valide tutt'oggi.

1953 Scoperta la struttura a doppia elica del DNA da parte di James Watson and Francis Crick.

Invisano un manoscritto di una pagina a Nature che iniziava: "Vorremmo suggerire una struttura per il sale dell'acido desossiribonucleico (DNA)"; e finiva dicendo: "Non ci è sfuggito che l'appaiamento specifico che abbiamo postulato suggerisce immediatamente un possibile meccanismo per copiare il materiale genetico." Il loro lavoro gli valse il Nobel nel 1962, condiviso con Maurice Wilkins, mentre Rosalind Franklin morì 4 anni prima.

1975 Walter Gilbert e Allan Maxam dell'università di Harvard e Fred Sanger dell'università di Cambridge sviluppano contemporaneamente due sistemi diversi per sequenziare il DNA. Gilbert e Sanger ricevono il Nobel per chimica nel 1980 (con Paul Berg).

1986 Inventata da Kary Mullis la tecnica dell'amplificazione a catena della polimerasi (Polymerase Chain Reaction o PCR). Ha rivoluzionato il modo di fare biologia molecolare. Mullis ha vinto il premio Nobel per la chimica nel 1993.

1989 Inizia il progetto genoma umano. Un ambizioso piano per mappare e sequenziare tutti i geni umani entro il 2005

1996 Nasce Dolly, il primo mammifero clonato partendo da cellule adulte, scatenando un inferno di critiche. Purtroppo il 14 febbraio 2003 la pecora Dolly muore all'età di 6 anni di una infezione polmonare, comune agli animali cresciuti in stalla.

1996 Sviluppo della tecnologia GeneChip®: Il dipartimento di biochimica di Stanford e la ditta Affymetrix introducono una rivoluzionaria tecnica per studiare l'espressione genica e per il sequenziamento.

1998 Corsa al sequenziamento del genoma: J. Craig Venter fonda e dirige la Celera Genomics con lo scopo di sequenziare l'intero genoma umano entro il 31 dicembre 2001 - 2 anni prima della data prevista dal progetto genoma umano pubblico. Investimento effettuato \$300 milioni. La ditta mette insieme una capacità di sequenziamento maggiore di quella esistente all'epoca in tutto il mondo, associata ad una capacità di calcolo (computing) seconda solo a quella del Pentagono.

1999 (Settembre) Celera annuncia di aver completato il sequenziamento del genoma del moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*), utilizzato come palestra di prova. Inizia immediatamente il sequenziamento del genoma umano.



IL GENOMA È FATTO SOLO DI GENI?

Genoma Umano

Genoma nucleare
3000 Mb

~ 20.000-25.000 geni

Genoma mitocondriale

16.6 kb - 37 geni

~20% **geni e sequenze associate ai geni**
~80% **DNA extragenico**

13 geni per polipeptidi 2 geni per r RNA 22 geni per tRNA

(64% del genoma totale)

(16% del genoma totale)

~6% **DNA codificante** (1.2% del genoma totale)
~94% **DNA non codificante** (18.8% del genoma totale)

uniche o con basso numero di copie

da mediamente ad altamente ripetute

pseudogeni

frammenti genici

Introni, sequenze non tradotte ecc..

intersperse elementi LTR
LINE
SINE

in tandem
DNA satelliti

VARIABILITA' GENETICA

La variabilità genetica nell'individuo è altissima; il genoma dell'uomo sarà identico per il 99,5%, la restante parte è responsabile della variabilità genetica ed è differente da un individuo all'altro influenzando patologie e caratteristiche dell'individuo.

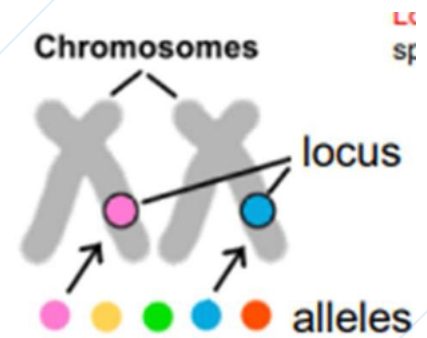
Natura della variabilità genetica

LOCUS: PEZZO DI DNA CHE OCCUPA UNA DETERMINATA POSIZIONE SUL CROMOSOMA.

Comprende una sequenza nucleotidica che può essere composta da uno o più geni, oppure un singolo nucleotide.

ALLELI: VERSIONE ALTERNATIVA DELLA SEQUENZA DI DNA AD UN LOCUS

Può essere *wild type* ovvero normale, uguale alla sequenza di riferimento oppure *mutato* (contiene delle varianti)



MUTAZIONI

Le mutazioni si dividono in:

- mutazioni germinali** → comprendono il DNA della linea germinale che si muta: i gameti mutati trasmetteranno la mutazione alla progenie, inoltre il nuovo individuo avrà tutte le cellule dell'organismo mutate perché la cellula germinale si duplicherà per formare il feto.
 - mutazione somatiche** → una cellula dell'organismo impazzisce e muta, inizia a duplicarsi creando cellule mutate. In questo caso avremo la coesistenza di cellule normali e mutate (mosaico somatico). Si tratta di mutazioni post-zigotiche (dopo la formazione dello zigote, non coinvolgono tutte le cellule dell'organismo) che non sono trasmissibili alla progenie.
- ESEMPIO: i tumori

Frequenza della variante genica nella popolazione:

- **molto diffusa > 1%** : non si tratta di una mutazione patogenetica, ovvero che fa insorgere una patologia, tendenzialmente chi ha una mutazione genetica che produce una patologia invalidante non si riproduce frequentemente o così tanto. Si tratta di mutazioni che non influiscono nella normale condizione dell'organismo e si trovano in luoghi del DNA che non da un problema patologico nell'individuo: **POLIMORFISMO** (non si hanno danni a livello fenotipo)
- **Poco diffusa < 1%**: l'effetto della mutazione da dei danni a livello fenotipo: la patologia. In questo caso parliamo di **PATOGENETICO**

A che cosa sono dovute le mutazioni?

- **ERRORI NELLA REPLICAZIONE DEL DNA** → Le mutazioni insorgono a causa di errori a livello della DNA polimerasi che ha un'efficienza molto bassa: durante la replicazione la

La DNA polimerasi sbaglia in 80 punti: abbiamo 80 mutazioni che possono essere presenti o nelle sequenze introniche oppure in regioni che non alterano la funzionalità della proteina che deriva da quel gene. In ogni caso vi è un sistema di riparazione del DNA che l'organismo mette in atto.

- **AGENTI ESTERNI** → che possono causare variazioni del DNA. Le mutazioni possono nascere anche nella riparazione del DNA: la cellula ripara spontaneamente gli errori causati dai raggi ultravioletti ad esempio. La frequenza delle variazioni va da 10.000 ad un 1 milione di basi che varia a seconda della grandezza del danno al DNA (la frequenza all'esposizione al sole porta una maggiore probabilità al danno nel caso dei raggi ultravioletti)

La DNA polimerasi ha la capacità di riconoscere il danno e di ripararlo precocemente (prima che la mutazione venga inglobata e che riesca a fissarsi attraverso la divisione sulle cellule successive)

ATTIVITÀ ESONUCLEASICA DELLA DNA-POLIMERASI DI CORREZIONE DI BOZZE

Un altro sistema di riparo del DNA avviene dopo il lavoro di controllo della DNA polimerasi.

La frequenza di mutazione dipende dall'equilibrio tra la fedeltà di replicazione e l'efficacia dei sistemi di correzione degli errori

- Accuratezza delle DNA polimerasi
 - Attività di "correzione di bozze" delle DNA polimerasi
 - Sistemi di riparo del DNA (subito dopo la replicazione)
- (durante la replicazione del DNA)

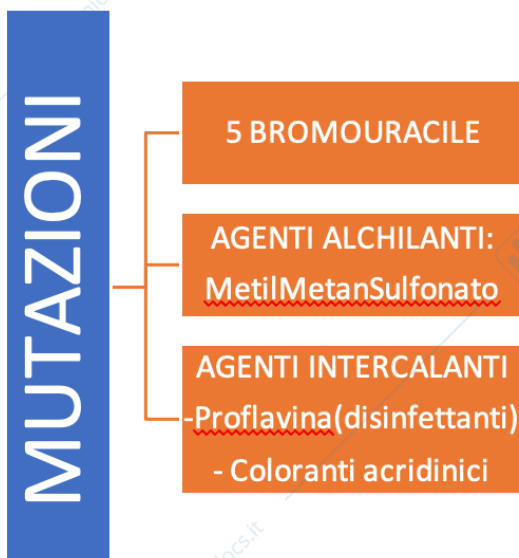
QUANDO QUESTA ATTIVITÀ ESONUCLEASICA NON FUNZIONA



MUTAZIONE

Agenti chimici che mutano il DNA

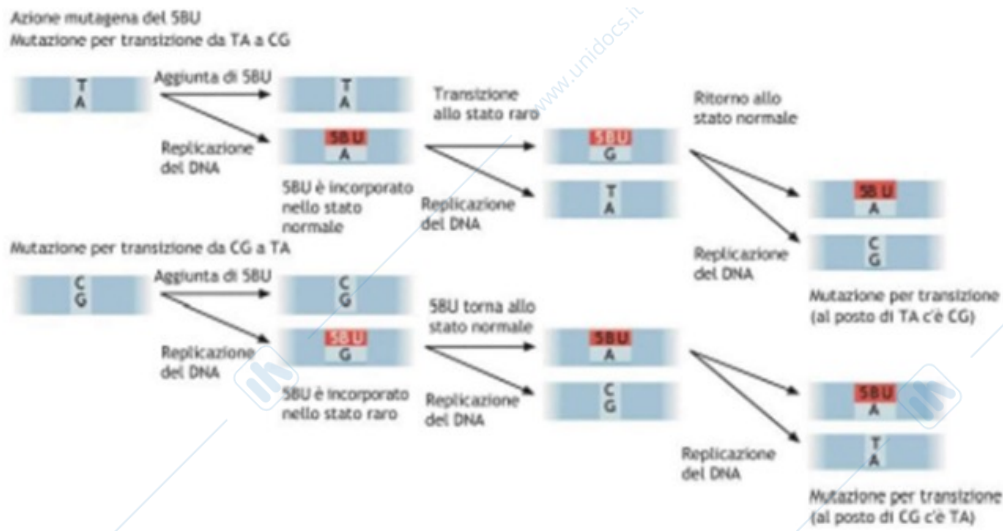
INTRODURRANNO NELLA SEQUENZA DEL DNA DELLE BASI MUTATE, ANALOGHI DELLE BASI



• **5'bromouracile:** meccanismo di inserimento nella sequenza del DNA di un analogo di base che porterà ad una transizione da Adenina e Timina a Citosina e Guanina. Ha due stati:

- **uno stato normale** che si comporta come una timina quando viene inglobato;
- **un secondo stato raro** che si comporta come citosina, quando funge da stampo, è un uracile cambiato che può fungere da citosina : in questo modo la replicazione del DNA viene totalmente cambiata;

Si tratta di una *mutazione per transizione*



- **AGENTI ALCHILANTI:** MetilMetanSulfonato che inducono una mutazione a causa del fatto che vanno a metilare le basi: a partire da una guanina che dovrebbe legare la citosina, viene trasformato in una metilguanina che invece legherà timina allora avremo una mutazione per transizione.

Quando un gene viene mutilato, si avrà il silenzio genico: quel gene non verrà trascritto e non si creerà la proteina. Viene creata la mutazione dopo due cicli cellulari, quando viene introdotto nel DNA non ha effetti subito: deve essere quel DNA replicato per due volte.

!!! P.S. QUANDO UNA BASE METILATA VIENE AGGIUNTA AL FILAMENTO DELLA REPLICAZIONE DEL DNA, ESSA SI FISSA SOLAMENTE NEL MOMENTO IN CUI SI HA UNA SECONDA REPLICAZIONE DI ESSO IN CUI IL GRUPPO METILICO SI RITROVA QUINDI SUL FILAMENTO STAMPO, ALTRIMENTI NON CAUSA EFFETTI INVECE, DURANTE TRASCRIZIONE E TRADUZIONE, SILENZIA IL GENE

- **AGENTI INTERCALANTI :** Proflavina (disinfettanti) e coloranti Acridinici
 -se si inseriscono tra le basi azotate del DNA stampo; nel momento in cui la doppia elica si apre, al posto dell'agente intercalante verrà aggiunto un nucleotide a caso nel filamento di nuova sintesi: intersezione di un nucleotide in più nella sequenza genica. Slittamento di tutta la sequenza
 -Se l'agente intercalante si inserisce nel filamento nuovo, le due estremità si uniranno rimuovendo l'agente e causando così la delezione di una base; ci sarà lo slittamento di tutto il codice (delle triplette) ma con un nucleotide in meno (delezione)

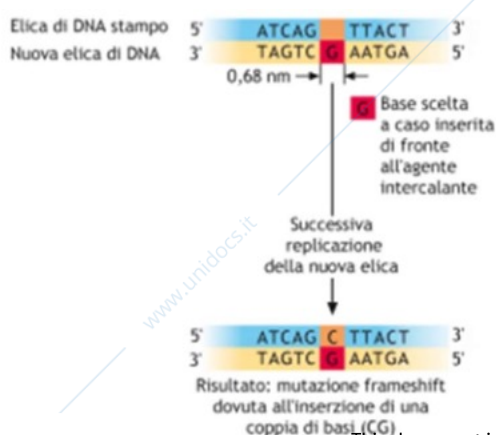


Figura 10.13 Effetto di un agente intercalante quando si inserisce nel filamento stampo: mutazione per inserzione

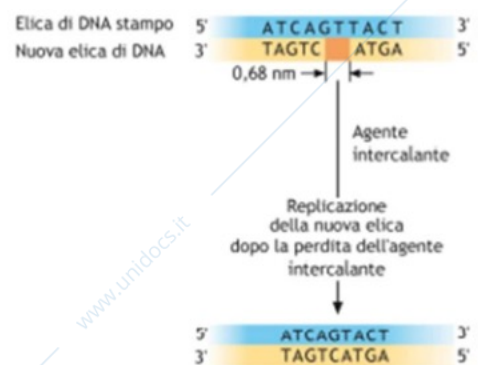


Figura 10.14 Effetto di un agente intercalante quando si inserisce, durante la replicazione, nell'elica di nuova sintesi: mutazione per delezione.

Ci sono anche MUTAZIONI FISICHE → es. Radiazioni ultraviolette

• Mutazioni indotte da mutageni chimici, raggi UV, radiazioni ionizzanti

• Mutazioni indotte da processi chimici spontanei

- depurinazione
- deaminazione
- danni dovuti al metabolismo ossidativo

Le radiazioni ultraviolette svolgono la **depurinazione**, cioè distacco di una base: rimane lo zucchero e il gruppo fosfato allora nel

filamento di nuova sintesi verrà inserito un nucleotide a caso.

Altro modo è la **deaminazione**: viene tolto il gruppo amminico in corrispondenza della base: se questo avviene a carico della citosina essa diventa uracile e poiché la DNA polimerasi non riconosce l'uracile, nel filamento nuovo inserisce un nucleotide a caso. Un'altra mutazione si crea se si trovano due timine vicine, esse si uniscono formando i **dimeni di timina**, struttura che non viene letta dalla DNA polimerasi allora c'è una delezione.

Abbiamo diversi sistemi di riparo del DNA, la probabilità della permanenza dell'errore rimarrà a seconda della dose di mutageni chimici a cui si è esposti.

La frequenza degli agenti chimici e fisici è di circa 10.000-1.000.000 nucleotidi danneggiati al giorno per ogni cellula umana. Di queste mutazioni alcune derivano da processi chimici spontanei che avvengono nel nostro organismo.

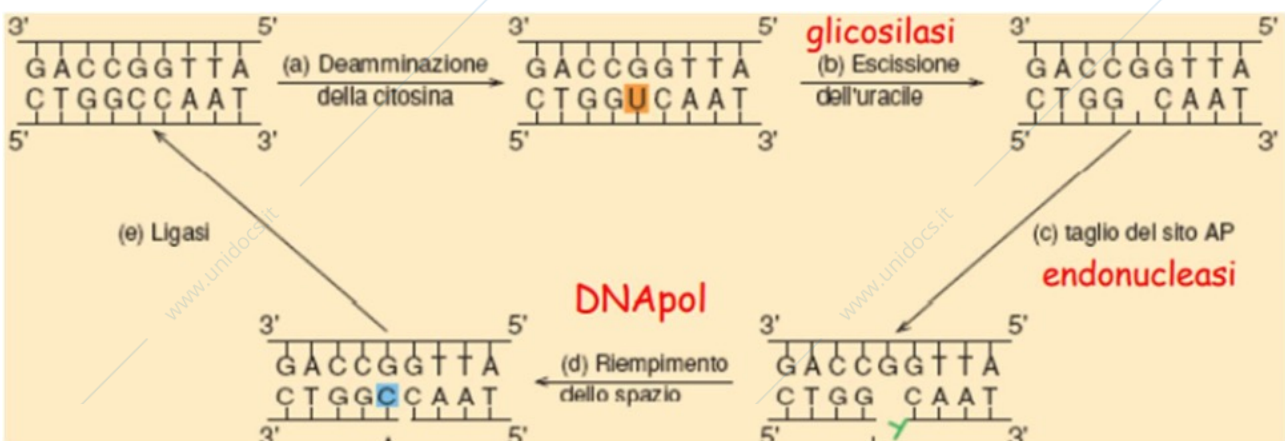
Sistemi di riparazione del DNA

- sistema di riparazione per escissione di basi azotate danneggiate (**Base Excision Repair BER**)
- sistema di riparazione per escissione di nucleotidi danneggiati (**Nucleotide Excision Repair NER**)
- sistemi di riparo delle rotture a doppia elica del DNA

Riparo
Ripristino della sequenza originaria

Fissazione della mutazione e sua propagazione
 ➤ cellule somatica → tumore?
 ➤ cellula germinale → progenie affetta

I modi che il DNA utilizza per ripararsi sono:
 + **RIPARO PER SCISSIONE DI BASE**



Abbiamo una Citosina deamminata ad uracile. Grazie alla glicosilasi l'uracile viene rimosso e la base viene staccata, interviene l'endonucleasi che romperà i legami fosfodiesterici alla base tra un nucleotide e l'altro e si forma un gap che infine la DNA polimerasi riempie, aggiungendo il nucleotide corretto, infine la ligasi legherà i nucleotidi adiacenti.

+ RIPARO PER SCISIONE DI NUCLEOTIDI: dimeri di timina

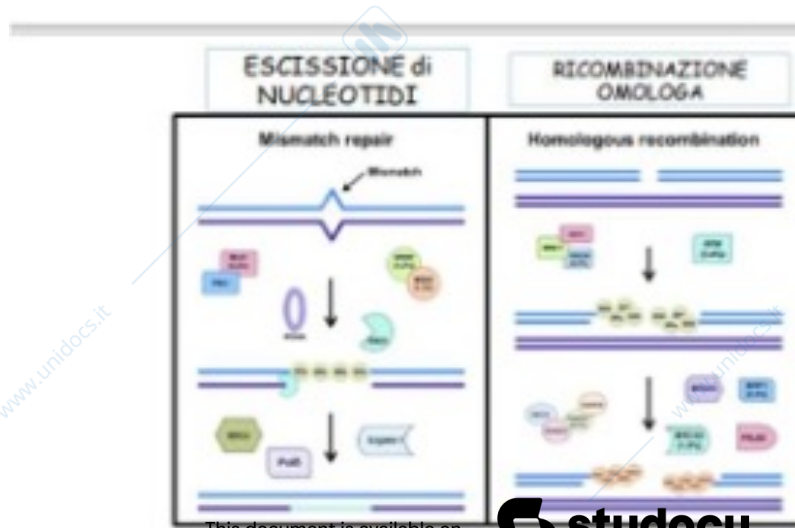
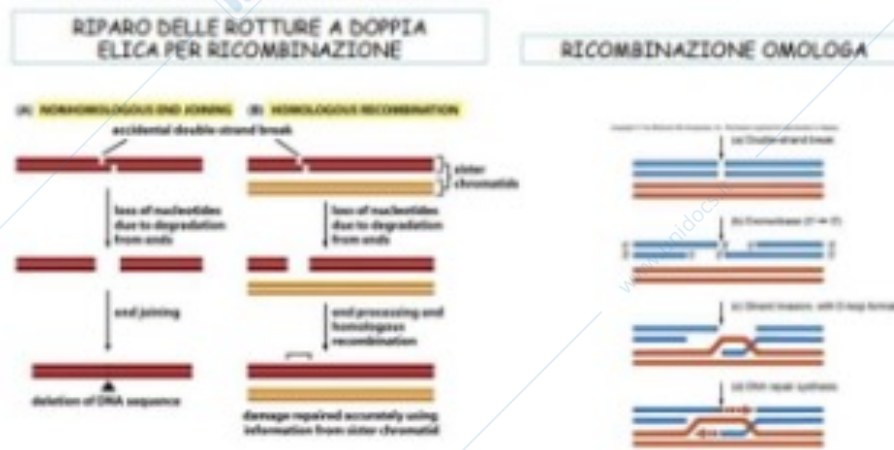
Quando viene riconosciuto in maniera preventivamente, viene tagliato più o meno a monte rompendo i legami fosfodiesterici dall'endonucleasi; grazie ad una elicasi si stacca il pezzo e la DNA polimerasi riempie, infine la ligasi unisce tutto. Il taglio che fa l'endonucleasi non è un taglio preciso, ma che taglia anche nucleotidi giusti a monte ed a valle nella sequenza nucleotidica

+ RIPARO DELLE ROTTURE A DOPPIA ELICA

Coinvolge le rotture della doppia elica in maniera sfalsata: ci sarà un esonucleasi che taglierà i margini in maniera che ci siano delle estremità pari (se vengono uniti mutazione per delezione) e attraverso un meccanismo di riparazione omologa si ripristina la sequenza originaria.

Il riempimento del gap più anche avviene perché l'esonucleasi permette una rottura più ampia con estremità sfalsate che permette ad un cromatide fratello di invadere il cromatide fratello del cromosoma omologo che viene utilizzato come DNA stampo.

Il gap viene individuato da un complesso di proteine che riconoscono il danno. Se le proteine sono mutate il processo di individuazione è compromesso.



www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

TIPI DI MUTAZIONI

Abbiamo due tipi di mutazioni:

TIPI DI MUTAZIONI

GENICHE → sono di piccole dimensioni, coinvolgono 1 o pochi nucleotidi. Riguardano la sostituzione di basi, delezione o inserzione (inserire in maniera erronea) di nucleotidi

CROMOSOMICHE → coinvolgono il numero o la struttura dei cromosomi, riarrangiamenti strutturali genici di grosse dimensioni e quindi che molto probabilmente daranno origine ad un fenotipo patologico importante (se si trova in regioni critiche del DNA)

Sostituzione di basi: generalmente sostituzione di 1 base con un'altra

delezioni: eliminazione di 1 o più basi

inserzioni: aggiunta di 1 o più basi

LE SOSTITUZIONI NUCLEOTIDICHE POSSONO AVERE EFFETTI O MENO.

Vi sono differenti tipologie:

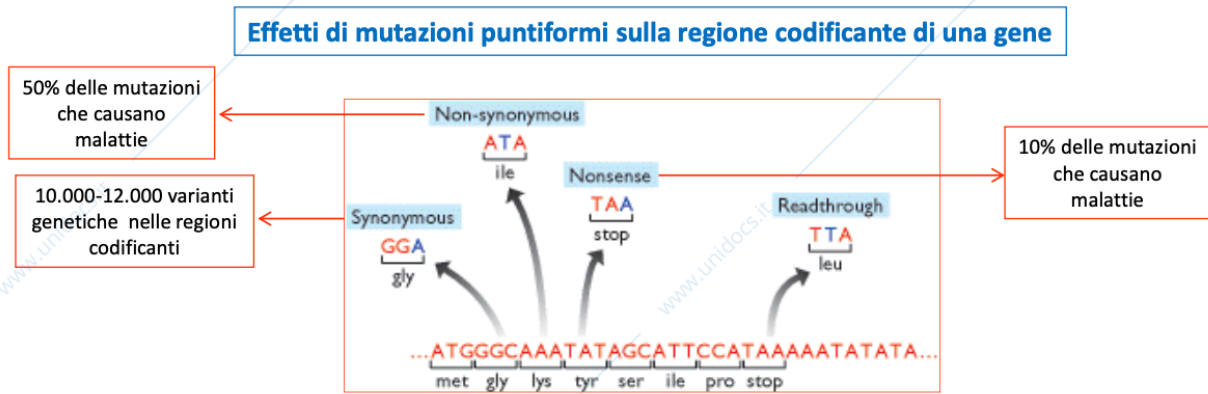
○ **le mutazioni silenti o sinonime** determinano una sostituzione nucleotidica che non crea un cambio nella sequenza amminoacidica, questo avviene soprattutto quando si sostituisce il nucleotide in terza posizione che di solito non definisce l'amminoacido

- **mutazioni missenso** che determinano il cambiamento dell'amminoacido, possono avere un effetto patologico oppure non cambiare per nulla la funzionalità proteica. (non sempre la mutazione è la causa del fenotipo patologico, si fanno diversi studi per capire se lo è o meno: andiamo a vedere se quella variante si ritrova sulle persone con stesso fenotipo patologico (VARIANTE PATOGENETICA), risalendo l'albero genealogico studiando gli altri casi attraverso i database e vediamo la frequenza della variante nella popolazione comprendere che ruolo ha quella proteina all'interno dell'organismo e quanto l'amminoacido influisce nella struttura e conseguentemente nella funzione di quella proteina)
- **mutazioni non senso**, la sostituzione nucleotidica determina il cambiamento del codone da codificante per un amminoacido a **codone di stop**: si formerà una proteina tagliata, tronca che viene demolita oppure si accumula all'interno della cellula. Sono mutazioni patogenetiche, hanno effetti devastanti sul corpo
- **Mutazioni di splicing**, mutazioni caratterizzate dalla sostituzione di un singolo nucleotide in corrispondenza delle REGIONI DI SPLICING (*quelle regioni a monte e a valle dell'introne che sono immediatamente adiacenti all'esone e che sono importanti per il processo di splicing ossia per far staccare le sequenze non codificanti, ossia gli introni, dall'mRNA al fine di produrre un mRNA maturo tutto codificante*). Le mutazioni presenti a questo livello determinano uno splicing alterato → può determinare:
 - I. Skipping dell'esone, alcuni esoni vengono saltati non facendo parte della proteina finale
 - II. Inserimento nella sequenza codificante degli introni, causando ancora una proteina completamente alterata.

- Altre mutazioni possono riguardare la regione **3'UTR o 5' UTR**, che invece sono delle regioni trascritte e non tradotte che però sono importanti per la stabilità dell'RNA messaggero.

Le mutazioni in prima posizione sono quelle più influenzanti

·EFFETTI DI MUTAZIONI PUNTIFORMI SULLA REGIONE CODIFICANTE DI UN GENE (a livello del promotore)→ alterazione totale della sintesi della proteina



Percentuale delle sostituzioni nelle tre posizioni di un codone non sinonime (MISSENSO):

- 96% delle sostituzioni in prima posizione
- 100% delle sostituzioni in seconda posizione
- 33% delle sostituzioni in terza posizione (più tollerate)

Percentuale delle sostituzioni nelle tre posizioni di un codone non sinonime:

~96% delle sostituzioni in prima posizione

100% delle sostituzioni in seconda posizione

~ 33% delle sostituzioni in terza posizione

Mutazioni non sinonime possono essere:

- conservative
 - Asp (GAC,GAU) → Glu (GAA,GAG) [AA acidi]
 - Leu (CUX) → Val (GUX) [AA apolari]
 - Ser (AGU,AGC) → Thr (ACX) [AA polari privi di carica]
- non conservative
 - Arg (CGX) → Gly (GCX) [A basico → A apolare]
 - Pro (CCX) → Leu (CUX)

·DELEZIONI ED INSERZIONI

a. Frameshift: dovute a delezione o inserzioni di un numero di nucleotidi non divisibile per 3, che comporta lo slittamento di tutto il codice di lettura, avremo la formazione di una proteina tronca con un precoce codone di stop

b. In frame: delezione o inserzioni di un numero di nucleotidi multiplo di 3 (inserzione/delezione di uno o più aa (ΔF508 in CFTR)à le conseguenze fenotipiche dipendono da dove viene inserito/ tolto questo nucleotide. Una delle più famose mutazione in frame è una

delezione della FENILANANINA in posizione 508 nel gene CFTR che determina la più diffusa malattia recessiva ossia la FIBROSI CISTICA: malattia anche denominata mucoviscidosi, che è caratterizzata da un'alterazione dei canali del cloro a causa della quale si verifica un accumulo di muco a livello dei polmoni che determina molto spesso colonizzazione batterica a problemi respiratori, infezioni

c. Mutazioni dinamiche: sono dovute alla ripetizione di brevi triplette nucleotidiche all'interno di una regione codificante o non-codificante di un gene

Lezione del 18/01/2023

MUTAZIONI DINAMICHE

LE MUTAZIONI DINAMICHE CONSISTONO NELL'AMPLIAMENTO DELLE SEQUENZE RIPETUTE DEI NUCLEOTIDI ALL'INTERNO DI UN GENE.

La mutazione avviene nella linea germinale → instabilità nella linea germinale

Durante la formazione dei gameti da genitore a figlio, il fenotipo sarà sicuramente più grave rispetto a quello del genitore perché ad ogni trasmissione del genotipo ci sarà un ulteriore ampliamento delle regioni ripetute perciò un'amplificazione della patologia (**ANTICIPAZIONE GENICA**: la malattia si manifesta precocemente e in forma più grave nelle generazioni successive): **instabilità delle regioni ripetute**. A seconda della patologia, l'espansione può avvenire preferenzialmente nella linea germinale maschile o in quella femminile.

Abbiamo due tipi di mutazioni, che differiscono per la localizzazione delle sequenze ripetute:

- **All'interno del gene** → Triplette (spesso CAG) localizzate nella regione codificante del gene
- **All'esterno del gene** → ripetizioni di 3 o più nucleotidi in regioni non codificanti (promotore, introni, 3'-UTR)

Tali mutazioni sono responsabili di circa 40 patologie neurologiche, neurodegenerative e neuromuscolari.

La mutazione insorge a causa della DNA polimerasi che slitta sul filamento e provoca un ampliamento delle regioni ripetute. Esse vengono ripetute 30-40 volte per ogni slittamento. L'amplificazione ha un ampliamento soglia, ovvero c'è un numero di ripetizioni che possono

esserci senza che insorga un fenotipo patologico. I soggetti che si trovano in questo caso vengono definiti **pre-mutati** e hanno qualche piccola caratteristica patologica (tremori, dei tic ecc..)

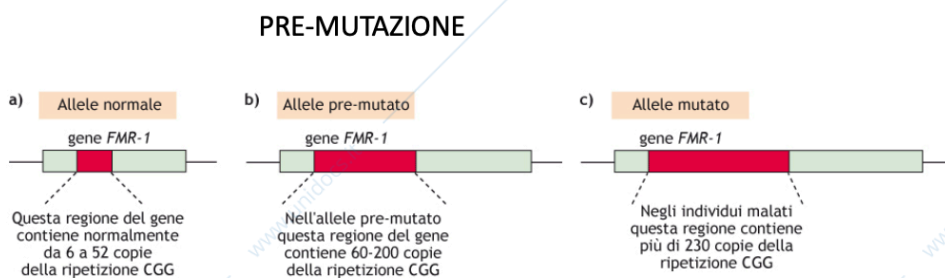


Figura 10.28 Espansione di triplette del locus del gene *FMR-1* che determina la sindrome dell'*X* fragile. Esempio di pre-mutazione (b), stadio in cui il livello di espansione delle triplette non è ancora tale da portare alla manifestazione della malattia (c).

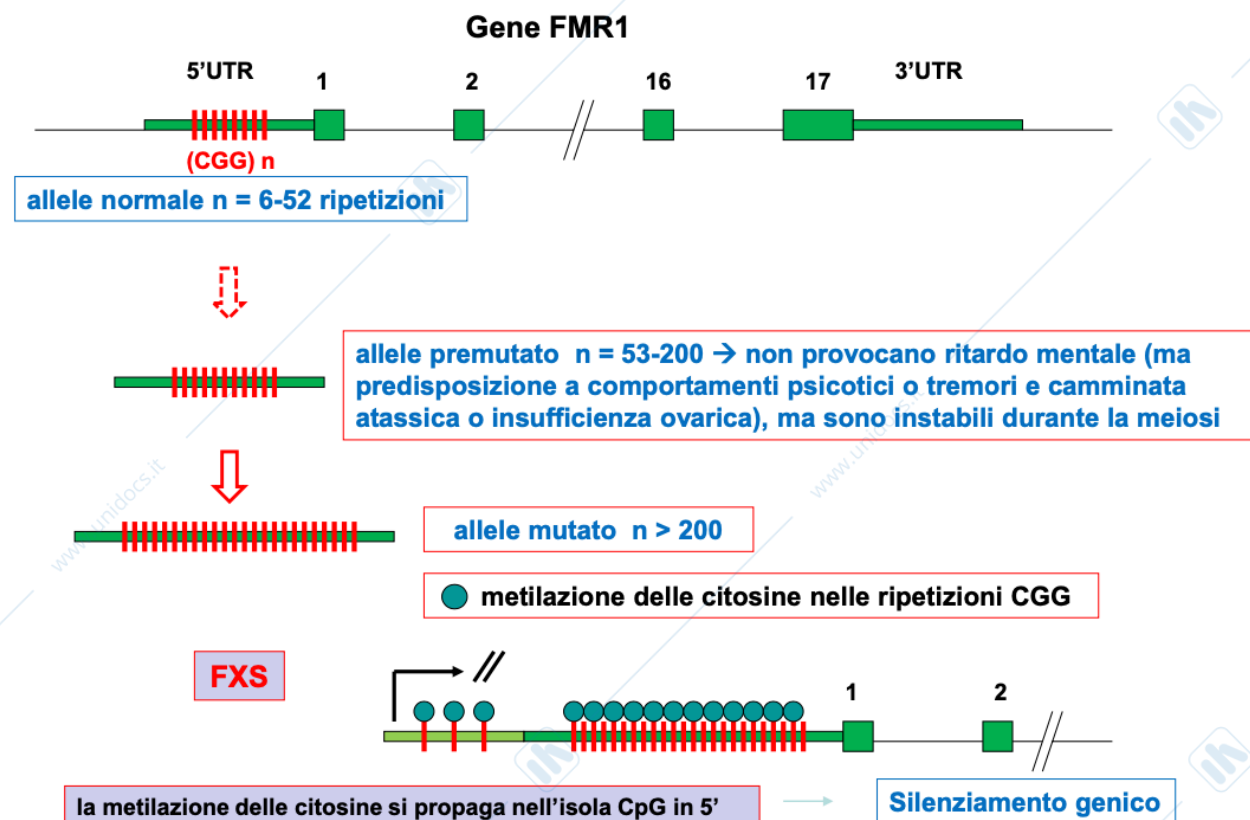
parliamo di un **blando fenotipo patologico**) cioè un accenno della patologia che insorge in quelli che presentano la mutazione. Dopo il valore soglia, circa maggiore delle 200 triplette ripetute, avremo il fenotipo patologico. Maggiore sono le ripetizioni, maggiore è il fenotipo patologico (**il grado di espansione correla con la gravità del fenotipo**)

La caratteristica di queste malattie è che avremo un insorgenza precoce, un anticipazione genica: **nei figli si avrà un insorgenza precoce e più grave della malattia.**

SINDROME X FRAGILE

Caratterizzata da gravi problemi cognitivi e comportamentali (un evidente ritardo mentale), dismorfismi facciali (esempio: viso allungato e orecchie grandi), anomalie del tessuto connettivo e macro-orchidismo post-puberale (testicoli abnormi), camminata atassica.

La mutazione caratterizza l'espansione del numero di ripetizioni del trinucleotide **CGG**, localizzate nell'5'UTR del gene **FMR1** sul **chromosoma X**. Le triplette si localizzano al 5'UTR, **una untranslated region** a monte delle sequenze codificanti che non viene tradotta ma che serve per la regolazione genica dell'espressione del gene:



LA MUTAZIONE COMPORTA LA PERDITA DELL'ESPRESSIONE GENICA DEL GENE FMR1

Perché se si trovano in regioni non codificanti danno degli effetti fenotipi?

Tutte le citosine vengono metilate creando un vero e proprio ostacolo fisico per poter esprimere il gene: **silenziamento genico**: il ritardo mentale deriva dal fatto che il silenziamento genico produce una modificazione delle proteine coinvolte nella produzione delle sinapsi nervose.

N. DI RIPETZIONI NUCLOTIDICHE	ALLELE	FENOTIPO
6-52	Normale	Normale
53-200	Premurato	Blando: non provocano ritardo mentale (ma predisposizione a comportamenti psicotici o tremori e camminata atassica o insufficienza ovarica), ma sono instabili durante la meiosi
200-2000	Mutato	fenotipo dichiaratamente patologico

Queste mutazioni si verificano nella linea germinale materna: se la mutazione è presente nella madre, i figli prendono il fenotipo in maniera più grave.

- Frequenza di 1/4000 nei maschi in quanto localizzata sul cromosoma X, siccome i maschi sono emizigoti per il cromosoma X, si manifesta sempre.
- Nelle donne è 1/7000; se una X è mutata e l'altra no, non dovrebbe esserci la malattia.

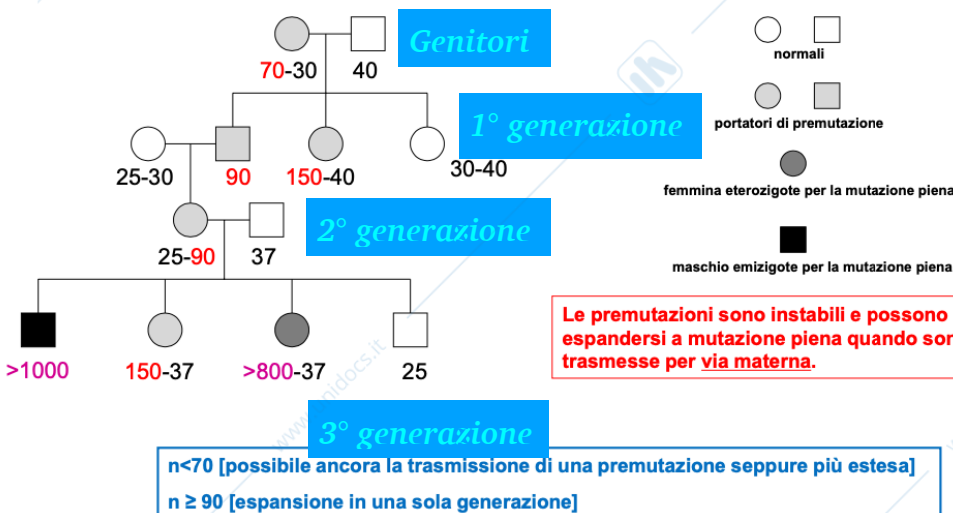
Solo nel caso in cui vi è una innattivazione preferenziale del cromosoma X normale, si avrà la patologia.

PERCHE?

Normalmente nella donna, durante la vita embrionale, avviene un attivazione casuale di una delle due X. In una donna quindi più o meno il 50% delle cellule esprimeranno il cromosoma X materno e il 50% restante quello paterno. Supponiamo che una delle due X sia mutata (è molto instabile, soprattutto durante la linea germinale). Se l'inattivazione avviene preferenzialmente a carico del cromosoma X normale, si manifesterà il cromosoma X mutato ma con meno frequenza rispetto ai maschi e con un fenotipo più blando

(consideriamo sempre che si tratta comunque del 50% delle X del nostro corpo, avremo comunque la restante parte che esprimerà quella normale).

Trasmissione familiare della sindrome dell' X fragile



Le premutazioni sono instabili e possono espandersi a mutazione piena quando sono trasmesse per via materna.

Consideriamo ora la FOTO:

- Partiamo da una coppia di genitori formati da: un padre sano (quadrato bianco) ed una madre

Maschi emizigoti per la mutazione piena: grave forma di ritardo mentale IQ=42.
 Femmine eterozigoti per la mutazione piena: 25% IQ<70, le altre IQ comprese tra 75 e 90.

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

portatrice di premutazione. I due hanno tre figli (1° generazione):

- Una donna (cerchio bianco) che ha ereditato la X paterna sana e la X materna sana
- Un'altra donna (cerchio grigio) che ha ereditato la X paterna sana e la X materna mutata: parliamo anche qui di portatrice di mutazione che presenta già un ampliamento delle sequenze nucleotidiche e un fenotipo patologico blando
- Un maschio (quadrato grigio) che ha ereditato la Y dal padre e la X mutata dalla madre: anche qui un portatore di premutazione che presenta un fenotipo che mostra già un accenno della malattia.

Quest'ultimo si unisce con una donna sana e ha una figlia (2° generazione), una donna (cerchio grigio) portatrice di premutazione che ha ereditato una X dalla madre (ricordiamoci che sono entrambe sane) e la X mutata dal padre.

NOTA BENE: Se ci facciamo caso mentre tra i Genitori e la 1° generazione abbiamo avuto un ampliamento delle sequenze ripetute in quanto la linea che veniva trasmessa era quella materna, in questo caso tra la 1° generazione e la seconda non c'è stato nessun ampliamento delle regioni ripetute in quanto la linea della X mutata è quella del padre (linea germinale più stabile rispetto a quella materna).

L'instabilità della linea germinale che caratterizza le mutazioni dinamiche in questo caso riguarda preferenzialmente la linea germinale materna.

La donna si sposa con un uomo sano (2° generazione) e loro avranno quattro figli (3° generazione):

- Un maschio (quadrato bianco) totalmente sano che avrà ereditato la Y dal padre e la X sana dalla madre
- Un maschio (quadrato nero) gravemente malato che avrà ereditato la Y dal padre e la X mutata dalla madre; siccome la X proviene dalla linea materna è avvenuto un ampliamento delle regioni nucleotidiche davvero importante (ritroviamo il concetto di instabilità della linea germinale materna)
- Una donna (cerchio grigio) che è portatrice della mutazione in quanto avrà ereditato una X normale dal padre e la X mutata dalla madre che presenterà un ampliamento delle sequenze ripetute entro il limite soglia quindi non ha una manifestazione fenotipica
- Una donna (cerchio grigio scuro) che è malata in quanto presenta la X paterna e la X materna mutata che avrà subito un ampliamento delle sequenze ripetute molto importante (rispetto all'uomo presenterà un fenotipo patologico non troppo grave per quel processo di silenziamento genico di una X casuale)

Malattia di Huntington

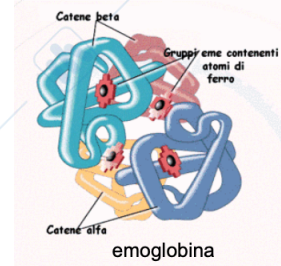
La malattia provoca movimenti incontrollati, tic multipli e forti cambiamenti di personalità. La sequenza presa in considerazione è la tripletta di nucleotidi **CAG** sul gene **HTT**; il codone codifica la glutammina, la metilazione a livello di questa tripletta provoca la produzione di catene di poligluttammina che provocano problemi alla proteina, compromettendo il funzionamento della stessa.

N. DI RIPETIZIONI NUCLEOTIDICHE	ALLELE	FENOTIPO
10-34	Normale	Normale
34-40	Premurato	Blando

N. DI RIPETZIONI NUCLOTIDICHE	ALLELE	FENOTIPO
40-120	Mutato	fenotipo dichiaratamente patologico

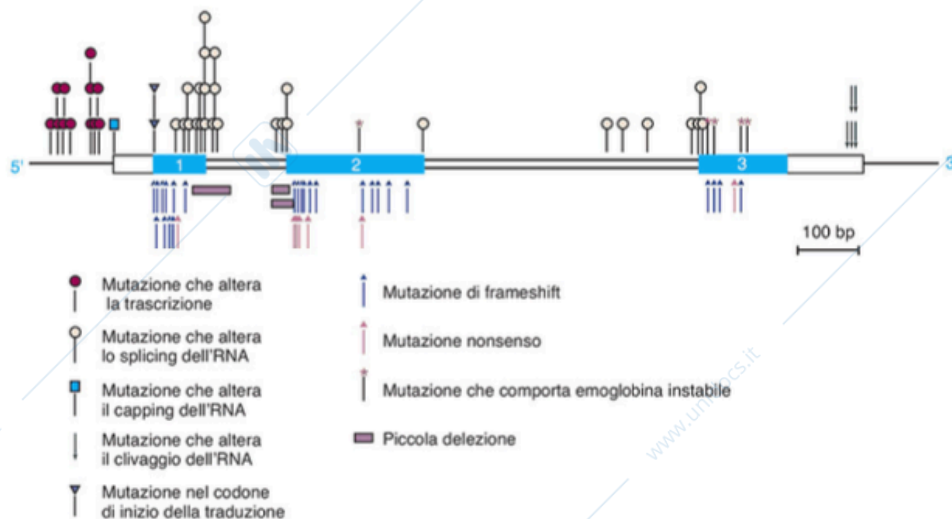
Beta-talassemie

Consideriamo prima l'emoglobina, essa è caratterizzata da 4 catene uguali a due (beta) a due (alfa), ciascuna catena lega un gruppo eme che contiene un atomo di ferro responsabile del legame con l'O₂; infatti il ruolo dell'emoglobina trasporta l'ossigeno nel sangue.



Gruppo di malattie genetiche causate da una riduzione nella sintesi delle catene β globiniche che determina un eccesso di catene α . Quest'ultime si legheranno a formare un omotetramero (in caso i quattro monomeri siano identici tra di loro) che precipita nella cellula: siccome esse sono instabili e insolubili provocano emolisi (precipitazione dei globuli rossi) ed anemia.

Si tratta di un tipico esempio di malattie che possono essere causate da molteplici tipi di mutazioni geniche:



EFFETTI DI UNA MUTAZIONE GENICA SUL FENOTIPO

• Perdita di funzione LOF (loss of function),

Recessive (entrambi gli alleli devono essere mutati) comporta la perdita della funzione della proteina corrispondente al gene mutato. Sono generalmente di vario tipo e distribuite lungo tutto il gene;

• Acquisizione di funzione GOF (Gain of function),

Aumento della funzione della proteina o acquisizione di una nuova funzione.

L'impatto di una mutazione LOF sulla severità del fenotipo patologico correla con la quantità di funzione persa

Nel caso delle Loss of function:

PIÙ PROTEINA VIENE PERSA, PIÙ VIENE PERSA LA FUNZIONALITÀ DELLA STESSA E MAGGIORE SARÀ IL FENOTIPO PATOLOGICO

- Il fenotipo molto frequentemente è di tipo recessivo cioè l'effetto patogenetico della mutazione si manifesta solo quando entrambi gli alleli di un locus sono mutati. In questo caso c'è il 100% della proteina mutata: si manifesterà un fenotipo patologico grave.
- Più raramente si può avere un fenotipo dominante, dove un gene è normale l'altro no: abbiamo il 50% di proteine normali e il 50% mutato. In questo caso il fenotipo patologico si manifesterà per:
 - **Meccanismo ablo-insufficienza:** il 50% della proteina normale non è sufficiente a svolgere la sua funzione e a compensare la perdita dell'altro;
 - **Effetto dominante negativo:** l'espressione di una proteina mutata interferisce con la funzionalità di altre proteine normali (tendenzialmente parliamo di complessi di proteine).

ESEMPIO: Geni che codificano per proteine che formano dimeri o multimeri: se una proteina del complesso è mutata rispetto alle altre, l'intera proteina non funzionerà come dovrebbe.

LOF: RETINOBLASTOMA

Si tratta del tumore dell'occhio, malattia molto rara 1/12-15000 soggetti.

Il gene mutato è **RB: oncosoppressore**, inibisce il ciclo cellulare (è presente in tutte le cellule ma viene espresso solo nell'occhio): inizia la proliferazione delle cellule dell'occhio. Abbiamo due tipi di manifestazione del retinoblastoma:

- Quando è sporadico e non proviene da eredità (niente casi nella famiglia): 2 mutazioni somatiche (insorgenza tardiva, unilaterale) – rischio di ricorrenza più basso. Si tratta di casi sporadici in quanto la stessa mutazione deve avvenire su due geni, nella stessa cellula e nello stesso momento.
- Quando è ereditario: 1 mutazione COSTITUZIONALE (tutte le cellule hanno questa mutazione, perciò tutte presentano un'alta probabilità che insorga il tumore in quanto basta un'altra singola mutazione genetica-ricordiamoci che esse sono recessive) e 1 mutazione SOMATICA (insorgenza precoce, bilaterale)

GOF: Carchot Marie Tooth

Tra le malattie neuromuscolari più frequenti: 1/2500 individui. Presenta diverse tipologie: quella più frequente è quella di tipo 1 caratterizzata da una demielizzazione dei nervi periferici. La mutazione avviene sul gene PMP22 che codifica per la mielina: la mutazione riguarda un maggiore dosaggio genico che determina la produzione di una mielina altera che va incontro a degradazione e ne provoca una mancata funzione. Siccome la mielina avvolge i nervi attraverso la guaina mielitica, una sua modificazione rallenta il passaggio dell'impulso all'interno del neurone e ne produce in definitiva un rallentamento di tutti i movimenti.

NOTA BENE: FISH: Ibridazione in situ fluorescente

I segnali verdi e rossi sono delle sonde che hanno dei marcatori fluorescenti che ci fanno capire qual'è la quantità di quella sonda cioè queste sonde si legano al DNA in corrispondenza di specifiche sequenze (c'è una complementarietà) e siccome sono fluorescenti danno il segnale fluorescente. In questo caso il cerchietto indica una cellula:

nella cellula 1 sono presenti tre sonde verdi: siccome la sonda verde lega il gene PMP22 possiamo dire che all'interno di quella cellula sono presenti tre geni PMP22, questo avviene perché c'è una duplicazione della regione che comprende questo gene determinandone una maggiore funzione. Le due sonde rosse evidenziano le regioni di controllo cioè si legano a quelle regioni di controllo dei cromosomi: siccome abbiamo due copie di un cromosoma avremo due sonde rosse.

CENNI DI CITOGENETICA

La cromatina

Siccome il DNA ha quasi la lunghezza di un metro, esso per poter esistere in una struttura così piccola come la cellula deve essere compattato. Tale compattamento prevede addirittura più gradi: il primo avvolgimento è dato dagli **istoni**, proteine nucleari, nello specifico ottameri di proteine. Ogni istone è avvolto da una doppia elica di DNA a formare il cosiddetto **nucleosoma**, l'**unità più piccola della cromatina**. Siccome questo primo compattamento riduce il volume complessivo del DNA di circa 30-40 volte solamente, ci devono essere degli ulteriori avvolgimenti, come la creazione della **fibra cromatinica**, per poter ottenere un DNA super compattato.

Abbiamo due tipi di cromatina:

- Cromatina attiva trascrizionalmente:

EUOCROMATINA, si decondensa per favorire la trascrizione.

- Cromatina inattiva: **ETEROCROMATINA**, rimane condensata per tutto il ciclo cellulare

La cellula comprende quale cromatina è attiva e quale è inattiva da alcune modificazioni al DNA e agli istoni:

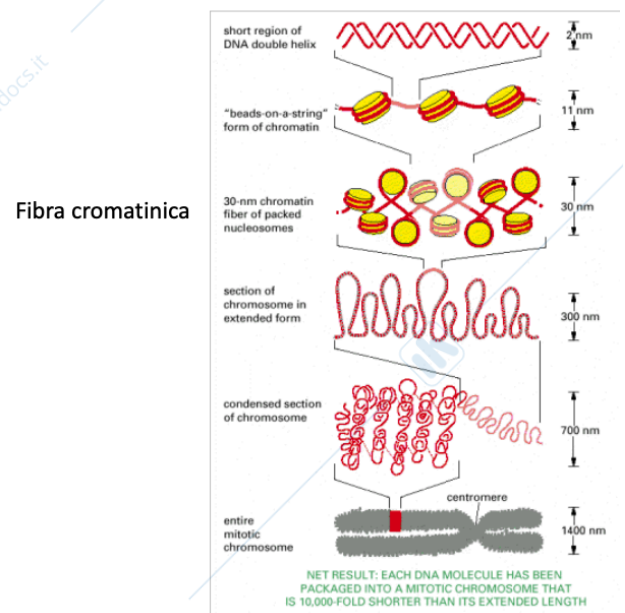
- la metilazione delle citosine del DNA
- modifiche sugli istoni quali l'acetilazione o la metilazione

La cromatina inattiva presenta dei gruppi acetilici o metilici legati al DNA o alle proteine istoniche che impediscono fisicamente che tutto l'apparato della trascrizione e della traduzione possa essere messo in atto provocando il silenziamento genico della regione considerata.

NOTA BENE: La massima spiralizzazione del DNA in cromosomi si ha durante la metafase quando si forma la piastra, in divisione cellulare.

CROMOSOMI

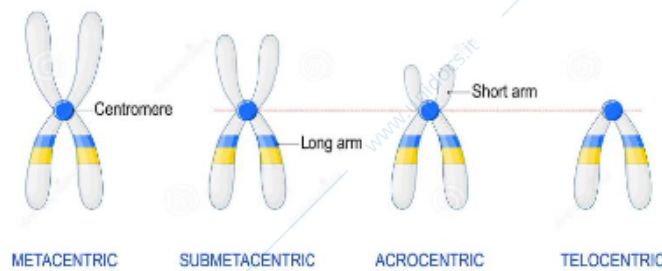
Abbiamo 46 cromosomi, 23 coppie di cui 22 sono autonomi (cromosomi diversi da quelli sessuali) e due saranno i cromosomi sessuali (XX per le donne e XY per gli uomini)



I cromosomi si dividono a seconda di dove si trova il centromero (il bottonaio in corrispondenza del quale si uniscono i cromatidi fratelli):

- **Metacentric:** quando il centromero è a meta del cromosoma ESEMPIO: cromosoma 1
- **Submetacentric:** hanno il centromero leggermente spostato verso un estremità ESEMPIO: cromosoma 6
- **Acrocentric:** centromero ancora più spostato verso un estremità ESEMPIO: cromosoma 8
- **Telocentric:** cromosoma che hanno il centromero totalmente localizzato all'estremità, ovvero in corrispondenza dei telomeri. ESEMPIO: cromosoma 21, 13 o Y

Chromosome types

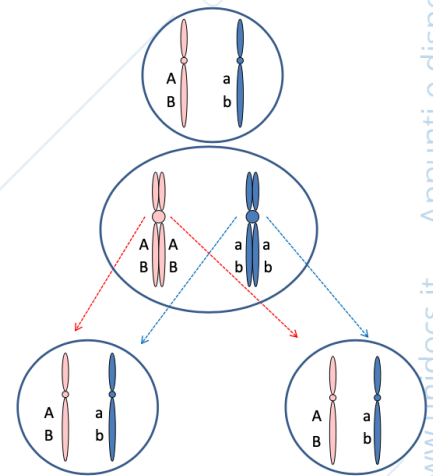


Mitosi e Meiosi

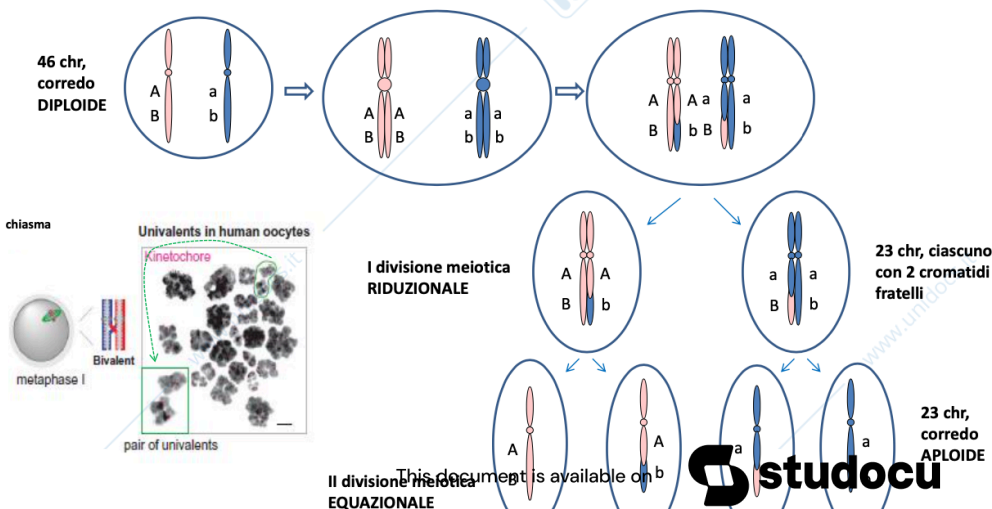
Nella mitosi viene prima raddoppiato il DNA, poi i cromatidi fratelli si divideranno e si formeranno due cellule figlie con lo stesso genotipo della cellula madre. Questo avviene in tutte le cellule dell'organismo, in tutte quelle somatiche.

Durante la formazione dei gameti invece, cioè durante la meiosi, partiamo da una cellula diploide (46) che raddoppia il proprio DNA, in seguito avviene il crossing over, ovvero lo scambio di materiale genetico tra cromosomi omologhi. Dopo il crossing-over i cromosomi omologhi (ognuno caratterizzato da due cromatidi fratelli) si separano e si forma la prima divisione meiotica che viene chiamata riduzionale in quanto il corredo cromosomico da 46 si dimezza a 23. In seguito queste cellule andranno incontro alla seconda divisione meiotica senza

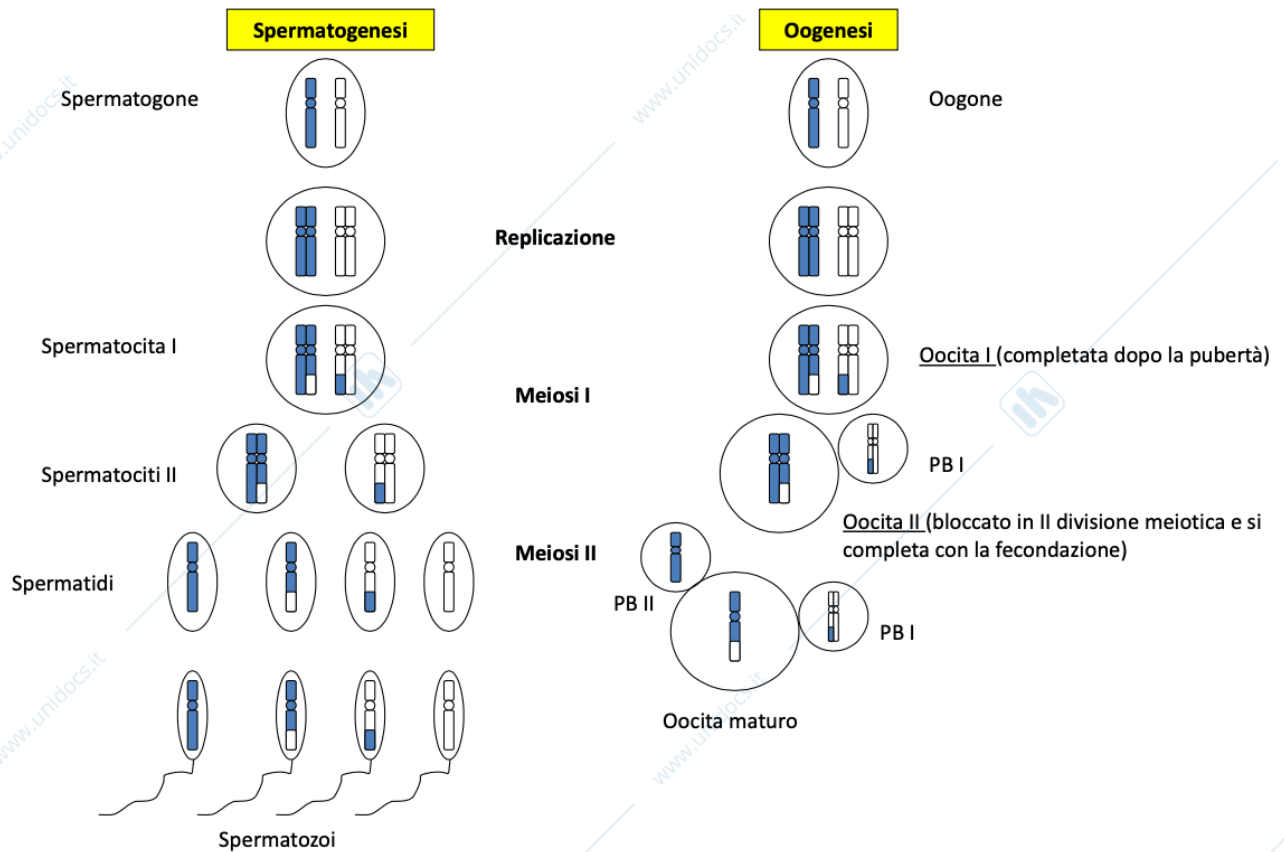
Segregazione dei cromosomi nella mitosi



Segregazione dei cromosomi nella meiosi



duplicazione dove i cromatidi fratelli si separano: il corredo rimane aploide ma invece che essere costituito da cromosomi, è caratterizzato da cromatidi.



Qual è la differenza tra ovogenesi e spermatogenesi?

Mentre la spermatogenesi si verifica per tutta la vita dell'individuo, in maniera continuativa nell'uomo; nella donna il pool di ovoni si forma nella vita embrionale: noi abbiamo già tutte le cellule uovo che si stanno formando nella vita embrionale; questo pool di cellule uovo andrà via via riducendosi e maturando ad ogni ciclo meustrale fino ad arrivare alla fine delle cellule uovo ovvero alla menopausa. Abbiamo 6 milioni di ovoni che alla nascita si ridurranno a 1 milione, al menarca (il primo ciclo meustrale ovvero alla maturazione sessuale) avremo circa 200.000 ovociti primari: quest'ultimi non sono delle cellule germinali già pronte ma sono ancora bloccate in prima divisione meiotica che subiranno una maturazione in seconda divisione meiotica solo durante la fecondazione.

Confronto tra gametogenesi maschile e femminile

SPERMATOGENESI	OOGENESI
Comincia alla pubertà	Comincia durante la vita embrionale
<p>spermatogonio</p> <p>↓</p> <p>spermatocita I</p> <p>↓</p> <p>spermatocita II</p> <p>↓</p> <p>spermatide</p> <p>↓</p> <p>spermatozoo</p>	<p>oogonio</p> <p>↓</p> <p>Oocita I</p> <p>↓</p> <p>oocita II</p> <p>↓</p> <p>oocita maturo</p> <p>ZIGOTE</p>
<p>40 giorni</p> <p>9 giorni</p> <p>19 giorni</p> <p>21 giorni</p>	<p>Gli oogoni entrano in meiosi a partire dal I trimestre di gravidanza, alla nascita solo <u>un milione</u> dei 6 milioni di oogoni originali è progredito nella MI arrestandosi in profase I.</p> <p>Al <u>menarca</u> sono disponibili <u>~300.000</u> oociti arrestati in profase I. Mensilmente un piccolo gruppo di oociti, sotto lo stimolo ormonale, verrà reclutato per la maturazione ma solo uno la raggiungerà e sarà ovulato.</p> <p>All'ovulazione il solo oocita maturo verrà espulso dall'ovaio (in metafase II). L' oocita II completerà la meiosi solo se fecondato.</p>

tempo totale per la produzione di un gamete:

3 mesi circa

12-50 anni

Qual'è la differenza nelle mutazioni che si possono verificare nella linea germinale maschile e femminile?

Uno spermatozoo matura in circa 3 mesi (questo avviene sempre in maniera ciclica), invece la maturazione completa di tutti gli ovoni nella donna avviene dai 12 ai 50 anni.

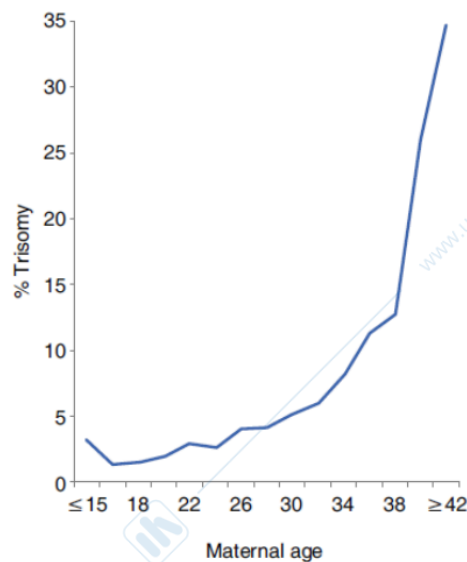
Nella linea germinale maschile si accumulano mutazioni puntiformi cioè mutazioni che riguardano pochi nucleotidi (inserzioni, delezione ecc) perché le divisioni cellulari a cui gli spermatozoi vanno incontro sono tantissime. Perciò ad esempio in un individuo di 25 anni le cellule germinali avranno subito 625 divisioni, in un individuo di 40 anni ne avranno subite 840. Essendo tante le divisioni queste cellule avranno avuto la possibilità di accumulare mutazioni ad ogni divisione cellulare per 840 volte (le mutazioni che avvengono nei gameti saranno proporzionate al numero di meiosi che la spermatogenesi ha compiuto). Questo è il motivo per il quale un uomo in età avanzata è ancora portatore di mutazioni puntiformi genetiche nel figlio.

- II. Le donne in età avanzata invece accumuleranno mutazioni che riguardano il numero di cromosomi perché nel frattempo tutto il sistema della divisione cellulare invecchia (invecchiamento cellulare) con la donna: la formazione del fuso mitotico, le coesine (proteine che tengono insieme i cromosomi): un danneggiamento di quest'ultime produce problemi nella divisione dei cromosomi durante la divisione stessa (trisomie e monosomie)

Le aneuploidie originano prevalentemente da errori della segregazione cromosomica durante la meiosi materna (>90%)

L'incidenza dell'aneuploidie aumenta con l'età materna

Effetto dell'età materna sull'incidenza delle trisomie nelle gravidanze accertate



TRISOMIA 21:

1:1500 a 25 anni

1:15 a 45 anni

Frequenza della combinazione di tutte le trisomie per ogni classe di età

FOTO: andamento della frequenza della trisomia 21 in donne in correlazione dell'età.

MUTAZIONI CROMOSOMICHE

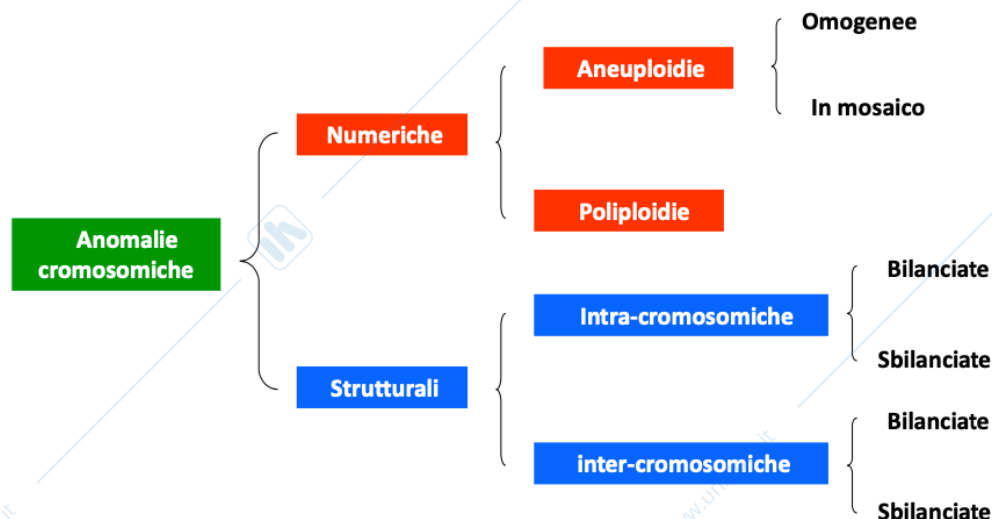
Sono mutazioni di grandi dimensioni che interessano o la struttura o il numero dei cromosomi.

MUTAZIONI NUMERICHE: ABBIAMO UN ASSETTO CROMOSOMICO CON NUMERO DIVERSO DA 46

- **aneuploidie** (presenza di uno o più cromosomi in più o in meno) che possono essere omogenee o In mosaico
- **poliploidie** (assetto multiplo apolide di cromosomi esempio: 46 a 69, 3 volte in più)

MUTAZIONI STRUTTURALI: CHE DETERMINANO DELLE ALTERAZIONI NELLA STRUTTURA NEI CROMOSOMI:

- **intracromosomiche** (si verificano all'interno dello stesso cromosoma)
- **intercromosomiche** (tra cromosomi differenti)



Una caratteristica importante nelle mutazioni cromosomiche si ritrova nelle anomalie **omogenee** (coinvolgono **tutte le cellule dell'organismo che hanno ereditato la stessa mutazione cromosomica**, sono ereditarie e si verificano durante la gametogenesi, partendo dai gameti dei genitori che si fondono formando uno zigote mutato che influenzerà tutte le altre cellule) e **in mosaico** (insorgono durante le divisioni post-zigote e coinvolgeranno solo una popolazione di cellule, cioè tutte le cellule che derivano da quella cellula mutata); esse non si possono trasmettere alla progenie perché possono coinvolgere i gameti ma non tutti.

MUTAZIONI CROMOSOMICHE NUMERICHE

Quando abbiamo un assetto cromosomico con numero diverso da 46 parliamo di **ETEROPLOIDIA**.

Si dividono in:

- **euploidia** : multiplo assetto del numero aploide (n) di cromosomi

Assetto triploide (3n, 69 cromosomi)

Assetto tetraploide (4n)

Incompatibili con la vita (aborti). Alcuni cariotipi triploidi o tetraploide sono osservabili alla nascita ma questi bimbi non sopravvivono a lungo perché hanno delle alterazioni importantissime multi organo)

○ **aneuploidia**: un cromosoma in più o in meno rispetto all'assetto normale cromosomico: Difetti cromosomici più comune (≈5% di tutte le gravidanze clinicamente accertate) sono le:

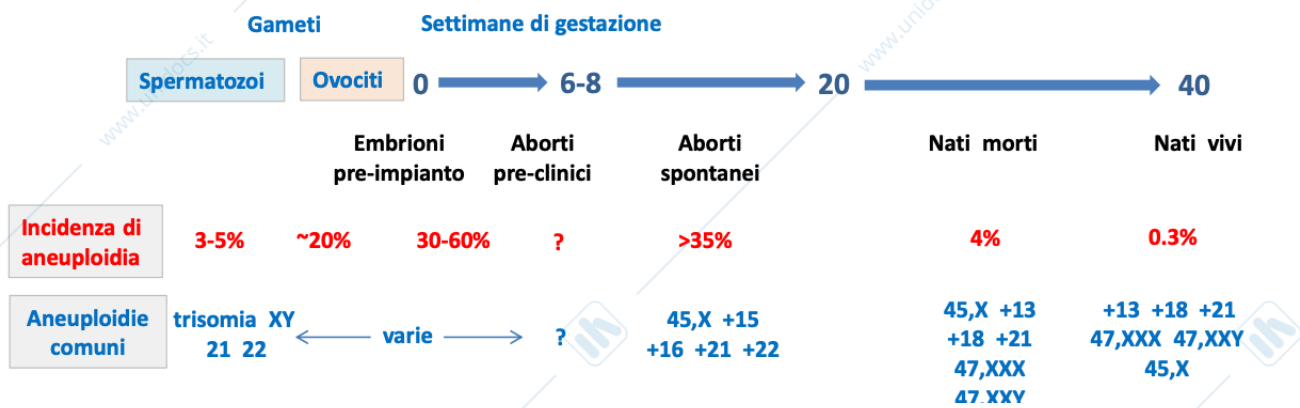
- **Trisomie** (tre copie di un particolare cromosoma) → tre cromosomi → 47 cromosomi
- **Monosomie** → solo un cromosoma → 45 cromosomi (sono meno frequenti)

Rappresentano degli aborti spontanei (conseguenze fenotipiche patologiche gravi); ci sono alcune trisomie però, le **21, 18 e 13 compatibili con la vita**, le **trisomie XXX, XYY, XXY** che coinvolgono i cromosomi sessuali compatibili con la vita.

Monosomia Xo compatibile con la vita (si tratta di una donna).

Trisomie degli autosomi compatibili con la vita:	47,+21 (1/700) sindrome di Down (forte selezione in utero con aborto)
	47,+18 (1/6.000) sindrome di Edward
	47,+13 (1/12.000) sindrome di Patau
Trisomie dei cromosomi sessuali compatibili con la vita:	47,XXX (1/1.000)
	47,XYY (1/600) sindrome di Klinefelter
	47,XYY (1/1.000)
Unica monosomia compatibile con la vita:	45,X (1/2.000) sindrome di Turner (il 99% degli zigoti 45,X viene abortito spontaneamente entro il primo trimestre di gravidanza)

Il 30-60 % delle aneuploidie vengono abortite (aborti pre clinici, cioè quelli che ancora non riescono ad essere individuati dall'ecografia: sono aborti spontanei. **NOTA BENE:** Le eventuali malformazioni in un feto vengono individuate con la morfologica nel primo mese) nelle prime 6-8 settimane di gestazione, nasceranno solo lo 0,3% dei bimbi affetti dalle aneuploidie. Quelle compatibili con la vita



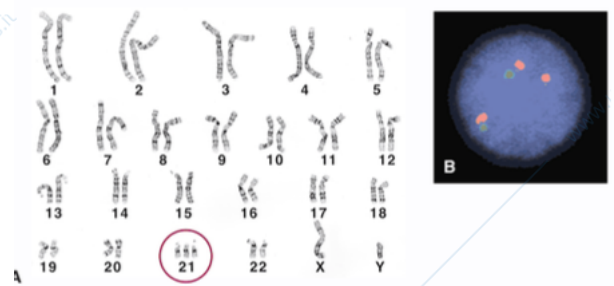
Trisomia del cromosoma 21-la sindrome di Down

Fenotipo patologico: occhi a mandorla, ingrossamento della lingua, basso impianto del corpo, le orecchie basse, ritardo mentale e malformazioni cardio-vascolari. Motivo per cui non sopravvivono oltre i 40-50 anni al massimo.

FREQUENZA: di 1/700 ma la stragrande maggioranza viene abortita.

FOTO: a sinistra cariotipo di un individuo affetto da sindrome di Down e a destra la tecnica

FISH: Ibridazione in situ fluorescente, dove i segnali rossi indicano i tre cromosomi 21 e quelle verdi sono le sonde di controllo.



EDWARD

Trisomia del cromosoma 18-la sindrome di EDWARD

Fenotipo patologico: Gravi malformazioni ai reni, polmoni e cuore; microcefalia, volto minuto, naso appuntito, impianto dell'orecchio basso, dita sovrapposte (il terzo dito sovrapposto al secondo) e hanno un ritardo di crescita (i danni principalmente sono dovuti al capo così tanto minuto) .

FREQUENZA: 1/6000



PATAU

Trisomia del cromosoma 13-Sindrome di PATAU

FREQUENZA: 1/12000.

Fenotipo patologico: brutta labiopalatoschisi, polidattilia (più dita), malformazione al cuore/polmoni e reni

I bambini affetti da queste ultime due patologie hanno vita molto breve

Trisomie 47 dei cromosomi sessuali compatibili con la vita

- Trisomia XXX donna normale
- Trisomia XYY uomo normale
- Trisomia XXY uomo affetto da sindrome di KLINEFELETER:

FREQUENZA: 1/600

Fenotipo patologico: problemi di sviluppo puberale dovuti alla presenza di una doppia X, infertili e sterili a causa della azospermia, testicoli piccoli e non sviluppano tutti i caratteri tipici di un uomo, sono ad esempio senza peli.

Monosomia 45 Xo- Sindrome di TANNER

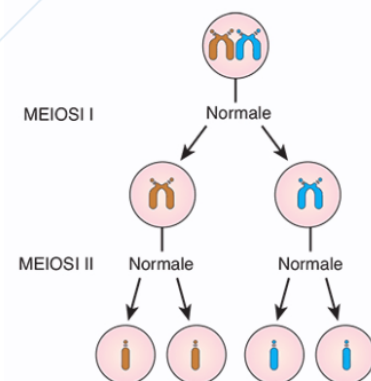
FREQUENZA: 1/2000

Fenotipo patologico: donne di bassa statura, collo piccolo, senza ciclo, sterilità per assenza di ovociti maturi

X IN PIÙ NEL MASCHIO O X IN MENO NELLA DONNA COMPROMETTE LA SESSUALITÀ E LA FERTILITÀ DI UN INDIVIDUO

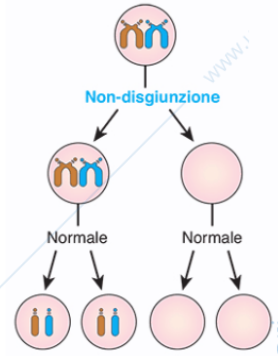
Qual'è il meccanismo responsabile delle aneuloidie ?

Una non-disgiunzione dei cromosomi nella meiosi.
Normalmente nella meiosi una cellula diploide subisce una prima divisione meiotica che produce due cellule figlie aploidi con 23 cromosomi composti da due cromatidi fratelli; questi subiscono un'ulteriore separazione meiotica producendo per ogni cellula altre due cellule figlie sempre aploidi ma formate da 23 cromatidi fratelli singoli.

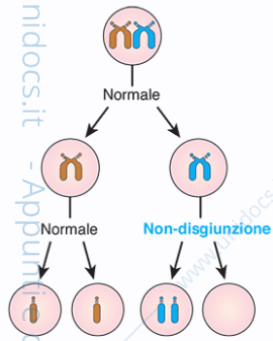


Se ci sono degli errori di non-disgiunzione, possono avvenire:

- **nella prima divisione meiotica:** supponiamo che nella cellula madre ci siano due copie del cromosoma 21, la cellula subisce la prima divisione meiotica: qui abbiamo l'errore di disgiunzione che porterà alla formazione di due cellule figlie che presentano una due copie del cromosoma 21, l'altra non presenterà il cromosoma 21. Queste subiranno un'ulteriore divisione meiotica portando alla formazione di due cellule figlie che da una parte avranno due copie dello stesso cromosoma e dall'altra nessuna copia dello stesso cromosoma. Si formeranno 4 cellule figlie tutte "malate"



- **nella seconda divisione meiotica:** supponiamo che nella cellula madre ci siano due copie del cromosoma 21, questa si divide in due cellule figlie che presentano entrambe una copia del cromosoma 21. L'errore avviene nella seconda divisione meiotica che produrrà quindi due cellule normali cioè con una copia del cromosoma 21 per ogni cellula, e le altre due con l'errore dove una contiene due copie dello stesso cromosoma 21 e l'altra non ne possiede affatto. Avremo quindi due cellule sane e due malate.



È MEGLIO L'ERRORE NELLA SECONDA DIVISIONE PERCHÉ SE L'ERRORE AVVIENE DURANTE LA PRIMA DIVISIONE MEIOTICA, LE CELLULE CHE OTTERREMO ALLA FINE SARANNO TUTTE E 4 MUTATE/SBILANCIATE (SE QUELLE CON DUE COPIE DI CROMOSOMI 21 VENGONO FECONDATE DARANNO ORIGINE A DUE TRISOMIE, QUELLE SENZA CROMOSOMA 21 SE VENGONO FECONDATE DAMANO ORIGINE A MONOSOMIE), NEL SECONDO CASO OTTERREMO SOLO IL 50% DI CELLULE CHE POTRANNO PRODURRE TRISOMIE/MONOSOMIE

NOTA BENE:

La non disgiunzione può avvenire in divisione post-zigotica. Uno spermatozoo normale feconda una cellula uovo normale formando uno zigote normale che si divide formando l'embrione.

Una cellula dell'embrione può però subire un errore di disgiunzione e tutte le cellule da esse derivate per divisione cellulare saranno tutte mutate, cioè si formerà una formazione di cellule mutate all'interno di un individuo normale: in questo caso parliamo di **mosaicismo**.

Con il mosaicismo diventano compatibili altre trisomie: ad esempio la trisomia del cromosoma 8 e quella del cromosoma 9.

Qual è il problema dei mosaicismi?

Qui è la frequenza della mutazione all'interno dell'individuo? Cioè quante cellule sono mutate rispetto a quelle normali? E soprattutto dove si distribuiscono le cellule mutate rispetto a quelle normali?

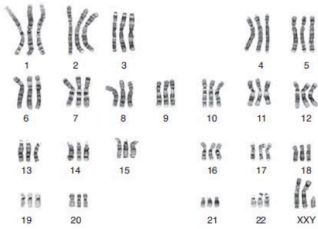
Non possiamo ricavare queste informazioni infatti non si può prevedere un fenotipo di un feto affetto da mutazione con mosaicismo. Abbiamo di conseguenza **una variabilità fenotipica notevole**.

Possiamo notare la presenza di mutazioni a mosaicismo se la mutazione non è presente nelle gonadi: ovvero al loro interno ci sono una quota di cellule mutate. Nelle altre parti del corpo non possiamo notarlo a meno che non ci sono dei fenotipi patologici. Nelle gonadi lo sappiamo perché se quelle cellule mutate presenti nelle gonadi (caratterizzate da

cromosomi in più o in meno) vengono fecondate avremo zigoti che presentano aneuploidie, avremo perciò figli malati.

In questo caso calcolare il rischio di ricorrenza, cioè la probabilità di avere un figlio affetto da mutazione da mosaicismo è veramente difficile ed è poco certo.

Un esempio di mosaicismo molto importante è il tumore.



POLIPLOIDIE

3n Triploidia: triplice aspetto aploide 69 cromosomi,

Si ritorna nell'1% delle gravidanze e nel 18% degli aborti spontanei.

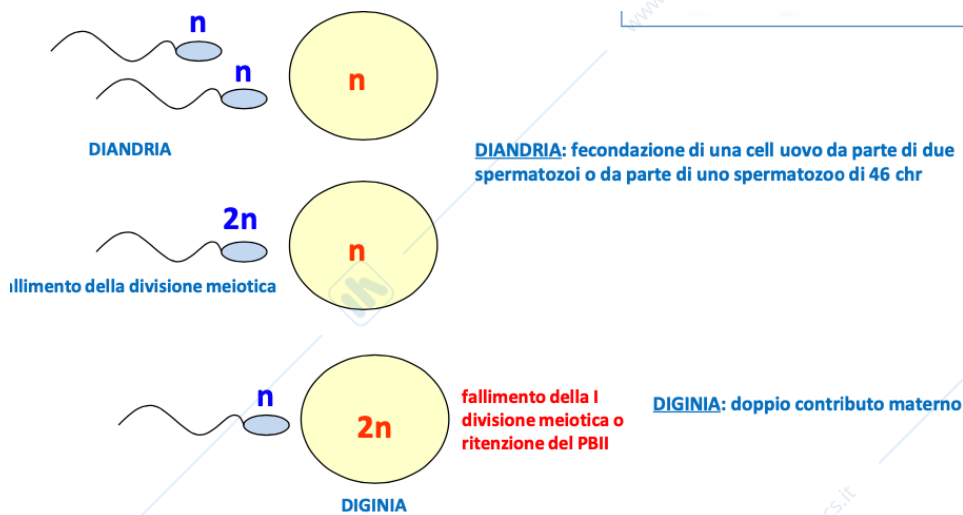
Perché si crea? Ci possono essere state:

- la fecondazione di una cellula uovo da parte di due spermatozoi aploidi
- la fecondazione di una cellula uovo da parte di uno spermatozoo con 46

cromosomi (errore durante la meiosi)

→ questi meccanismi si chiamano **diandria**

- Uno spermatozoo aploide feconda una cellula uovo diploide (non sarà stato eliminato il globulo polare, ritenuto all'interno) → **diginia**



ANOMALIE NELLA STRUTTURA DEI CROMOSOMI

Numero dei cromosomi identico ma struttura anomala: entrambe possono essere bilanciate (senza perdere materiale genetico) o sbilanciate con perdita di materiale genetico: la maggior parte saranno bilanciate infatti 1/200 è portatore di un riarrangiamento bilanciato.

Esse possono essere:

- **Intracromosomiche**, avvenire all'interno di uno stesso cromosoma
- **Intercromosomiche**, possono avvenire su cromosomi diversi

Le mutazioni INTRACROMOSOMICHE

(all'interno dello stesso cromosoma) possono essere:

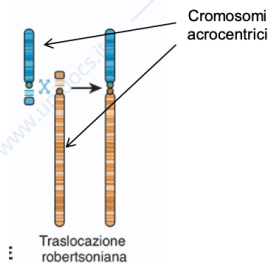
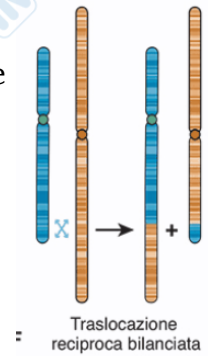
- **sbilanciate**, cioè c'è aggiunta o perdita di materiale cromosomico con una frequenza di 1/1600 (delezione, inserzione ecc..). Sequenze fenotipiche molto gravi dove l'entità del fenotipo dipenderà dalla grandezza del materiale perso o duplicato.
- **bilanciate** sono molto frequenti, 1/500, e la quantità finale di materiale cromosomico non cambia ma c'è una diversa riorganizzazione all'interno del cromosoma; non hanno effetti sul fenotipo a meno che la rottura non avvenga su un gene silenziandolo (portatori di

mutazioni intracromosomiche bilanciate) e le conseguenze saranno a carico dei **gameti** che saranno necessariamente **sbilanciati**, gli effetti patologici si avranno sulla generazione successiva.

I riarraggiamenti bilanciati INTERCROMOSOMICI (tra due cromosomi diversi)

Non danno un fenotipo patologico (a meno che la rottura non avvenga a livello di un gene silenziandolo) e sono molto frequenti nella popolazione:

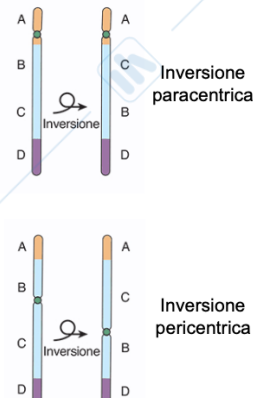
- **traslocazione reciproca bilanciata**: scambio di materiale genetico tra cromosomi non omologhi; si staccano due parti più o meno grandi dai due cromosomi e questi si rifondono in maniera da creare due cromosomi di grandezza identica.



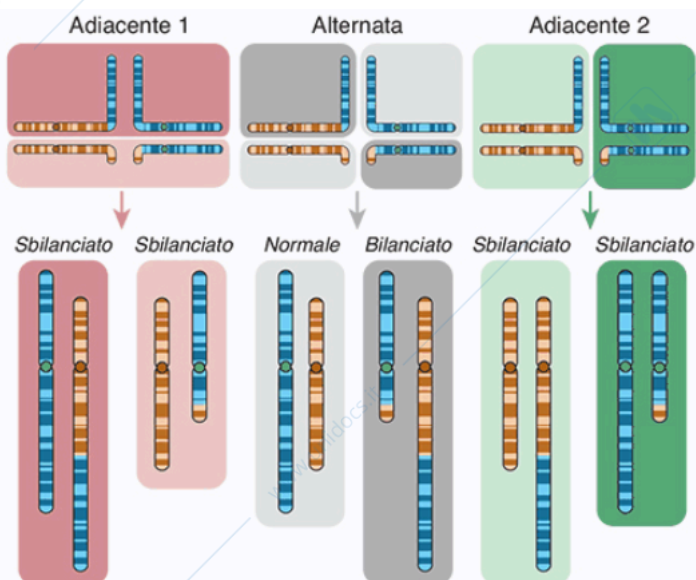
- **traslocazione robertsoniana**: fusione delle braccia lunghe di due cromosomi acrocentrici con perdita delle piccole braccia corte; non c'è il fenotipo patologico perché le braccia corte contengono DNA ripetuto o satellite oppure geni ribosomiali. (Più frequente nella popolazione, quella più diffusa è la 13-14).

PASSIAMO DA DUE CROMOSOMI A UNO SOLO, MA NONOSTANTE QUESTA VARIAZIONE DAL PUNTO DI VISTA GENICO NON PERDIAMO NESSUN GENE; SI FONDONO SOLTANTO FISICAMENTE

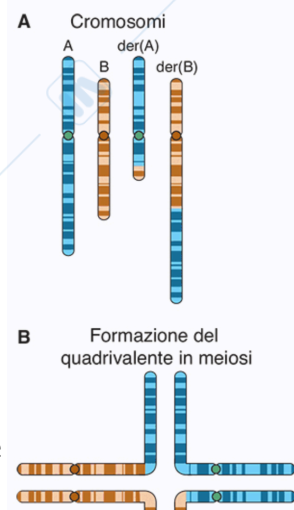
- **inversioni paracentriche**: scambio di orientamento del materiale genetico che non coinvolge il centromero
- **inversione pericentrica**: scambio dell'orientamento dei geni che coinvolge il centromero.



UN PORTATORE DI UNA TRASLAZIONE BILANCIATA PRODURRÀ GAMETI SBILANCIATI QUINDI NEL FIGLIO AVREMO UN FENOTIPO PATOLOGICO



Consideriamo i cromosomi derivati A (derA) e B (derB) sappiamo che essi sono il risultato della fusione dei cromosomi normali A e B. Quando questi si dovranno unire per il processo di meiosi seguendo la regione di completarietà, si uniranno chiaramente le sequenze dello stesso colore. Si forma il quadrivalente una struttura anomala in meiosi che quando deve separare i cromatidi nelle due cellule figlie, porterà a questi tre



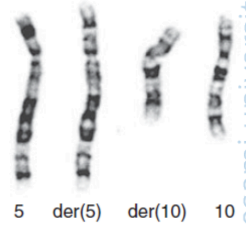
casi : FOTO

- Nell'adiacente 1 e nell'adiacente 2 avremo due cellule figlie sbilanciate
- solo nel caso della maniera alternata
- avremo il 50% di cellule normali e il 50% normali ma comunque bilanciate

Se un individuo è portatore di un riarrangiamento bilanciato produrre gameti che per il 75% saranno sbilanciati portando ad un fenotipo patologico e per il 25% saranno normali.

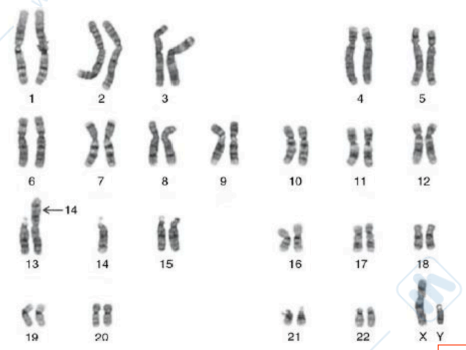
Esempio di traslazioni reciproche bilanciate:

Parliamo della traslazione tra il cromosoma 5 e il cromosoma 10: ci sarà stata una rottura sul cromosoma 10 e il passaggio di tale pezzettino sul cromosoma 5. Questa traslazione non causerà un fenotipo patologico ma il soggetto affetto presentava difficoltà ad avere figli.



Frequenza delle RCT di 1/700 nella popolazione generale ma di 1/50-1/100 nei ♂ infertili e di 1/500 nelle ♀ infertili.

Esempio di traslocazione bilanciata:

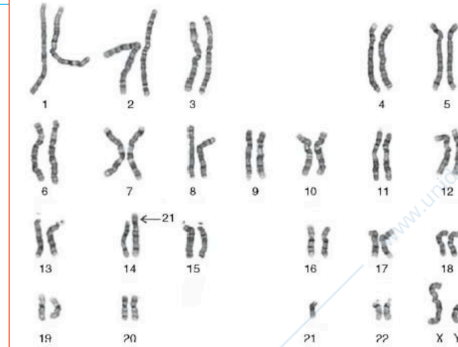


Cariotipo di un portatore fenotipicamente normale di una traslocazione rob 13/14

45,X,Y,rob(13;14)

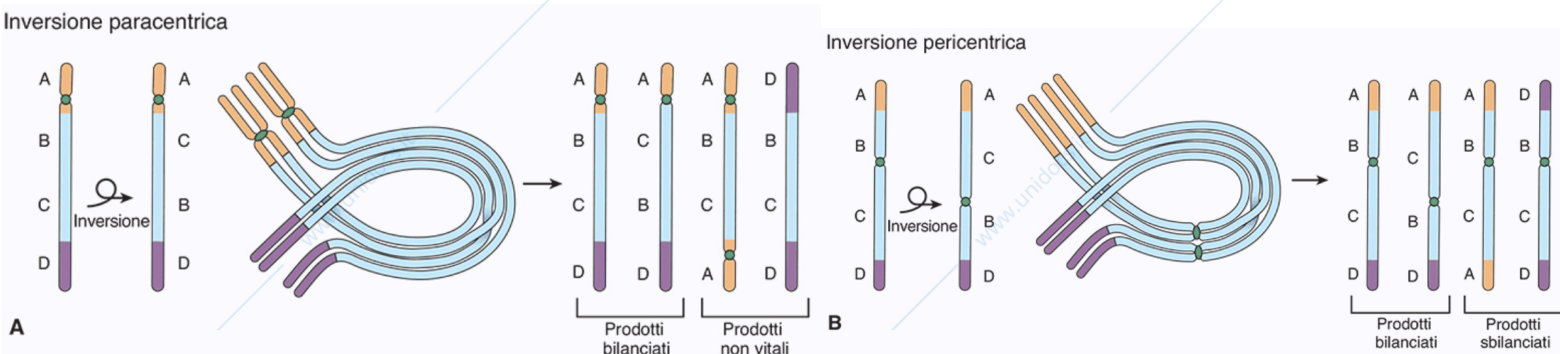
Cariotipo di un portatore fenotipicamente normale di una traslocazione rob 14/21

45,X,Y,rob(14;21)



Consideriamo le inversioni paracentriche e pericentriche e comprendiamo perché i gameti diventeranno sbilanciati:

Quando un cromosoma che ha subito un'inversione paracentrica o pericentrica va incontro a duplicazione e formerà una tetrade a forma di ansa che dividendosi darà origine a questi due casi:



Meccanismi di riarrangiamento sbilanciato

In questo caso c'è o perdita di materiale genetico o duplicazione di materiale genetico. In tutti i casi ci sarà fenotipo patologico. In cosa consistono?

- Nella **delezione**, ovvero perdita di materiale: tale delezione può coinvolgere l'estremità del cromosoma ed essere terminale; o all'interno del cromosoma ed essere interstiziale. In entrambi i casi di un gene che si trova in quella determinata posizione avremo un'unica copia determinano una **monosomia parziale**, a livello fenotipico si produrrà solo il 50% della proteina, potremmo avere un fenotipo patologico per **aploinsufficienza** (il 50% della proteina normale non è sufficiente per svolgere la sua funzione)
- **Duplicazione**, avremo più copie di uno stesso gene/porzione di un gene
- Potremmo avere la formazione di un **cromosoma ad anello** cioè avremo la perdita dell'estremità del cromosoma (segmenti distali) e circolarizzazione del cromosoma nella sua parte centrale. Il fenotipo patologico sarà causato sia dalla perdita di materiale genetico sia che dal fatto che il cromosoma ad anello è una struttura molto instabile che può facilmente rompersi o può perdersi completamente durante le successive divisioni meiotiche o rompersi e subire ulteriori riarrangiamenti.
- **Isocromosoma**, linearizzazione di due braccia lunghe con perdita delle braccia corte. Quello più comune è quello del braccio lungo del cromosoma X (in alcuni soggetti affetti da sindrome di Turner)

ESEMPIO: sindrome da cromosoma ad Anello: Sindrome di Wolf Hirshhorn

Coinvolge il cromosoma 4 in particolare una delezione del braccio corto.

FREQUENZA: 1:50.000, una sindrome abbastanza rara

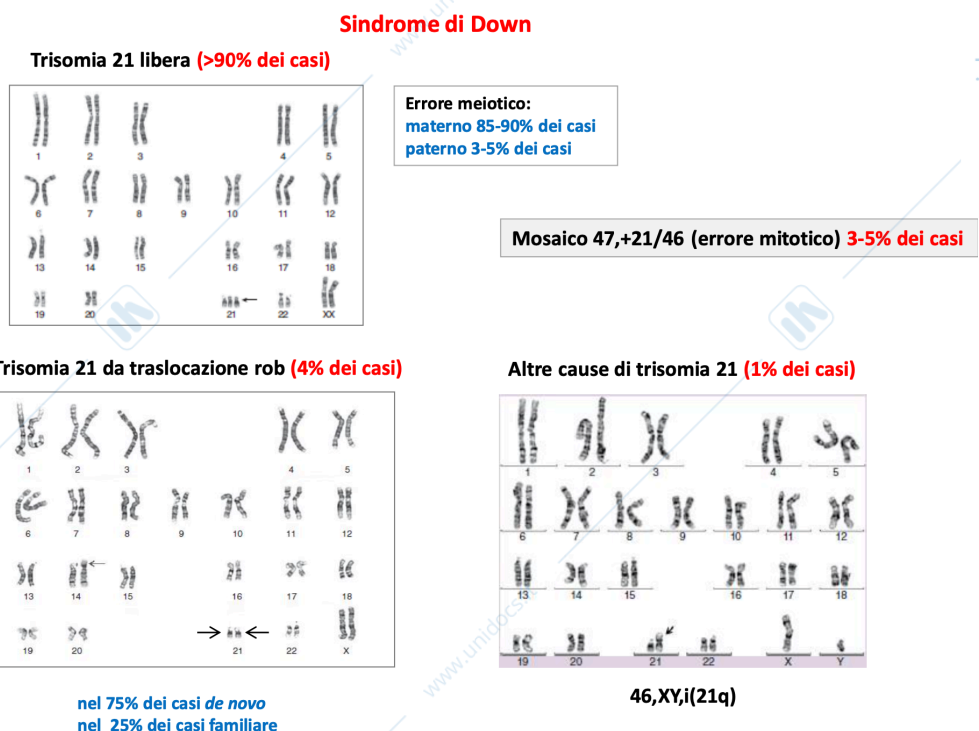
FENOTIPO PATOLOGICO: occhi grandi e protrudenti, ipertelorismo, profilo a 'elmetto greco', ritardo psicomotorio, convulsioni. La gravità del ritardo riguarda la quantità di materiale perso, maggiore sarà la perdita più grave sarà il fenotipo.

RICORDA: Una sindrome cromosomica può essere associata a diversi cariotipi

La sindrome di Down può essere dovuta

- alla presenza di tre cromosomi 21 a causa di un errore durante la divisione meiotica nella madre
- Ad una traslocazione robertsoniana, che avviene quando il cromosoma 21 è finito sul cromosoma 14
- Un isocromosoma 21

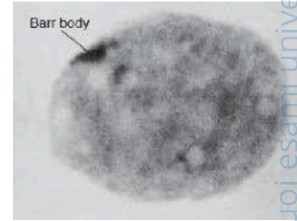
Quando abbiamo un fenotipo patologico come la sindrome di Down dobbiamo ricordarci che questa non è necessariamente legata alla presenza di tre cromosomi 21, ma può dipendere da tanti altri fattori.



Meccanismo di inattivazione del cromosoma X nelle donne

È un processo di compensazione genica tra maschio e femmina determinando l'**inattivazione casuale** di una X o dell'altra **in tutte le cellule somatiche** (non nei gameti, senno' avremo problemi nella trasmissione del materiale genetico). L'inattivazione parte **nella vita embrionale** (stadio di blastocisti avanzata) e riguarderà tutte le cellule ed è permanente cioè non cambia per tutta la vita: avremo inattivato il cromosoma X materno per il 50% e quello paterno 50%.

CORPO DI BARR (si manifesta al microscopio) sta ad indicare il cromosoma X inattivato. All'interno della cellula il cromosoma X inattivato si condensa determinando una zona ipercogena al microscopio.



Questo meccanismo può essere definito una sorta di **mosaicismo funzionale**: abbiamo due popolazioni di cellule: una che avrà inattivato il cromosoma X materno e una il cromosoma X paterno.

DIAGNOSI PRE NATALE

UN ACCERTAMENTO NEL FETO O NELL'EMBRIONE DELL'EVENTUALE PRESENZA DI UNA MALATTIA GENETICA.

Viene effettuata sul feto o sulle blastocisti in una diagnosi pre-impianto (fecondazione in vitro, o nella fecondazione assistita dove in laboratorio lo spermatozoo viene inserito artificialmente nell'ovulo determinandone una fecondazione in vitro; in questo caso lo zigote subirà poche divisioni cellulari e il feto che ne viene fuori verrà sottoposto a diagnosi pre natale solo se c'è un sospetto di malattia genetica causata dal fatto che tale malattia è presente in uno dei due genitori).

Si ha diritto ad una diagnosi pre-natale pagata dal sistema sanitario nazionale se:

- età materna avanzata superiore ai 35 anni per escludere i casi di aneuploidie,
- presenza di un altro figlio con patologia cromosomica,
- genitori portatori di riarrangiamenti cromosomici bilanciati (traslocazione robertsoniana o reciproca)
- Genitori portatori di una mutazione responsabile di una malattia autosomica recessiva (fibrosi cistica) o madre portatrice eterozigote di una mutazione responsabile della malattia legata al chr X (sdr X Fragile)
- Genitore portatore di una mutazione che causa una malattia dominante (rischio per lo zigote: 50%)
- aumento del rischio di sindrome di Down per positività di uno o più test predittivi (bi-test, tri-test, traslucenza nucale)
- Malformazioni fetali e/o ritardo di crescita intrauterino

In questo caso la diagnosi si svolge eseguendo un prelievo:

- Dei Villi, **Villocentesi** (10ma-11ma settimana di gestazione)
- Delle cellule amniotiche, **Amniocentesi** (16ma settimana di gestazione)

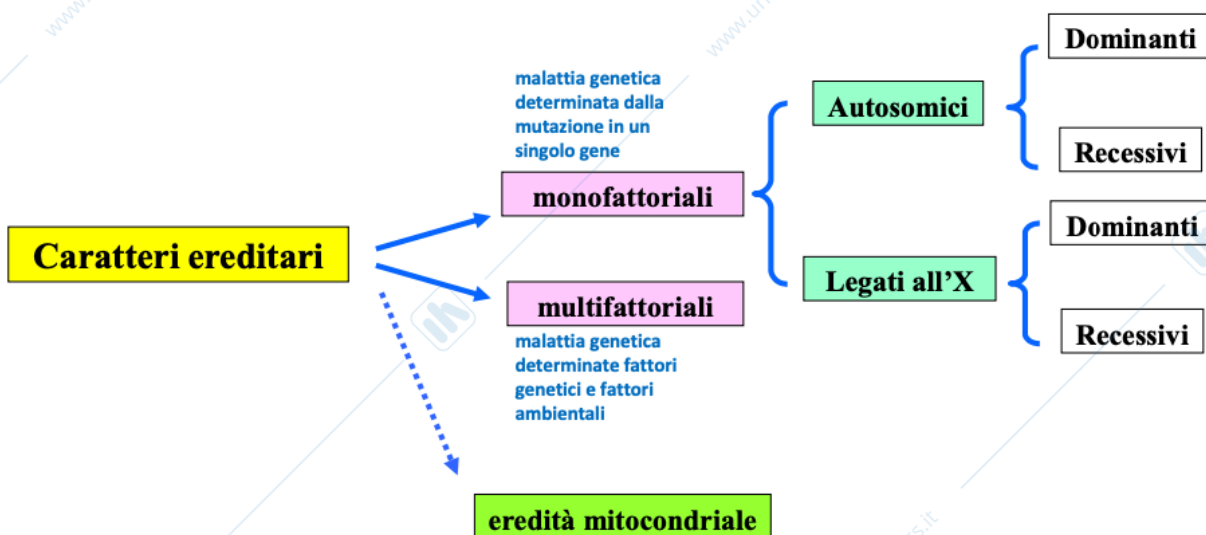
○ Cellule di sangue fetale del cordone ombelicale **Funicolocentesi** (20ma settimana di gestazione)

Amniocentesi è più diffusa della villocentesi perché questo è un esame molto complicato ed invasivo, la funicolocentesi invece si esegue quando si ha diagnosi tardiva della malformazione tramite ecografia. In questo caso i primi due esami non possono farsi. Esami invasivi che hanno dei rischi d'aborto notevole (si tratta di un ago che arriva molto vicino al feto)

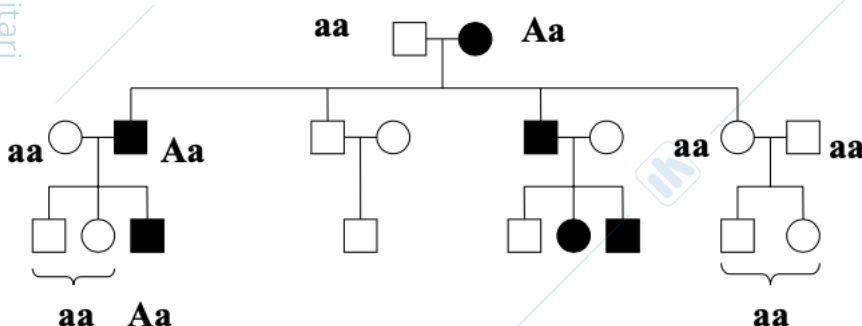
EREDITARIETÀ: come vengono trasmessi i caratteri.

I caratteri ereditari si dividono in :

- **monofattoriali** sono determinati da una mutazione in un singolo gene. Si dividono in **autosomici** oppure quelli legati al cromosoma X . La modalità di trasmissione di questi caratteri può essere **dominante** o **recessiva**.
- **multifattoria**, malattia genetica determinate da fattori genetici o da fattori ambientali
- **eredità mitocondriale** che viaggia per sé



Carattere con trasmissione autonomia dominante



Soggetto **donna Aa** con l'allele dominante A mutato: manifesterà la patologia

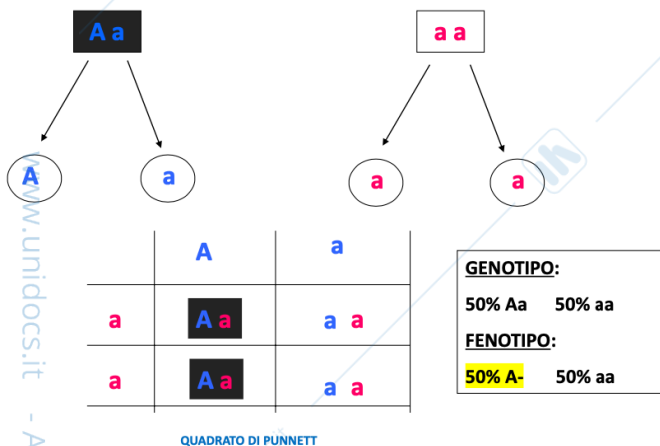
LE MALATTIE AUTOSOMICHE DOMINANTI SI MANIFESTANO IN ETEROZIGOTI, CIOÈ È NECESSARIO SOLO UN ALLELE MUTATO PER DETERMINARE IL FENOTIPO PATOLOGICO.

La manifestazione del fenotipo patologico sarà dovuta ad una **loss of function** (perdita di funzione della proteina legata all'allele mutato) o **gave of function** (acquisto di funzione della proteina mutata).

La trasmissione è **verticale** perché più soggetti (che hanno ereditato la mutazione) sono affetti nelle generazioni successive.

Rischio di ricorrenza

Qual'è la probabilità che da un soggetto affetto da una malattia autosomica dominante venga fuori un figlio affetto dalla medesima malattia?

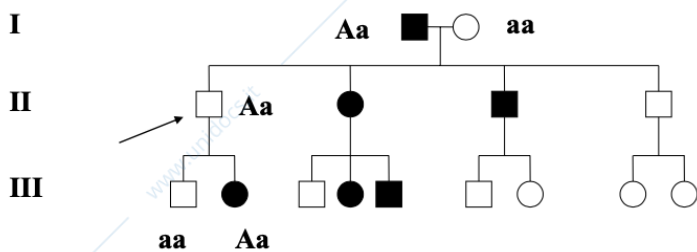


Quadrato di punnett: da una malattia autosomica dominante avremo su 4 figli il 50% dei figli che manifesteranno la patologia presentando la mutazione nel suo cariotipo. *Rischio di ricorrenza è del 50%.*
NOTA BENE: non esistono gli omozigoti dominanti in malattie autosomiche dominanti cioè individui con due alleli mutati, vengono selezionati nelle prime settimane di vita e muoiono prima.

Le caratteristiche delle malattie cromosomica dominante sono:

- **penetranza:** percentuale di portatori dell'allele mutato che manifestano il fenotipo patologico; ogni quanto si presenta la malattia nonostante presentino l'allele mutato. Può essere **completa** (manifestano la malattia tutti i soggetti che presentano la mutazione) o **incompleta** considerando un determinato numero di individui che presentano l'allele mutato; una percentuale di questi individui non manifesta la patologia (si manifesta la malattia nei figli, la probabilità con cui si eredita questa patologia è diversa dal 50% normale, ma è minore)
- **espressività variabile:** in una malattia genetica ci può essere una manifestazione più grave in un soggetto rispetto ad un altro, affetti entrambi dalla stessa malattia.

Consideriamo una mutazione autosomica dominante con penetranza del 60%



Consideriamo l'uomo indicato dalla freccia: in questo caso nonostante esso presenti la mutazione non presenterà il fenotipo patologico; i figli invece sì.

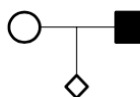
La penetranza incompleta dipende dall'interazione dell'allele mutato con altri geni del portatore che ne modificano l'espressione. (parliamo comunque di caso)

NOTA BENE: La probabilità con cui i figli ereditano anche la patologia nonostante la mutazione non è del 50%, sarebbe così se tutti i soggetti che presentano l'allele mutato manifestano la malattia. Nel momento in cui ci sono individui che nonostante la presenza dell'allele mutato non presentano la malattia, **tale probabilità è più bassa.**

Malattia genetica autosomica dominante con **penetranza del 60%:**

60 malati
100 portatori dell'allele mutato

40 portatori invece non manifestano la malattia



Qual è la probabilità che la coppia abbia un figlio affetto?
0.50 (che il padre gli abbia trasmesso l'allele mutato) X **0.6** (che esprima l'allele considerata la penetranza) = **0.30**

Modo per poter calcolare la frequenza di trasmissione di una malattia autosomica dominante con penetranza incompleta

ESEMPIO Ereditarietà autosomica dominante a penetranza completa la NEUROFIBROMATOSI

MUTAZIONE: Gene: NF1, codifica per la neurofibromina, proteina coinvolta nella regolazione negativa del pathway RAS/MAPK (riguardanti la regolazione del ciclo cellulare). Mutazioni spesso TRONCANTI: creazioni di proteine tronche.

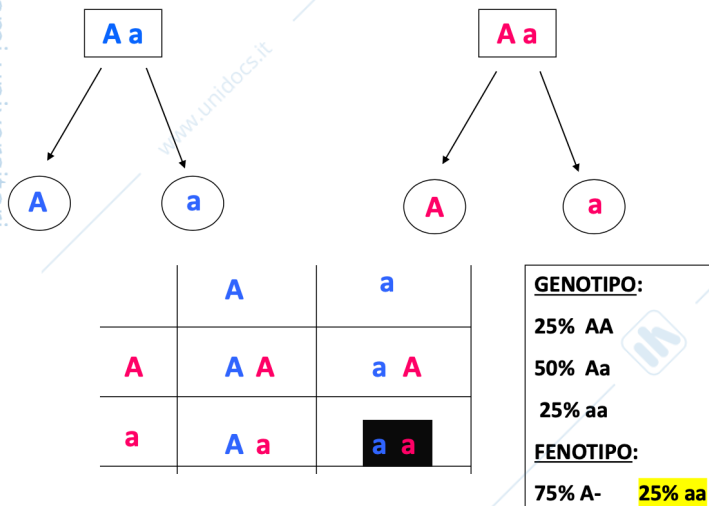
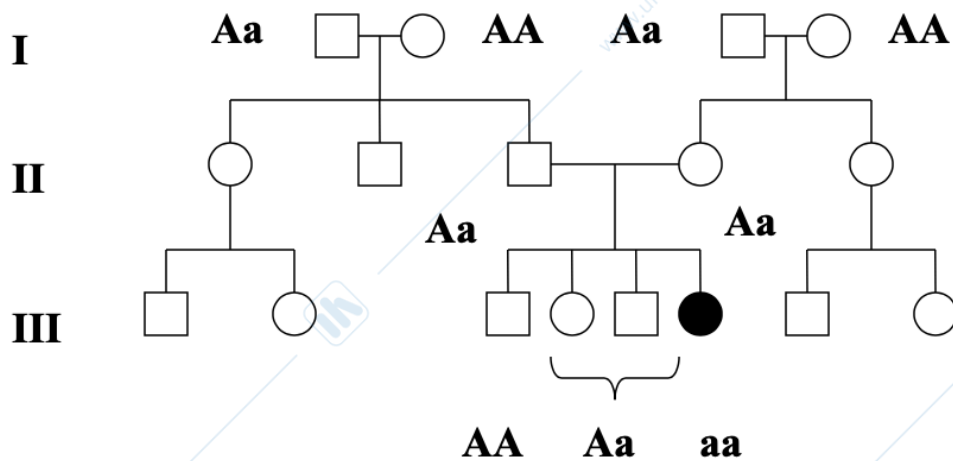
FREQUENZA: 1:3.000, molto diffusa

FENOTIPO PATOLOGICO: Presentano: macchie caffè latte, Noduli di Lisch (amartomi dell'iride), Neurofibromi (tumori benigni costituiti da cellule di Schwann, fibroblasti, cellule endoteliali sui nervi periferici). Hanno anche malformazioni del torace come scogliosi, e tumori importanti anche al midollo

Carattere autosomico recessivo

Entrambi gli alleli devono essere mutati affinché ci sia la manifestazione patologica:

- si manifesterà in OMOZIGOSI (gli eterozigoti saranno portatori sani)
- Avremo una trasmissione orizzontale ovvero abbiamo più affetti tra consanguinei.



Consideriamo il quadro di punnet:
 Il 25% sarà affetto dalla patologia.

La consanguineità (l'unione di individui che fanno parte della stessa famiglia) provoca un aumento della probabilità di malattie autosomiche recessive nei figli; questo perché è molto probabile che entrambi siano eterozigoti portatori della mutazione.

ESEMPIO: Ereditarietà autosomica recessiva la FIBROSI CISTICA

FREQUENZA: 1:300 è molto diffusa per cui sul territorio nazionale è avviato lo screening su tutti i bambini che nascono per poter

individuarela precocemente e iniziare subito la terapia.

FENOTIPO PATOLOGICO:

- APPARATO RESPIRATORIO: muco denso con ristagno e colonizzazione batterica a causa di alterata composizione dei secreti delle ghiandole esocrine (MUCOVISCIDOSI)

- APPARATO DIGERENTE: malnutrizione cronica dovuta ad insufficienza del pancreas esocrino
- GHIANDOLE SUDORIPARE: il cui secreto contiene alte concentrazioni di ioni cloro
Manifestazioni cliniche minori:
 - Azoospermia ostruttiva

Grazie all'alto contenuto di cloro nel sudore viene eseguito un **TEST DEL SUDORE** per individuare la presenza della malattia: si tratta di un piccolo elettrodo posto sul braccio del bimbo che crea una piccola scossa inducendo la produzione di sudore. Questo sudore analizzato: se abbiamo esito positivo si analizza a livello molecolare.

Altri modi di diagnosticarlo:

- Kit diagnostici
- Analisi dell'intera sequenza codificante

NOTA BENE: quella elencata è la tipologia di fibrosi cistica più grave, ci sono alcuni tipi che hanno un fenotipo patologico blando come ad esempio c'è un tipo di fibrosi cistica che provoca infertilità nell'uomo.

MUTAZIONE: Gene: CFTR, codifica per una proteina, coinvolta nel trasporto del cloro. La mutazione più frequente è la delezione della fenilalanina cioè della tripletta che codifica questa proteina e creazione di una proteina con un amminoacido in meno, questo è fondamentale per svolgere la funzione della proteina che essendo instabile viene totalmente degradata.

ESEMPIO: Ereditarietà autosomica recessiva L'ATROFIA MUSCOLARE SPINALE (SMA)

Si tratta di un'altra malattia per cui si fa lo screening alla nascita. Rappresenta la prima causa di morte in età infantile per causa genetica.

I portatori sani sono 1:45, questo è il motivo per cui viene avviato lo screening fin dalla nascita (si tratta di una malattia ingrandente in quanto c'è una degenerazione dei motoneuroni perciò questi soggetti perdono sempre più mobilità)

C'è una cura che però deve essere somministrata precocemente in quanto i neuroni una volta degenerati, vengono totalmente persi. Più tardi si comprenderà la presenza della malattia più neuroni verranno persi, più sarà grave la malattia.

Abbiamo diversi tipi di SMA:

- **SMA di tipo 1:** insorgenza dei sintomi entro i primi 6 mesi di vita (è la forma più grave → «floppy infant» un bambino completamente morbido che non ha grande resistenza)
- **SMA di tipo 2:** insorgenza dei sintomi tra il 6° ed il 18° mese di vita (forma intermedia)
- **SMA di tipo 3:** insorgenza tra i 18 mesi e i 18 anni (forma lieve)

FREQUENZA: 1:8.000 (portatori sani nella popolazione 1:45)

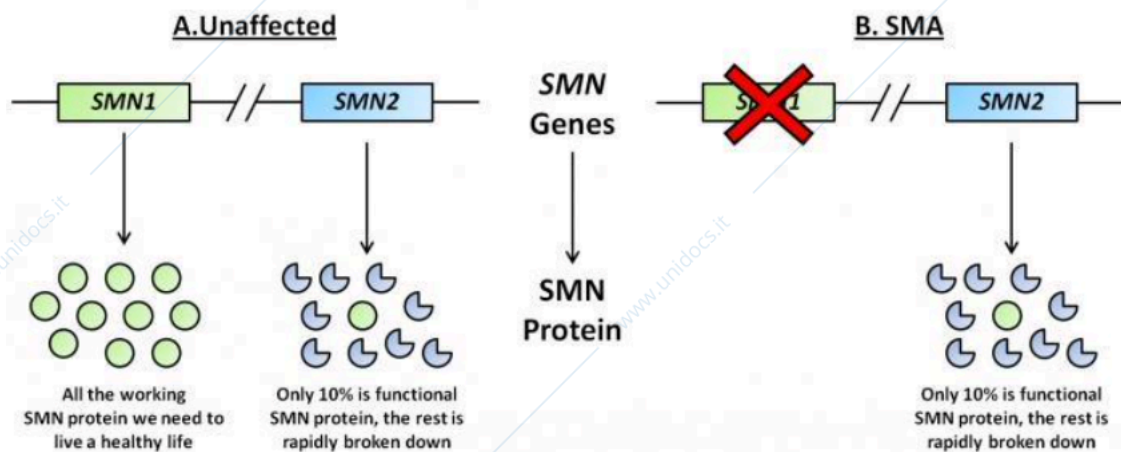
FENOTIPO PATOLOGICO: ampio spettro di gravità clinica:

- Degenerazione dei motoneuroni
- Debolezza prevalentemente a carico dei muscoli di arti e tronco

Perché abbiamo la SMA?

In tutti i soggetti normali ci sono due copie del gene SMN: SMN1 e SMN2, quasi totalmente uguali e differiscono per un solo nucleotide. Questo nucleotide è fondamentale per determinare una differenza di proteina incredibile:

- Il gene SM1 codifica per una proteina totalmente funzionante, coinvolta nell'assemblaggio delle piccole ribonucleoproteine nucleari (snRNP)
- Il gene SM2 invece codifica per una proteina che risulta per il 10% funzionante, il restante 90% viene degradata. (Tale cambiamento avviene a carico di quel famoso nucleotide diverso)



Nel momento in cui il gene SMN1 non funziona a carico di una mutazione sul gene, abbiamo solo il 10% di proteina che funziona e questa non riesce a garantire la funzionalità. In questo caso si sviluppa la malattia.

Ci possono essere casi in cui un individuo presenta più di una copia del gene SMN2, in questo caso verrà prodotta il 10% di proteina per tante quante sono le copie del gene SMN2 dando così un fenotipo patologico meno grave.

SICCOME SI TRATTA DI UNA MALATTIA AUTONOMIA RECESSIVA CI DEVONO ESSERE DUE COPIE DELLO STESSO GENE MUTATO AFFINCHÈ INSORGA LA MALATTIA (MUTAZIONI IN SMN2 NON CAUSANO UN FENOTIPO PATOLOGICO)

Mutazione: nel 95% dei casi, si ha assenza in omozigosi di SMN1, mentre si possono trovare da 2 a 4 copie di SMN2 (più proteina SMN → effetto positivo sul fenotipo)

TEST DIAGNOSTICO: Identificazione del numero di copie di SMN1 per la diagnosi e di SMN2 per la prognosi

Caratteri recessivi legati al cromosoma X: x-linked

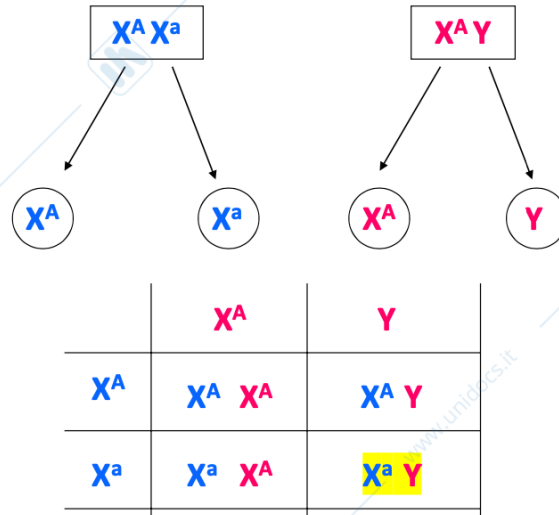
IL GENE È LOCALIZZATO SUL CROMOSOMA X

Si tratta di mutazioni molto più frequenti rispetto alla forma dominante; nei maschi si manifesterà la malattia sempre perché hanno una sola x (emizigoti per il cromosoma X), le

donne manifesteranno la malattia se la mutazione avviene sul cromosoma X che non è coinvolto nel silenziamento preferenziale di una x casuale.

ESMEPIO: La sindrome dell' X fragile

QUADRATO DI PUNNET: uniamo un individuo maschio normale e una donna portatrice



Femmine:
Genotipo: ½ omozigoti, ½ eterozigoti
Fenotipo: tutte non affette

Maschi:
Genotipo: ½ emizigoti A, ½ emizigoti a
Fenotipo: ½ non affetti, ½ affetti

Chi manifesterà la malattia sarà il 50% dei figli maschi.

ESEMPIO di malattia x-linked recessiva è DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE

FREQUENZA: 1:3.500 soggetti di sesso maschile (distrofia muscolare più frequente)

FENOTIPO PATOLOGICO: Debolezza muscolare progressiva determinata da un difetto al muscolo scheletrico (insorgenza a 2-5 anni, perdita di deambulazione entro i 12 anni, successivamente, debolezza del diaframma e dei muscoli intercostali; piano piano che decorre la crescita perderà sempre più funzionalità)

TEST DIAGNOSTICO: Analisi genetica del gene DMD

GENE: DMD (79 esoni), codifica per la DISTROFINA, localizzata sulla membrana delle fibre muscolari dove forma un complesso proteico che funge da ponte tra l'actina del citoscheletro e la lamina della matrice extracellulare, conferendo stabilità alle fibre muscolari durante contrazione e rilassamento. Se questa proteina viene meno i muscoli perderanno sempre più forza e stabilità.

Mutazione: le delezioni più o meno estese sono le più frequenti → frameshift → proteina tronca

Terapia genica con oligonucleotidi antisense interferendo con la maturazione dell'mRNA in modo che ci sia l'esclusione del solo esone mutato → **sintesi di una proteina più corta, ma almeno parzialmente funzionante.**

RECAP:

	Gene autosomico		Gene legato all'X
	Dominante	Recessivo	
Genitori	Un eterozigote affetto	Entrambi eterozigoti sani	Madre portatrice
Rischio di figli affetti	50% (per entrambi i sessi)	25% (per entrambi i sessi)	50% per i figli maschi
Consanguineità	No	Talvolta presente	No
Mutazioni de novo	Frequenti	Rare	Frequenti

Caratteri dominanti legati al cromosoma X: x-linked

I maschi che ereditano questa malattia muoiono prima di nascere, mentre si manifesterà in tutte le femmine eterozigoti

ESEMPIO: Ereditarietà X-linked dominante SINDROME DI RETT

FREQUENZA: 1:30.000 soggetti di sesso femminile, molto rara

FENOTIPO PATOLOGICO:

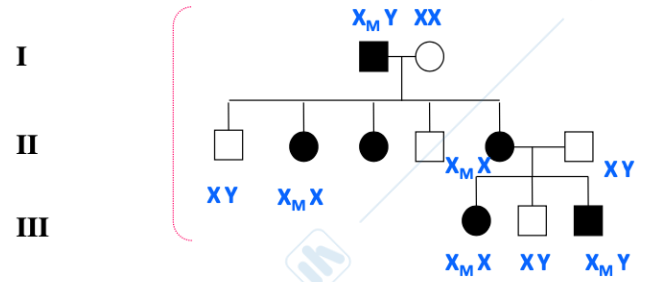
- Perdita progressiva delle attività psicomotorie raggiunte dopo 1-2 anni (mobilità, deambulazione, linguaggio)
- Ritardo mentale grave, autismo, stereotipie motorie, epilessia

TEST DIAGNOSTICO: Analisi genetica del gene MECP2

GENE: Gene: MECP2, codifica per una proteina necessaria allo sviluppo del cervello

Mutazione: non senso o delezioni più o meno estese sono le più frequenti (→ frameshift → proteina tronca)

Non c'è terapia



Lezione del 26/01/2023

CARATTERI POLIGENICI più geni
CARATTERI MULTIFATTORIALI geni + ambiente

Caratteri multifattoriali (determinati sia da difetti genetici che da fattori ambientali) possono essere

- **continui**, cioè definiti da un numero (pressione sanguigna, QI, circonferenza cranica, colore della pelle, statura)
- **caratteri discontinui** non si possono misurare e ci possono essere o meno:
 - *malattie/difetti congenite*, come ad esempio: cardiopatie congenite, difetti del tubo neurale, labiopalatoschisi, lussazione congenita dell'anca, piede torto, stenosi ipertrofica del piloro
 - *malattie croniche che insorgono in età adulta*, ad esempio:

Asma

Cardiopatía ischemica Diabete mellito

Epilessia

Glaucoma

Ipertensione

Obesità

Psicosi maniaco depressiva Schizofrenia

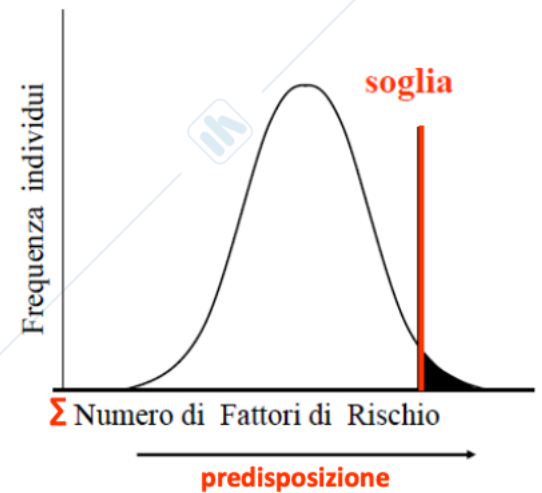
Tumori

L'aggregazione familiare, cioè la presenza nella famiglia di più soggetti affetti ne determinano maggiore predisposizione all'insorgenza della malattia (anche in maniera tardiva).

TRASMISSIONE DI FATTORI DI SUSCETTIBILITÀ (PREDISPOSIZIONE ALLA MALATTIA CHE POTREBBE ANCHE NON VERIFICARSI)

Le malattie multifattoriali sono caratterizzate da un numero di fattori di rischio che determinerà la predisposizione alla malattia: avremo una soglia dei fattori di rischio che se superata porterà all'insorgenza della malattia. La somma dei fattori di rischio genetici e ambientali segue una "distribuzione normale" nella popolazione.

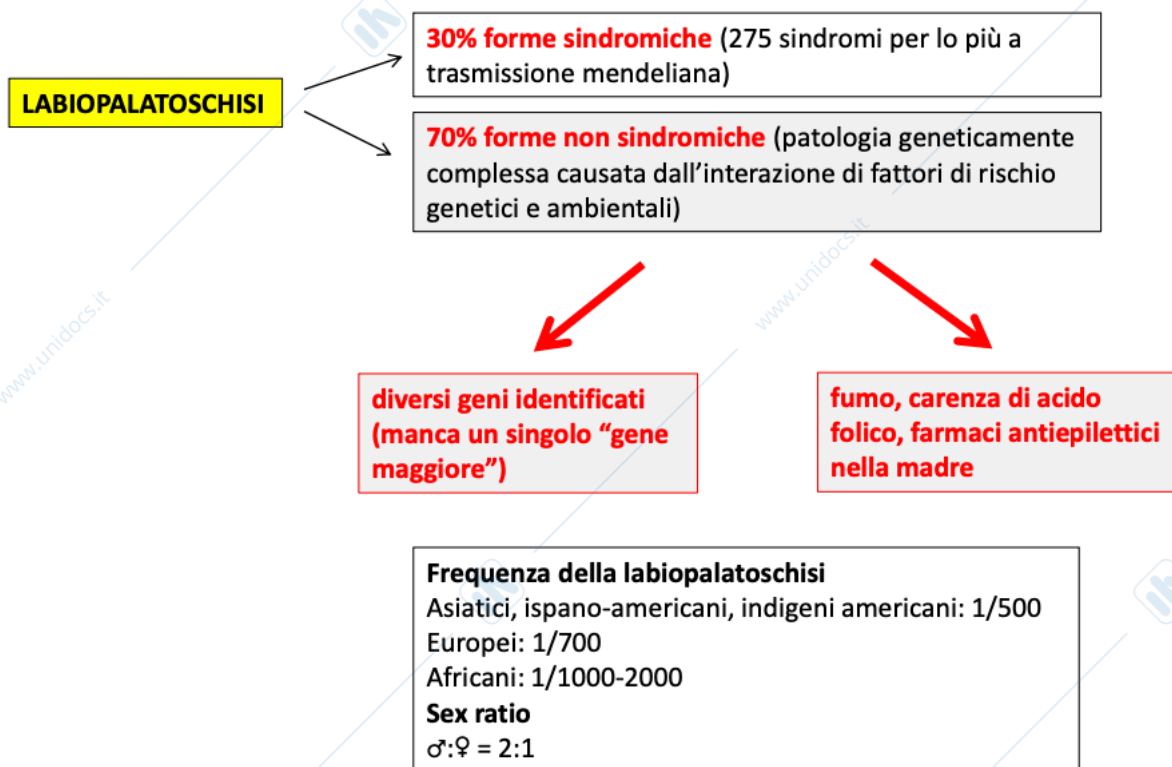
Il modello statistico che descrive i caratteri discontinui prevede la presenza di una **soglia**: sviluppano quel fenotipo solo le persone che hanno un numero di fattori di suscettibilità superiore ad un livello soglia empiricamente definito.



ESEMPIO: LABIOPALATOSCHISI

La caratteristica fenotipica può essere:

- **sindromica** (è presente a causa di una sindrome)
- **non sindromica** (non legata ad una malattia genetica ma un soggetto ha la predisposizione e a causa di fattori ambientali la produce come fenotipo)



Un'altra caratteristica è la sex-raion cioè rapporto tra i sessi: un sesso sarà più colpito dell'altro, quindi più predisposto (nella popolazione degli affetti andiamo a vedere il rapporto maschio e femmina e ne sviluppiamo una percentuale).

Severità della malattia

Se i soggetti sono di più e il fenotipo è blando allora ad influire saranno stati i fattori ambientali. Se invece il fenotipo è grave e abbiamo una famiglia fortemente predisposta allora la causa principale è la genetica.

In generale:

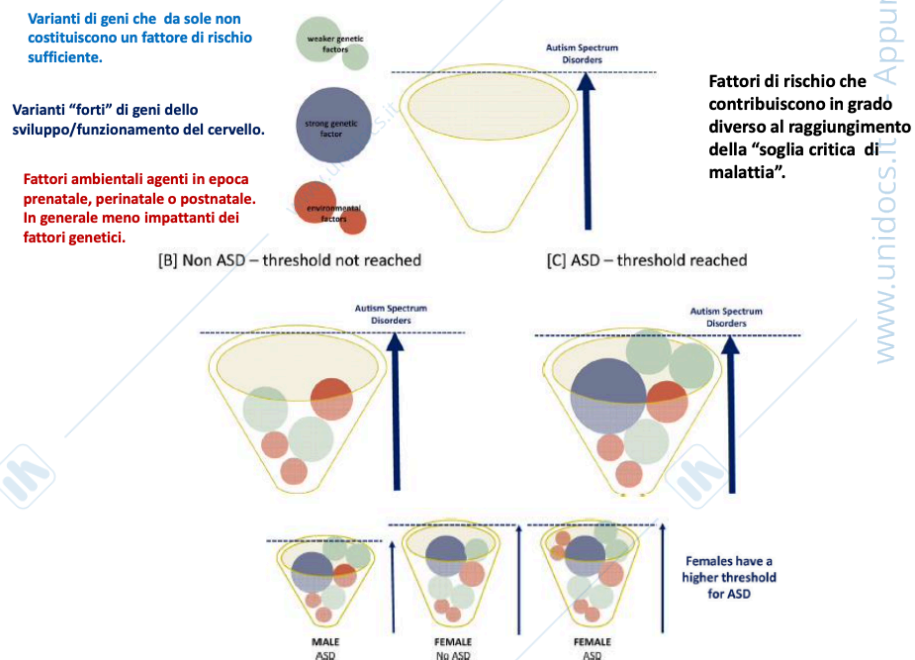
Regole generali per le malattie multifattoriali

- L'incidenza di queste malattie nelle famiglie dei malati cresce col crescere dell'incidenza nella popolazione.
- Il "sex-ratio" è in genere diverso da 1, cioè vi è sempre un sesso più colpito dalla malattia.
- Il rischio medio di ricorrenza è del 2-5% per i parenti di primo grado dei probandi e va decrescendo nei parenti di 2° e 3° grado.
- Il rischio di ricorrenza aumenta (5% o anche più):
 - Col crescere del numero dei parenti affetti
 - Col crescere del grado di severità della malattia
 - Se il probando appartiene al sesso normalmente meno colpito

ESEMPIO: AUTISMO

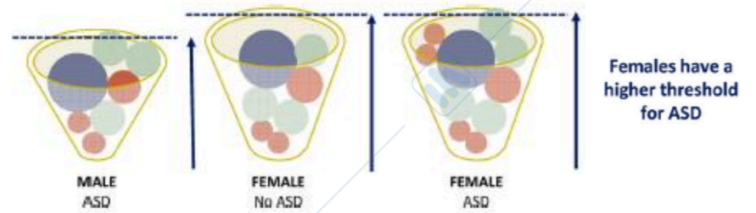
Affinché ci sia l'insorgenza della patologia è necessario raggiungere una soglia critica: per raggiungerla contribuiranno:

- **Fattori genetici deboli**, legati alla malattia che contribuiranno ad un fenotipo patologico blando, geni che tendono a mutarsi, una sorta di predisposizione → *palline verdi*
 - **Fattori genetici forti**, mutazione eredita che provoca fenotipo patologico grave ad esempio nel caso dell'autismo geni che codificano per proteine coinvolte nel funzionamento del cervello) → *palline blu*
- Entrambi ereditabili



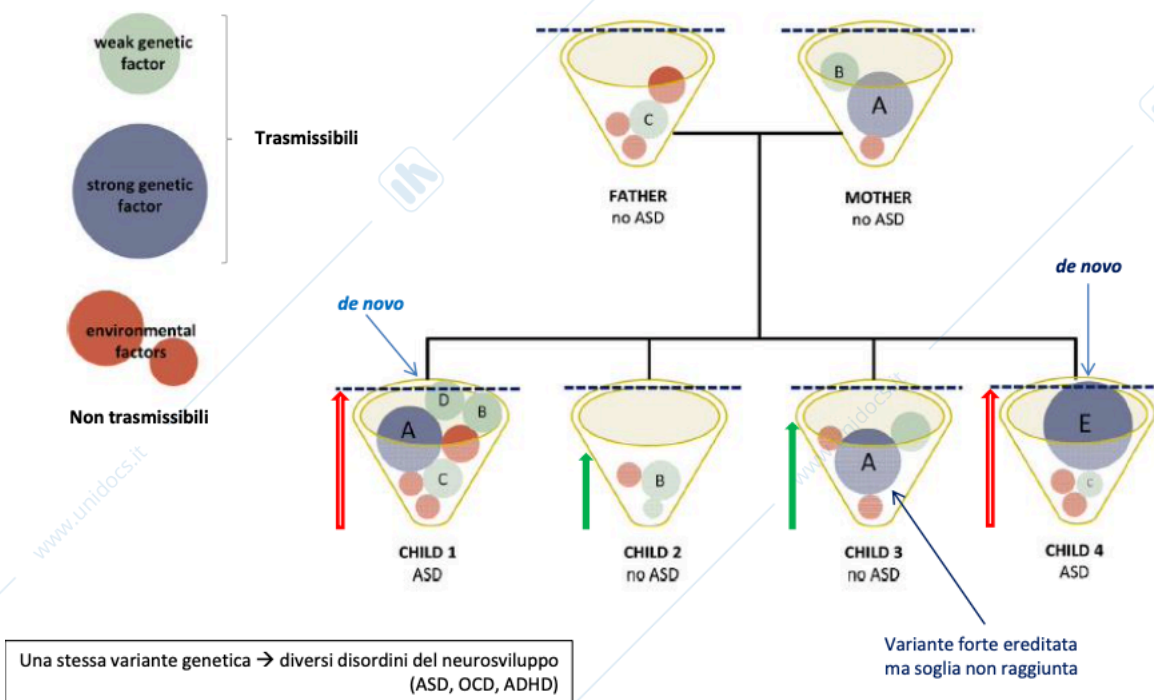
- **Fattori ambientali** (insorgono sia in maniera pre-natale oppure durante la vita fetale mentre si forma il cervello nello specifico), non sono ereditabili, dipendono soprattutto da inquinamento dell'ambiente → **palline rosse**

Il disturbo dello spettro autistico è più diffuso nei maschi rispetto alle femmine, infatti la soglia è più bassa rispetto a quella della femmina: nella foto di fianco possiamo notare come sia il ragazzo che la ragazza hanno ereditato sia i fattori deboli che forti dai genitori ma sono bastati pochi fattori ambientali nell'uomo per poter far insorgere la malattia, cosa che invece non accade nella donna che ha bisogno di tanti fattori ambientali (palline verdi) consideriamo questa foto



Ora consideriamo:

Penetranza variabile e eterogeneità genetica in una famiglia con ASD



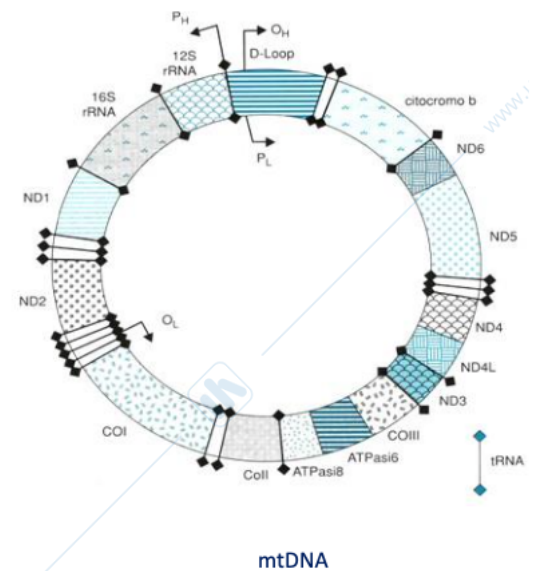
Soglia: linea tratteggiata

Quello che otteniamo sono tre/quattro bambini mutati. Tutti e tre hanno una composizione di fattori genetici/ambientali ereditati e prodotti de novo (errori durante la gametogenesi, si ritrovano nei figli ma non nei genitori) infatti:

- (Palline verdi in CHILD 1) **Fattori genetici deboli de novo:** Insorgenza durante la gametogenesi (DNA polimerasi), durante la formazione dei gameti che si troveranno nei figli ma non nei genitori.
- (Pallina blu in CHILD 4) **Fattori genetici forti de novo:** doppia mutazione casuale durante la gametogenesi

EREDITARIETA' MITOCONDRIALE

Ereditarietà che riguarda il DNA mitocondriale: un'unica molecola circolare, quasi tutta codificante e caratterizzata da geni che codificano per le proteine della catena respiratoria, per l'RNA ribosomiale e transfer; codifica per 37 geni privi di introni (13 per subunità della catena respiratoria, 2 per RNA ribosomiali e 22 per tRNA) + una regione regolatoria non codificante. Si tratta di un DNA privo di istoni, più molecole di DNA sono presenti per mitocondrio (5-15) e più mitocondri sono presenti per cellula (da >50 a >1000). Ogni cellula contiene da diverse centinaia di mitocondri a decine di migliaia di molecole di mt DNA: 100.000 copie di mt DNA negli ovociti, poche centinaia negli spermatozoi e da 1000 a più di 10.000 copie nelle cellule somatiche.



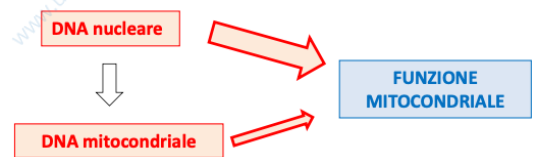
Il tasso di mutazione del DNA mitocondriale è altissimo sia perché mancano i sistemi di riparo all'interno del DNA e sia perché a causa dei radicali liberi prodotti della fosforilazione ossidativa che vanno ad intaccare il DNA, rompendo la doppia elica e apportando delle mutazioni. ($\sim 2.7 \times 10^{-5}$ per base per generazione contro il 2.5×10^{-8} per base per generazione del DNA nucleare), oltre alle mutazioni puntiformi sono frequenti anche delezioni e duplicazioni;

Affinché i mitocondri funzionino correttamente ci saranno geni che sono presenti sia:

- Geni localizzati sul DNA nucleare che codificano per proteine coinvolte nella funzionalità mitocondriale
- Geni localizzati sul DNA mitocondriale

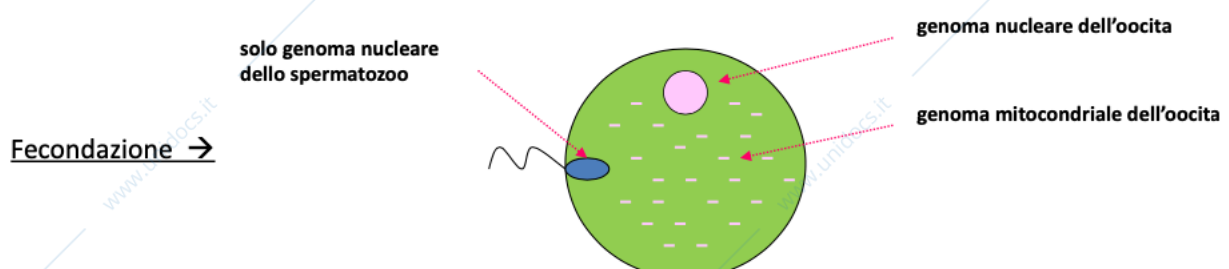
Quando abbiamo una funzione mitocondriale alterata ovvero le malattie genetiche mitocondriale possono essere dovute sia a mutazioni del DNA nucleare sia a mutazioni del DNA mitocondriale.

I geni per le funzionalità mitocondriale sono presenti sia nel DNA nucleare che in quello mitocondriale (codificano le stesse proteine)

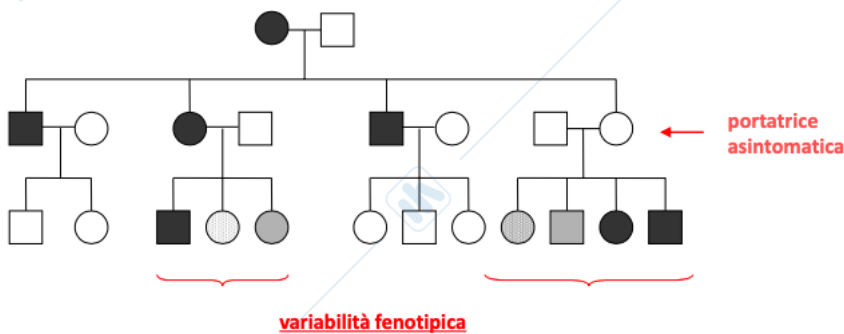


L' ereditarietà è matrilineare:

Sia i maschi che le femmine possono essere affetti da patologie mitocondriali, ma solo le femmine possono trasmettere il carattere ai loro figli; perché a formare lo zigote ci sarà la cellula uovo con tutto il suo corredo nucleare e mitocondriale, all'interno del quale entrerà solo la testa dello spermatozoo caratterizzata solo dal nucleo e basta (i mitocondri stanno nella coda).



NEL FIGLIO L'EREDITÀ DEI MITOCONDRI SARÀ TUTTA A CARICO DELLA MADRE.



(primo caso a sinistra).

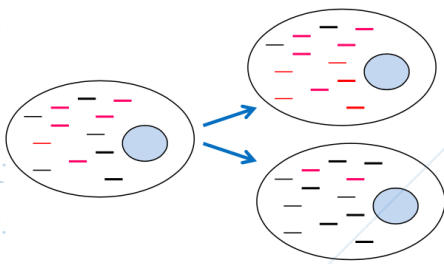
Vediamo nell'albero genealogico che se una donna è malata, saranno malati anche i figli (2 maschi malati e una donna sana, un maschio sano nella prima generazione) con variabilità fenotipi diversa; se la mutazione è nell'uomo, i suoi figli saranno tutti sani

Un'altra caratteristica del DNA mitocondriale è l'**ETEROPLASMIA**: ovvero la coesistenza di diverse popolazioni di DNA mitocondriale o di mitocondri (una mutata e l'altra normale) in una cellula o in un tessuto.

Quando ci sarà la manifestazione fenotipica? Quando verrà raggiunto un limite soglia: se la popolazione di DNA mitocondriale mutato è maggiore rispetto a quella normale ci sarà una manifestazione fenotipi abbiamo bisogno del 70-90% di mitocondri mutati. La gravità dipenderà dal numero di mitocondri mutati presenti nell'organismo.

Poiché i geni mitocondriali codificano prevalentemente per proteine coinvolte nella fosforilazione ossidativa (una produzione maggiore di radicali liberi), gli effetti patologici delle mutazioni mitocondriali colpiscono soprattutto i tessuti ad alto consumo energetico, cioè tessuti che lavorano ad altissima intensità, il tessuto muscolare e nervoso.

Durante la divisione cellulare i mitocondri della cellula madre si divideranno nelle due cellule figlie in maniera del tutto casuale. In definitiva la malattia dipenderà da:



Segregazione "casuale" dei mitocondri mutati nelle cellule figlie

Eteroplasmia + segregazione casuale → variabilità clinica

EREDITARIETA' MONOALLELICA

Per alcuni geni viene espresso solo un allele dei due, come il caso dei geni localizzati sul cromosoma X.

Un altro caso sono i geni autosomici i cui alleli trascritti sono "casualmente" scelti durante lo sviluppo (OR, Ig, TCR, interleuchine, NK, recettori dei feromoni).

In particolare:

Altri geni che hanno espressione di questo tipo sono i geni soggetti ad **imprinting**.

L'IMPRINTING È UNA MODIFICAZIONE "EPIGENETICA" REVERSIBILE DELLA CROMATINA CHE MODIFICA L'ESPRESSIONE GENICA (ATTIVANDOLA O SILENZIANDOLA): ALCUNI GENI VENGONO ESPRESSE O NO A SECONDA DELLA LORO ORIGINE PARENTALE.

Sono dei geni di cui ci sarà l'espressione di un solo allele: o materno o paterno. Il silenziamento di un gene rispetto ad un altro dipende da modifiche epigenetiche ovvero

aggiunta di gruppi metilici al momento della gametogenesi che impediranno l'espressione di quel gene (processo permanente). L'imprinting non riguarda tutti i geni, ma solo alcune limitate regioni dei cromosomi 6, 7, 8, 11, 14, 15 e 20.

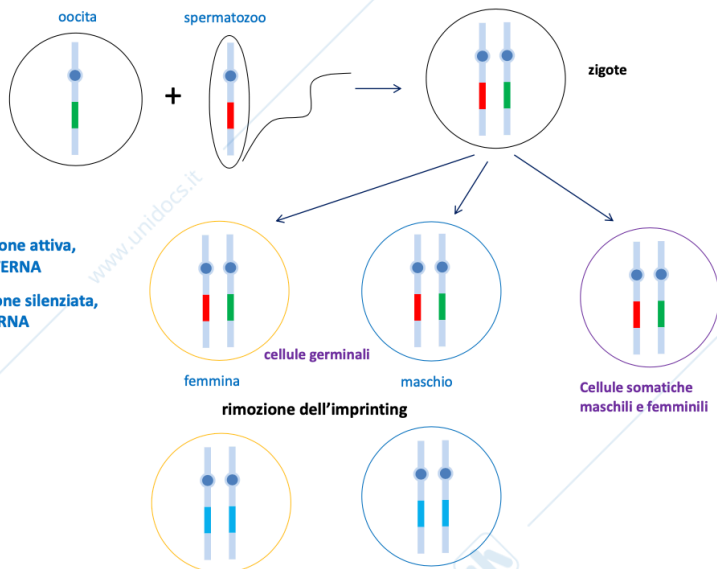
Riassumendo avremo:

- Un gene mutilato → non viene espresso
- Un gene non mutilato → espresso

Questa non espressione dipenderà esclusivamente dalla propria origine parentale: ogni gene soggetto ad imprinting al nostro interno silenzierà o l'allele materno o l'allele paterno sempre (scelta che viene svolta in ognuno di noi, uguale per tutti, fin dalla nascita).

Questa espressione preferenziale di un allele a seconda dell'origine parentale riguarderà solo le cellule somatiche, non avviene nei gameti per evitare qualsiasi problema nella fecondazione.

NOTA BENE: quando si forma lo zigote, questo manterrà i geni imprinting silenziati nelle diverse divisioni cellulari formando sia le cellule somatiche che in quelle germinali. Quest'ultime subiranno prima la rimozione dell'imprinting rendendo neutro sia l'allele materno che paterno per poi subire successivamente una **riprogrammazione genere specifica**:



- Se parliamo di una donna, tutti e due gli alleli saranno attivi in modo tale che nel momento in cui le cellule generano gli ovociti apolidi, tutti avranno la porzione del gene attiva;
- Se parliamo di un uomo, questi verranno riprogrammati in modo da avere tutte e due i geni silenziati: quando si origineranno gli spermatozoi apolidi tutti avranno il gene silenziato.

Questo è un'esempio riguardante uno specifico gene, in un altro gene potrebbe accadere il contrario

In ognuno di noi abbiamo la stessa regione attivata e una silenziata o materna o paterna

Malattie legate all'imprinting

Problemi nella rimozione e/o riprogrammazione dell'imprinting a livello delle cellule germinali e quindi produzione di gameti con "imprinting sbagliati" o problemi del mantenimento dell'imprinting nelle cellule somatiche possono comportare la presenza nelle cellule di un individuo di condizioni anomale di espressione dei geni soggetti ad imprinting: espressione di una malattia.

L'errore potrebbe produrre (nel caso in cui c'è stato un errore durante la linea germinale)

- Entrambe le regioni di un gene attive in tutte le cellule,
- Entrambi gli alleli silenziati in tutte le cellule

Un altro caso di insorgenza di mutazione e/o di malattia può dipendere da casi di delezione in cui viene perso o l'allele materno o l'allele paterno.

Esempi di due malattie genetiche dovute ad errori nell'imprinting

Entrambe coinvolgono la stessa regione genetica:

SINDROME DI ANGELMAN

INCIDENZA: 1:15.000 soggetti

Manifestazioni cliniche:

Ritardo psicomotorio, epilessia, accessi di riso immotivato o cambiamenti improvvisi di umore

Gene: regione coinvolta 15q11-q13 (manca il contributo MATERNO della regione a causa di MICRODELEZIONE)

Test diagnostico:

- **MS-MLPA**, ovvero un test che per mette di identificare sia le microdelezioni che le alterazioni di metilazione, poiché questa regione presenta una stato di metilazione diverso a seconda che si tratti dell'allele materno o paterno

Non c'è terapia

SINDROME DI PRADER WILLI

INCIDENZA: 1:10.000 soggetti

Manifestazioni cliniche:

Ritardo psicomotorio, obesità, ridotta capacità di deglutizione con ridotto accrescimento staturponderale nei primi anni di vita; successivamente compare un appetito eccessivo

Gene: regione coinvolta 15q11-q13 (manca il contributo PATERNO della regione a causa di MICRODELEZIONE)

Test diagnostico:

- **MS-MLPA**

Non c'è terapia

Nel caso della sindrome di Angelman manca il contributo materno a seguito di una delezione; nella sindrome di Prader Willi manca il contributo paterno sempre a causa di una delezione. La regione coinvolta riguarda più geni dove alcuni esprimono allele materno e altri l'allele paterno, perciò la delezione della regione materna o paterna produce due fenotipi patologici diversi.

GENETICA DEL CANCRO

Le tappe del processo di trasformazione neoplastica sono legate alla comparsa di mutazioni di mutazioni a carico di geni implicati nel controllo del ciclo cellulare o dell'integrità del genoma (geni che codificano per proteine coinvolte nei sistemi di riparo del DNA/RNA).

Essi si dividono in:

- **PROTONCOGENI:** normalmente promuovono la proliferazione cellulare → quando mutato, è sempre attivo in assenza di fattori di crescita: meccanismo GAIN OF FUNCTION, agiscono con un meccanismo autosomico DOMINANTE
- **ONCOSOPPRESSORI:** in condizioni normali inibisce la crescita cellulare, quando entrambe le copie del gene sono mutate, meccanismo RECESSIVO, perdita di controllo del ciclo cellulare
- **GENI MUTATORI:** geni implicati nel riparo del DNA (mismatch repair) o nel riparo delle rotture del DNA a doppio filamento mediante ricombinazione omologa → aumento del tasso di mutazione

È stato stimato che mediamente lo sviluppo di un tumore richiede l'accumulo in una singola cellula, di un numero cospicuo di mutazioni (da 5 a 8) tali da perdere complessivamente il controllo del ciclo cellulare. Perciò in un individuo non predisposto geneticamente l'accumulo di mutazione avvera in un tempo piuttosto lungo, infatti in linea generale l'insorgenza della neoplasia avverrà in età molto avanzata (65-70 anni in su). In un

individuo geneticamente predisposto, quindi un individuo che presenterà la mutazione in tutte le cellule dell'organismo; essi avranno un fenotipo più grave ed un insorgenza precoce (si tratta di ereditarietà-neoplasia famigliare)

ESEMPI:

TUMORE EREDITARIO DELLA MAMMELLA E DELL'OVAIO

INCIDENZA: 1:8 soggetti di sesso femminile

Forma ereditaria:

Numero di casi di tumore mammario: ≥ 3 All'interno della stessa famiglia

Ci si ammala sotto i 40-50 anni

Parenti affette da carcinoma ovarico e da tumori multipli (carcinoma mammario bilaterale o mammario + ovarico)

GENI E MUTAZIONI (modalità di trasmissione

AUTOSOMICA DOMINANTE A PENETRANZA ELEVATA)

BRCA1 → carcinoma ovarico

BRCA2 → carcinoma mammario

BRIP1 e PALB2 nell'1% dei casi

Queste proteine sono coinvolte nel riparo delle rotture a doppio filamento del DNA per ricombinazione omologa

- Il **test genetico** consente di indirizzare sulle scelte terapeutiche (pazienti portatrici di mutazioni in BRCA1 e BRCA2 rispondono meglio ai trattamenti chemioterapici) e sul tipo di intervento chirurgico da effettuare (mastectomia bilaterale profilattica vs intervento conservativo)

- PROGRAMMI DI SORVEGLIANZA

Se scopriamo la presenza della mutazione in questi due geni, si può scegliere di asportare in maniera prevertiva entrambi i due seni per evitare l'insorgenza del tumore

TUMORE EREDITARIO DEL COLON RETTO (sindrome di Lynch)

INCIDENZA: 2-3% dei casi di cancro del colon-retto

Forma ereditaria:

Carcinomi intestinali del cieco, ma anche carcinoma dell'endometrio, dello stomaco, del tenue, reni, ureteri, ovaio e vie biliari

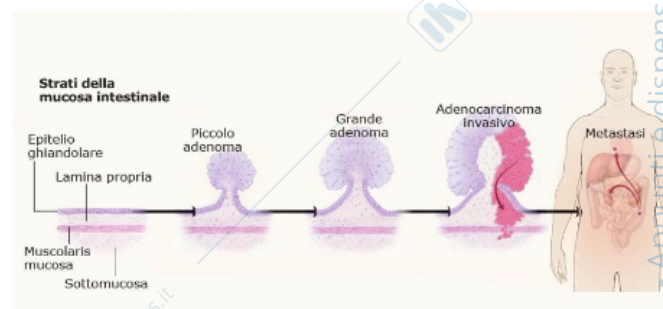
Ci si ammala intorno ai 44 anni

GENI E MUTAZIONI (modalità di trasmissione AUTOSOMICA DOMINANTE A PENETRANZA INCOMPLETA)

MSH2, MSH6, PMS2, MLH1: queste proteine sono coinvolte nel riparo del DNA per escissione di basi

La sorveglianza è oggi particolarmente efficace.

Caratteristica dei tumori legati alla sindrome di Lynch:
INSTABILITA' DEI MICROSATELLITI



Cancerogenesi colon-rettale