

Genetica Medica corsi di laurea triennali



Prof. Vincenzo Nigro

Genetica Medica 1° anno, II semestre



Dipartimento di Patologia Generale, Seconda
Università degli Studi di Napoli

programma del corso di genetica medica

1. Organizzazione del genoma umano e dei cromosomi: geni, introni, esoni, splicing
 2. Le variazioni nella sequenza del DNA: sequenze ripetute, varianti e polimorfismi, SNP e CNV
 3. L'estrazione e la manipolazione del DNA, gli enzimi di restrizione, il Southern blot, la PCR
 4. Le tecniche per identificare mutazioni note: l'ARMS, l'MLPA, FISH
 5. Le tecniche di sequenziamento Sanger ed NGS, la NIPT
 6. L'analisi genomica generale: cariotipo, CGH array, il sequenziamento dell'esoma con NGS
 7. Gli alberi genealogici, penetranza ed espressività, anticipazione
 8. La consulenza ed i test genetici: le sindromi ed i meccanismi di trasmissione
 9. Classi di variazioni: sostituzioni, indel, delezioni, duplicazioni, inserzioni, inversioni, traslocazioni
 10. Effetti di allele: equivalente, amorfico, ipomorfico, ipermorfico, neomorfico, antimorfico
 11. Monosomie e trisomie autosomiche (16, Down, Edwards, Patau), il mosaismo
 12. Trisomie degli eterocromosomi (Klinefelter, tripla X e XYY) e monosomia X (Turner)
-
13. Triploidia, imprinting e disomia uniparentale
 14. Traslocazioni sbilanciate e bilanciate, robertsoniane e rischio riproduttivo
 15. Eterogeneità clinica e genetica, aploinsufficienza
 16. Delezioni submicroscopiche (Williams, di George, Smith-Magenis)
 17. Imprinting (Angelman, Prader-Willi, Silver-Russel)
 18. Malattie genetiche da sostituzioni *de novo*: acrondroplasia, craniosinostosi, Waardenburg, progeria
 19. Eredità autosomica dominante: Neurofibromatosi, Marfan
 20. Malattie genetiche legate al cromosoma X: Distrofie Muscolari di Duchenne e Becker, Emofilia, sindrome di Rett
 21. Eredità autosomica recessiva: Fibrosi Cistica, LGMD, Atassia di Friedreich, SMA, Talassemie
 22. Mutazioni dinamiche: X fragile, corea di Huntington, SCA, distrofia miotonica
 23. Malattie ad eredità mitocondriale
 24. Malattie multifattoriali

Testi consigliati

- Moncharmont
Patologia Generale (3 capitoli genetica)
Editore Idelson Gnocchi
- Da Trattato Italiano di Medicina di Laboratorio vol IX
Diagnostica molecolare: **Genetica**
Editore Elsevier Masson
- Strachan-Read
Genetica Molecolare Umana
Editore Zanichelli
- Sito web <http://www.vincenzonigro.it> (**glossario**)

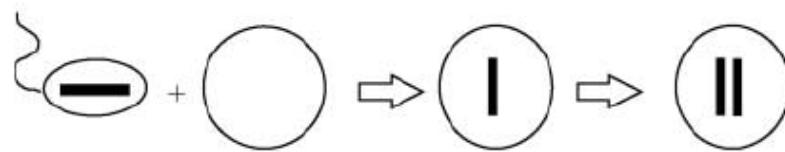
Mola idatiforme

1/1.000 gravidanze e 1/41 aborti

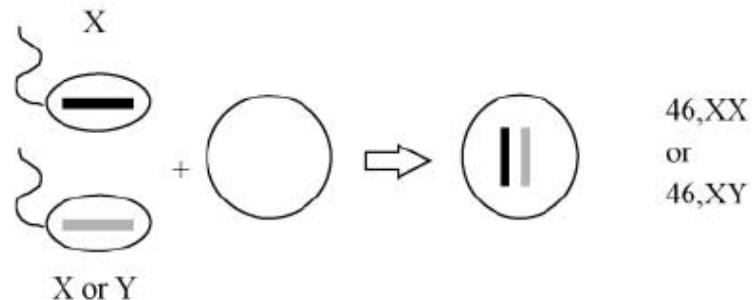
Ci sono due diverse forme di mola idatiforme con aspetto e cause differenti

la **mola completa** in cui tutti i villi sono cistici e lo sviluppo embrionale è assente: è causata dall'assenza di cromosomi materni; origina dalla fecondazione di un oocita non nucleato da parte di uno o due spermatozoi aploidi. Il cariotipo è 46,XX (75% dei casi) o 46,XY (25%)

la **mola parziale** in cui c'è sviluppo embrionale: è causata da una **triploidia**



23,X -----> 46,XX



triploidia

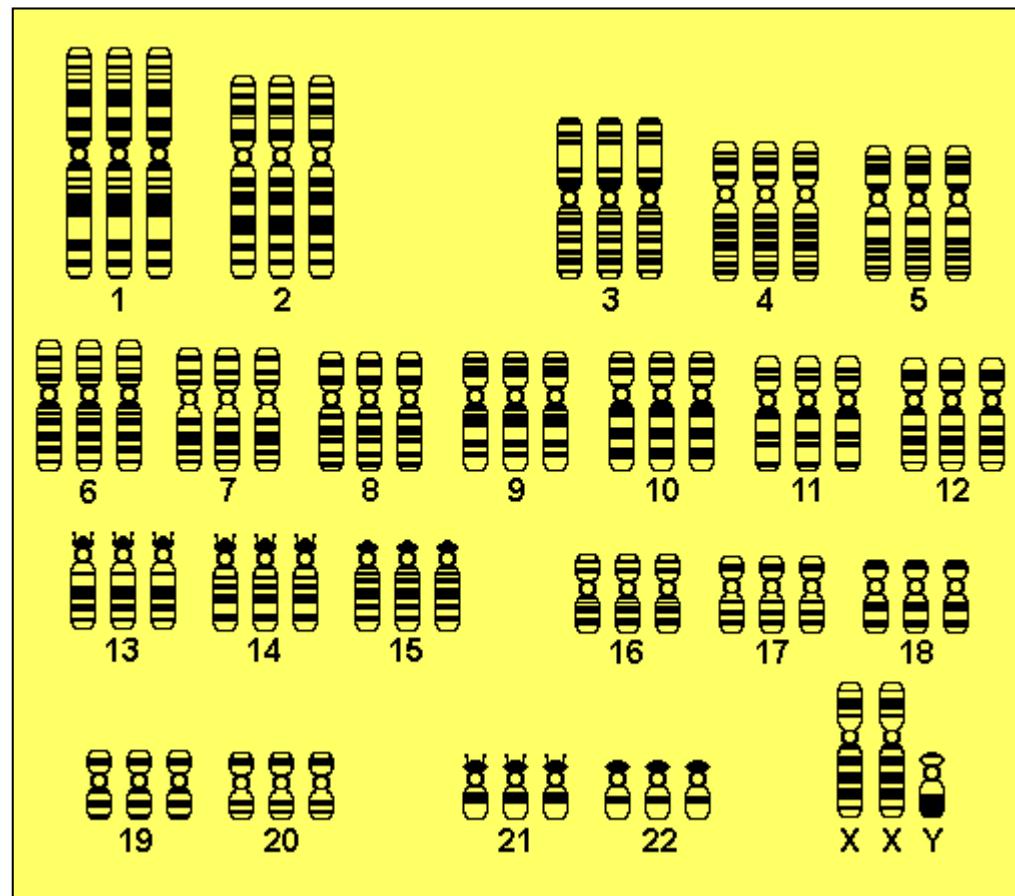
Frequenza alla nascita = 1/10.000

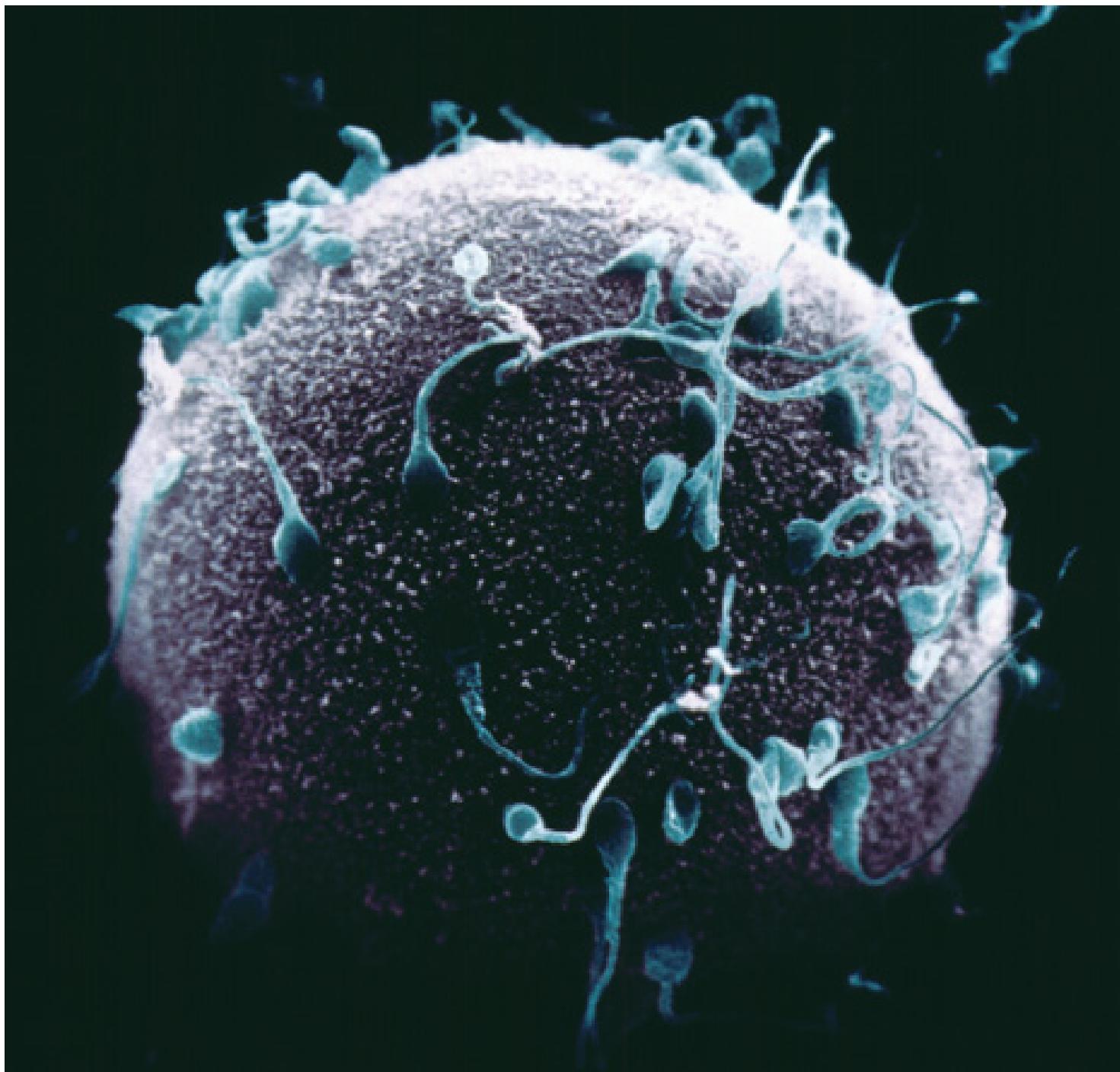
Frequenza negli aborti = 1/14

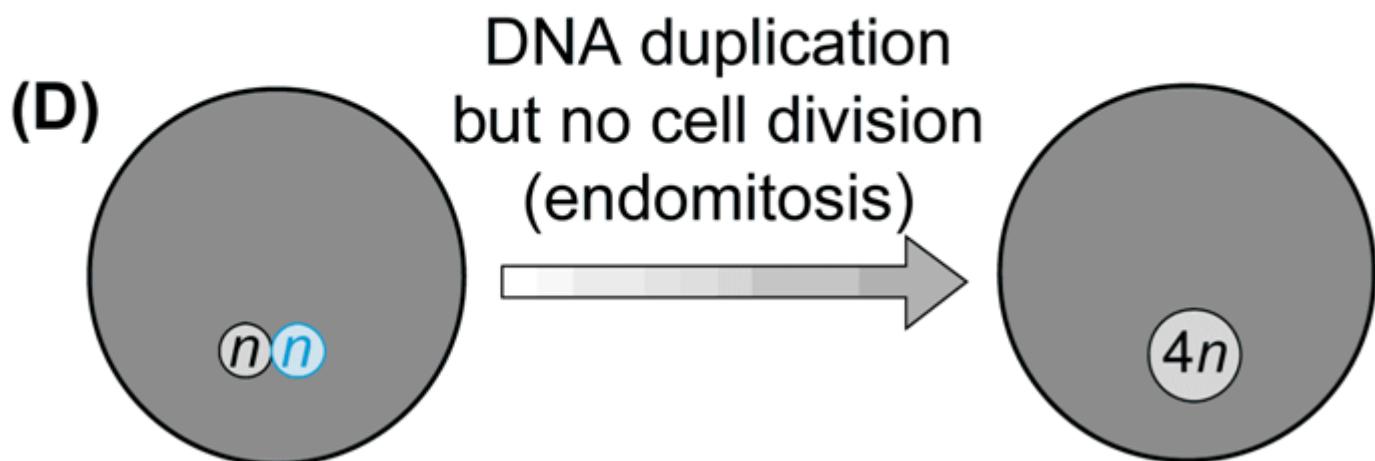
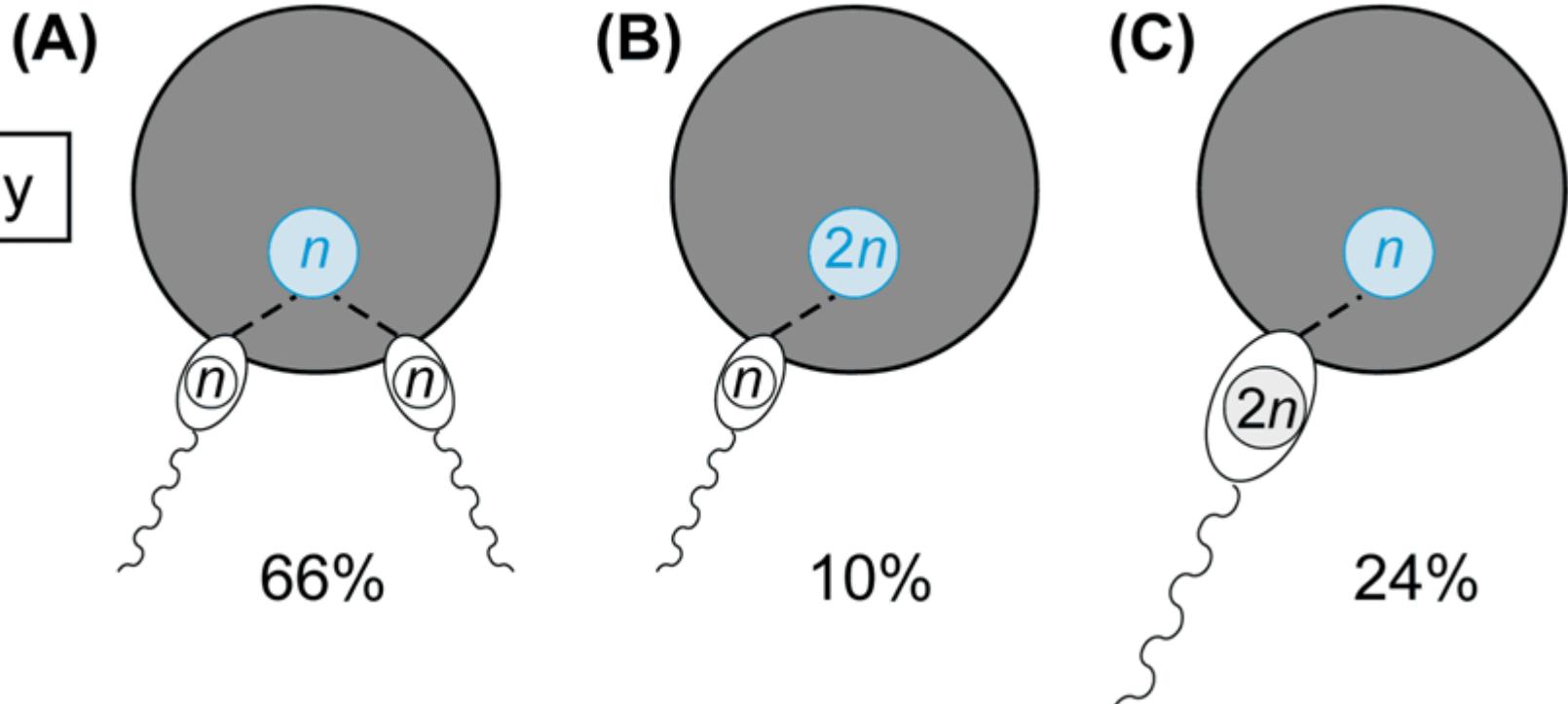
Cariotipo 69,XXY 57%

Cariotipo 69,XXX 40%

Cariotipo 69,XYY 3%







Tipo I, corredo sovrannumerario paterno (diandrico)

Feto microcefalico, ma crescita aumentata
Ridotto sviluppo cerebrale
Placenta ingrossata

Sistema nervoso centrale ↓

Placenta e sacco vitellino ↑

Tessuti mesodermici ↑

Tipo II, corredo sovrannumerario materno (diginico)

Ritardo di crescita
Feto con macrocefalia relativa
Placenta poco sviluppata
Mai una mola parziale

Sistema nervoso centrale ↑

Placenta e sacco vitellino ↓

Nati vivi

Basso peso

Asimmetria cranio-facciale e difetti di ossificazione del cranio

Microftalmia, ipertelorismo, micrognazia

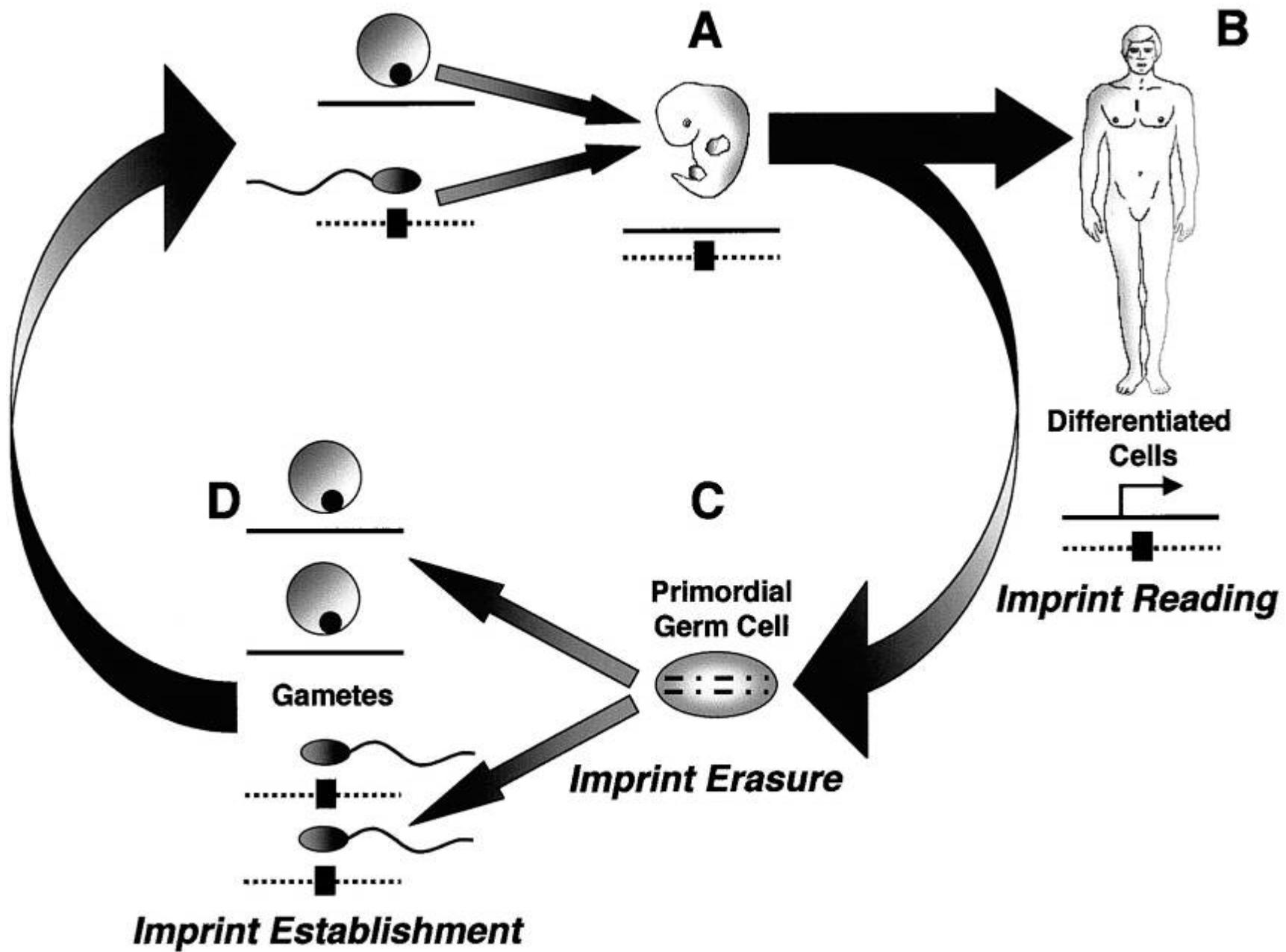
Sindattilia cutanea, piedi torti

Anomalie genitali, ipoplasia delle surrenali

Cardiopatie



Imprinting



Imprinting

- Nelle cellule germinali primordiali l'imprinting viene cancellato del tutto e il DNA è demetilato
- Successivamente nella linea germinale maschile si determina un pattern di imprinting che in alcuni loci è complementare a quello della linea germinale femminile
- I cromosomi su cui avviene l'imprinting (7, 11, 15) manterranno questo pattern e lo riprodurranno ad ogni mitosi
- Si potranno sempre distinguere l'espressione genica del cromosoma materno e paterno

Disomia uniparentale

- Due copie dello stesso cromosoma sono ereditate dallo stesso genitore
- Spesso questo avviene attraverso un fenomeno transitorio di trisomia, seguito dalla perdita del cromosoma singolo e mantenimento del cromosoma doppio

Sindrome di Angelman

- 70% dei casi delezione della regione cromosomica 15q11-q13, che è soggetta al fenomeno dell'imprinting del cromosoma paterno
- Il gene materno (l'unico espresso) può essere alterato con 4 meccanismi noti:
 - delezione
 - disomia uniparentale paterna
 - difetti nell'imprinting
 - mutazioni a carico del gene UBE3A (ubiquitin ligasi)
- La diagnosi è clinica e il difetto genetico non si identifica nel 20% dei casi

4 Genetic Mechanisms of Angelman Syndrome



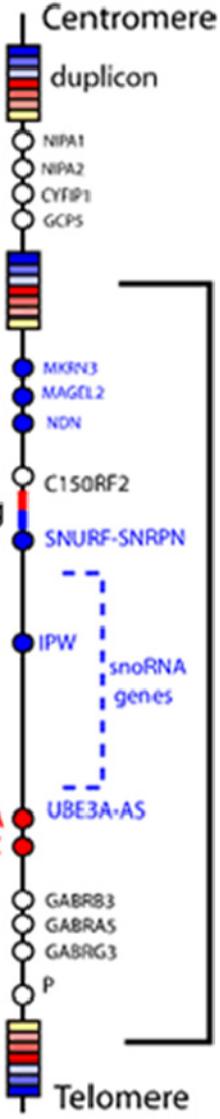
2
Paternal
Uniparental
Disomy
3%

15 15

4
UBE3A
Mutation
13%

3
Imprinting
Defect
3%

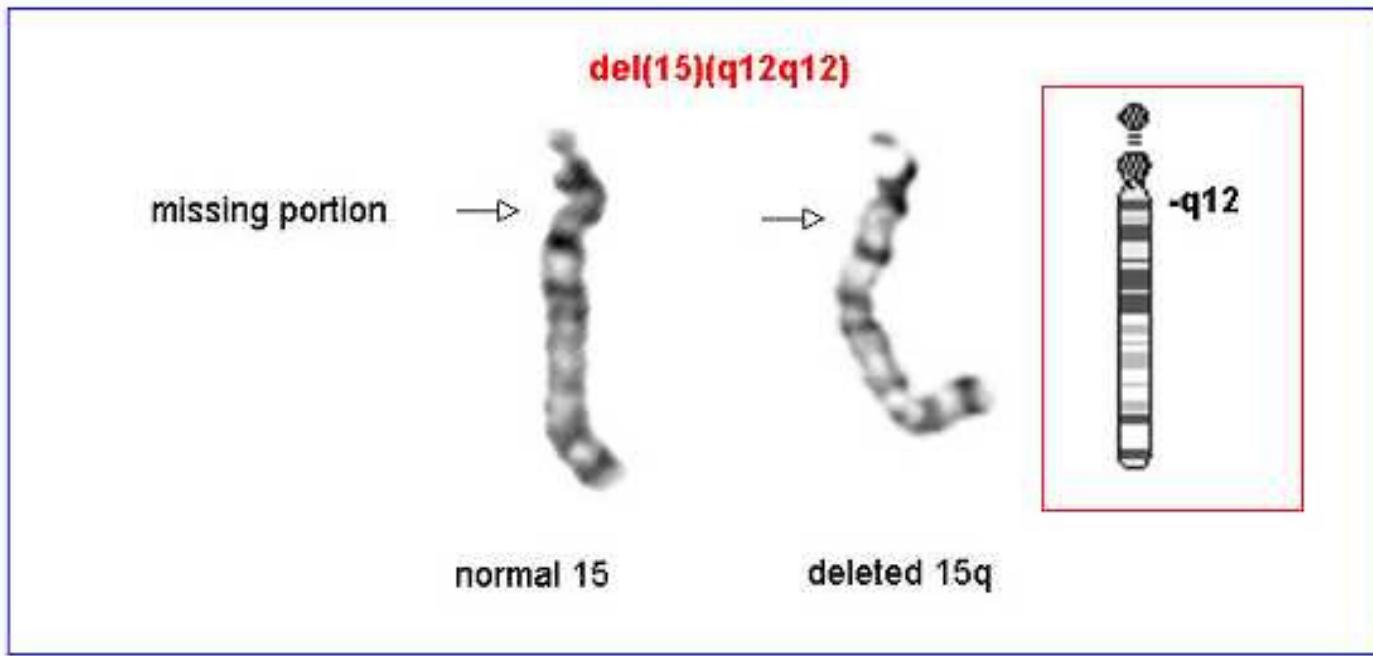
Imprinting
Center



1
Chromosome
Deletion
68%

PRADER WILLI OR ANGELMAN SYNDROME

del(15q12)



Angelman

- "happy puppet syndrome" si può identificare in Cucciolo (Dopey) "addormentato", il più giovane dei nani che non ha mai imparato a parlare
- ritardo mentale con assenza del linguaggio, difficoltà nell'equilibrio, eccessivo buon umore





Angelman

- L'incidenza è 1/20.000 nati
- crisi epilettiche e comunque alterazioni dell'EEG e microcefalia relativa



Sindrome di Prader-Willi

alla nascita ipotonìa, basso tono muscolare che migliora col tempo: problemi di alimentazione e ritardo nel linguaggio

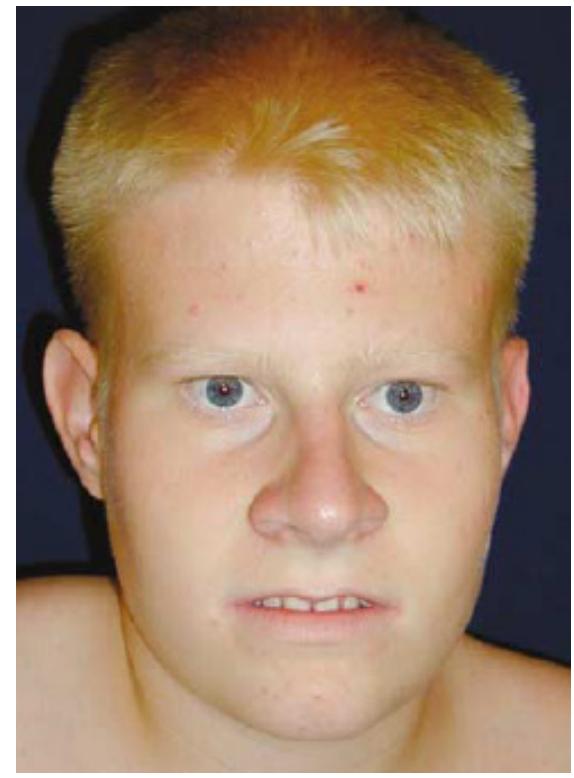


Sindrome di Prader-Willi

- iperfagia>obesità e diabete
- eccessiva assunzione di liquidi
- basso GH (ormone della crescita) e bassi ormoni sessuali, pubertà tardiva e incompleta
- Acromicria (mani e piedi piccoli), criptorchidismo
- reazioni abnormi ai sedativi
- insensibilità al dolore, lesioni cutanee
- sbalzi di umore

bassa statura, occhi a mandorla, diametro bifrontale ridotto

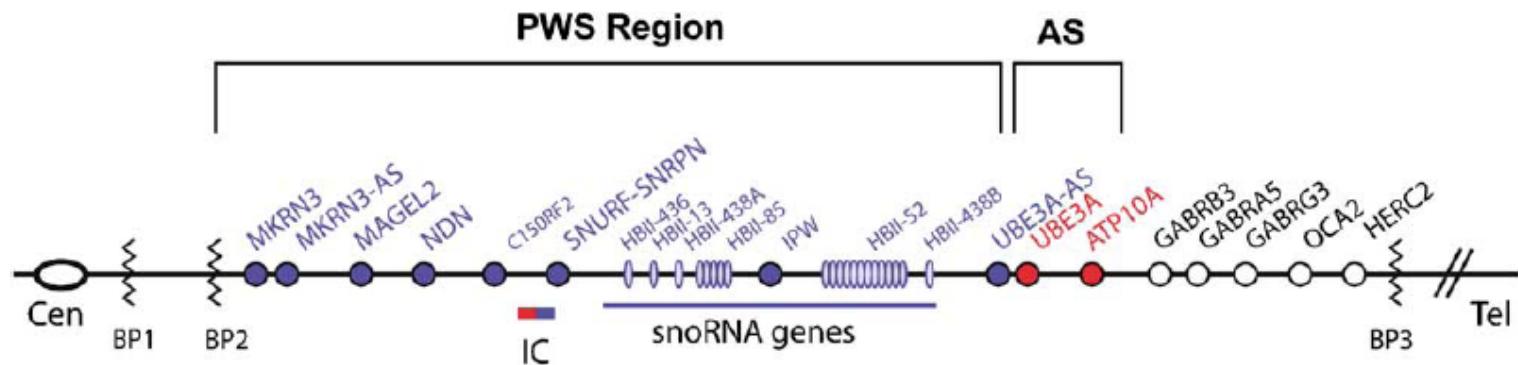
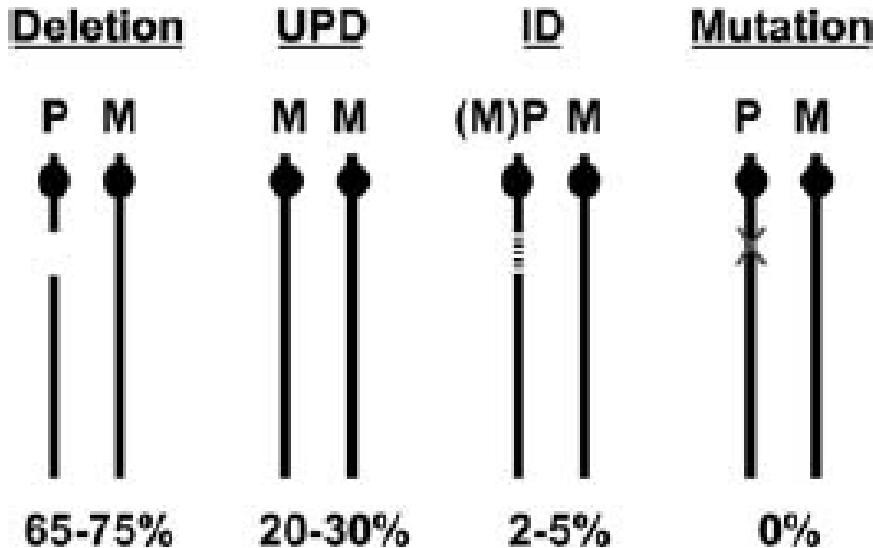
quoziente intellettivo 40-100, con deficit di attenzione e di pensiero astratto



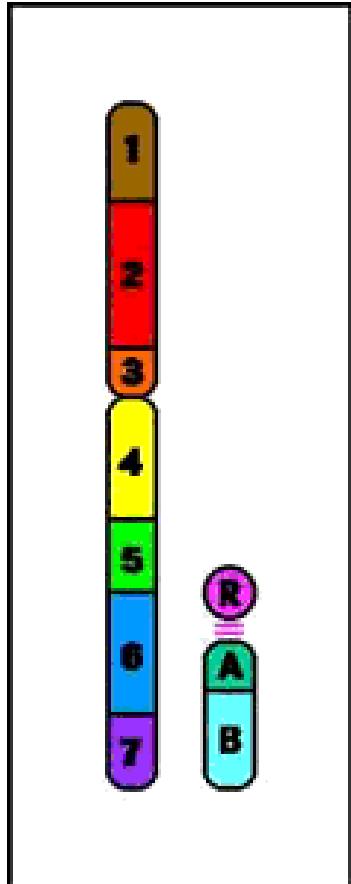
Prader-Willi

1/15.000-20.000

la regione paterna è l'unica espressa perché l'allele materno è metilato



portatori di un rischio riproduttivo indipendente dal partner

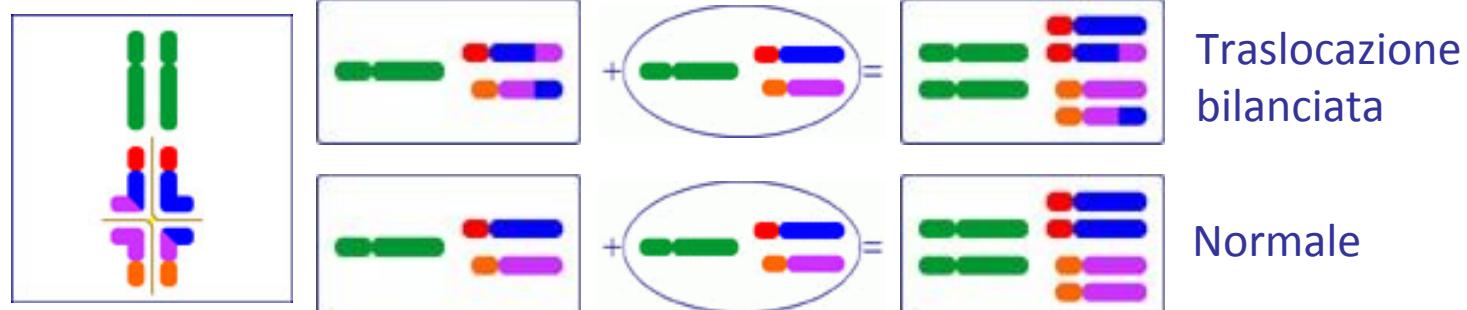


- portatori di una traslocazione cromosomica bilanciata (reciproca)
- scambio di materiale genetico tra cromosomi non omologhi
- non vi è modificazione della dose genica
- frequenza 1/520 nati
- fenotipicamente normale

traslocazione reciproca

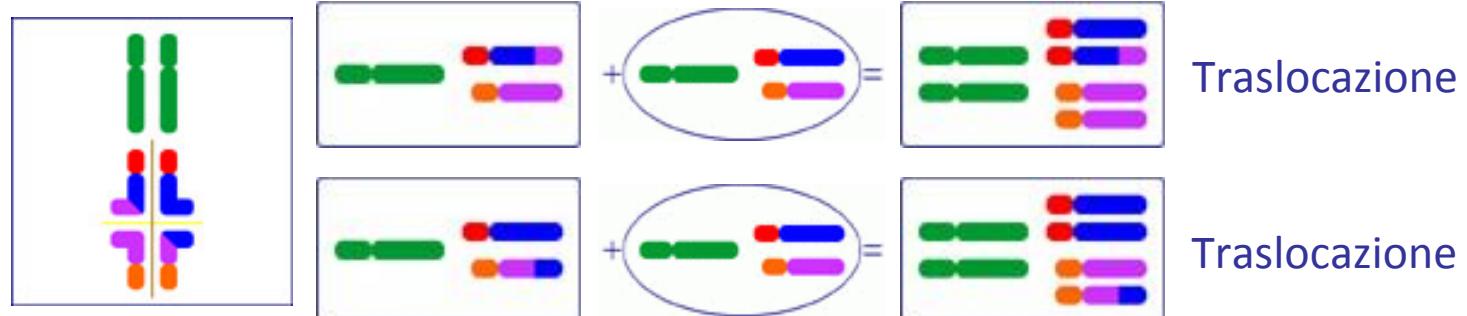
traslocazioni bilanciate (meiosi e fertilizzazione)

Segregazione alternata



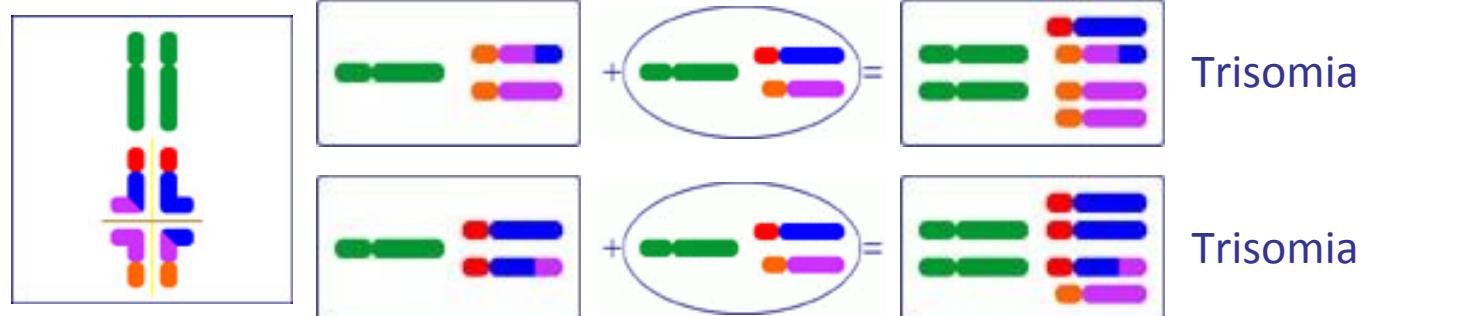
Traslocazione bilanciata

Segregazione adiacente 1



Traslocazione

Segregazione adiacente 2

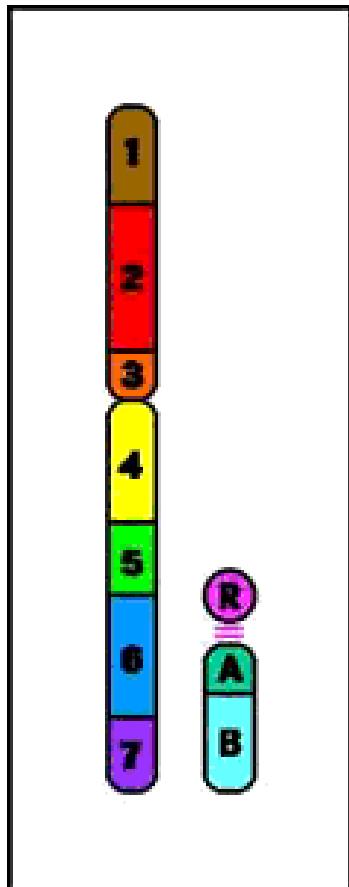


Trisomia

Trisomia

La formazione di tetravalenti aiuta a capire: solo con la segregazione alternata si formano gameti normali o con traslocazione bilanciata, mentre le segregazioni adiacenti 1 e 2 portano alla traslocazione sbilanciata o alla trisomia

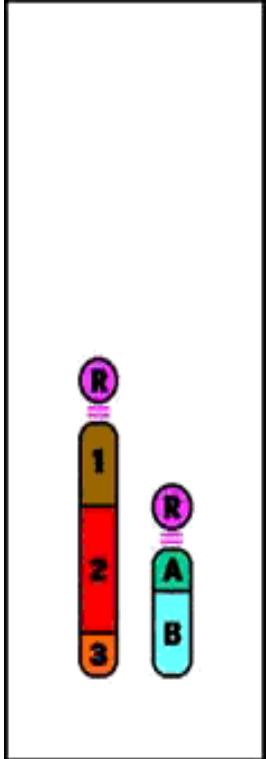
traslocazioni bilanciate



- lo scambio di segmenti cromosomici avviene senza perdita di alcuna informazione genetica
- nessuna regione cromosomica è assente, ma è solo trasferita su un altro cromosoma
- ma un gene di fusione tra due geni altrimenti separati, un evento che è comune nelle cellule maligne

traslocazione reciproca

traslocazioni robertsoniane (rob)



- coinvolgono i cromosomi acrocentrici 13, 14, 15, 21 e 22
- nessuna regione cromosomica è assente, perché questi contengono un braccio corto privo di geni che può risultare perduto con la fusione dei bracci q di due cromosomi acrocentrici
- La più frequente traslocazione Robertsoniana è la rob(13q14q) che rappresenta il 75% di tutte le rob
- segue poi la rob(14q21q) e la rob(21q21q)
- si formano in genere durante la meiosi femminile e comportano infertilità maschile o abortività ripetuta.

rob

Percentuale alla nascita di figli con cariotipo sbilanciato da genitori con traslocazione robertsoniana

- t(13;14) M=F 1%
- t(14;21) F 15% M 2%
- t(21;22) F 10% M 5%
- t(21;21) M=F 100%

Traslocazione sbilanciata

- maggiori sono le dimensioni cromosomiche, minore è la possibilità di una gravidanza a termine
- minori sono le dimensioni, maggiore è il rischio di un feto malformato
- Sesso del genitore donna>uomo (gli spermatozoi hanno il 7.5% di difetti contro l'1% degli oociti, ma sono selezionati)
- Il rischio aumenta se il difetto è stato accertato a partire da un figlio precedente con cariotipo sbilanciato

rischio alla nascita di figli con cariotipo sbilanciato

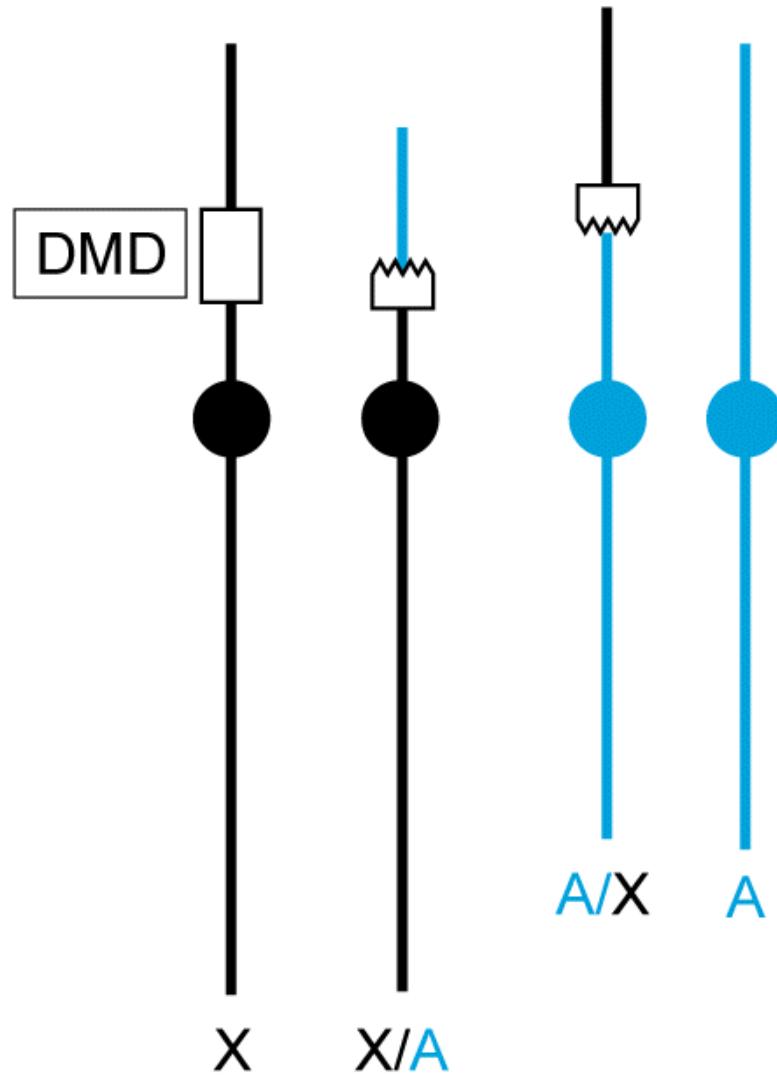
- Se non vi sono stati casi in famiglia e la madre è eterozigote per una traslocazione reciproca il rischio è il 7%
- Se non vi sono stati casi in famiglia e il padre è eterozigote per una traslocazione reciproca il rischio è il 3%
- Se vi sono stati casi di traslocazioni sbilanciate in famiglia e la madre è eterozigote il rischio è il 14%
- Se vi sono stati casi di traslocazioni sbilanciate in famiglia e il padre è eterozigote il rischio è l'8%

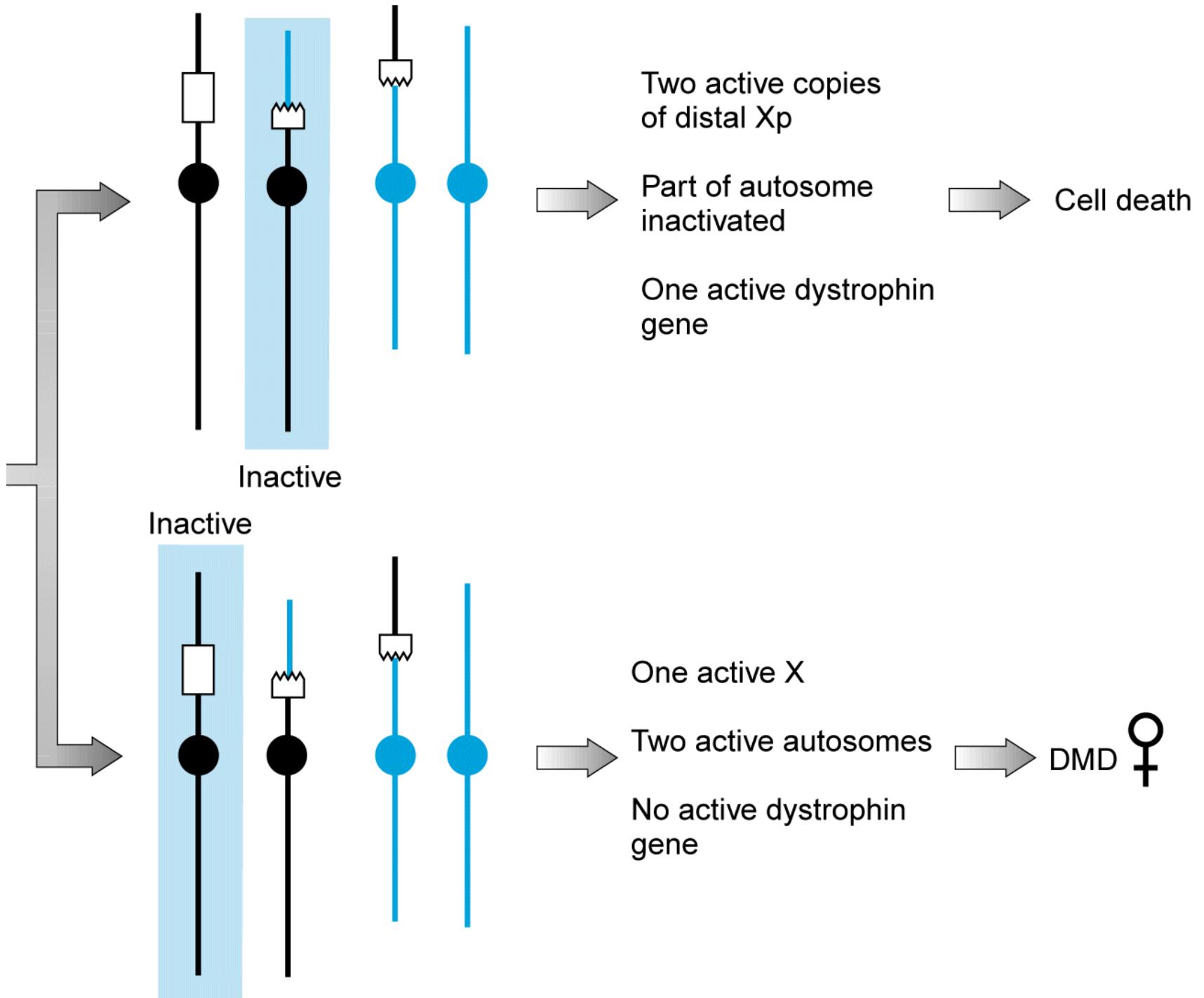
- Le inversioni sono rare (meno di 1 caso su 1000) e a volte difficili da mettere in evidenza
- Possono essere semplici quando comprendono due punti di rottura su di un singolo cromosoma
- Sono pericentriche quando il segmento invertito contiene il centromero (es: 46, XX inv(3)p25q21)
- Le inversioni pericentriche dei cromosomi 1, 9, 16 e Y sono eteromorfismi citogenetici di normale riscontro in soggetti sani
- Le inversioni sono dette paracentriche se confinate ad uno dei due bracci (es: 46,XX. Inv(11)q21q23)
- L'eterozigote per un'inversione è un soggetto normale.

coppia con familiarità per anomalie cromosomiche è indicazione all'esecuzione di un cariotipo fetale e l'estensione dell'indagine ai parenti

- traslocazioni X-autosoma
 - maschi sterili, femmine inattivano la X normale
- traslocazioni robertsoniane
 - non 21 60% cariotipo bilanciato
 - 21 15% rischio di Down, se è eterozigote la madre 1% se è eterozigote il padre
- inversioni
 - pericentriche varianti dell'1, 9, 16 e Y, in altri casi il rischio è 5-10%
 - paracentriche, rischi inferiore allo 0.5%

donna eterozigote per una traslocazione bilanciata X-autosoma





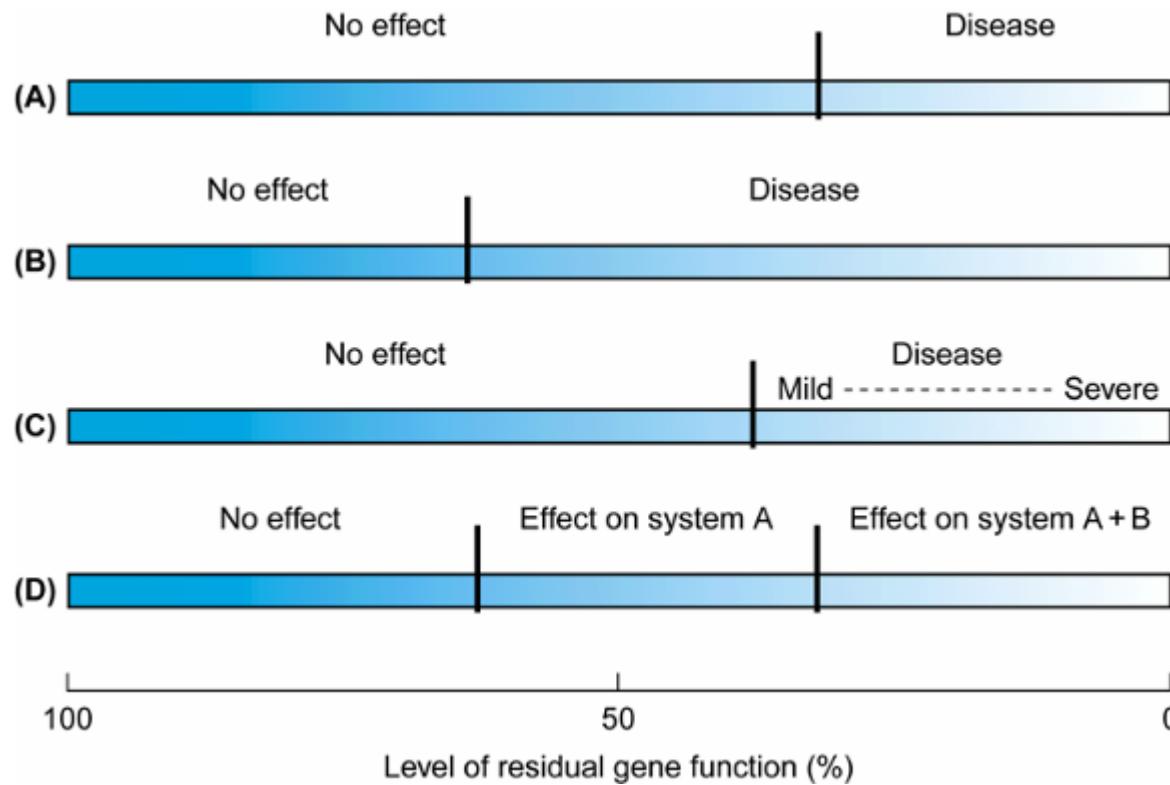
disordine genomico submicroscopico

un disordine genomico submicroscopico è una patologia causata da

- acquisizione
- perdita
- alterazione

di uno o più geni contigui le cui variazioni di dosaggio possono produrre effetti fenotipici

La base molecolare è rappresentata da riarrangiamenti genomici, quali **duplicazioni, delezioni, inversioni**, senza alterazioni apparenti del cariotipo (<5Mb)

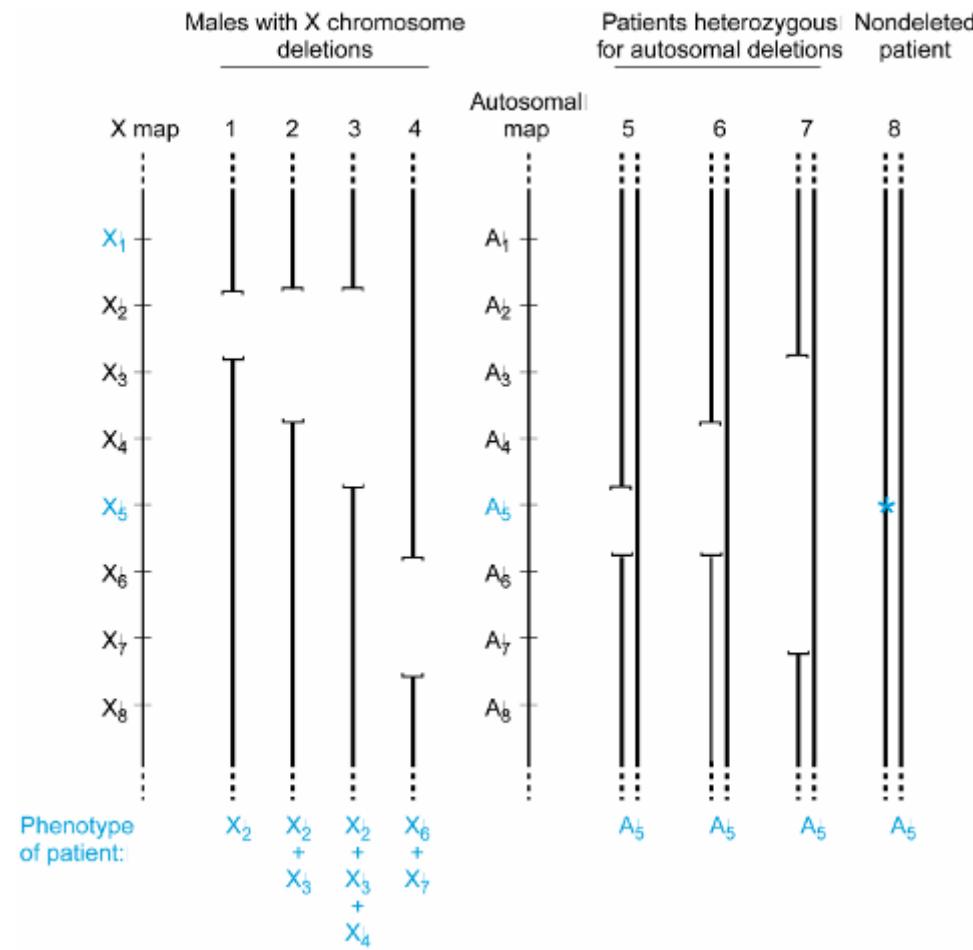


La maggior parte dei geni autosomici si trova nella condizione A o C: il dosaggio genico critico è <50%. In tal caso, si osserva un fenotipo patologico solo se entrambi gli alleli sono colpiti

I geni autosomici responsabili della patogenesi dei **disordini genomici** si trovano nella condizione B o D: si osserva un fenotipo già in eterozigosi per **aploinsufficienza**. Spesso anche un dosaggio genico aumentato >>100% può determinare una patologia

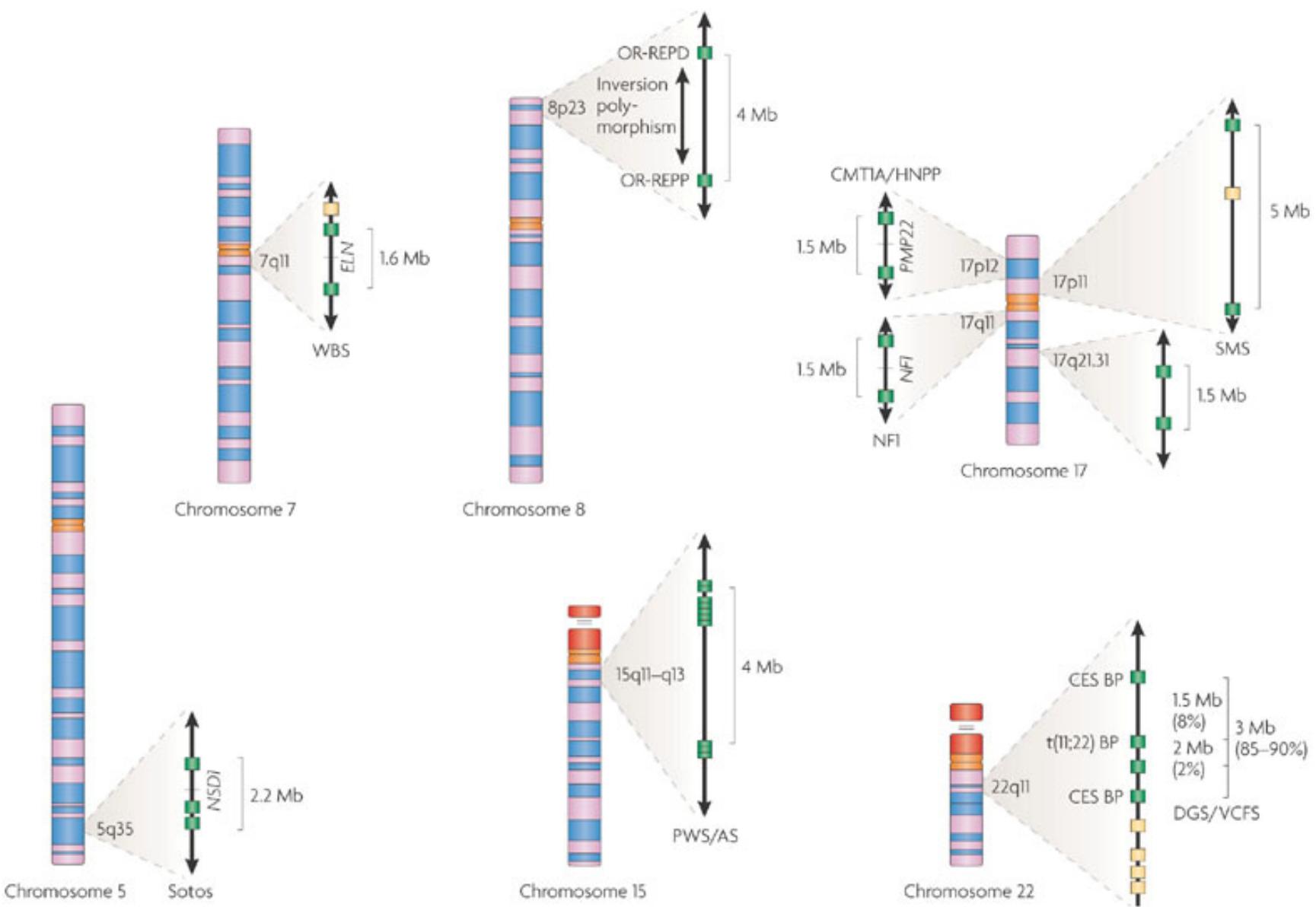
aploinsufficienza

- insufficiente quantità di prodotto genico causata da una mutazione in eterozigosi
- la mutazione è di tipo allele amorfico o ipomorfico
- colpisce geni per i quali il 50% di prodotto genico non è abbastanza per garantirne la funzione
- spesso un dosaggio preciso è richiesto ai fattori di trascrizione e alle molecole di segnale espressi nel corso dello sviluppo



In caso di **delezioni del cromosoma X** nei maschi si osserva direttamente in fenotipo come sindrome da geni contigui

In caso di **delezioni autosomiche in eterozigosi**, molto spesso il dosaggio dimezzato non è causa di malattia. Quando si osserva una sindrome da delezione, è risolutivo trovare la stessa sindrome causata da una mutazione puntiforme in uno solo dei geni. Se questa non si trova, la sindrome esiste solo come somma di più difetti.



- sporadica 1: 15.000-25.000, ma sottodiagnosticata
- **ritardo mentale** con ricerca dell'attenzione e comportamenti autolesionistici (**onicotillomania**)
- disturbi del **sonno**
- faccia quadrata, brachicefalia, **ipoplasia** della parte centrale della faccia, brachidattilia
- **voce grossa** e profonda
- **ipotonìa**, labbro superiore a tenda
- infezioni dell'orecchio, anomalie oculari, anomalie cardiache e renali





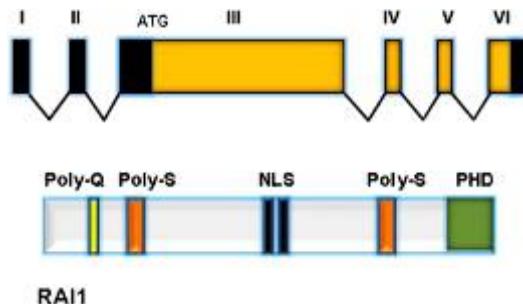
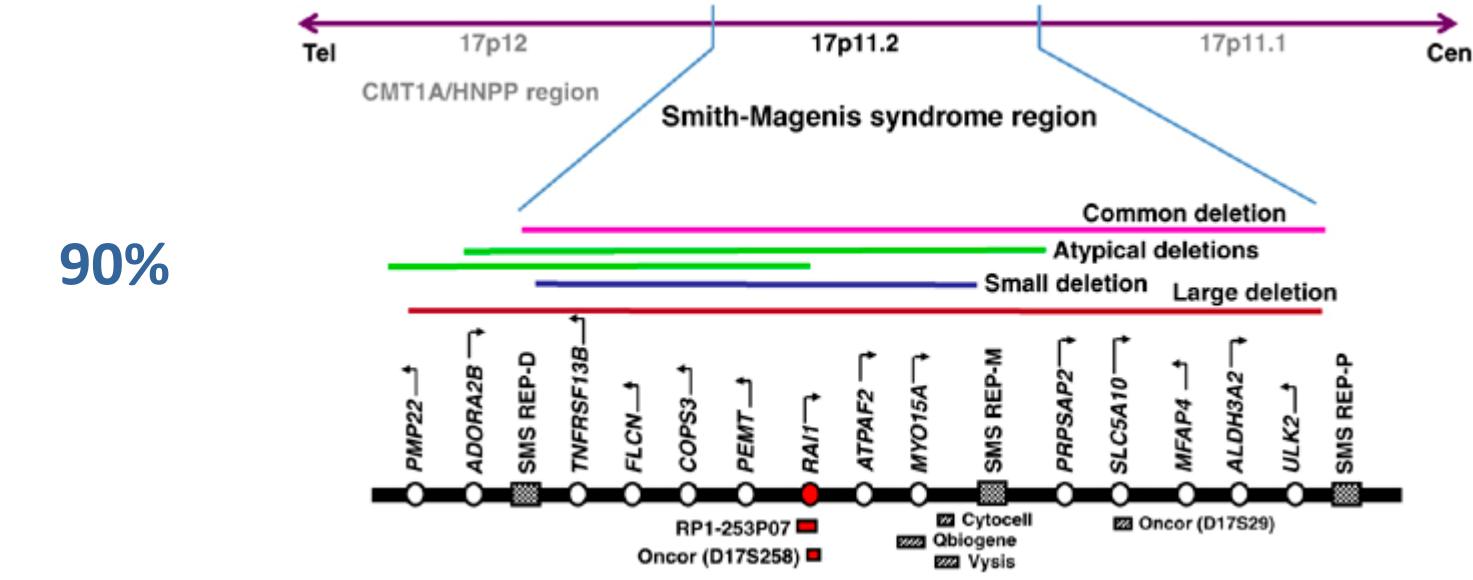
ritardo nel linguaggio **espressivo**

scarsa memoria a breve termine e difficoltà
di **sequenzialità**

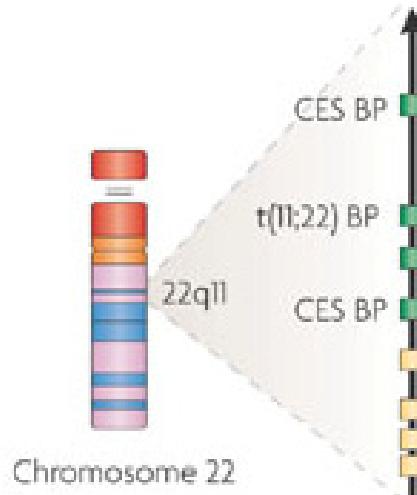
sonno eccessivo diurno e interrotto
notturno, per ciclo invertito della **melatonina**

SMS del 17p11.2

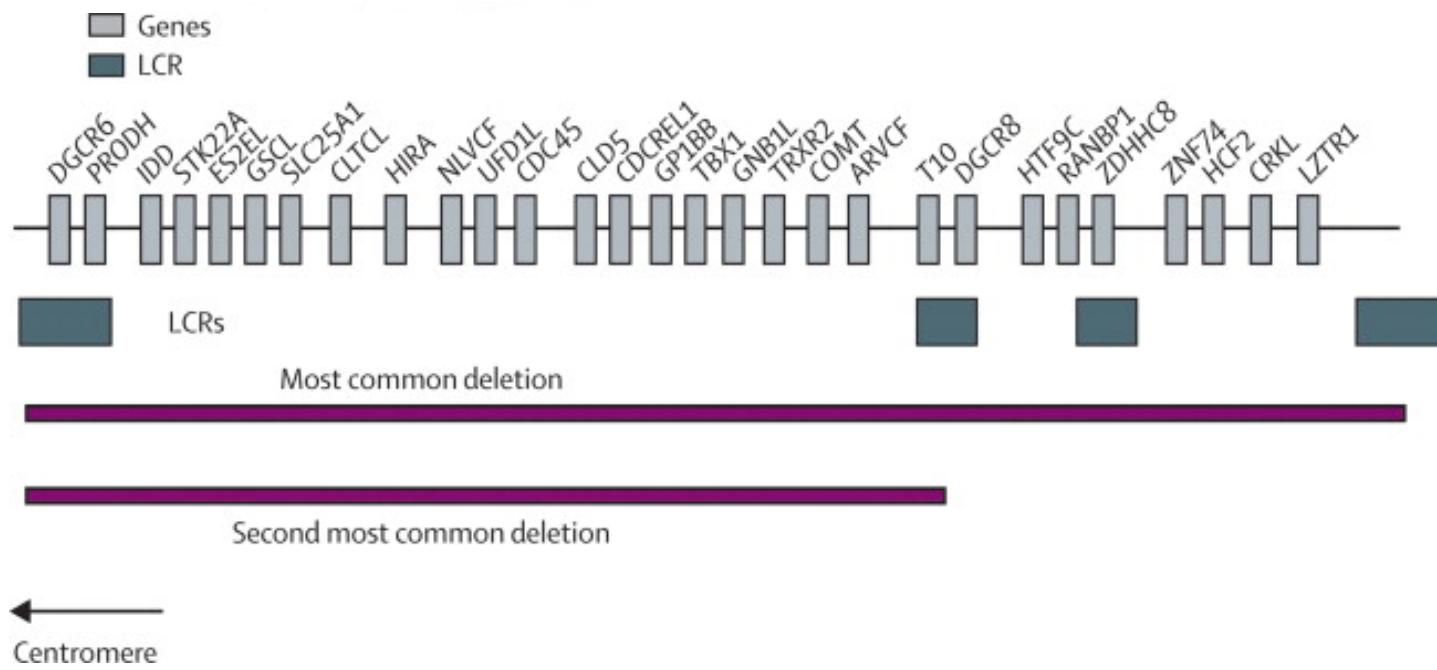
sindrome di Smith-Magenis



- ins/del puntiformi (frame-shift) del gene **RAI1** (**retinoic acid-induced 1**) in eterozigosi nei casi senza delezione



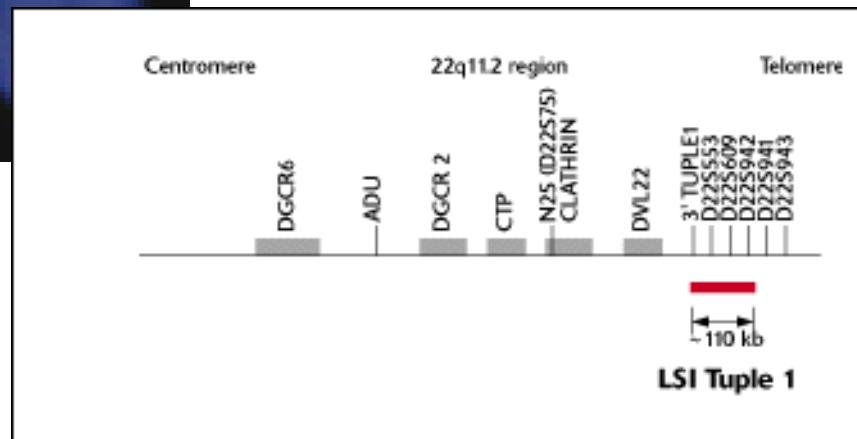
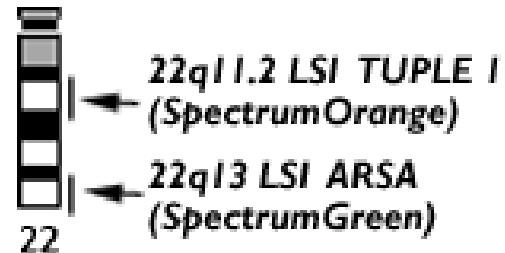
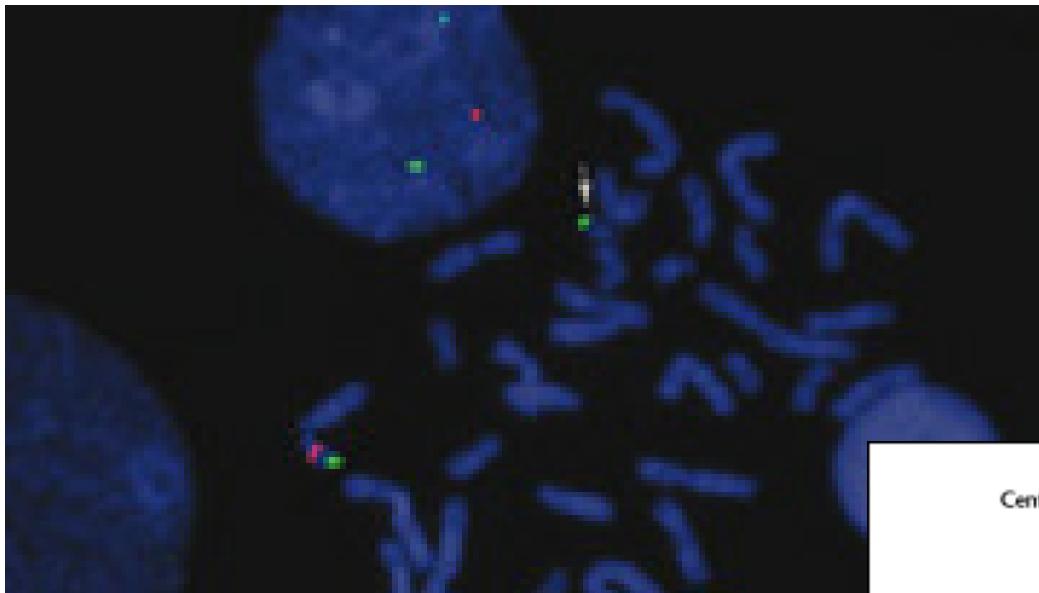
Sindrome di DiGeorge

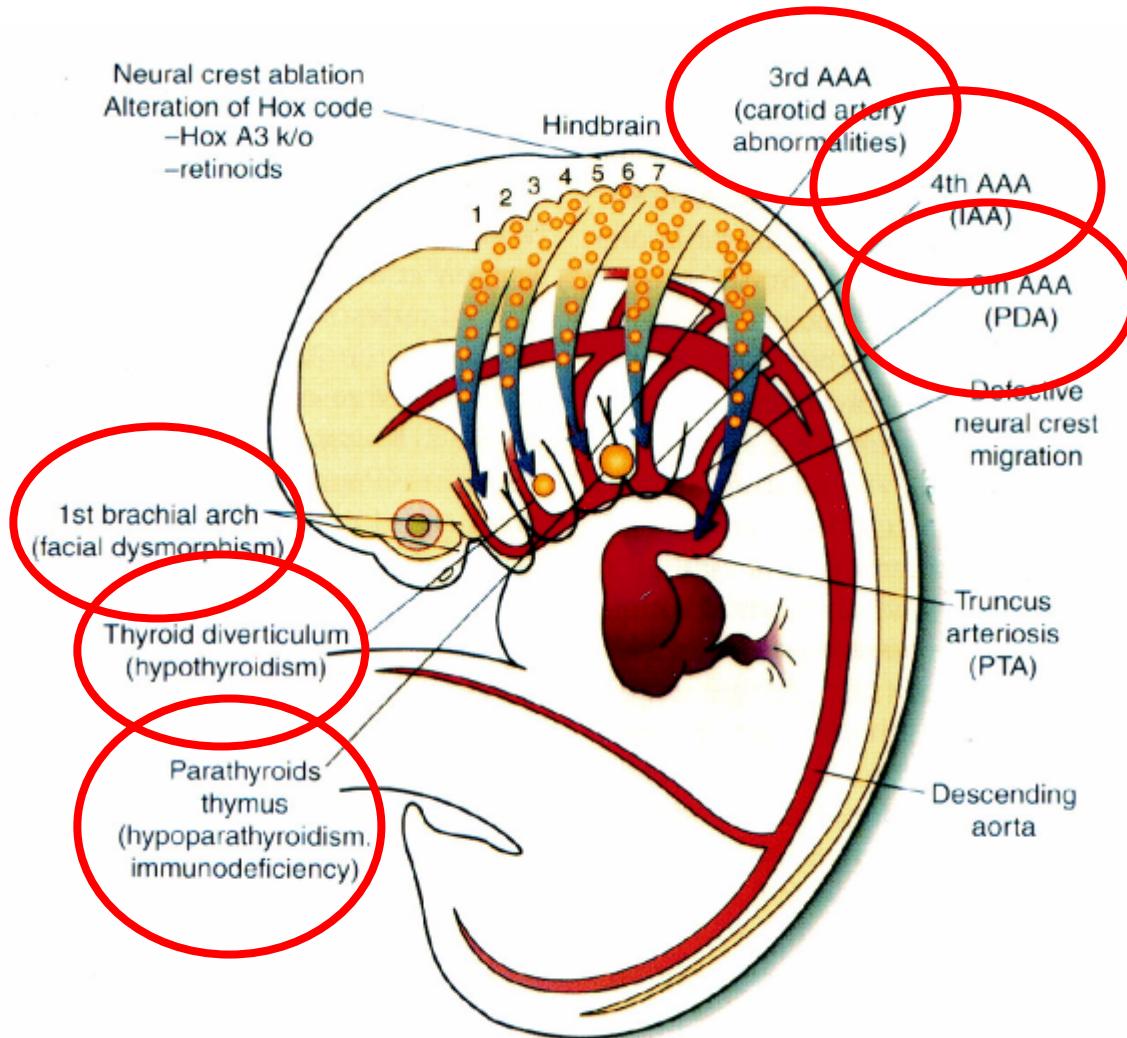


DiGeorge/velocardiofacciale

La sindrome di DiGeorge del 22q11.2 è la più frequente sindrome da microdelezione, con un'incidenza di 1 su 4000–5000 nati

La delezione comprende 3Mb ed almeno 30 geni





le cellule della cresta neurale in migrazione contribuiscono alle strutture embrionali colpite nella s. di DiGeorge

la figura rappresenta un embrione umano a 4-6 settimane di gestazione

La migrazione delle cellule della cresta neurale dal cervello posteriore all'arco branchiale / tasca faringea e del tratto di efflusso cardiaco è indicato dalle frecce.

Le malformazioni associate a perturbazioni di questo processo sono elencati e queste coincidono sostanzialmente con quelle osservate nelle s. di DiGeorge 22q11 persistenza del dotto di Botallo (PDA), interruzione dell'arco aortico (IAA)

- È caratterizzata da
 - Anomalie cardiache
 - T-cell deficit
 - palatoschisi
 - anomalie facciali
 - **Ipocalcemia**

DiGeorge o velo/cardio/facciale

Mutazioni puntiformi del gene TBX1 possono portare a questi 5 tratti fenotipici, ma non alle difficoltà nell'apprendimento che è invece frequente nella sindrome da delezione



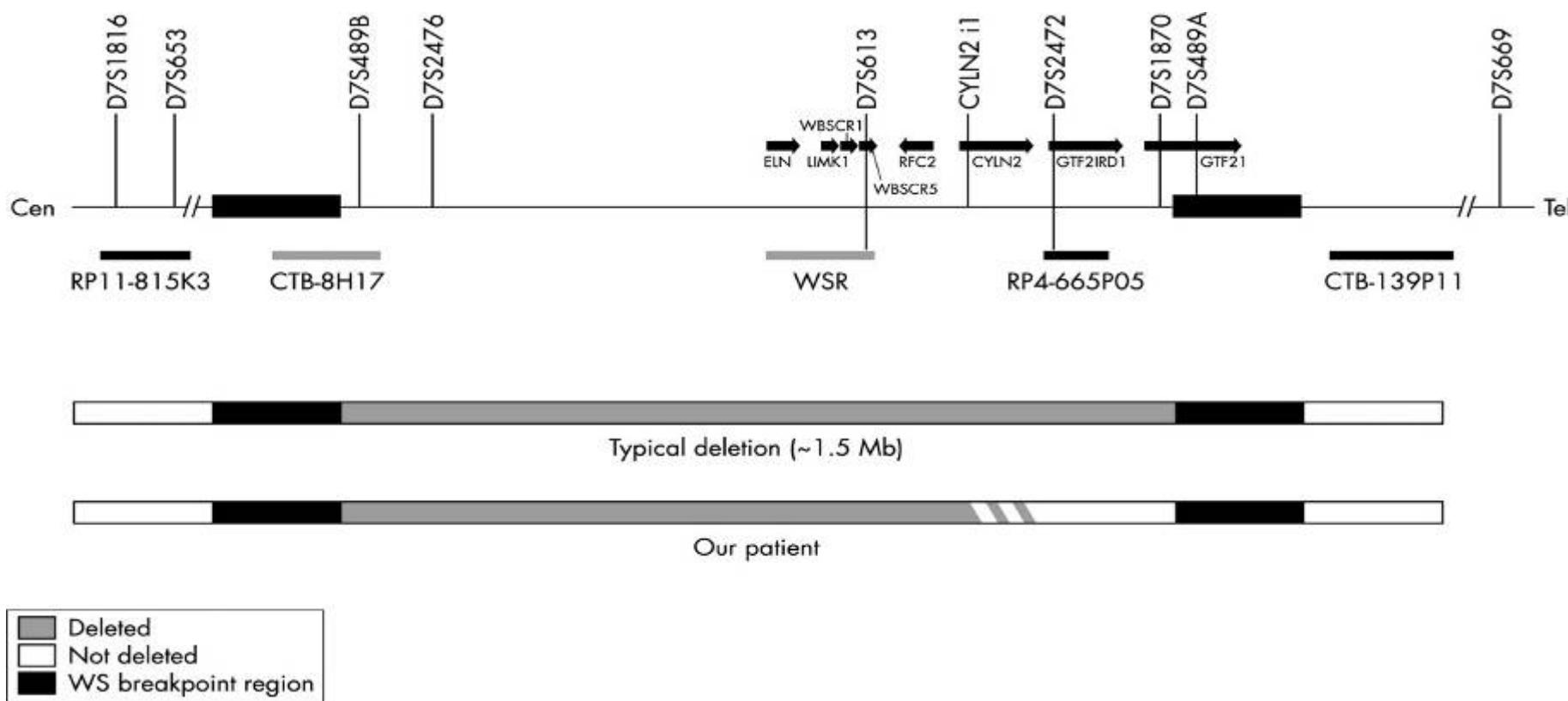


Williams-Beuren

- prevalenza alla nascita 1/7500-1/20.000, ma può non essere diagnosticata



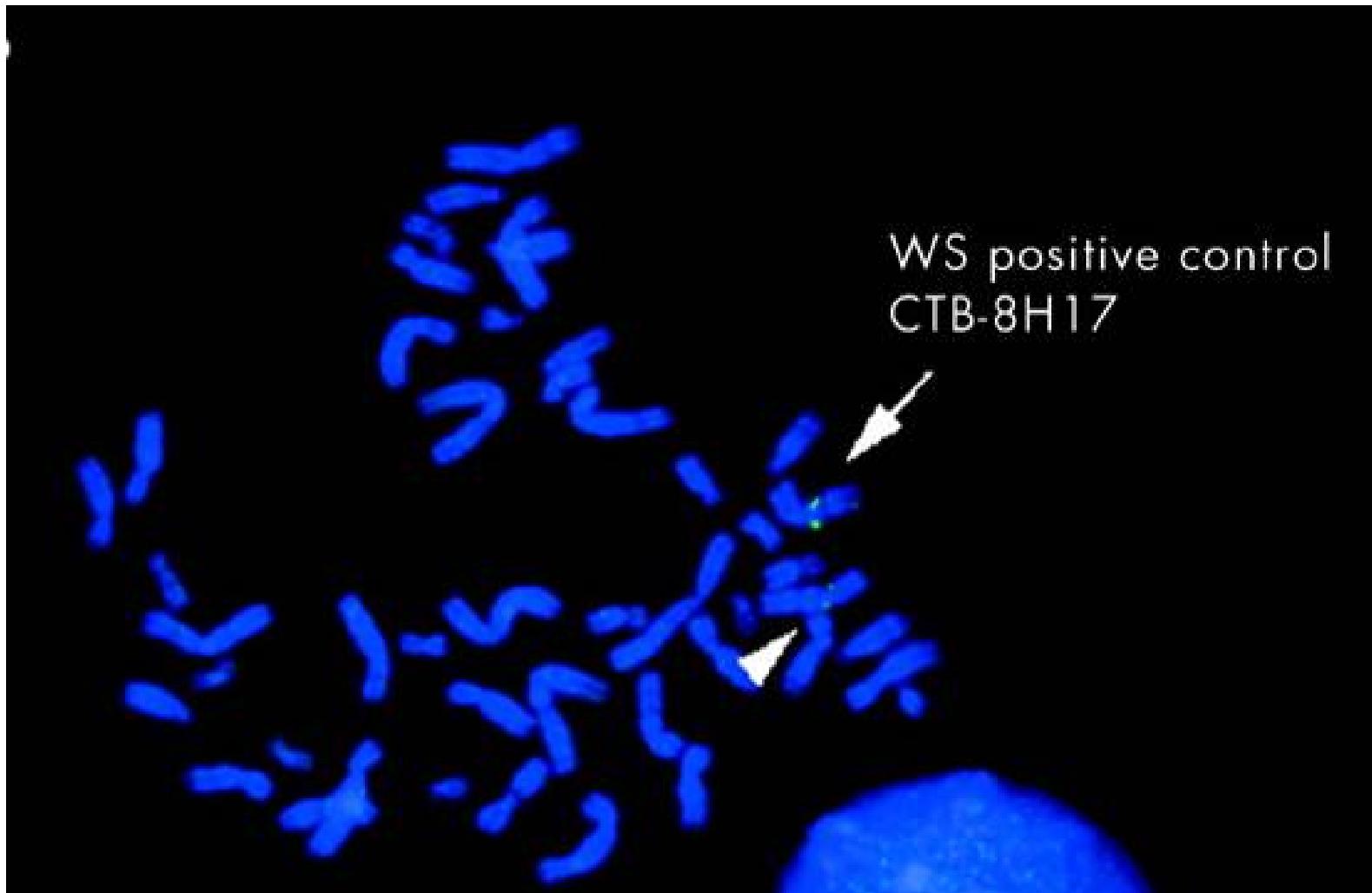
Williams una delezione tipica



Williams genetica

- delezione “de novo”
- trasmissione autosomica dominante
- delezione di 1.6MB da 21 geni contigui in eterozigosi a 7q11.23
 - gene dell’elastina
 - LIM kinase 1 (LIMK1)
 - CLIP-115 che lega i microtubuli
 - Fattori di trascrizione GTF2I e GTF2IRD1
 - effetto posizionale su altri geni circostanti la delezione

Williams FISH delezione 7q11.23



■ rilevabile mediante FISH ma non cariotipo



Williams comportamento

- lieve o medio ritardo mentale (IQ tra 41 e 80)
- scarsa capacità di concentrazione
- ritardo nell'apprendimento del linguaggio e poi esagerata loquacità
- personalità amichevole e affettuosa
- danno facilmente confidenza anche a sconosciuti
- ansietà, spesso preoccupati per il benessere altrui
- ipersensibilità ai suoni
- memoria visiva e uditiva spesso fuori dal comune
- ricordano persone, luoghi e motivi musicali
- predisposizione ad imparare le lingue e la musica



Williams aspetto e segni

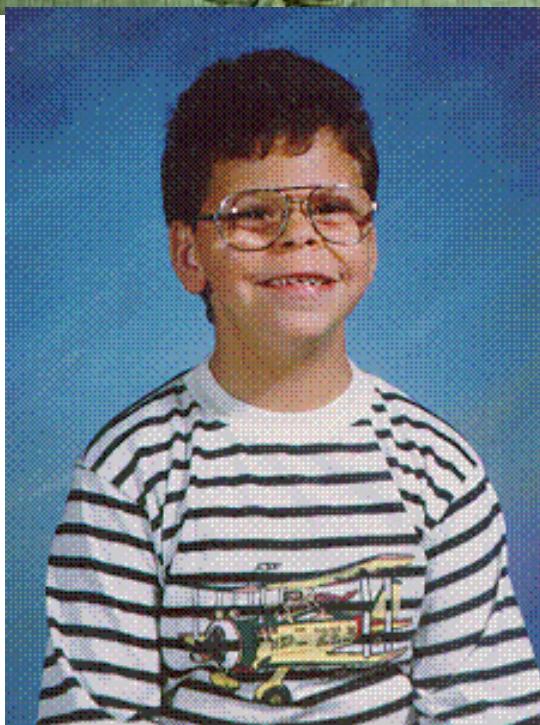
- Faccia da elfo
- Occhi blu (77%) con pattern stellato dell'iride (74%) ma questo vale per i nordeuropei, strabismo (40%)
- Naso con la punta bulbosa
- bocca larga e guance piene
- microdontia e micrognazia
- Statura 10 cm in meno del normale
- ipercalcemia
- stenosi periferica delle arterie polmonari
- stenosi aortica sopravalvolare

<http://www.wsf.org/family/photoalbum/wsfphoto.htm>

**Williams
foto**



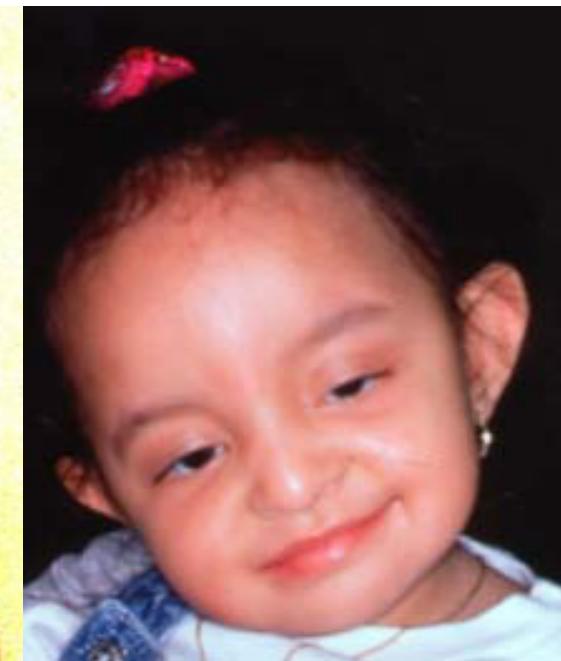
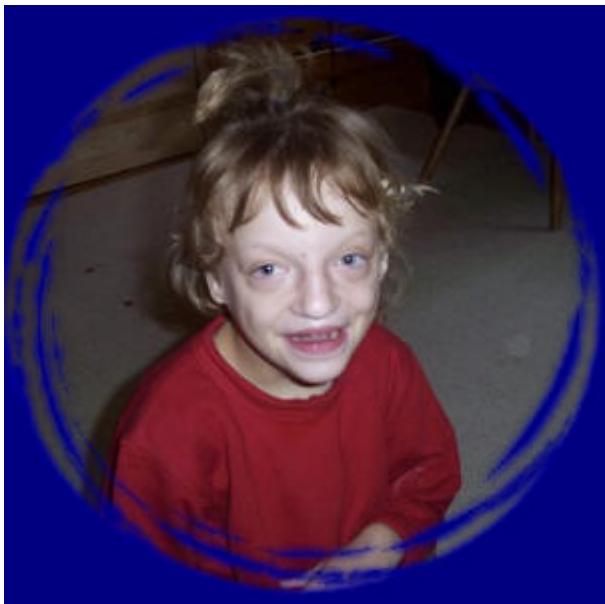
Williams foto



Wolf-Hirschhorn genetica

- delezione “de novo” di circa 4MB
- le delezioni sono più frequenti nella linea germinale maschile
- trasmissione autosomica dominante
- Regione critica di 165 kb di molti geni contigui in eterozigosi a 4p16.3

Wolf-Hirschhorn delezione a 4p16.3



Wolf-Hirschhorn



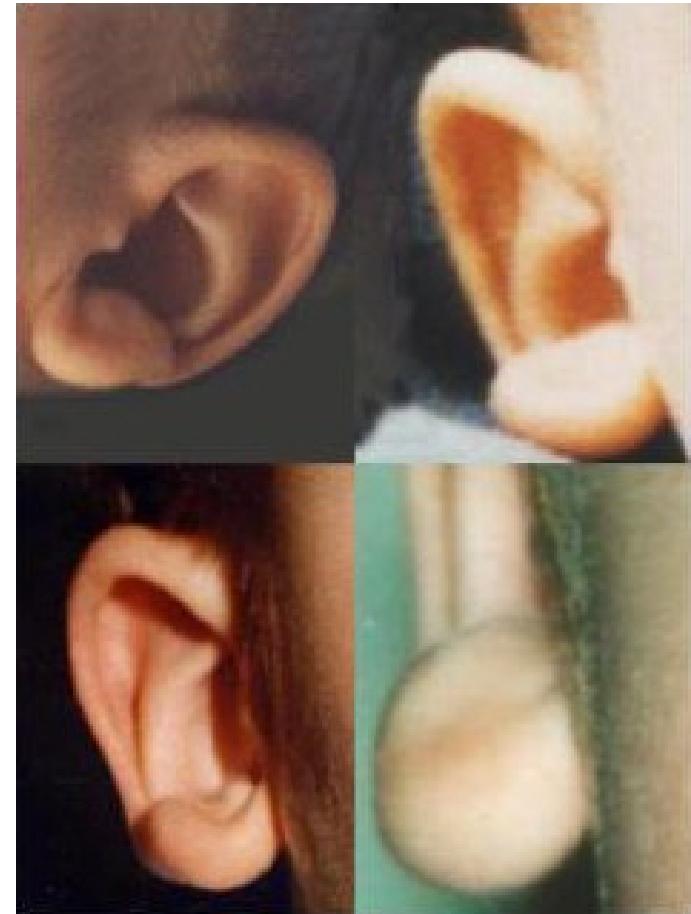
- Scarso accrescimento
- Ritardo mentale, ipotonìa
- Labbro leporino
- Conformazione ad elmo di guerriero greco

Sindrome 5p- (cri du chat)

1:50.000 nati

- Pianto acuto e flebile
- Caratteristiche principali:
 - Ritardo di crescita
 - Microcefalia ed ipertelorismo
 - Ipotonia, diastasi dei retti
 - Deficit intellettivo e del linguaggio

- sporadica 1: 15.000-25.000, ma sottodiagnosticata
- **ritardo mentale**
- gene ZEB2
- lobo slargato e tipico

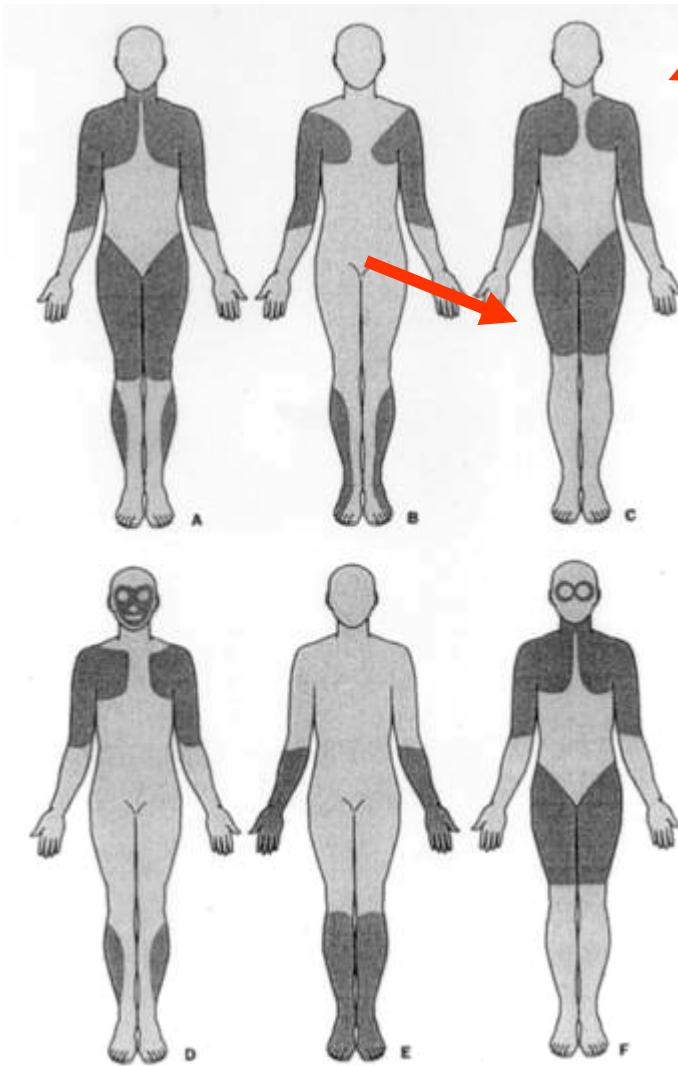


eterogeneità genetica

Fenotipo clinico indistinguibile con pattern di trasmissione ereditaria differente: autosomico dominante, autosomico recessivo, X-linked, o mitocondriale

- Esempi:
 - le **atassie cerebellari** sono un gruppo di malattie neurodegenerative, in cui l'elemento dominante è la progressiva degenerazione cerebellare, con conseguente compromissione dell'equilibrio, dell'andatura, della coordinazione dei movimenti degli arti e della parola
 - Le **distrofie muscolari dei cingoli** sono un gruppo geneticamente eterogeneo di distrofia muscolare prossimale, cioè che colpiscono i cingoli pelvico e scapolare

distrofie muscolari dei cingoli



- Colpiscono i muscoli prossimali degli arti
- Eredità non X-linked
- Fenotipo molto variabile da grave (simile alla distrofia di Duchenne) a più lieve della distrofia muscolare di Becker
- Almeno 30 geni differenti

Table 2 Autosomal recessive LGMD

disease	locus	gene name	exons no.	protein	animal model	typical onset ¹	clinical phenotype progression	Cardiomyopathy ²	sCK ³
LGMD2A	15q15	CAPN3	24	calpain 3	<i>Capn3</i> ^{+/+} ; <i>Capn3</i> ^{ca/cb}	adolescence	moderate/rapid	rarely observed	3-20X
LGMD2B	2p13.2	DYSF	56	dysferlin	SJL/J; <i>Dysf</i> ^{+/+}	young adulthood	slow	possible	5-40X
LGMD2C	13q12	SGCG	8	γ-sarcoglycan	<i>Sgcg</i> ^{+/+}				
LGMD2D	17q21.33	SGCA	10	α-sarcoglycan	<i>Sgca</i> ^{+/+}				
LGMD2E	4q12	SGCB	6	β-sarcoglycan	<i>Sgcb</i> ^{+/+}				
LGMD2F	5q33	SGCD	9	δ-sarcoglycan	BIO14.6; <i>Sgcd</i> ^{+/+}				
LGMD2G	17q12	TCAP	2	telethonin	<i>Tcap</i> KO	adolescence	slow	yes	10X
LGMD2H	9q33.1	TRIM32	2	tripartite motif containing 32	<i>Trim32</i> ^{+/+}	adulthood	slow	not observed	5-15X
LGMD2I	19q13.3	FKRP	4	fukutin related protein	<i>FKRP</i> -neo-P448L <i>E310del</i> <i>FKRP</i> ^{Tyr307Asn}	late childhood	moderate	yes	10-20X
LGMD2J	2q24.3	TTN	312	titin	<i>Mdm</i> <i>MCKcre</i> ^{+/+} <i>Ti</i> ^{lox/lox} <i>MEx1+2</i>	young adulthood	severe	not observed	10-40X
LGMD2K	9q34.1	POMT1	20	protein-O-mannosyltransferase 1	<i>Pomt1</i> ^{+/+}	childhood	slow	not observed	10-40X
LGMD2L	11p13-p12	ANO5	22	anoctamin 5		variable (young to late adulthood)	slow	not observed	1-15X
LGMD2M	9q31	FKTN	11	fukutin	<i>Fukutin</i> null	early childhood	moderate	sometimes	10-70X
LGMD2N	14q24	POMT2	21	protein-O-mannosyltransferase 2		early childhood	slow	rare	5-15X
LGMD2O	1p34.1	POMGnT1	22	protein O-linked mannose beta1,2-N-acetylglucosaminyltransferase	<i>POMGnT1</i> ^{+/+}	late childhood	moderate	not observed	2-10X
LGMD2P	3p21	DAG1	3	dystroglycan	<i>Dag1</i> null	early childhood	moderate	not observed	20X