

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

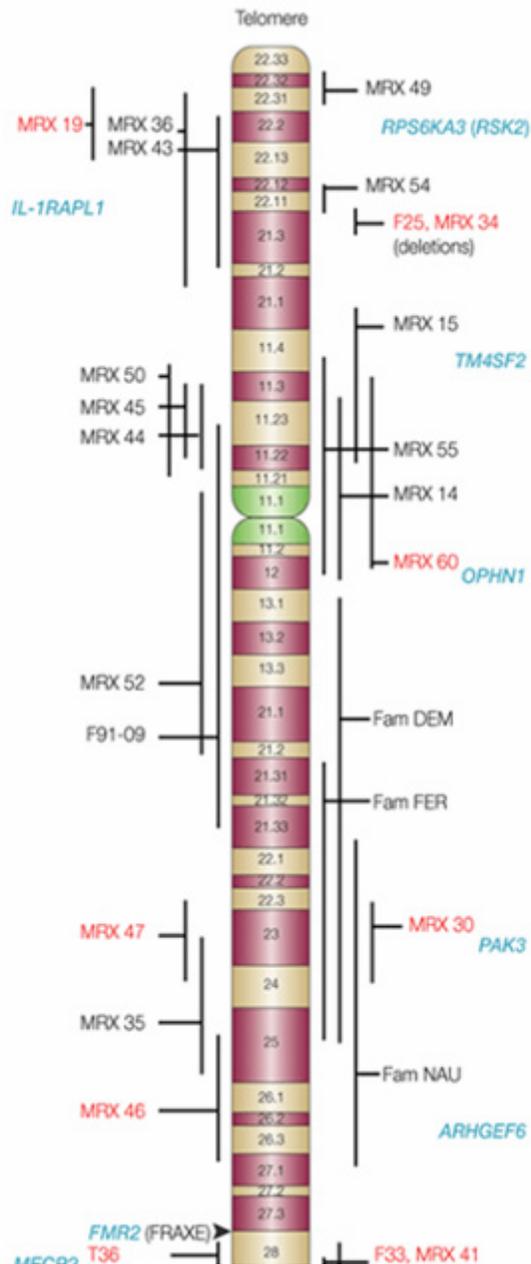
programma del corso di genetica medica

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, amorfo, ipomorfo, ipermorfo, neomorfo, antimorfo**
 11. **Monosomie e trisomie autosomiche (16, Down, Edwards, Patau), il mosaicismo**
 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*: acrodisplasia, 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)

Mutazioni dinamiche



Circa il 2% della popolazione ha un IQ<70 (ritardo mentale)

il 15-20% di tutti I ritardi mentali sono attribuibili a geni del cromosoma X

Il ritardo mentale legato al cromosoma X (XLMR) è geneticamente eterogeneo con 202 loci responsabili di forme che si sovrappongono clinicamente

46 geni sono stati a tutt'oggi identificati

il locus che contribuisce alla frazione maggiore causa la sindrome di Martin-Bell, oggi nota come

sindrome dell'X fragile

X fragile



ritardo mentale: IQ tra 20 e 70

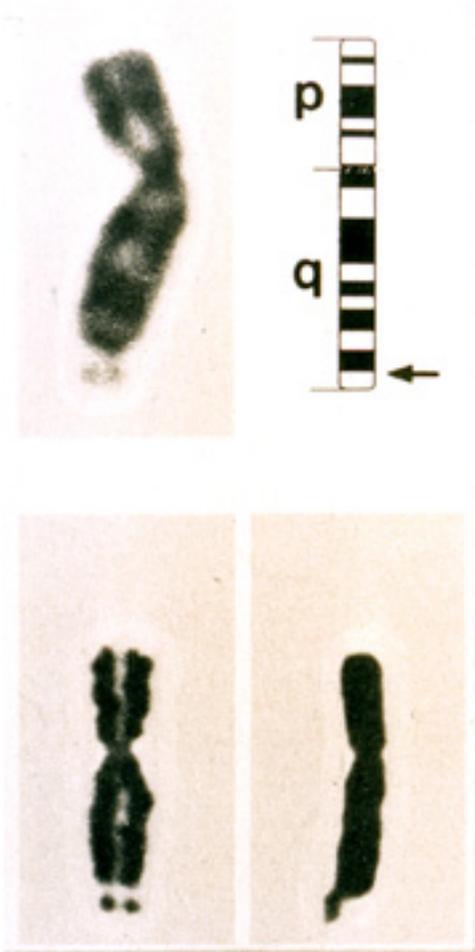
- deficit di memoria a breve termine di informazioni complesse
 - ritardo nel linguaggio
 - ridotte abilità visuo-spaziali
 - ipersensibilità agli stimoli
 - iperattività con deficit di attenzione
 - comportamento autistico
-
- **Macrocefalia con fronte, mento e orecchie sporgenti**
 - **Macroorchidismo (<30ml) dopo la pubertà**
 - **Anomalie connettivali: prollasso della mitrale, lassità articolare, piede piatto**
 - **Disfunzioni ipotalamiche?**



Nel 1969 Lubs osservò una costrizione (marker X) sul braccio lungo del cromosoma X in quattro maschi affetti e tre carriers obbligate della stessa famiglia



Il sito fragile a Xq27.3



rottura o costrizione dei cromosomi in metafase che insorge quando le cellule sono esposte ad una perturbazione della replicazione del DNA

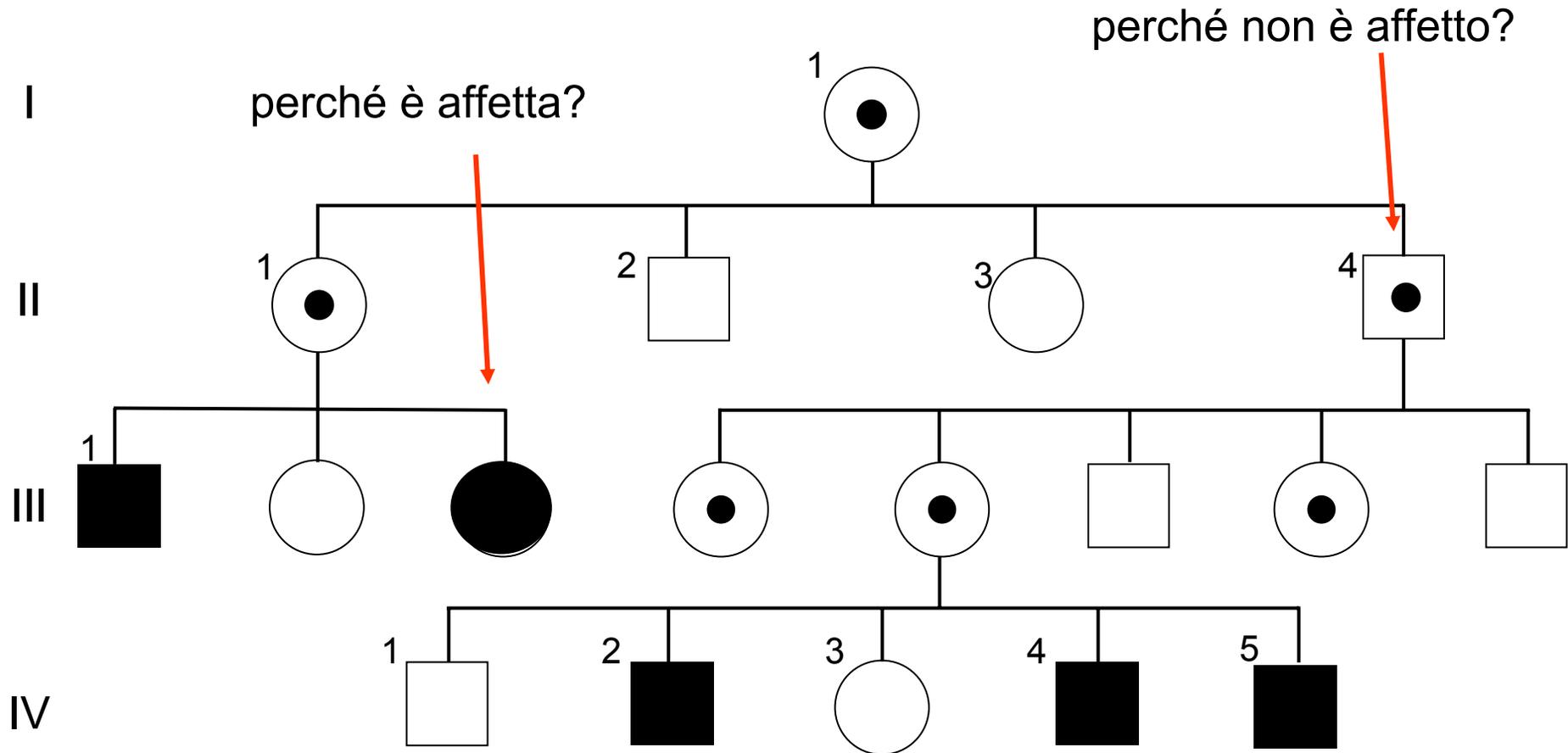
siti fragili sono su tutti i cromosomi e prendono il nome della banda cromosomica, es fra(X)(q27.3)

la nomenclatura HUGO chiama questo sito FRAXA, cioè il primo sito fragile identificato sul cromosoma X

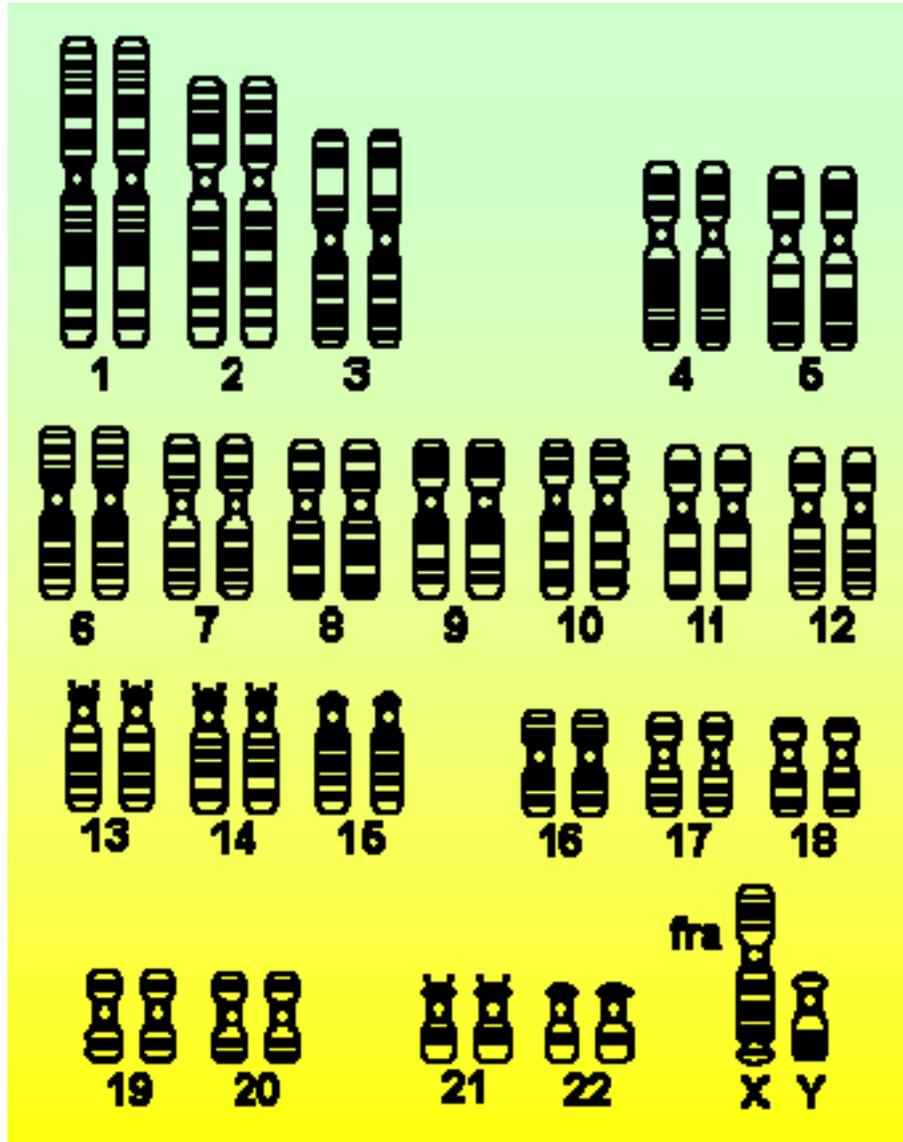
Segregazione, paradosso di Sherman

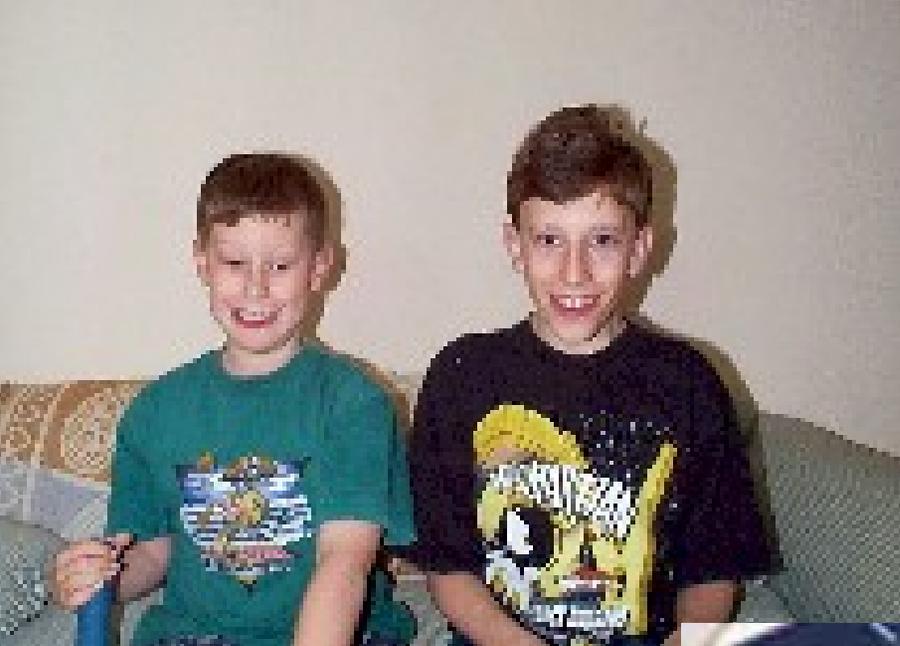
Il 20% dei maschi che portano l'allele mutato sono normali (NTM)

Il 30% delle carrier presenta ritardo mentale

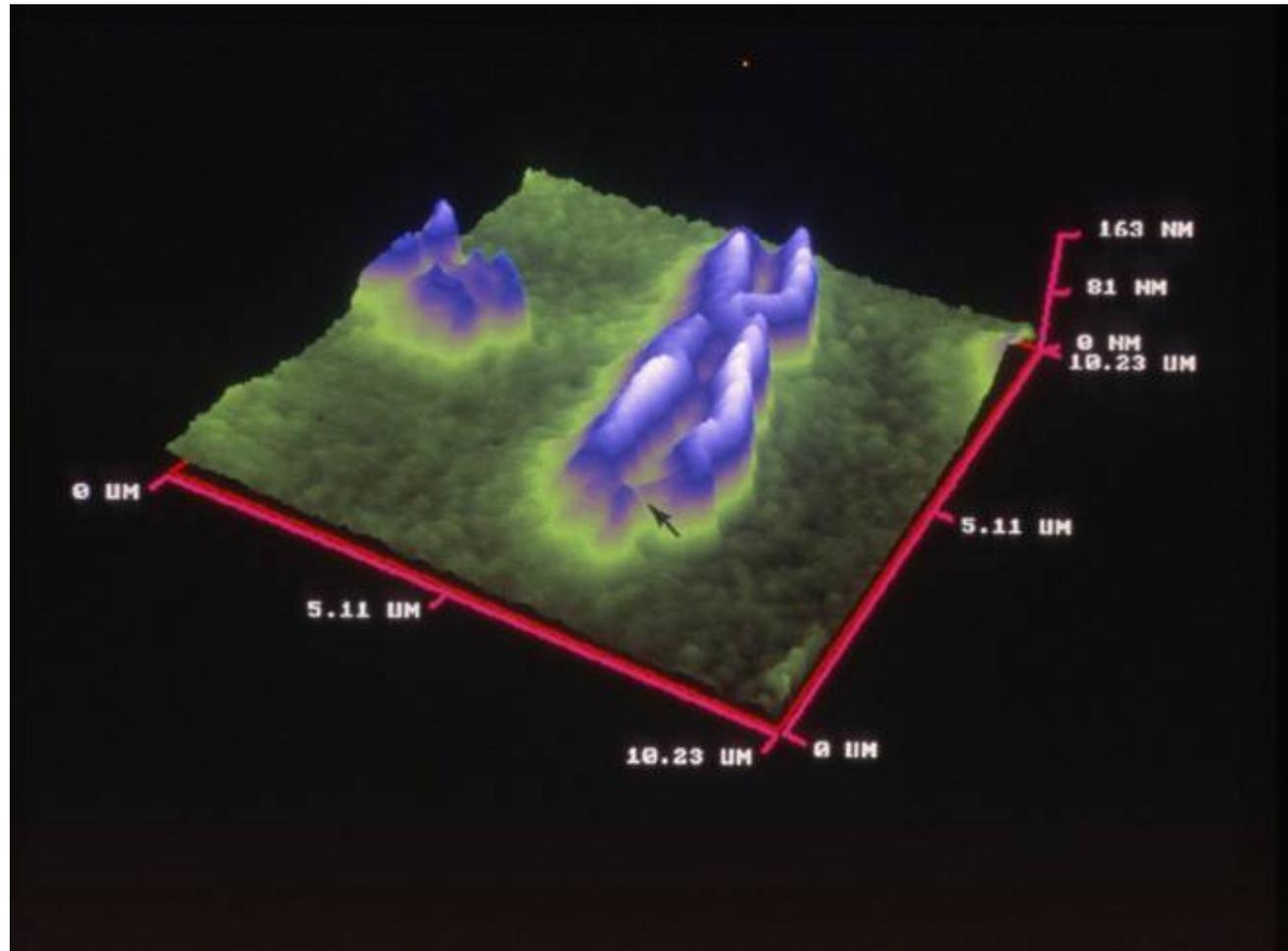


Fragile X syndrome

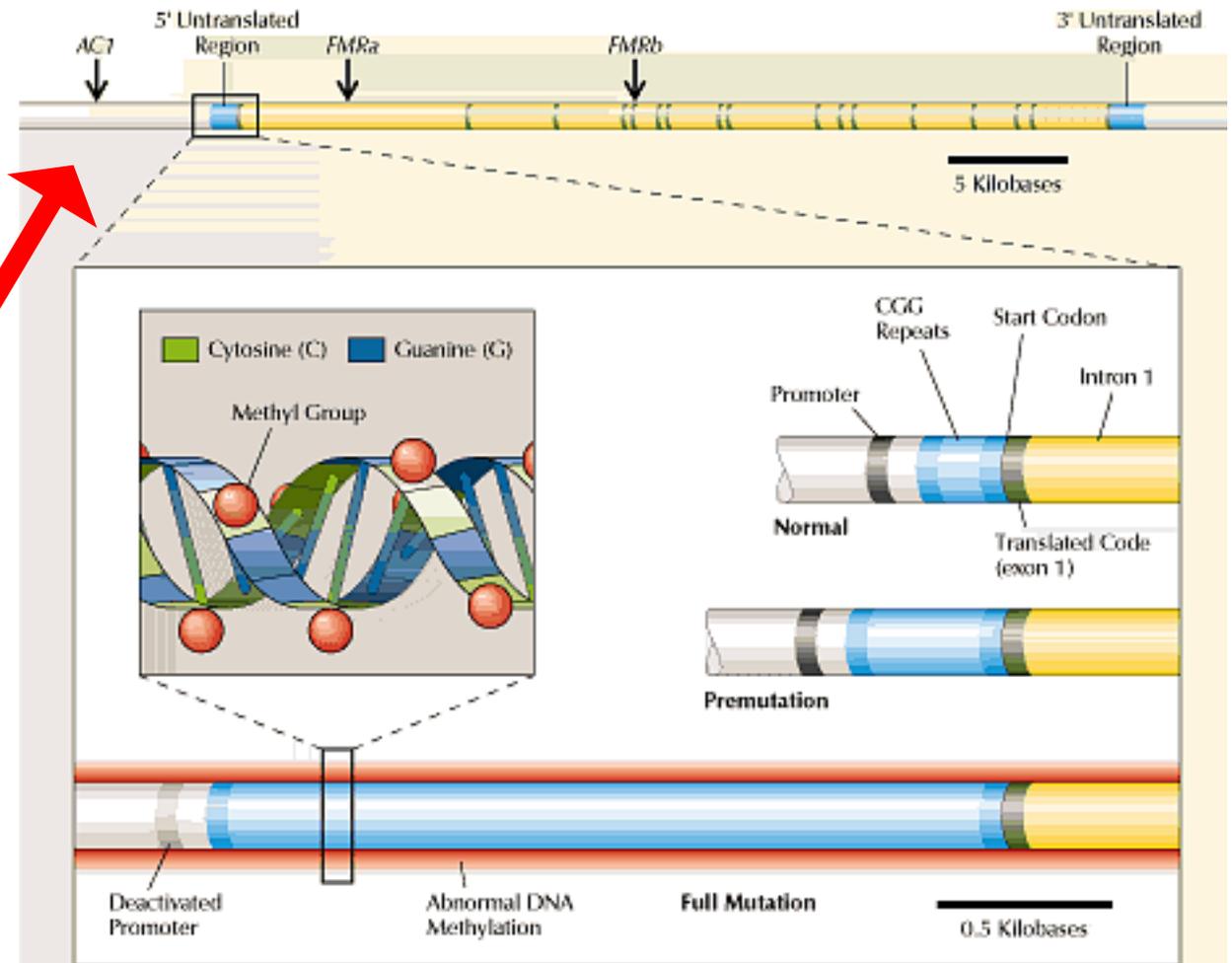
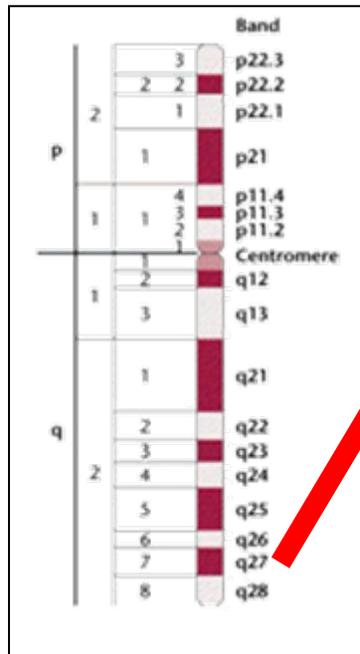


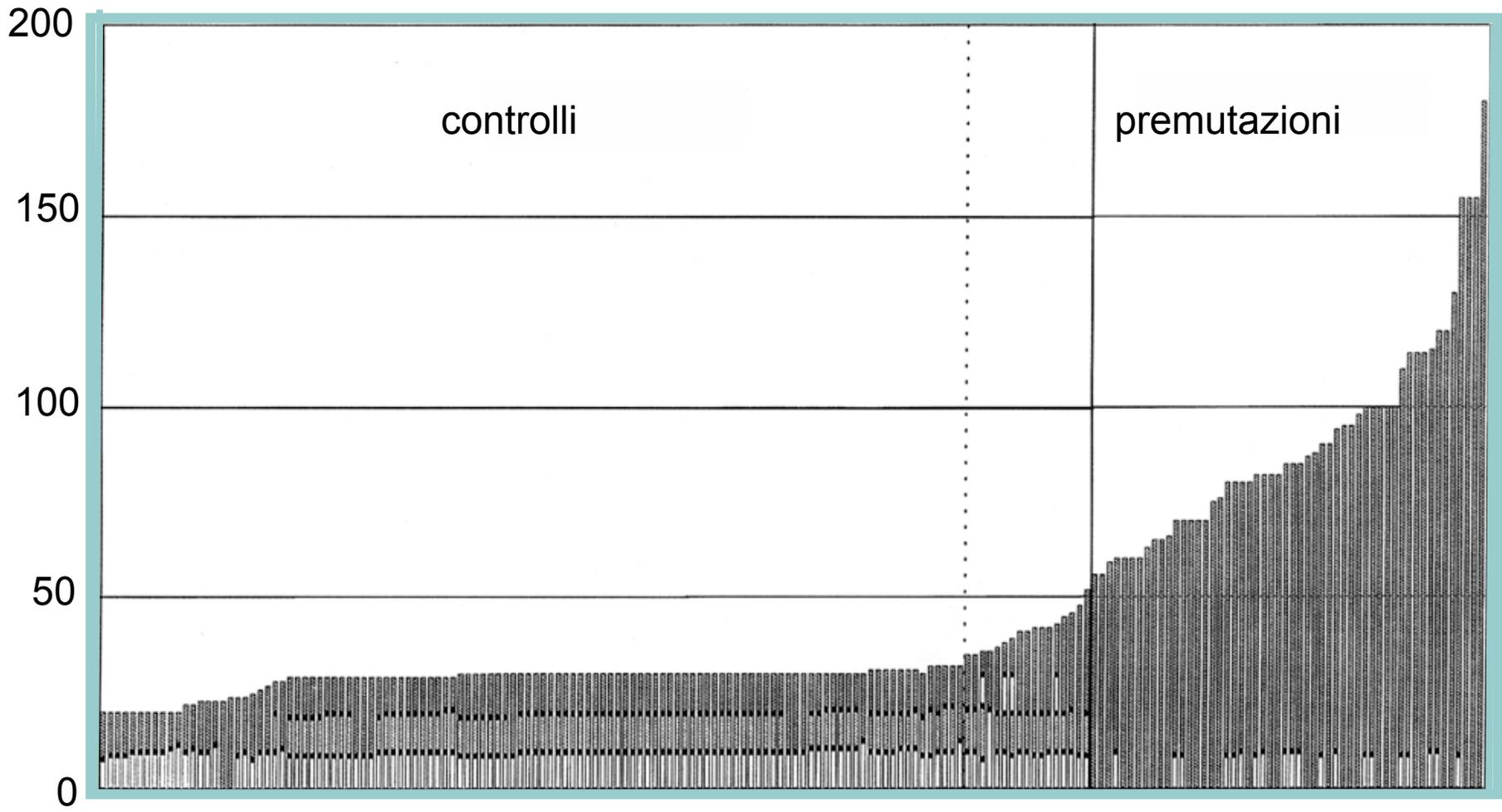


X fragile al microscopio a forza atomica

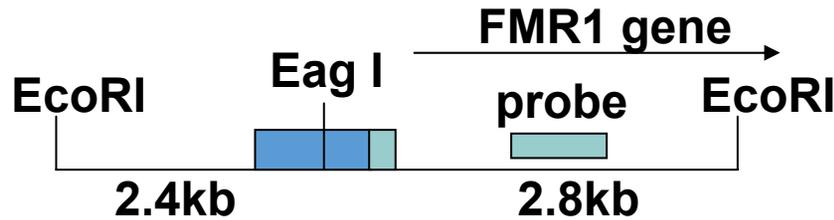


II gene FMR

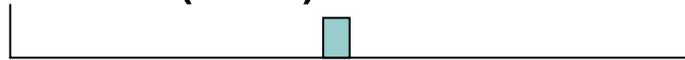




CpG island/5' UTR

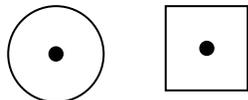


(CGG) ~ 6 to 50

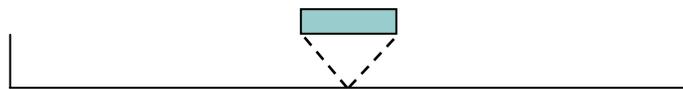


allele normale:

stabile nella famiglia e nell'individuo, instabile nella popolazione (polimorfismo)

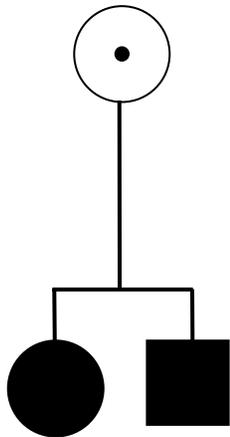


(CGG) 59 to ~ 200



premutazione:

instabile nella famiglia, stabile nell'individuo



(CGG) > 250
Methylation

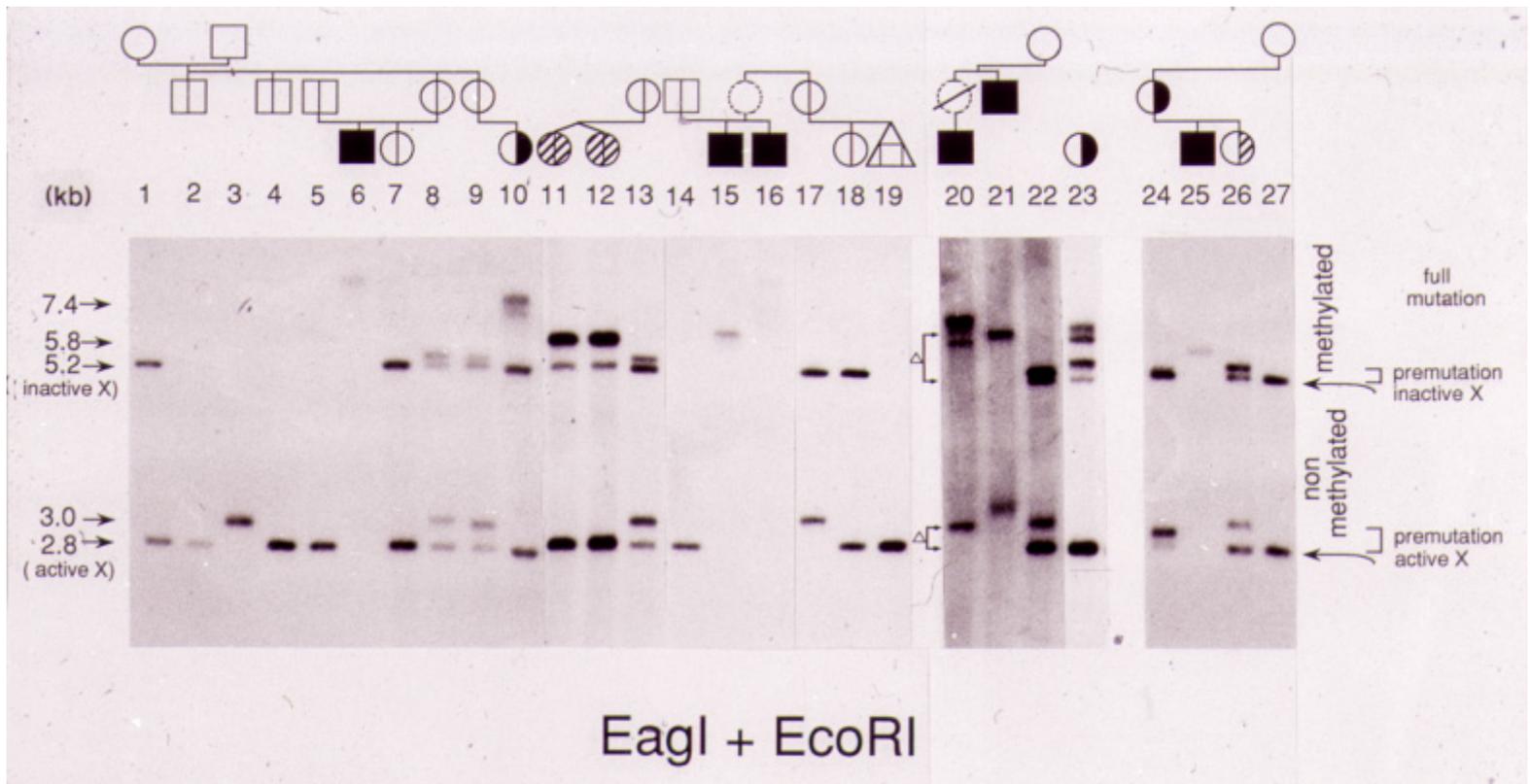


mutazione piena:

instabile nell'individuo (mutazioni somatiche)

reprime la trascrizione di FMR1

diagnosi di X Fragile : analisi mediante Southern blot di espansione e metilazione



Rousseau et al. NEJM 1991

Premutazioni e mutazioni

- Le premutazioni si espandono quando sono trasmesse dalla madre
- La donna con premutazioni ha un maggiore rischio di menopausa precoce POF (premature ovarian failure)
- Il più corto allele descritto che in una sola generazione è diventato mutazione piena è di 59 triplette

Espansione stabile (CGG)9-AGG-(CGG)9-AGG-(CGG)9

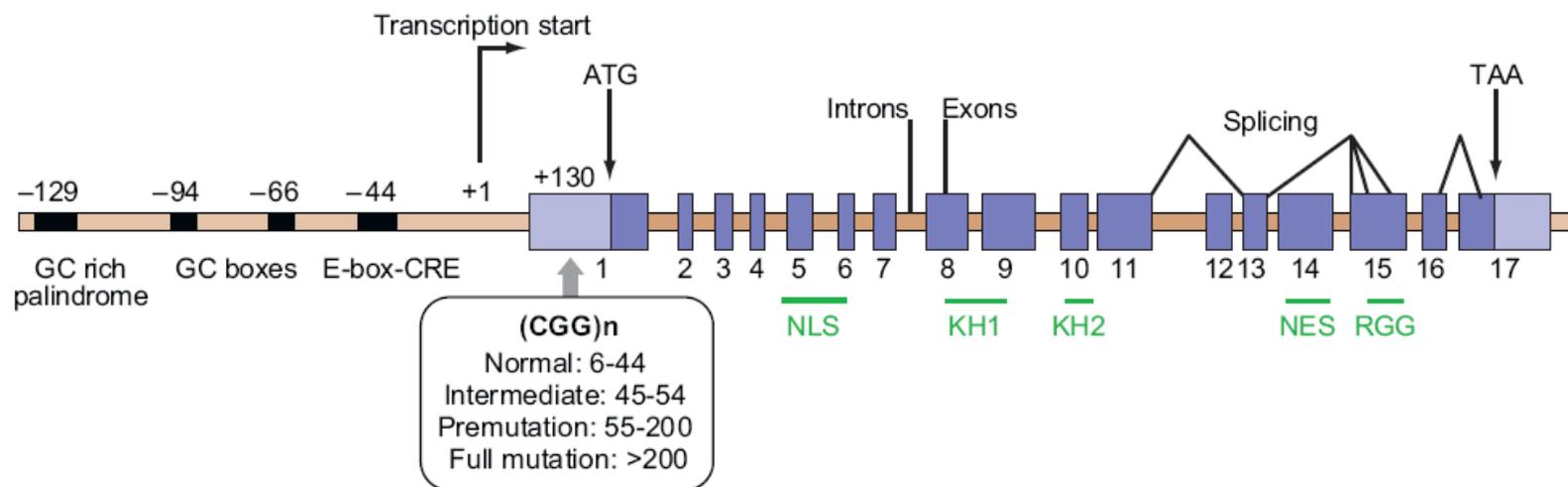
Ha almeno 2 A che interrompono la serie di 9 triplette

Espansione instabile (CGG)9-(CGG)9-(CGG)9- (CGG)9.....

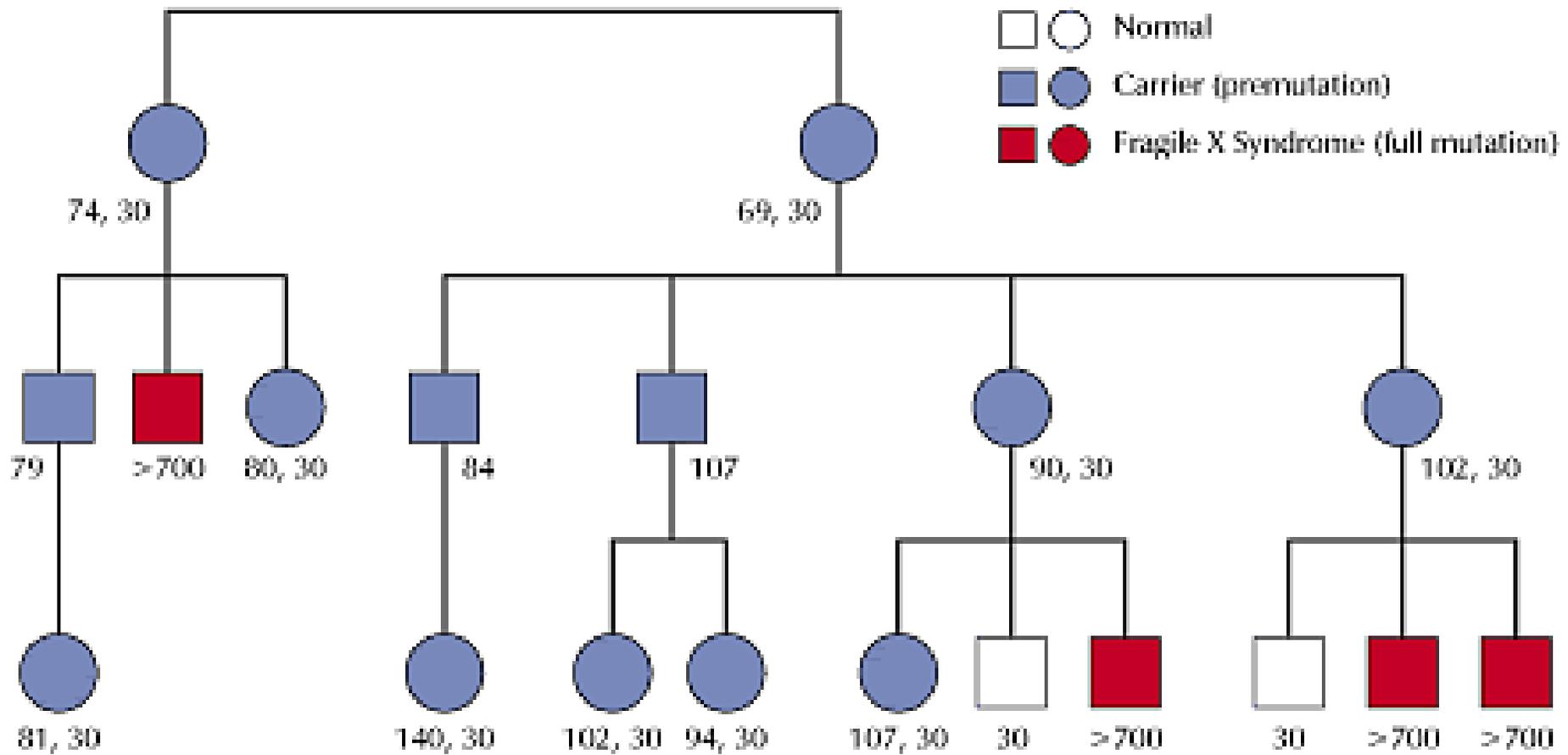
NON ha A che interrompono la serie

Il gene FMR1 (fragile X mental retardation 1) è all'interno di deserto genico: quindi il fenotipo NON è da geni contigui

Mutazioni puntiformi o delezioni di FMR1 causano un fenotipo identico alle espansioni e questo dimostra che il ruolo del gene non è importante nelle prime fasi dello sviluppo, quando le triplette non sono ancora metilate

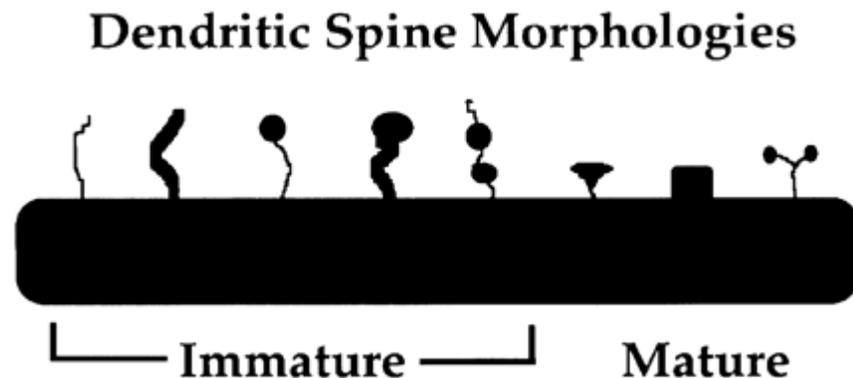


Trasmissione X fragile

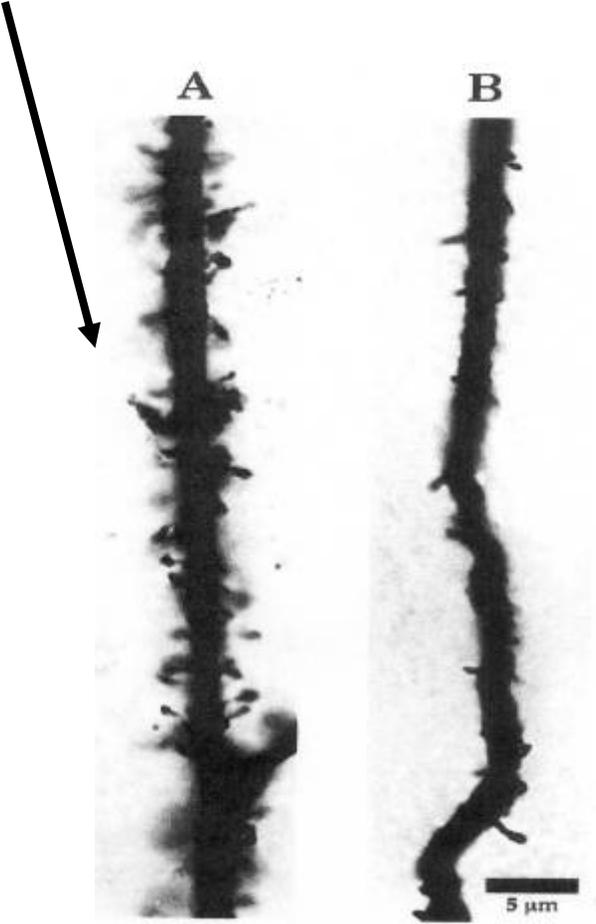


cosa fa FMR1?

- FMR1 codifica per una RNA-binding protein selettiva associata con i poliribosomi ed espressa nei neuroni
- nelle spine dendritiche regola la traduzione degli mRNA, funzione cruciale per la plasticità sinaptica e la maturazione neuronale
- interagisce con gli mRNA e con il pathway dei miRNA
- Nell'X fragile le spine dendritiche sono immature e lunghe



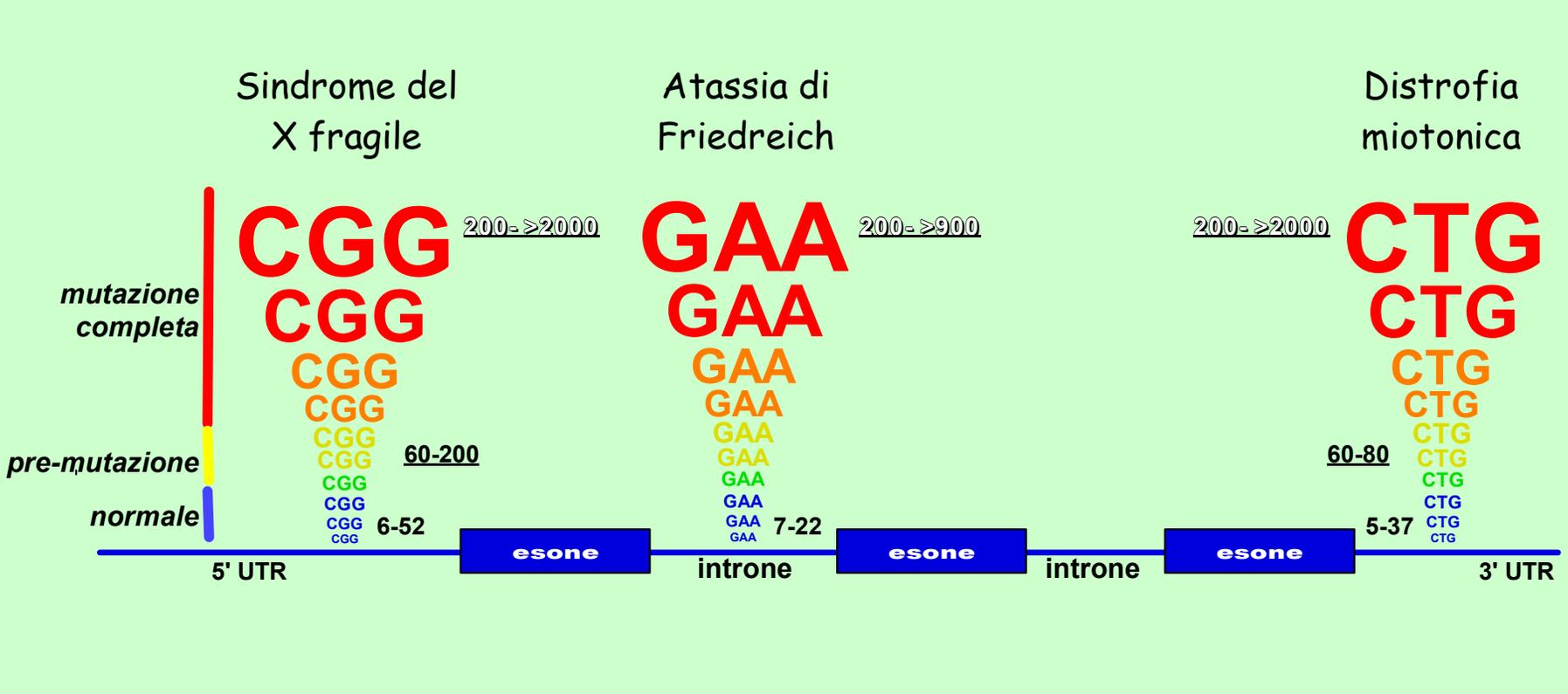
Spine dendritiche nel neocortex lunghe ed immature anche nel topo KO



Malattie da triplette ripetute

Disease	Gene Locus/Protein	Repeat	Location
Fragile X syndrome	Xq27.3/FMR-1 protein	CGG	Noncoding
Fragile XE syndrome	Xq28/FMR-2 protein	GCC	Noncoding
Friedreich ataxia	9q13-9q21.1/frataxin	GAA	Noncoding
Myotonic dystrophy 1	19q13/myotonic dystrophy protein kinase	CTG	Noncoding
Myotonic dystrophy 2	3q21	CCTG	Noncoding
Spinobulbar muscular atrophy	Xq13-Xq21/androgen receptor	CAG	Coding
Huntington disease	4p16.3/huntington	CAG	Coding
Dentatorubralpallidoluysian atrophy	12p13.31/atrophin-1	CAG	Coding
SCA type 1	6p23/ataxin-1	CAG	Coding
SCA type 2	12q24/ataxin-2	CAG	Coding
SCA type 3 (Machado-Joseph disease)	14q32.1/ataxin-3	CAG	Coding
SCA type 6	19p13/ α -1A (voltage-dependent calcium channel subunit)	CAG	Coding
SCA type 7	3p12-3p13/ataxin-7	CAG	Coding
SCA type 8	13q12/none identified	CTG	?
SCA type 12	5q31-5q33	CAG	Noncoding

Malattie da triplette ripetute non codificanti



anticipazione nella distrofia miotonica



distrofia miotonica DM1

- fenomeno “miotónico”, difficoltà al rilasciamento muscolare dopo una contrazione
- ipotonia al volto, non debolezza importante
- cataratta precoce
- alterazioni ritmo cardiaco
- disfunzione tiroidea
- trasmissione autosomica dominante (1/8000)
- forma congenita con grave ipotonia neonatale

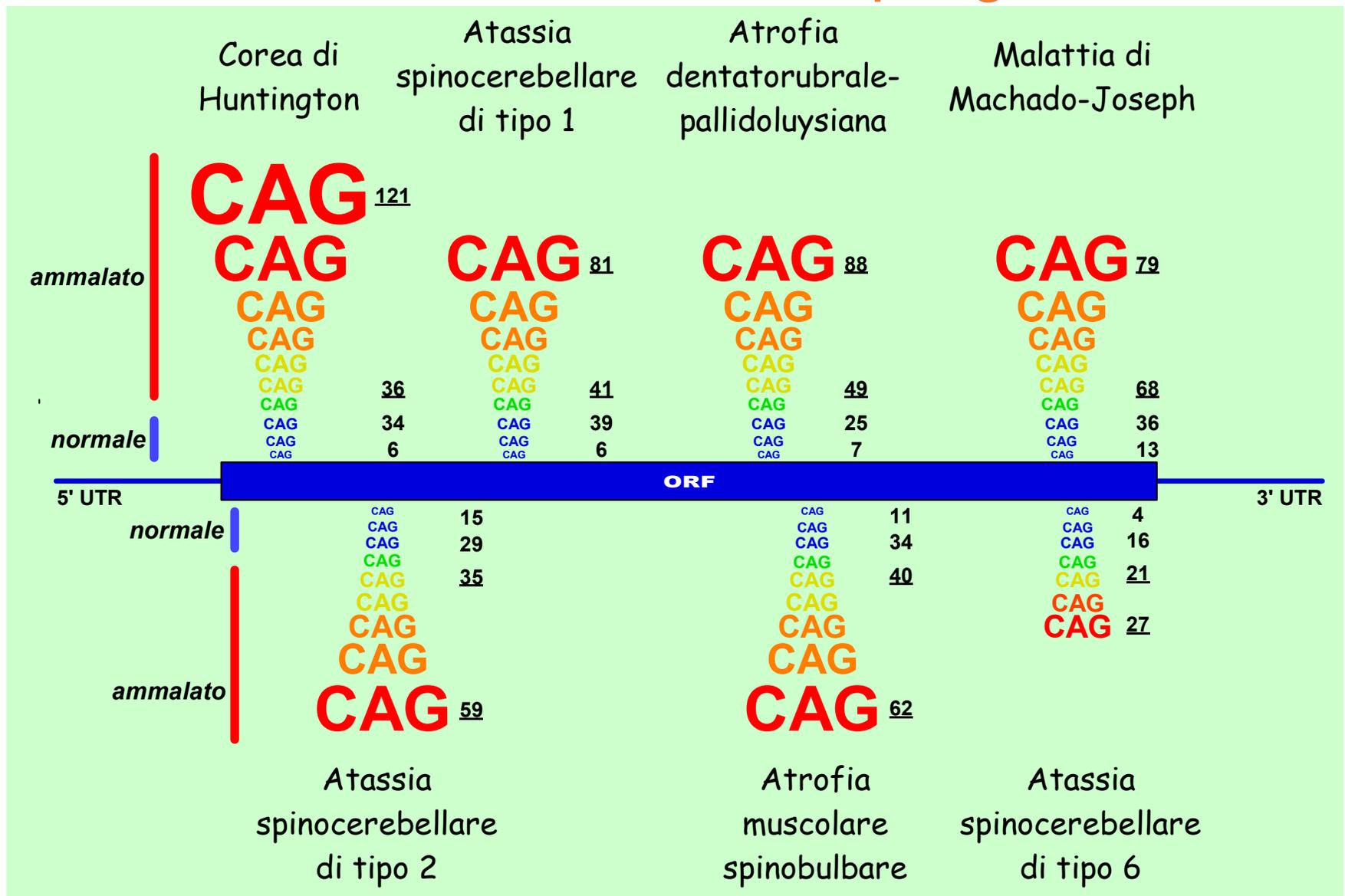
distrofia miotonica DM1

- La distrofia miotonica di Steinert è la più comune distrofia muscolare dell'adulto
- è causata da un'espansione CTG nel 3'UTR del gene DMPK (nell'RNA CUG) a 19q13.3
- presenta eredità autosomica dominante con anticipazione
- sono state identificate RNA binding proteins che interagiscono con l'espansione CUG

distrofia miotonica DM2

- cromosoma 3p21
- un'espansione simile nell' introne 1 di un repeat CCUG nel gene ZNF9 (zinc finger protein 9) causa la distrofia miotonica 2
- la DM2 è detta anche distrofia miotonica prossimale

Malattie da triplette ripetute di poliglutammina



Còrea di Huntington

- descritta da George Huntington nel 1872, è detta anche còrea che in greco indica la danza
- alla base vi è una degenerazione programmata geneticamente dei neuroni dei gangli basali (nuclei caudato e pallido) e della corteccia
- prevalenza di 1/10,000 e presenta il fenomeno dell'anticipazione
- si trasmette nel 97% dei casi come carattere autosomico dominante associato al gene huntingtina sul cromosoma 4p16.3
- solo il 3% dei casi è dovuto a nuove mutazioni
- un'espansione dinamica della tripletta CAG che codifica per la glutammina

quante glutammine?

- fino a 28 = numero max di CAG per un soggetto non a rischio
- 29 - 39 CAG la malattia si potrebbe presentare alla generazione successiva (premutazione)
- oltre 39 CAG il soggetto è considerato affetto anche se la patologia non si è ancora manifestata
- il test è in grado di prevedere che la patologia si manifesterà in futuro
- l'esecuzione in soggetti sani solleva problemi di natura etica