

# La genetica umana

- Ereditarietà mendeliana classica
- Ereditarietà mendeliana atipica
- Ereditarietà mitocondriale
- Ereditarietà multifattoriale

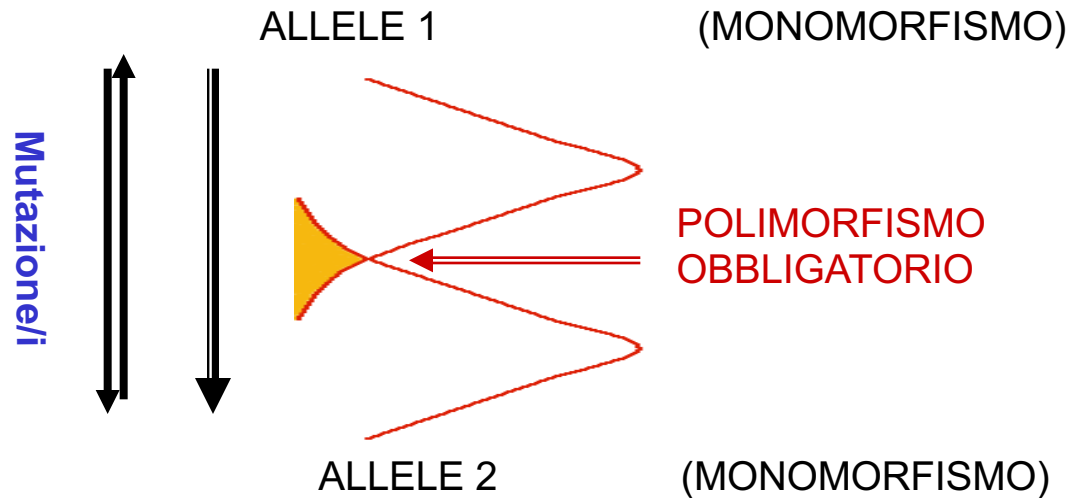
## CARATTERE MENDELIANO:

carattere genico semplice la cui presenza o assenza dipende dal genotipo di un singolo locus.

Il carattere deve essere monomero = controllato da un singolo locus, in questo modo é possibile trarre deduzioni genotipiche sicure sulla base del rilievo fenotipico.

I fenotipi dei due omozigoti devono essere discreti (ad esempio sano/malato).

Il DNA non è un'entità statica ma è soggetto a cambiamenti (**mutazioni**) che insorgono casualmente e che, se ereditati, sono alla base del **PROCESSO EVOLUTIVO**



Un determinato locus è definito **POLIMORFICO** qualora almeno l'1%\* degli individui siano eterozigoti per quel carattere

Un locus è **POLIMORFICO** se 2 o più alleli sono mantenuti in una popolazione

Qualora la frequenza sia inferiore, si parlerà di **mutazione casuale** del locus originario.

\* frequenza sufficientemente elevata da rendere improbabile l'origine casuale

# Quali sono le conseguenze di queste variazioni?

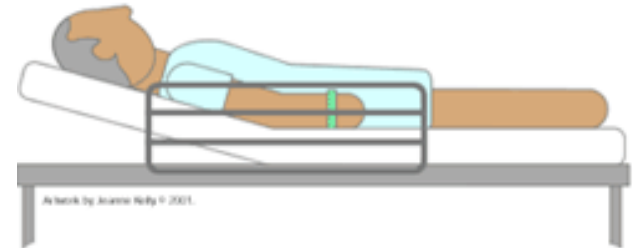
- Variazioni della sequenza del DNA causano mutazioni nei nostri genomi
- le mutazioni sono solitamente associate a perdita di funzione tuttavia, raramente, possono portare un vantaggio selettivo.
- Variazioni della sequenza del DNA neutre, causano polimorfismo nei nostri genomi
- il numero di polimorfismi è ~1 bp/500-1000 bp
- quindi,  $\sim 6 \times 10^6$  coppie di basi sono differenti in genomi di individui diversi



# VARIAZIONI DELLE SEQUENZE GENOMICHE:

Variazioni neutre  
polimorfismi

Variazioni svantaggiose  
mutazioni



**Alterazioni fenotipiche**

**Alterazioni funzionali**

# TIPI DI MUTAZIONI E STIMA DELLE FREQUENZE

TIPO	MECCANISMO	FREQUENZA	ESEMPIO
<b>Genomiche</b> <b>N° cromosomi</b>	Errori di segregazione	$10^{-2}$ /div. cell.	Aneuploidia
<b>Cromosomiche</b> <b>Struttura cromosomi</b>	Errori di ricombinazione	$6 \times 10^{-4}$ /div. cell.	Duplicazioni/Delezioni
<b>Geniche</b> <b>Poche basi</b>	Errori della duplicazione	$10^{-10}$ /bp/div. cell.	Mut. puntiformi $10^{-5-6}$ / locus/gen.

# La genetica mendeliana nell'uomo si descrive grazie all'uso di alberi genealogici

L'analisi dell'albero genealogico permette di riconoscere il carattere ereditario di una malattia, in quanto si presenta secondo determinate leggi

Una volta riconosciuta come malattia genetica, lo studio degli alberi genealogici familiari permette di riconoscere se in una famiglia è presente la malattia (consulenza genetica familiare)

Se vi sono indicazioni della presenza di determinate malattie ereditarie in una famiglia vi sono ora a disposizione possibilità crescenti di diagnosi molecolare. (Diagnosi prenatale e diagnosi precoce)

Le analisi molecolari, se disponibili permettono affermazioni non ambigue sul genotipo e danno risposte certe e non di probabilità come avviene con l'analisi degli alberi genealogici.

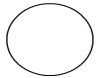
# Basic Symbols



male (unaffected)



affected male



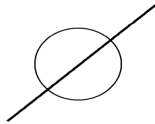
female (unaffected)



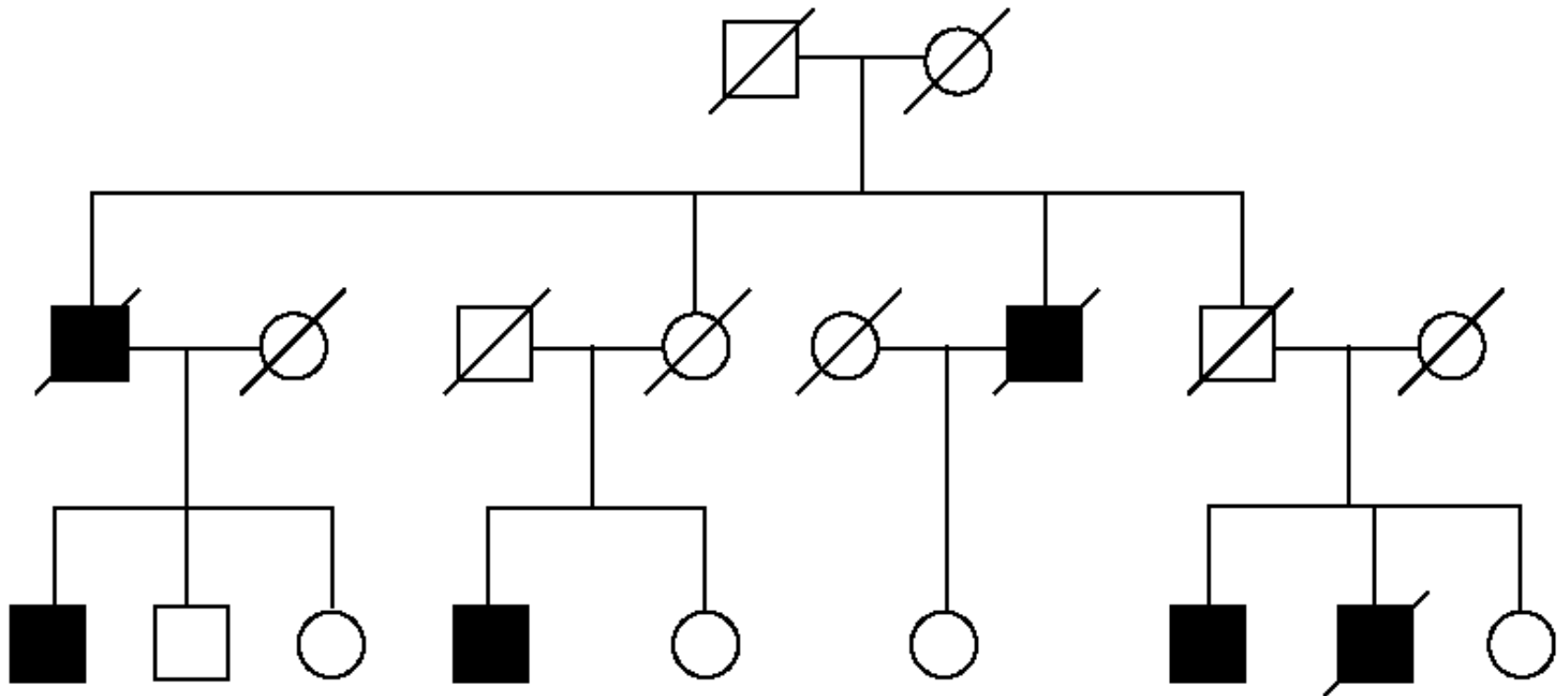
affected female



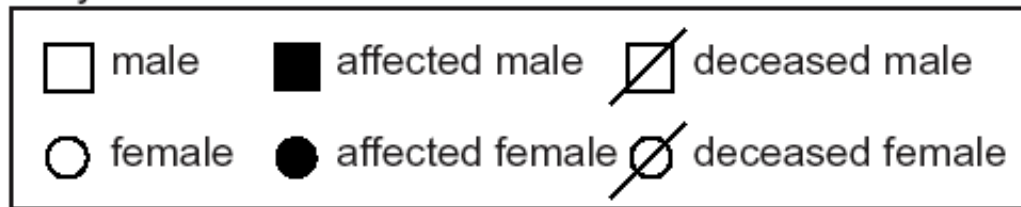
unknown sex



Dead



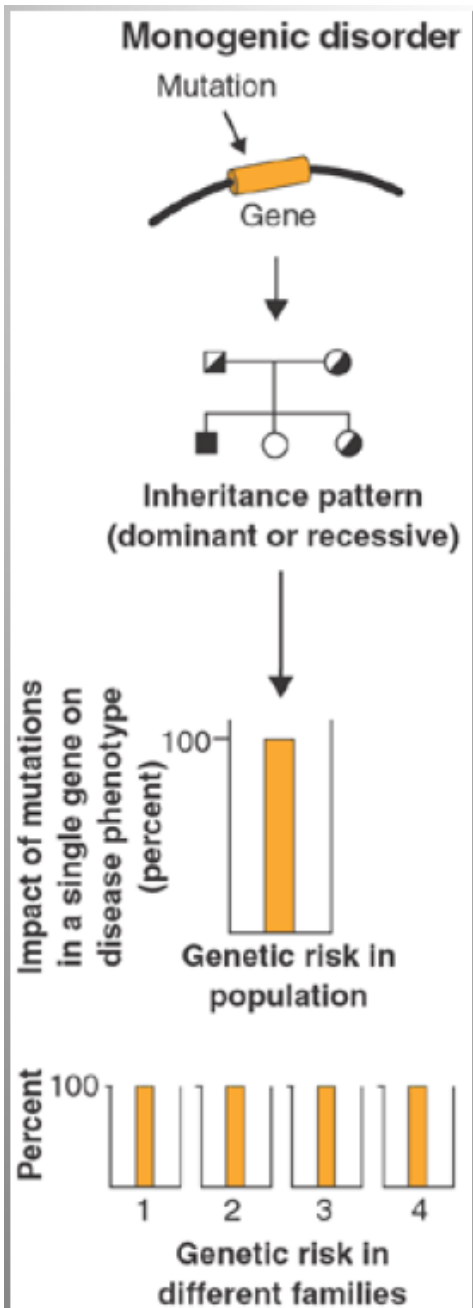
Key



# Malattie monogeniche o mendeliane

nelle malattie genetiche con causa riconducibile ad un singolo gene, la mutazione, ossia un cambiamento di sequenza è sia necessario che sufficiente per produrre un fenotipo clinico e la malattia come conseguenza

il rischio genetico per la malattia è lo stesso per tutte le famiglie



*From Leena Peltonen and Victor A. McKusick; Science 2001*

# Principali meccanismi attraverso i quali una mutazione provoca una patologia

- ❖ Perdita di funzione
- ❖ Acquisizione di funzione
  - Produzione di un peptide che, oltre a non svolgere la normale funzione, interferisce con il funzionamento del peptide normale (prodotto dall'allele non mutato) (**dominante negativo**)
  - Produzione di un peptide con nuove caratteristiche e proprietà
- ❖ Espressione del gene in un momento o in uno spazio errato (molto spesso porta a perdita di funzione)

**I fenotipi patologici dovuti ad acquisizioni di funzione generalmente sono dominanti**

**la presenza del prodotto dell'allele normale non impedisce al prodotto dell'allele mutato di comportarsi in maniera anomala**

**Le malattie dovute ad 'acquisizione di funzione' sono in genere abbastanza omogenee dal punto di vista molecolare ('tutti' i malati presentano la stessa mutazione)**



**1. aumento del livello di espressione del gene  
che produce una proteina normale**

**mutazione quantitativa → mutazione in regioni regolative  
o eventi di duplicazione genica**

**2. aumento della capacità di ciascuna molecola  
di svolgere la normale funzione →  
mutazione qualitativa**

**3. acquisizione di una nuova funzione o  
proprietà → mutazione qualitativa**

# **Le malattie dovute a perdita di funzione generalmente sono recessive**

**infatti la maggior parte dei prodotti genici non è  
sensibile a variazioni quantitative (es. enzimi)**

**i soggetti malati molto spesso sono**

## **ETEROZIGOTI COMPOSTI**

**(hanno due alleli non funzionanti ma diversi da un  
punto di vista molecolare)**

**Questo è dovuto al fatto che esistono molti modi  
diversi attraverso i quali un gene non è più in  
grado di svolgere la sua funzione**

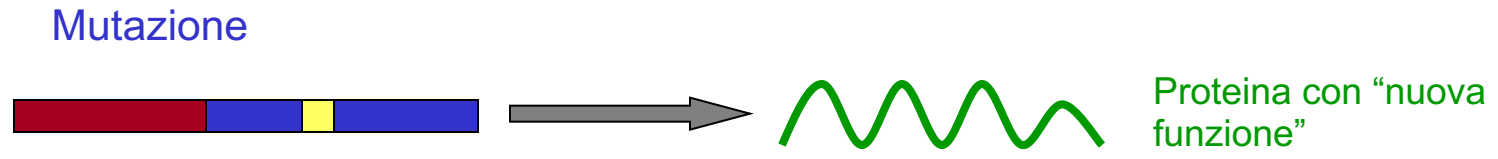
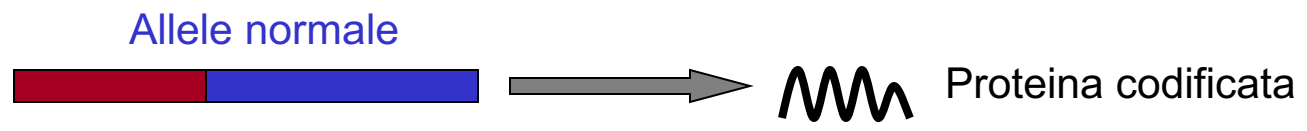
**I caratteri mendeliani possono essere ereditati secondo cinque schemi:**

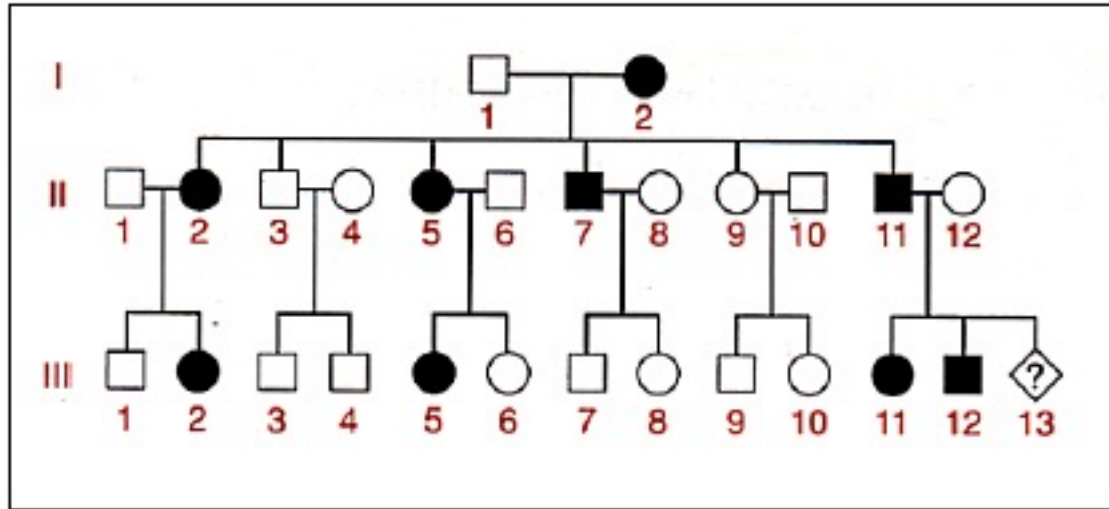
- 1. EREDITA' AUTOSOMICA DOMINANTE**
- 2. EREDITA' AUTOSOMICA RECESSIVA**
- 3. EREDITA' RECESSIVA LEGATA ALL'X**
- 4. EREDITA' DOMINANTE LEGATA ALL'X**
- 5. EREDITA' LEGATA ALL'Y**

# EREDITARIETA' AUTOSOMICA DOMINANTE

In questo modello di ereditarietà il locus in causa é autosomico e l'allele corrispondente al carattere in studio é DOMINANTE, il fenotipo quindi si manifesta nell'omozigote e nell'eterozigote.

**Gli alleli dominanti determinano fenotipi mutati a causa dell'acquisizione di una nuova funzione rispetto all'allele normale.**





## Ereditarietà autosomica dominante

- Gli affetti hanno almeno un genitore affetto.
- Sono colpiti entrambi i sessi.
- E' trasmessa da entrambi i sessi.

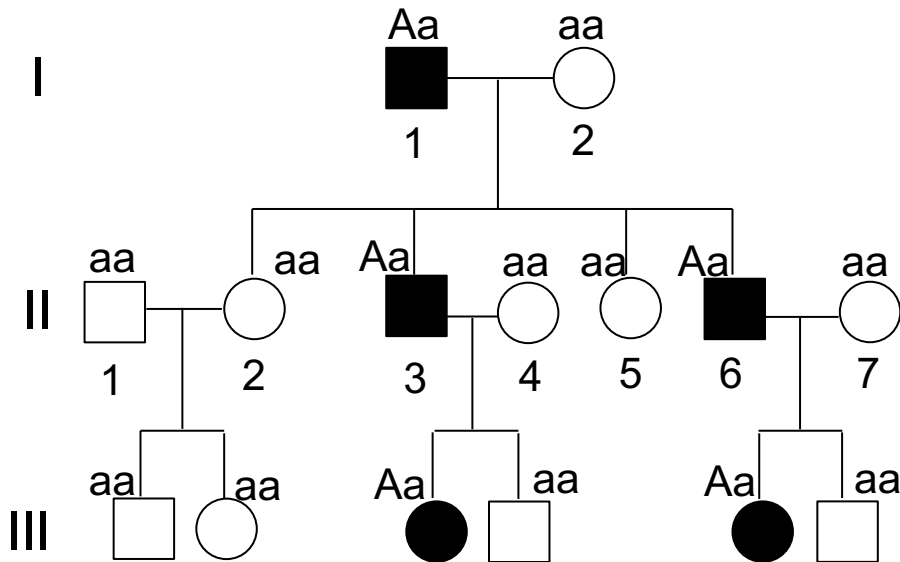
**Se si utilizzano i pedigree per stabilire le modalità di trasmissione di un carattere genetico è importante considerare la frequenza con cui il carattere in esame si presenta nella popolazione**

**CARATTERE RARO → possiamo assumere che l'allele(i) responsabile sia entrato nel pedigree una **sola volta****

**tra tutte le modalità di trasmissione compatibili con il/i pedigree in esame, consideriamo come più verosimile quella che ipotizza il minor numero di portatori indipendenti (cioè non imparentati)**

**viceversa per CARATTERI COMUNI tale assunzione non può essere fatta**

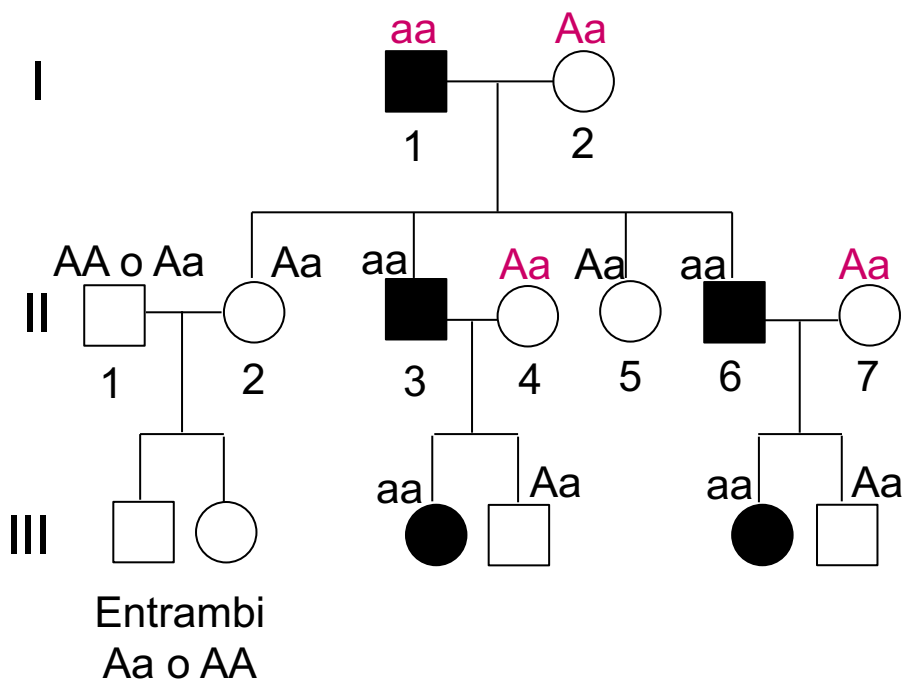
# Stabilire la modalità di trasmissione di un carattere COMUNE



il pattern di trasmissione in questo pedigree è compatibile con le seguenti modalità:

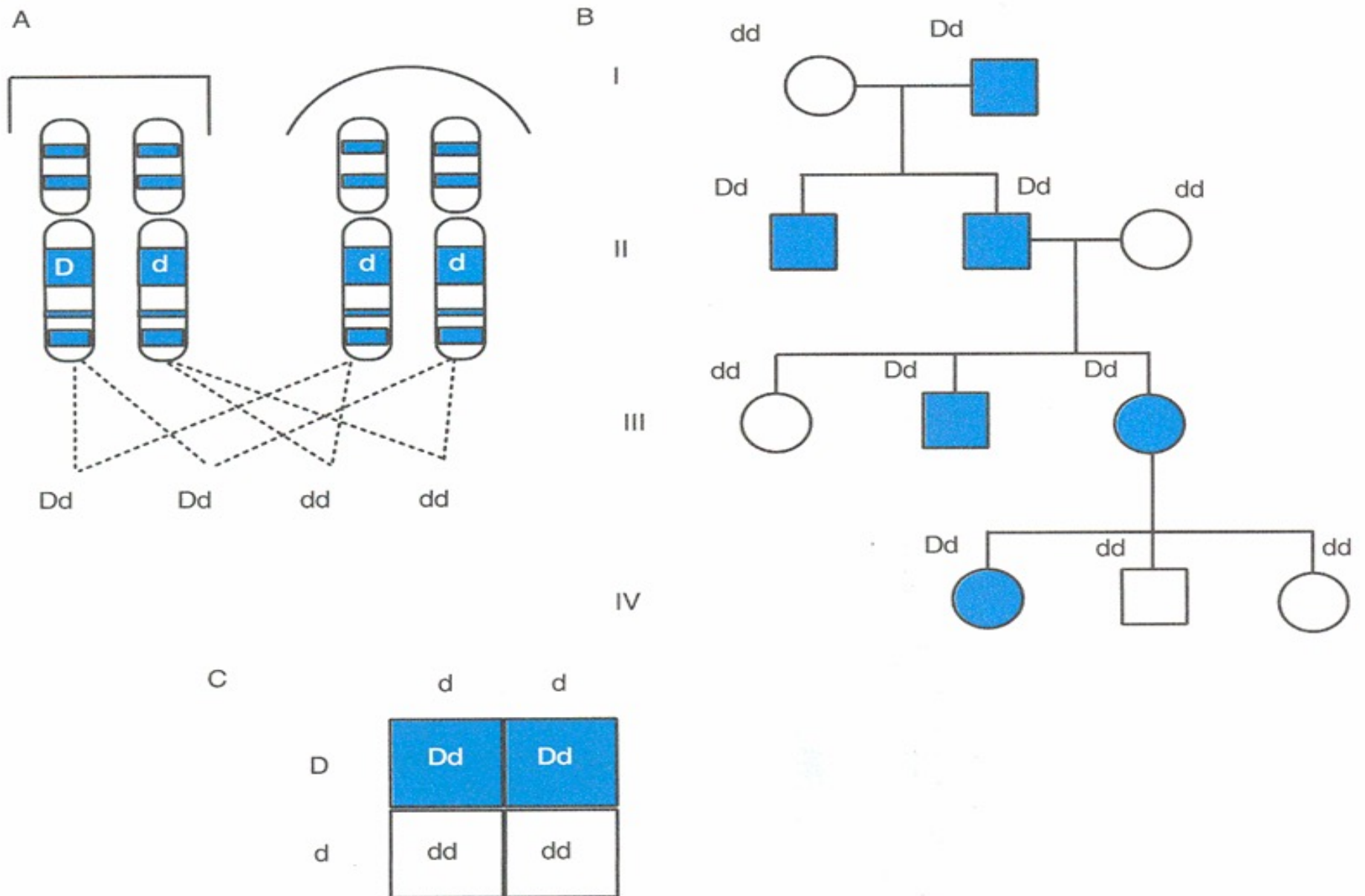
**Autosomica Dominante** →

l'allele che determina il carattere è stato introdotto solo da I-1



**Autosomica Recessiva** → l'allele è stato introdotto da 4 individui indipendenti (I-1, I-2, II-4 e II-7, genotipo in viola), trattandosi di un carattere comune questa assunzione è verosimile (sarebbe stata da scartare se il carattere fosse stato raro)

**BASANDOCI SU QUEST'UNICO PEDIGREE NON POSSIAMO SCEGLIERE TRA LE DUE IPOTESI**



**Figure 2.3.** Autosomal dominant inheritance produced by segregation of alternative alleles (A) at a single autosomal locus (B) as predicted using a Punnett square (C).

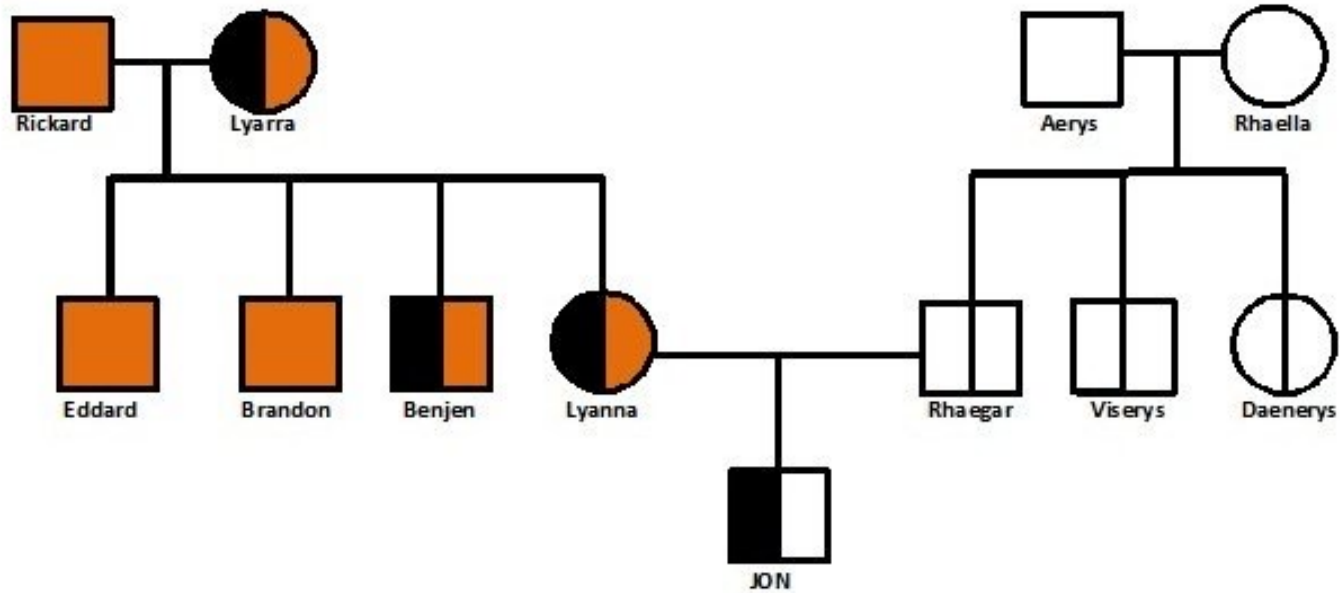


# CARATTERI MORFOLOGICI:



Calvizie comune	linea di inserzione dei capelli a forma di M che arretra con l'età
Fossetta del mento	Solco verticale o infossatura nel mento
Fossetta auricolare	Piccola infossatura nell'orecchio esterno
Tubercolo di Darwin	Protuberanza cartilaginea sul bordo dell'orecchio esterno
Ptosi congenita	Palpebra abbassata
Epicanto	Plica cutanea vicino al ponte nasale che conferisce all'occhio una forma a mandorla
Campodattilia	Mignolo contratto a causa della brevità del tendine
Gruppi sanguigni ABO	Sangue di tipo A, B, AB o 0
Gruppi sanguigni Rh	Sangue di tipo Rh <sup>+</sup> o Rh <sup>-</sup>

# HAIR COLOR IN HOUSE STARK AND TARGARYEN



■ ● Black hair = Dominant  
■ ● Brown hair = Recessive

■ ● Brown hair = Dominant  
□ ○ White hair = Recessive

■ ● Black hair = Dominant  
□ ○ White hair = Recessive



## MALATTIE AUTOSOMICHE DOMINANTI:

Neurofibromatosi,  
Nanismo acondroplastico,  
Poliposi del colon,  
Brachidattilia,  
Rene Policistico,  
Sindrome di Marfan,  
Corea di Huntington ecc.

# EREDITARIETA' AUTOSOMICA DOMINANTE

Molte malattie umane dominanti **non sono dominanti pure**. I soggetti omozigoti possono essere affetti in modo più grave e persino non sopravvivere, cosicché gli individui affetti saranno solo gli eterozigoti.

Per le malattie rare (e quindi per gli alleli rari) questa distinzione é puramente accademica in quanto solo uno dei genitori porta l'allele mutante

# Esempi di tratti autosomici dominanti

Acondroplasia

Huntington's disease

Polidattilia

One of the wives of Henry VIII had an extra finger.



# Achondroplasia: a form of short-limbed dwarfism

**Siblings  
showing  
characteristic  
phenotype**



4-13

*Brother and sister achondroplastic dwarfs of the Ovitch family as they appeared in 1949 when they arrived in Israel after having spent several years in Auschwitz concentration camp. Their lives were spared because they were used for medical experiments. The autosomal dominant gene (or genes) responsible for this trait does not impair fertility. (Courtesy United Press International.)*

# Acondroplasia (MIM 100800)

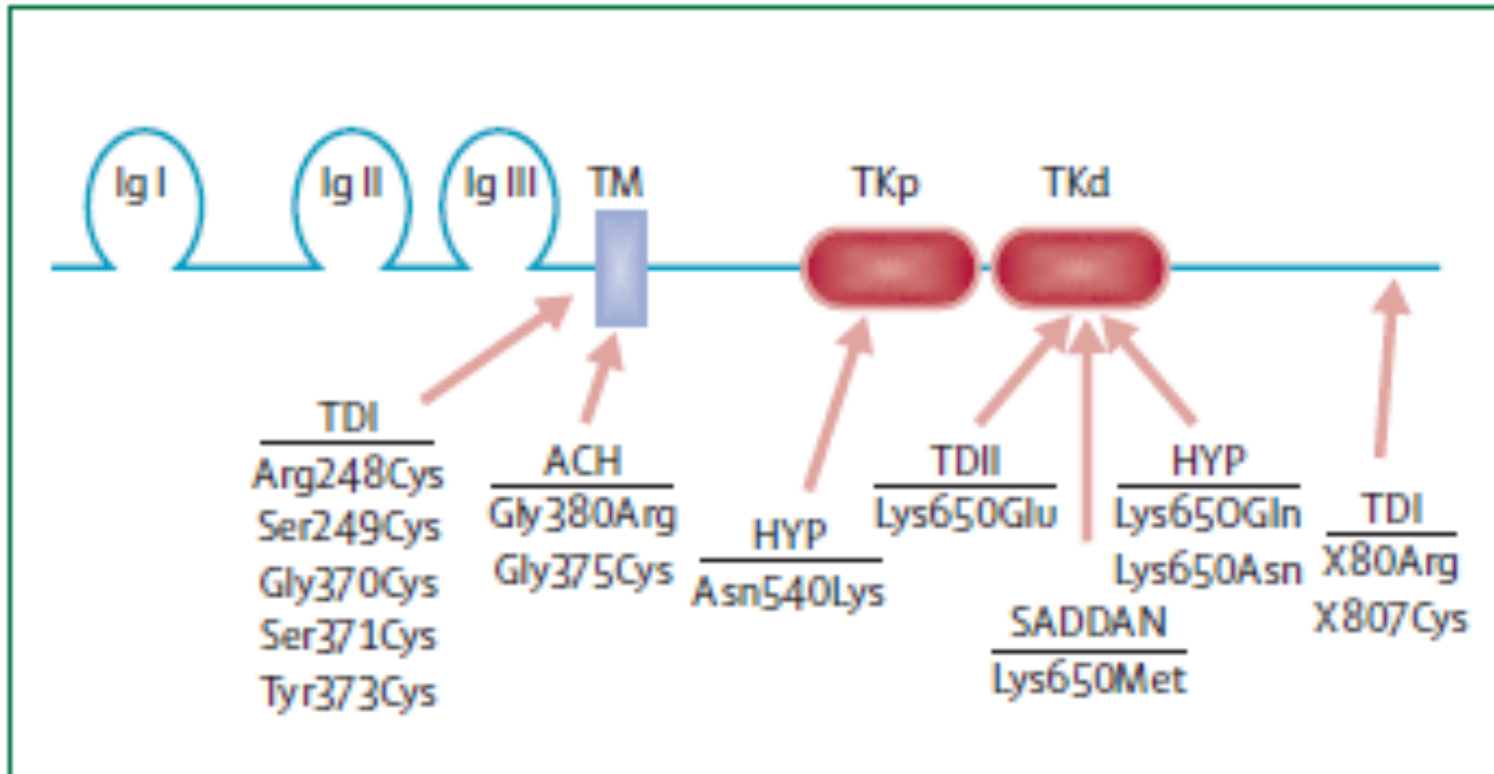
(malattia dominante dovuta a mutazione da **acquisto di funzione**)

Forma di nanismo dovuta a una mutazione del recettore del fattore di crescita fibroblastico di tipo 3 (FGFR3). E' un recettore transmembrana che, attivato dal ligando stimola il differenziamento della cartilagine in osso.

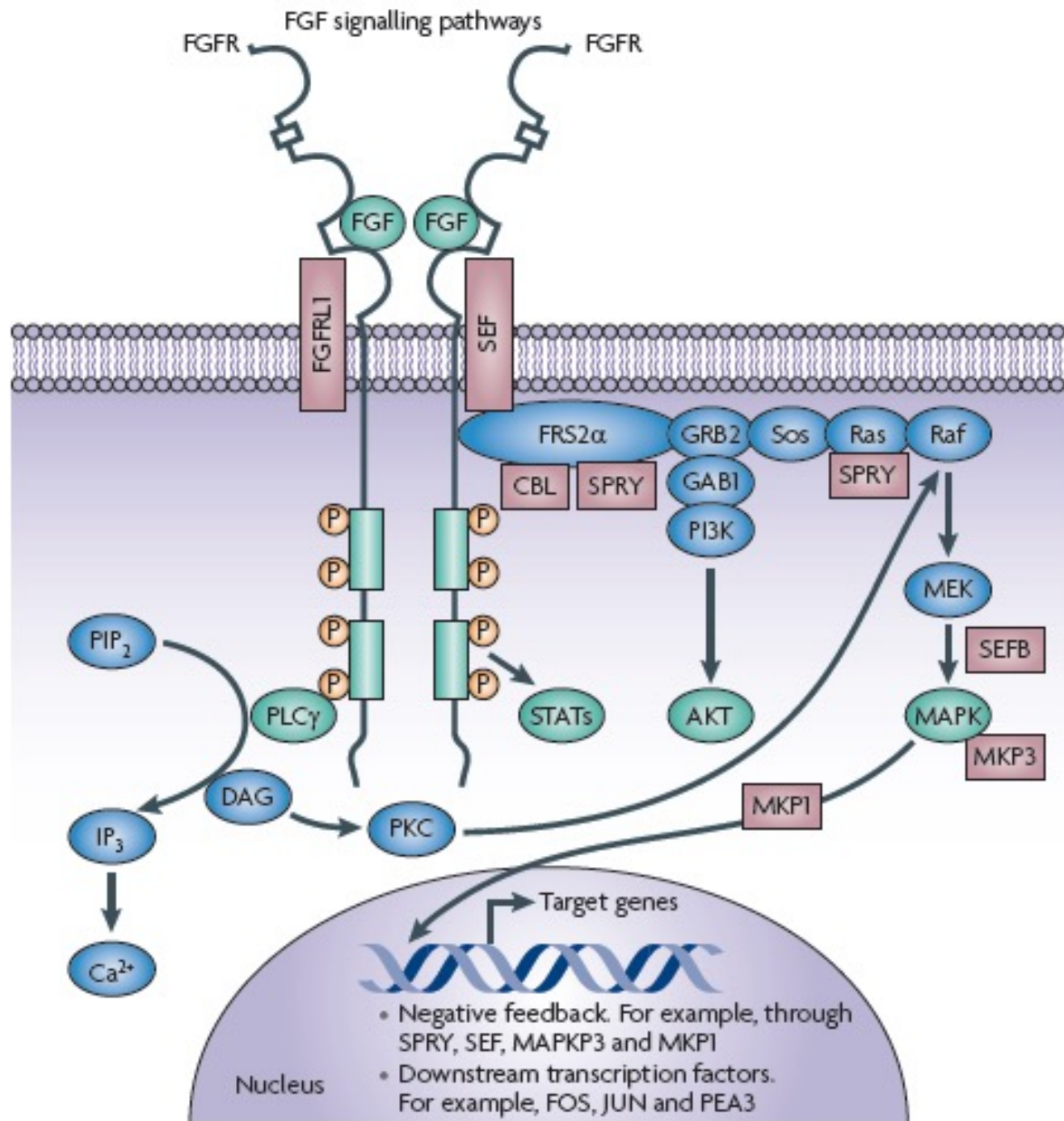
**Una specifica mutazione** del gene di questo recettore attiva in maniera costituzionale il sistema, causando una prematura conversione della piastra di crescita in osso e bloccando quindi in modo grave la crescita.

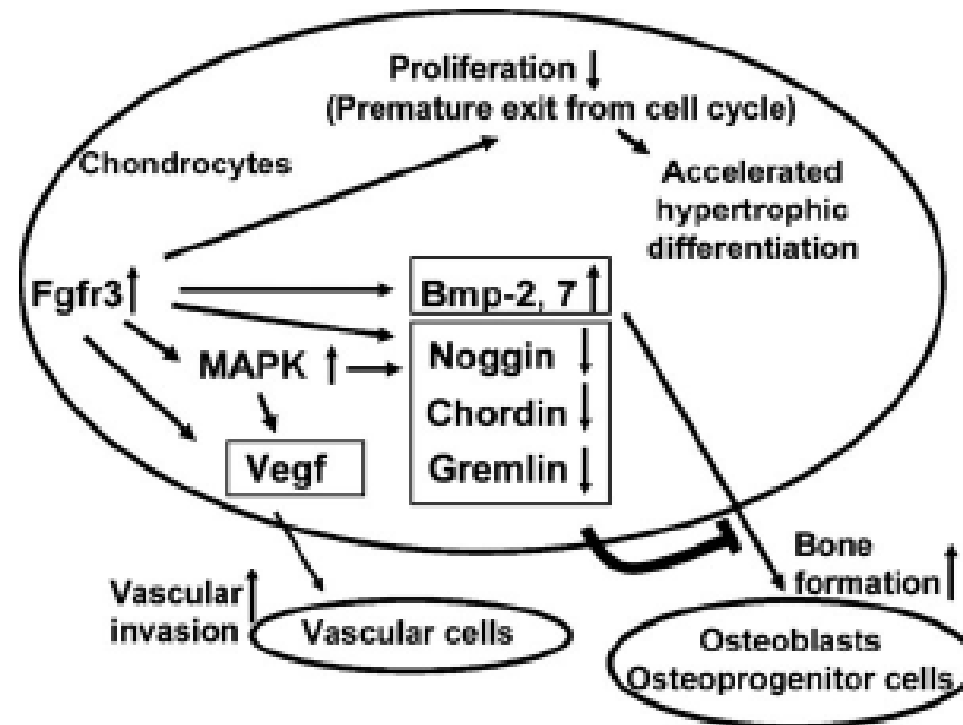
# FGFR3

## Fibroblast Growth Factor Receptor 3

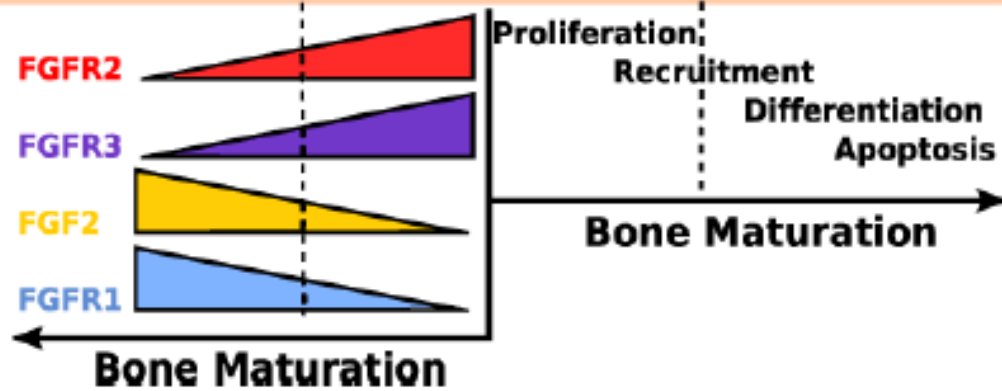
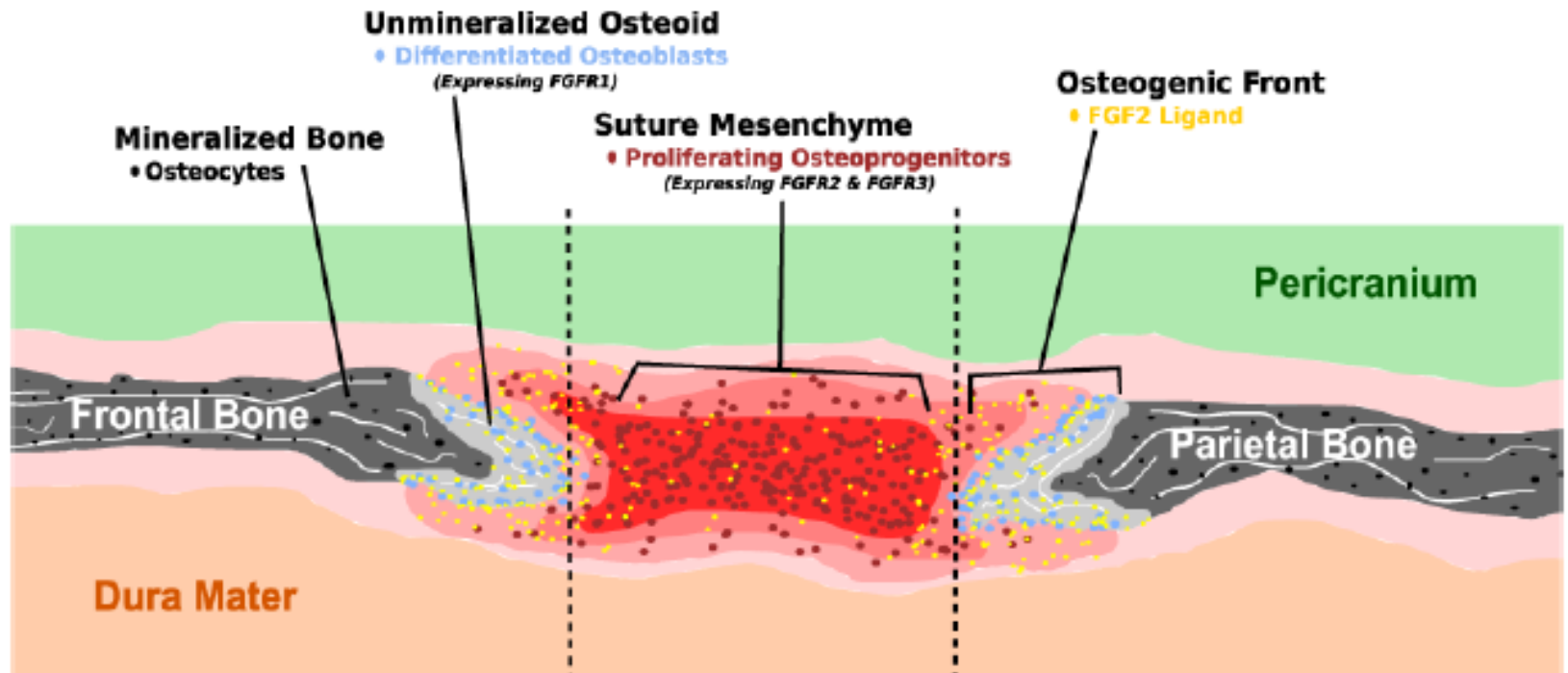




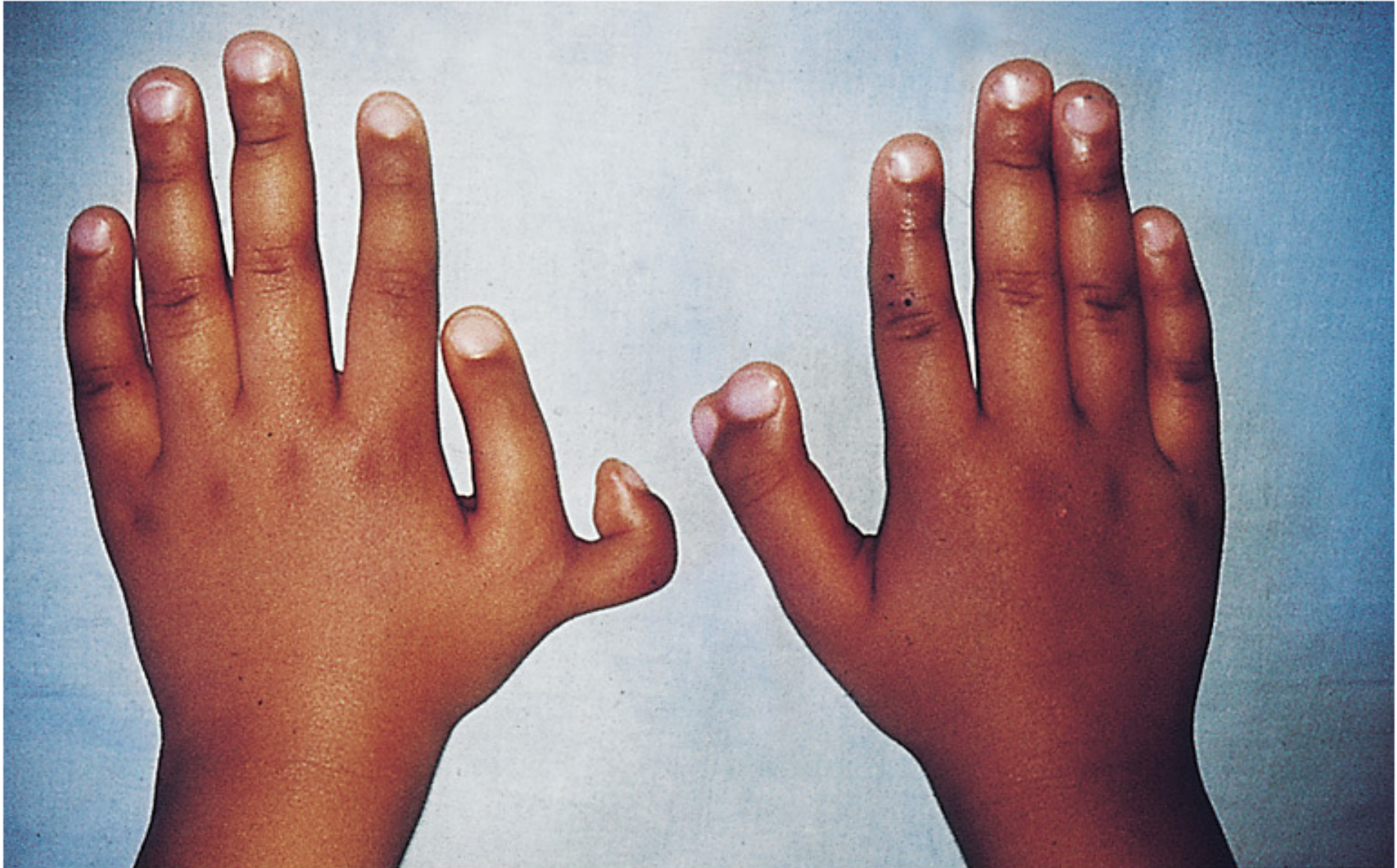




**Figure 9.** Model whereby increased Fgfr3 signaling in chondrocytes causes premature synchondrosis closure and unification of ossification centers. Increased Fgfr3 signaling induces premature exit from the cell cycle and accelerates the transition into hypertrophic chondrocytes. Increased Fgfr3 signaling also causes upregulation of Vegf in chondrocytes, promoting vascular invasion. Increased secretion of Bmp ligands and decreased secretion of Bmp antagonists result in enhanced osteoblast differentiation of osteoprogenitors in the periosteum, promoting bone formation and fusion of ossification centers. The upregulation of Vegf and Bmps and downregulation of Bmp antagonists are at least partially mediated by the MAPK pathway.



# Polidactilia







-Type I  
-Common type  
-2-3/10,000 newborns  
-Also called zygodactyly  
-2 Loci: 2q34; 3p21.31



-Type II  
-Also called synpolydactyly  
-HOXD13 mutations  
-2q31-32



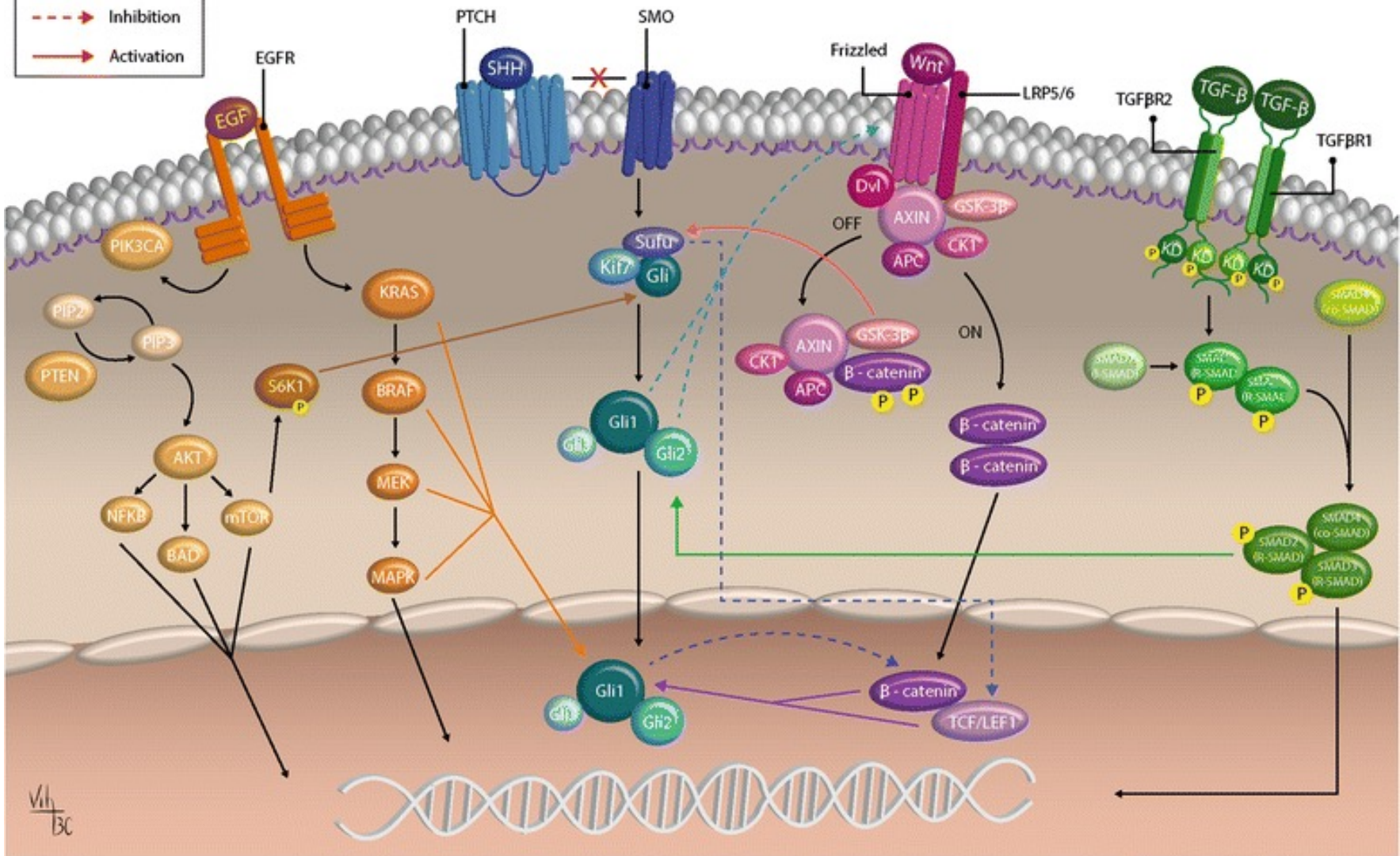
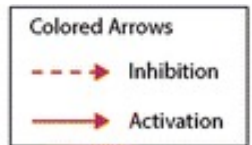
-Type III  
-Connexin 43 mutations (GJA1 gene)  
In Oculo-dento-digital dysplasia type  
-6q21



-Type IV  
-Rare  
-locus

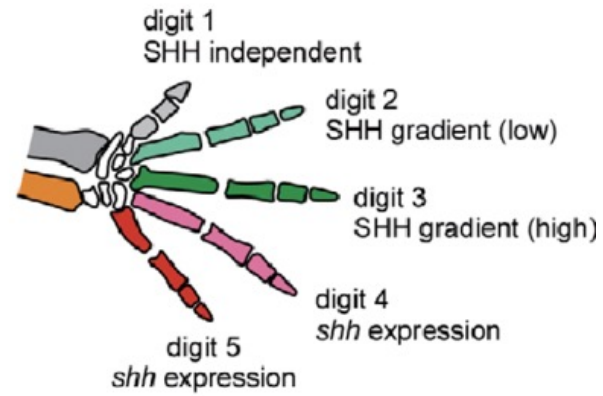


-Type V  
-Rare  
-HOXD13 (some cases)



VH BC

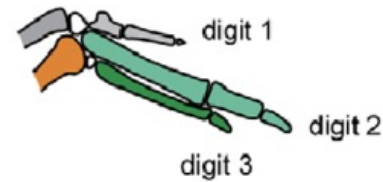
### A. mouse limb



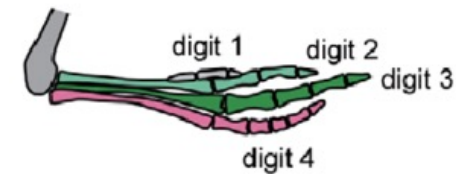
### B. chick forelimb



Early frame shift



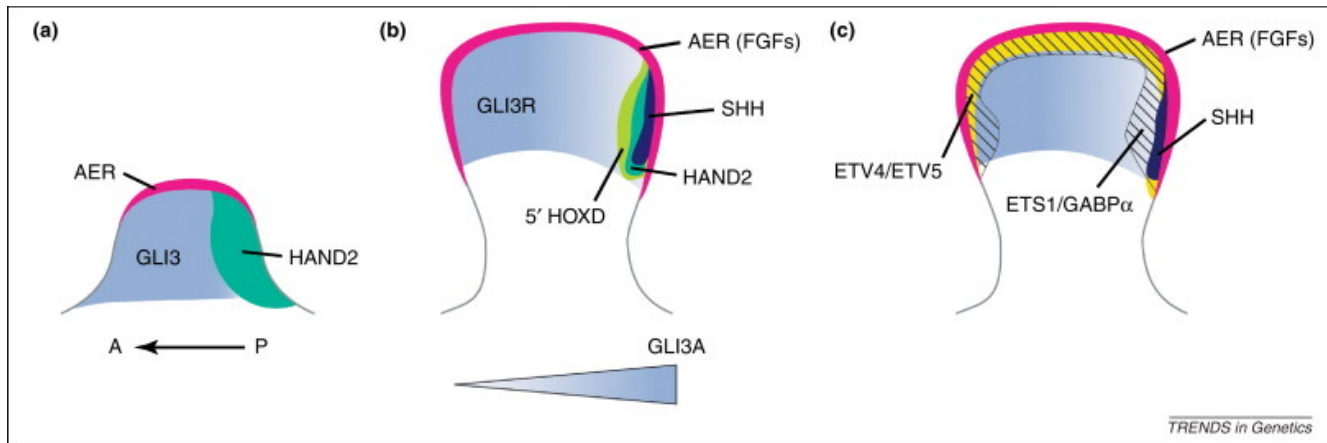
### C. chick hindlimb



before specification

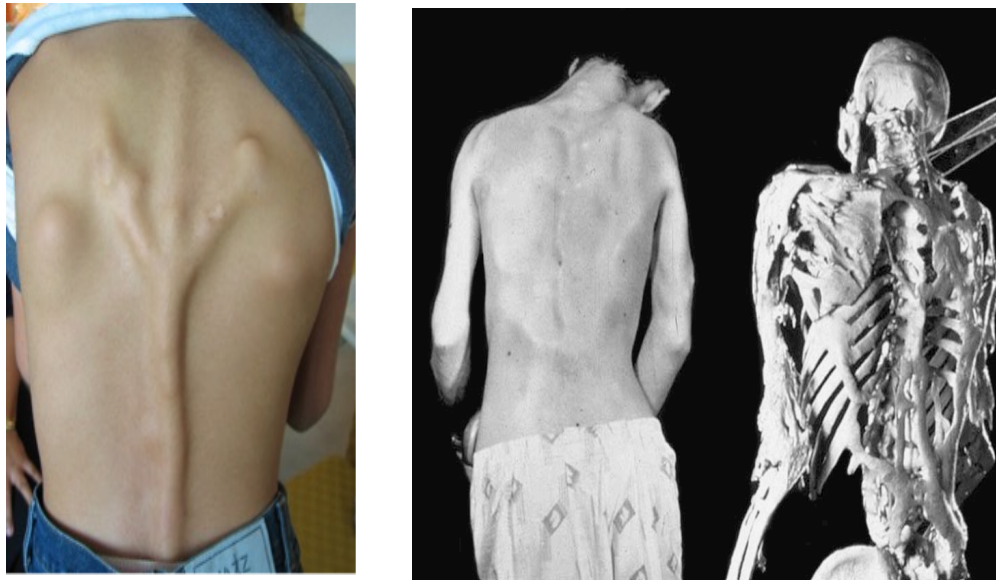
digit specification stage

final morphology





HETEROTOPIC OSSIFICATION (HO): bone formation in soft tissues



**ORPHA:337**

•OMIM: [135100](#)

Orphanet J  
Rare Dis  
2011

Kaplan et al, 2013. Taslimi et al,  
2013

Fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP):

- ALK2 (BMP type I receptor) activating mutation (ALK2R206H)
- requirement of an inflammatory stimulus
- prevalence of 1 in 2 millions individuals
- extremely debilitating

## THE GLOBAL FOP POPULATION PROJECT

Established within the IFOPA to describe the population of our known international FOP community, comprising the net of FOP patients and families connected either by themselves or through FOP national leaders/organizations. A major goal of the project is to have reliable and updated data about the number of FOP patients along with a set of demographic information which also allows avoidance of duplicated cases. Encoded data collected by the IFOPA and national leaders among other sources, is aggregated at the global level and processed.

Along with the IFOPA, International President's Council members taking part of this project are: Fundación FOP (Argentina); FOP Brazil; Canadian FOP Network, South African FOP Association; AEFOP (Spain), FOP Italia, Friends of FOP (UK), FOP Stichting Nederland, FOP Skandinaviska, Russian FOP Community, FOP Australia, Poland, Serbia, China and Malaysia. Outcomes are presented at three levels: i) global description of the universe of known FOP cases; ii) regional, to show the distribution of FOP cases and prevalence; iii) country, showing and example of those countries for which FOP prevalence is higher than the theoretical one of 1:2,000,000 people.

### GLOBAL LEVEL

#### TOTAL RESULTS<sup>1</sup>

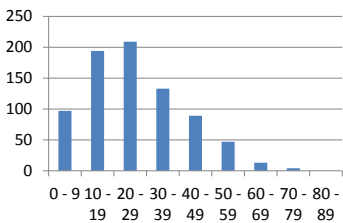
Number of countries: 67 (colored in the map)      Number of data providers: 18  
Number of FOP cases: 1072<sup>2</sup>

Number of living FOP cases: 834      Number of deceased FOP cases: 147  
No data about living or deceased: 91

#### LIVING POPULATION

Total female: 445 (53%)  
Total male: 387 (47%)  
No data: 2

#### LIVING AGE GROUPS

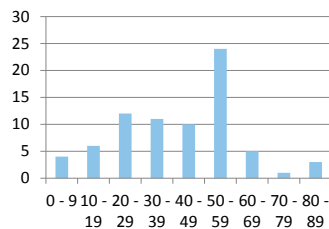


The 60% of the known international FOP population is in the range between 0 to 29 years old. The 34% is in the range of 30 to 79 years old, and for the 6% remaining there is no data.

#### DECEASED POPULATION

Total female: 69 (47%)  
Total male: 74 (50%)  
No data: 4 (2%)

#### DECEASED AGE GROUPS



Median age of life: 44 years old  
Average age of life: 41 years old  
Quartile 25: 26 years old  
Quartile 75: 56 years old

The smaller number of FOP patients within the interval of 0 to 9 years old could be read as an underreporting due to late onset of FOP acute symptoms, delayed diagnosis, and/or delay reaching the international FOP community.

<sup>1</sup>Updated June-September 2016

<sup>2</sup>Comprise by patients with FOP diagnosis that are connected with the FOP community either directly or through national FOP leaders

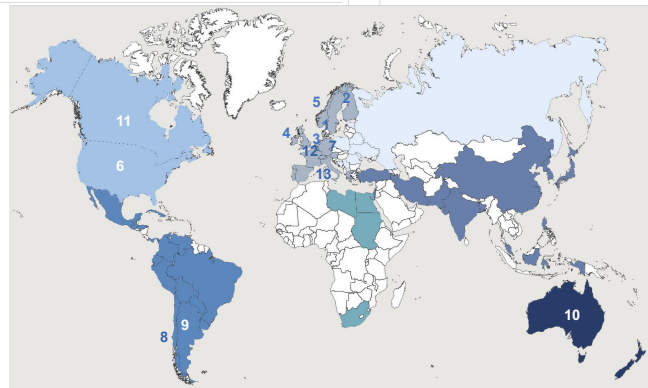
<sup>3</sup>Estimated based on 2015 population data worldbank.org rounded to tens of thousands

<sup>4</sup>Countries where prevalence might be higher as there are FOP lost cases for which there is no updated information.

### REGIONAL LEVEL

#### NUMBER OF FOP PATIENTS PER REGION AND PREVALENCES

Region	Number of countries	Total living FOP cases	Prevalence
North America	2	231	1:3,620,000
Latin America	15	161	1:3,620,000
West Europa	17	198	1:1,580,000
East Europa	13	86	1:3,320,000
Africa	4	10	1:19,210,000
Asia	14	133	1:27,920,000
Oceania	2	15	1:1,890,000



71% of known and connected FOP cases worldwide are in the Americas and West Europe. Early developed health systems that help to achieve FOP diagnosis along with active FOP community leaders who search for patients, seem to be major factors for showing higher ratios of FOP patients.

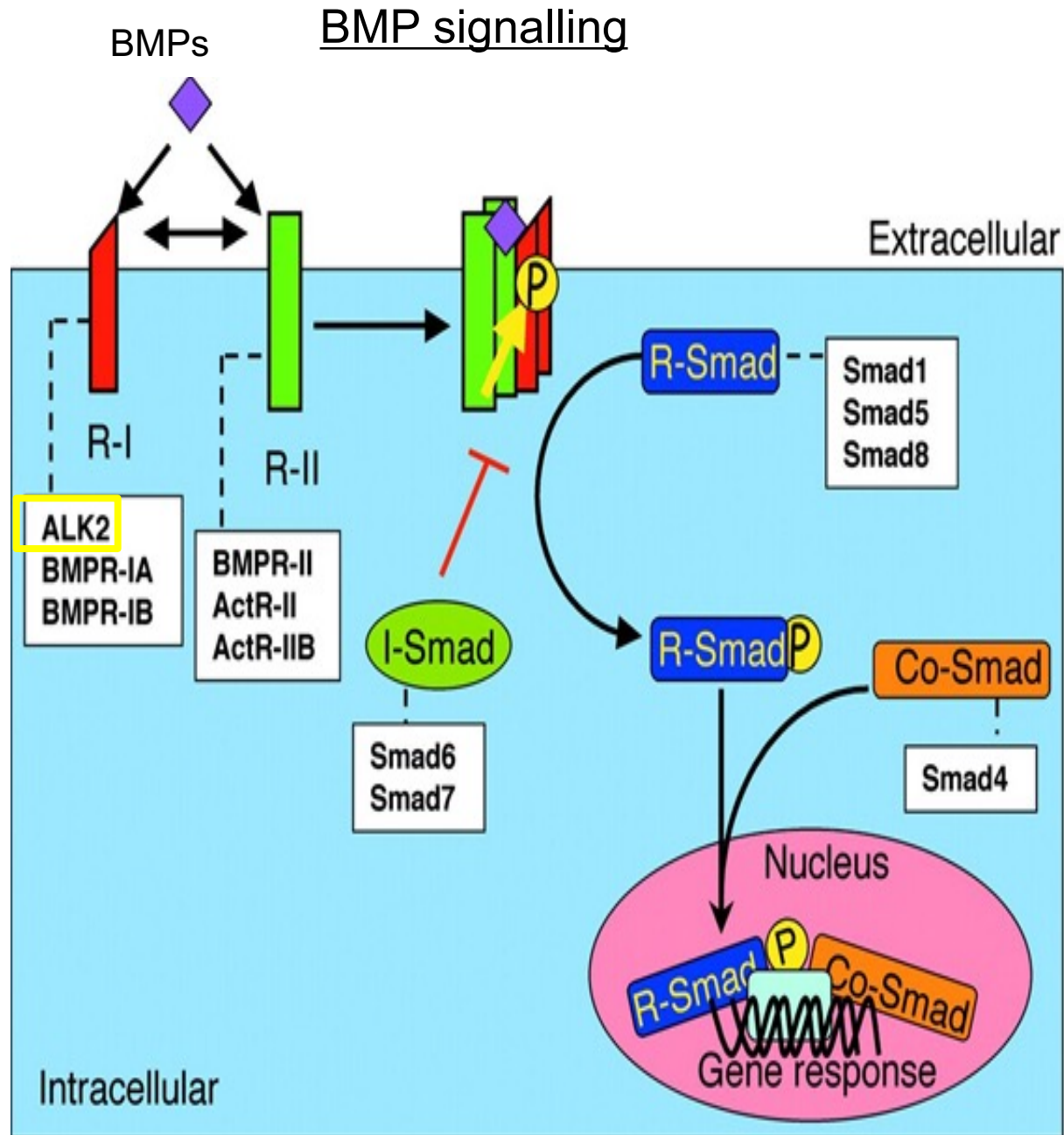
### COUNTRY LEVEL

#### PREVALENCE IN GROUP OF COUNTRIES HIGHER THAN 1:2,000,000<sup>3</sup>

Countries	FOP prevalence
1 Sweden	1:700,000
2 Finland	1:910,000
3 Denmark	1:1,140,000
4 UK	1:1,140,000
5 Norway	1:1,300,000
6 USA <sup>4</sup>	1:1,520,000
7 Poland	1:1,580,000
8 Chile <sup>4</sup>	1:1,630,000
9 Argentina <sup>4</sup>	1:1,670,000
10 Australia <sup>4</sup>	1:1,700,000
11 Canada <sup>4</sup>	1:1,790,000
12 Netherlands	1:1,880,000
13 Italy	1:1,900,000

In addition, several countries that meet one or both mentioned issues have FOP prevalences from 1:700,000 to 1:1,900,000. This data suggests that FOP prevalence might be higher than the theoretical 1:2,000,000. Based on the West European, North America and the US prevalence, and that there maybe more FOP patients that we don't know, FOP prevalence might be 1:1,500,000 or higher.

# ALK2 SIGNALLING

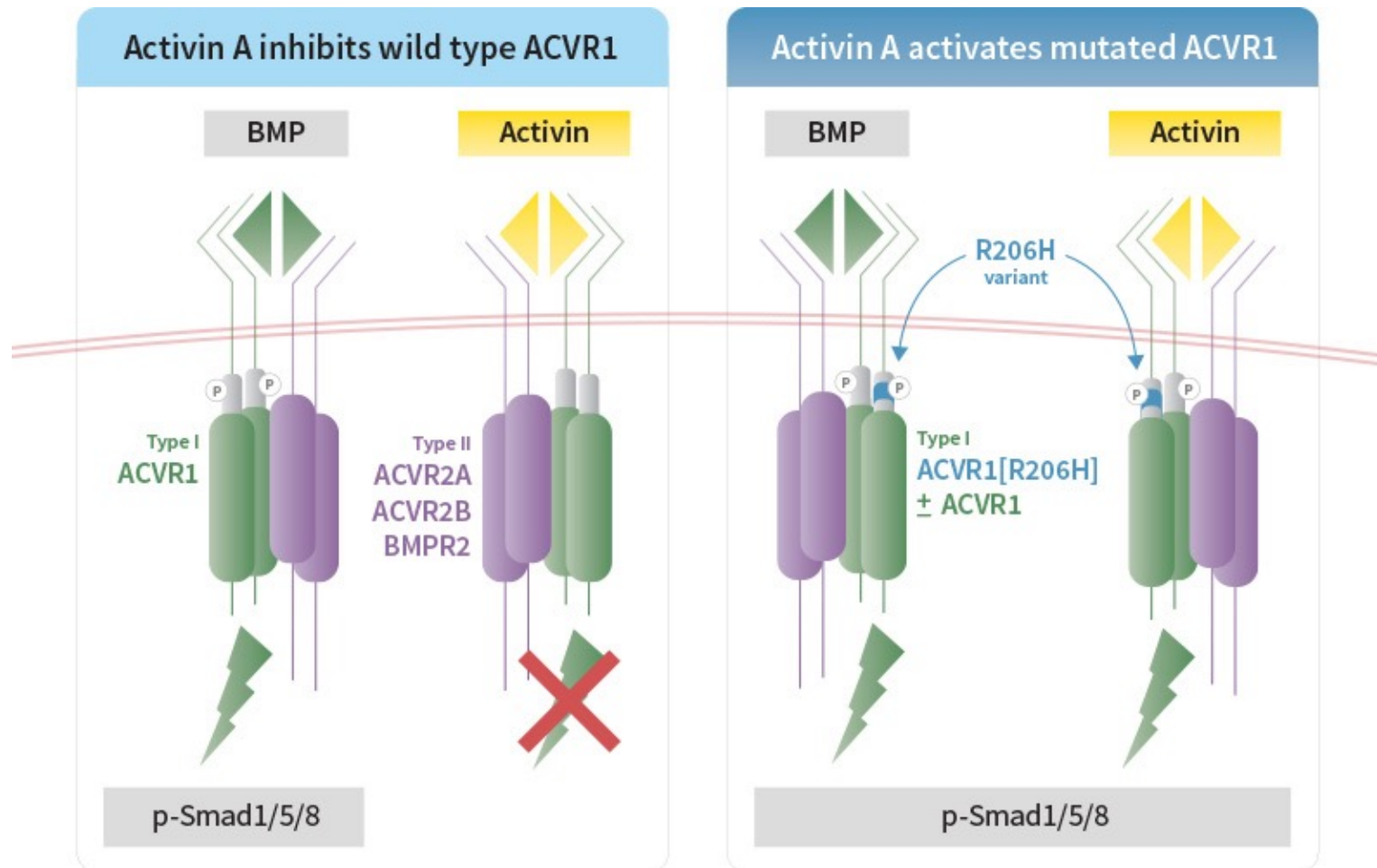


# ALK2 SIGNALLING

ALK2 R206H mutation: substitution of an arginine with a histidine in GS rich region

ALK2R206H two hypothesis:

- Active in absence of ligand
- Activated by ActivinA



**Per le malattie dominanti dovute a  
'perdita di funzione' si parla di  
APLOINSUFFICIENZA**

**molto spesso interessano geni che  
codificano proteine che hanno una funzione  
strutturale (es. collagene) o proteine che  
devono interagire con altre proteine (sono  
importanti i rapporti stechiometrici)**

**I soggetti malati possono essere  
estremamente eterogenei per il tipo di  
mutazione di cui sono portatori**

**Malattie dominanti dovute a  
APLOINSUFFICIENZA (perdita di  
funzione) spesso presentano forme  
più gravi dovute a mutazioni del  
tipo missenso o non senso**

**Un esempio classico è quello delle  
COLLAGENOPATIE**

**disordini a carico del collagene che  
è il principale componente di ossa,  
tendini, cartilagini, pelle, vasi  
sanguigni ecc.**

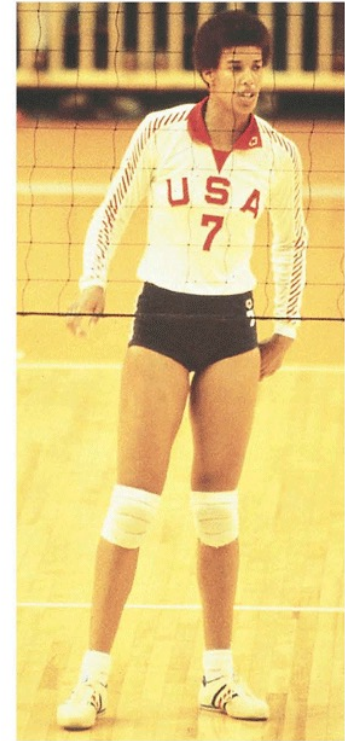
# Sindrome di Marfan MIM 154700

Il prodotto del gene, causa della patologia è una proteina chiamata fibrillina-1, parte integrante del tessuto connettivo. Gli organi maggiormente colpiti sono: il sistema scheletrico, gli occhi e il sistema cardiovascolare. Effetti letali sono spesso dovuti ad allargamento (aneurisma) e rottura dell'aorta.

Le mutazioni che portano ad una riduzione del 50% della fibrillina-1 causano un indebolimento del tessuto connettivo e segni lievi di sindrome di Marfan.

Questo fenomeno é definito  
**APLOINSUFFICIENZA.**

Alcune mutazioni danno luogo ad una sintesi quantitativamente normale della proteina che però interagisce in modo anomalo con le altre proteine del tessuto connettivo (**EFFETTO DOMINANTE NEGATIVO**), dando luogo ad una forma di sindrome di Marfan più grave.



▲ **FIGURA 4.13** Flo Hyman era una star della squadra femminile americana di pallavolo che vinse la medaglia d'argento alle Olimpiadi del 1984. Due anni dopo morì durante una partita a causa della rottura dell'aorta, provocata dalla sindrome di Marfan.



# IRREGOLARITA' DELL'EREDITARIETA' AUTOSOMICA DOMINANTE:

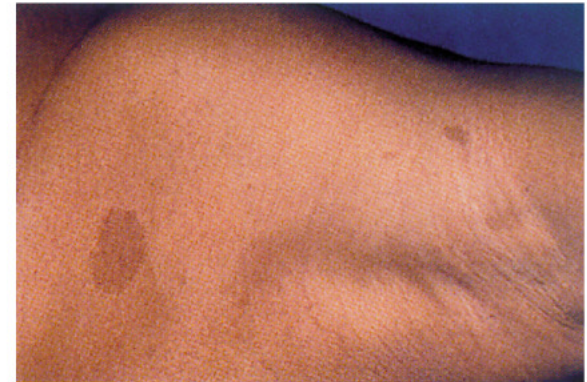
**PENETRANZA INCOMPLETA**

**ESPRESSIVITA' VARIABILE**

**ANTICIPAZIONE**

**Figura 12.13**

Espressività variabile in individui affetti da neurofibromatosi. In alto: Macchia caffelatte (café-au-lait). In mezzo: Macchia caffelatte e lentiggini. In basso: Numero elevato di neurofibromi cutanei (proliferazioni di tipo tumorale).





# Penetranza

- Nel caso dei caratteri mendeliani classici il fenotipo corrisponde esattamente al genotipo (compatibilmente con la dominanza e la recessività). Spesso però a livello del singolo individuo questo può non essere vero o non immediatamente evidente.
- Un carattere presenta penetranza pari al 100% quando tutti i portatori di un certo allele manifestano il fenotipo corrispondente: pisello verde o giallo, nanismo acondroplastico nell'uomo, gruppo sanguigno....
- Un carattere presenta penetranza pari al 70% quando solo il 70% degli individui portatori di quel allele manifestano il fenotipo.

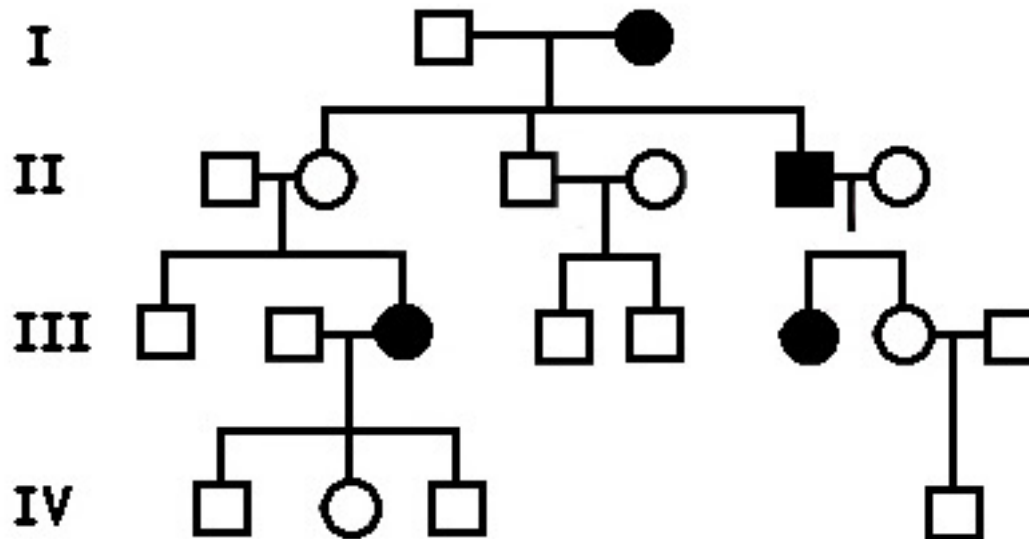
- La penetranza e' quindi un concetto che si riferisce **alla popolazione**. A livello del singolo individuo il carattere ha solo due possibilità: si manifesta o non si manifesta. E' più frequente nei caratteri dominanti.

- Sapere che un gene può non essere completamente penetrante, e' critico per studiarne la genetica o fornire consulenza genetica: un certo soggetto che non manifesta il carattere può comunque essere portatore dell'allele mutato.

- Es. Osteogenesi imperfetta: fragilità ossea, sclere blu, anomalie dei denti, perdita dell'udito. Alcuni soggetti presentano solo le sclere blu. **E' critico perciò il livello di indagine**

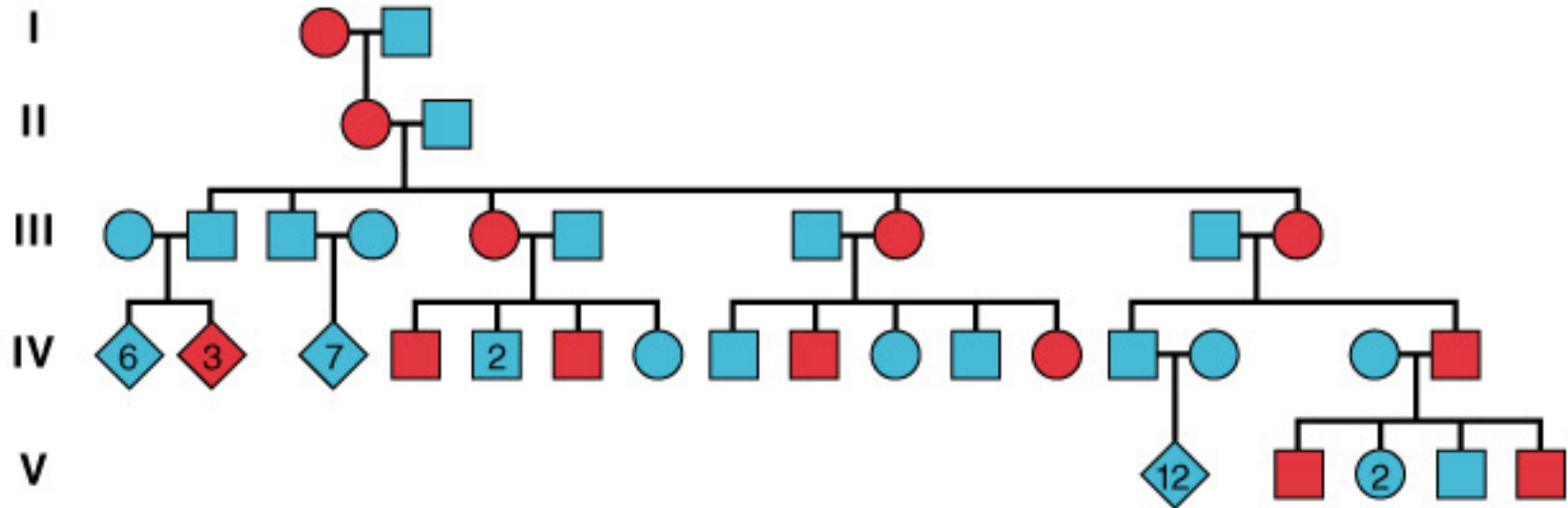
# Penetranza

- Un carattere presenta penetranza pari al 100% quando tutti i portatori di quel genotipo manifestano il fenotipo



**II2 ha la madre affetta ed una figlia affetta, ma fenotipicamente è normale. E' però sicuramente portatrice dell'allele mutato. Questo rappresenta un caso di penetranza incompleta.**

?



(b)

Copyright 2000 John Wiley and Sons, Inc.

Ereditarietà autosomica dominante.

Nota la trasmissione verticale ma anche la non totale penetranza (III-2).

**La penetranza incompleta è una caratteristica maggiormente frequente nelle malattie AD**

**Il motivo per cui individui con il genotipo-malattia non sono malati può essere:**

- influenza dell'ambiente**
- azione di altri geni (gene principale + geni modificatori)**

# Espressività

L'espressività e' il **grado con cui si esprime un fenotipo (nel caso di fenotipo patologico la gravità)**, fra gli individui che presentano quel fenotipo.

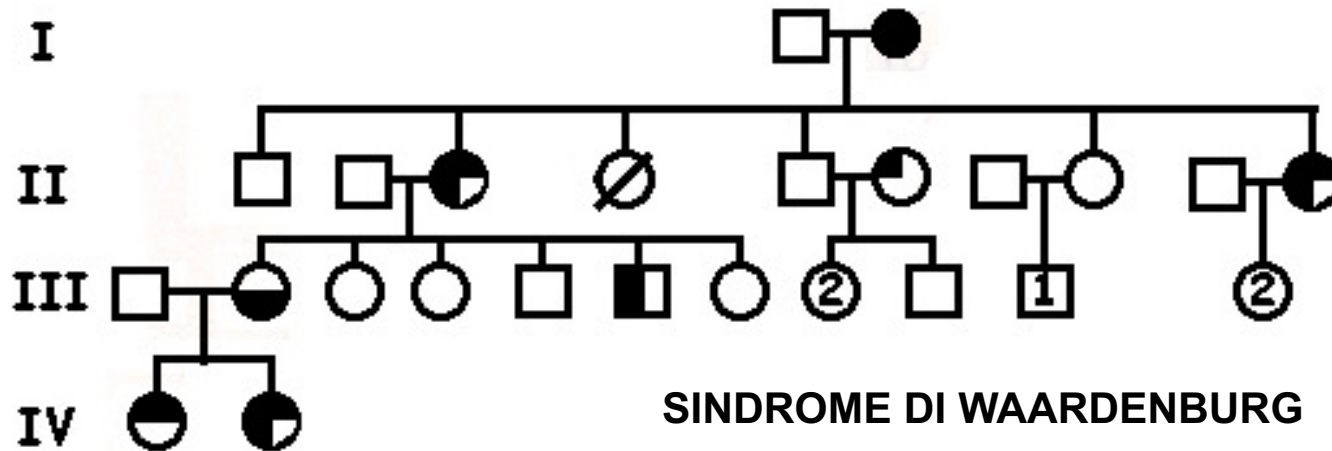
Es. Neurofibromatosi: presenza di tumori lungo i nervi periferici e regioni di pigmentazione scura (macchie di caffelatte). Tutti i portatori presentano almeno uno dei segni, ma la gravità può essere diversa anche all'interno della stessa famiglia: un genitore con macchie e piccoli tumori cutanei benigni può avere un figlio che presenta tumori estesi e maligni. (*questa differenza non e' prevedibile si può solo quantizzare il rischio di ereditare l'allele non il fenotipo*)

# Espressività variabile

- SINDROME: insieme di segni che nel singolo individuo possono presentarsi tutti o solo in parte
- e' tipica dei fenotipi dominanti.
- a livello di popolazione un fenotipo presenta espressività variabile quando all'interno dell'insieme di soggetti sicuramente portatori il fenotipo presenta gravità e/o complessità diversa. Anche all'interno della famiglia ci può essere espressività variabile

**PENETRANZA ED ESPRESSIVITA' SONO CONCETTI CHE SI RIFERISCONO AL FENOTIPO ALL' INTERNO DI UNA POPOLAZIONE**

# Espressività variabile



SINDROME DI WAARDENBURG

Le sindromi di Waardenburg (WS) rientrano nelle sindromi da sordità con anomalie della pigmentazione. Si caratterizzano per la loro trasmissione autosomica dominante e la depigmentazione non omogenea. L'incidenza annuale per le WS di tutti i tipi è 1:270.000 nati.

**Sindrome completa: sordità + eterocromia dell'iride + ciuffo di capelli bianchi sulla fronte + precoce incanutimento**

**Ombreggiatura del primo quadrante: sordità**

**Ombreggiatura del secondo quadrante: eterocromia dell'iride (occhi di colore diverso)**

**Ombreggiatura del terzo quadrante: ciuffo di capelli bianchi sulla fronte**

**Ombreggiatura del quarto quadrante: precoce incanutimento**



# Variabilità dei fenotipi in una famiglia affetta da sclerosi tuberosa

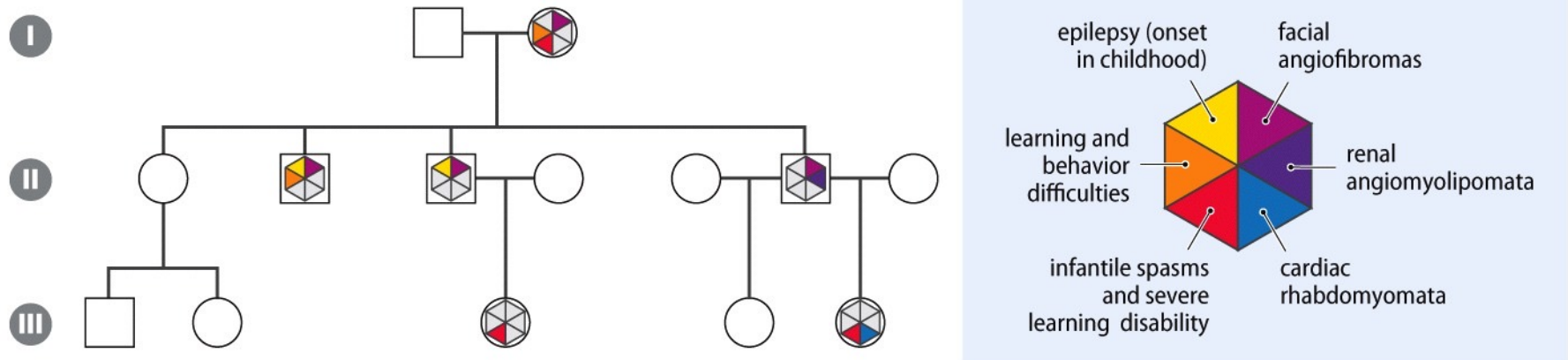


Figure 5.14 Genetics and Genomics in Medicine (© Garland Science 2015)

# Quindi possiamo spiegare la variabilità fenotipica come:

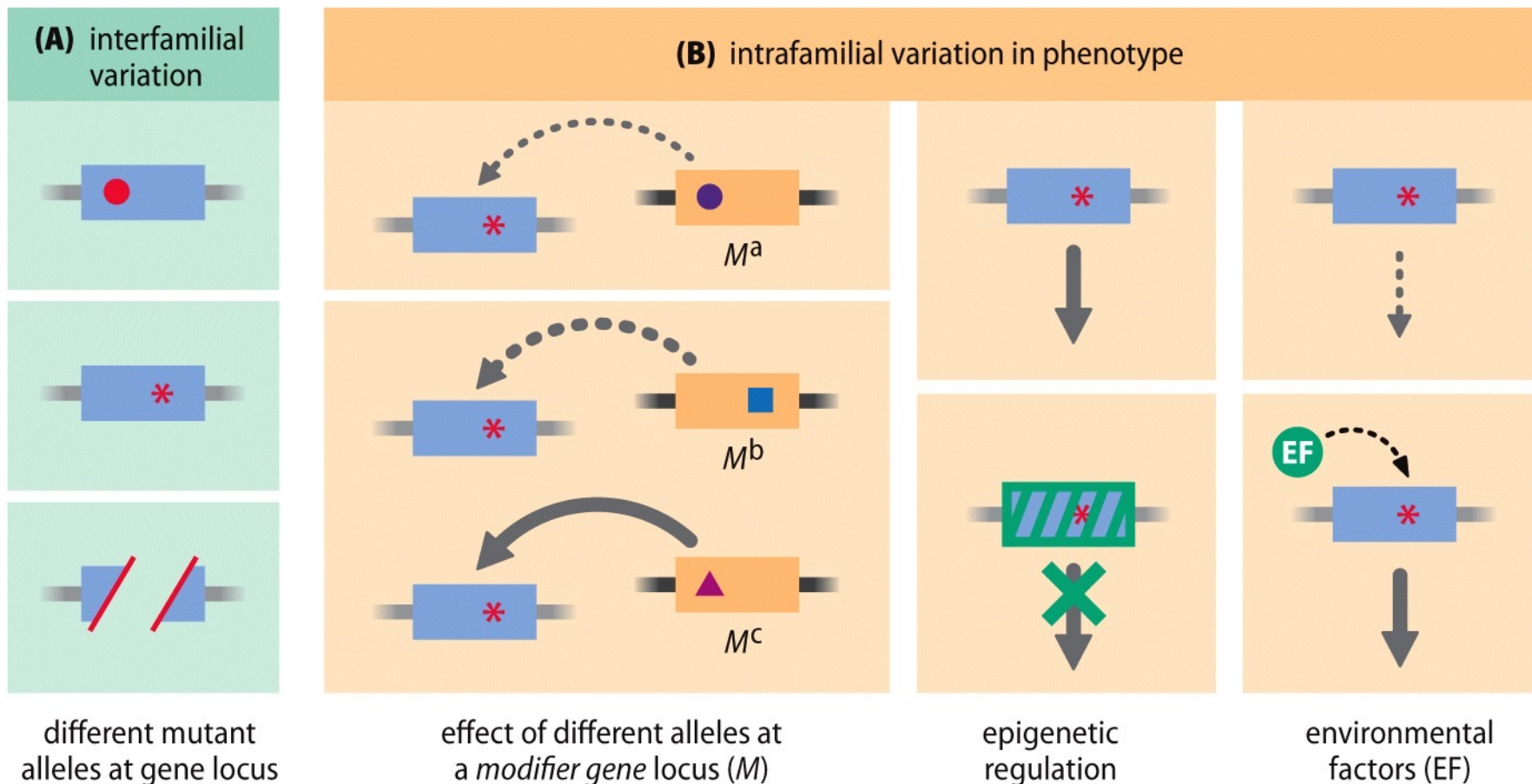


Figure 5.15 Genetics and Genomics in Medicine (© Garland Science 2015)

- A) Mutazioni diverse nello stesso locus, variabilità interfamiliare;
- B) Stessa mutazione, ma interazioni genetiche, epigenetiche e/o ambientali diverse



## ETA' D'INSORGENZA:

- le malattie genetiche non sono necessariamente **congenite** (presenti alla nascita).

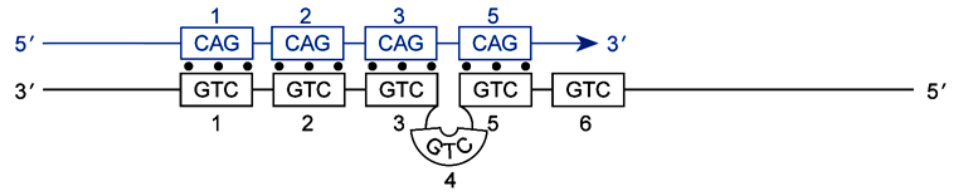
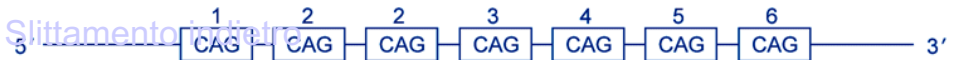
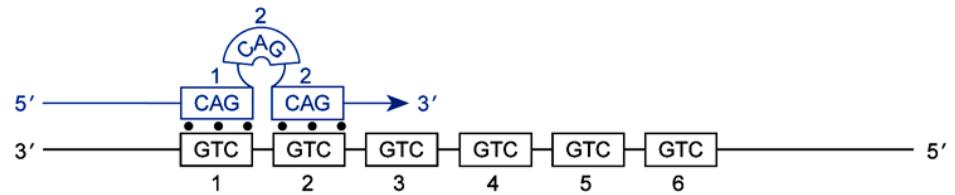
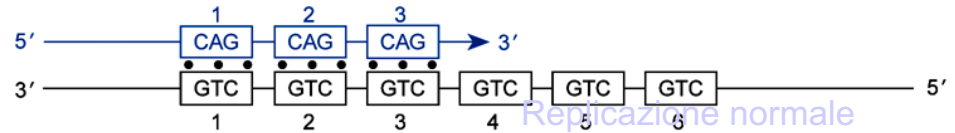
Esistono alcune malattie autosomiche dominanti ad **insorgenza tardiva** (insorgenza intorno alla terza decade di vita), il genotipo é fissato alla nascita ma il fenotipo si manifesta in epoca adulta (Corea di Huntington).

- a livello di popolazione l'allele mutato può essere frequente purché l'insorgenza si verifichi dopo l'inizio dell'età riproduttiva e non limiti la **fitness** (idoneità biologica, numero di figli).

# Anticipazione

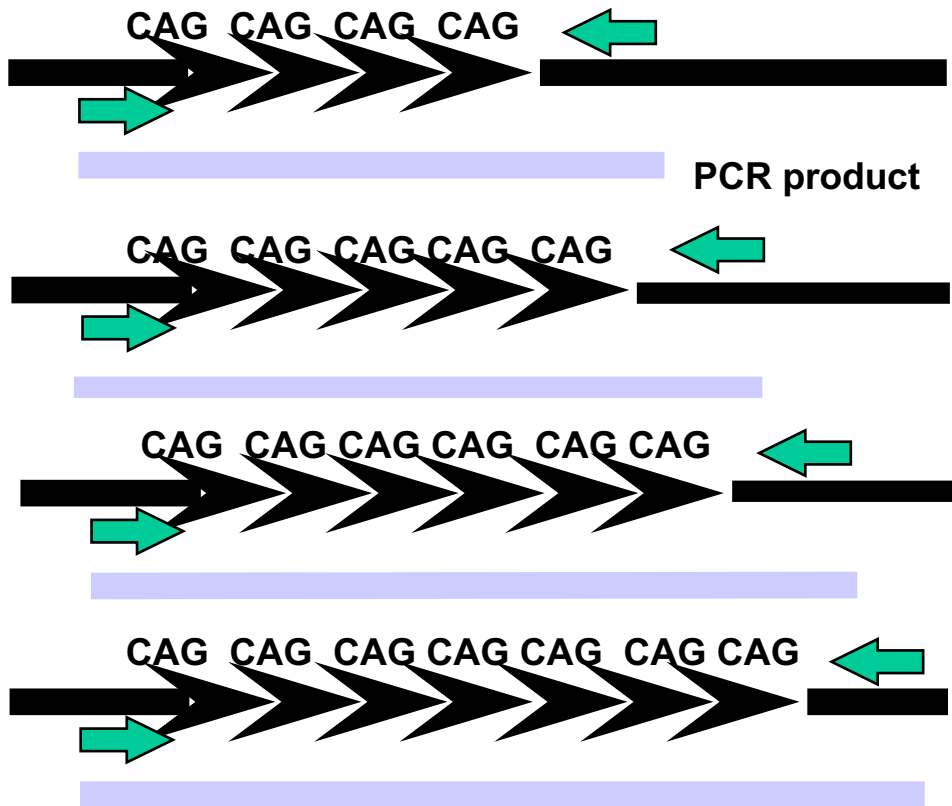
- la severità della patologia aumenta di generazione in generazione
- i sintomi passano da lievi nella prima generazione a severi nelle generazioni più avanzate
- è dovuta all'espansione, a step successivi, delle ripetizioni trinucleotidiche
- nella popolazione normale, la lunghezza della ripetizione è polimorfica, ma stabile
- il primo step è la formazione di una “premutazione” con normale fenotipo ma instabile
- la premutazione quindi si espande nella successiva generazione a una Lunghezza molto maggiore e una ulteriore instabilità
- l'anticipazione è tipica dell'espansione delle ripetizioni trinucleotidiche

# Corte sequenze ripetute in tandem sono hot spot mutazionali



In questo caso si possono verificare inserzioni/delezioni per appaiamento errato causato da scivolamento di un filamento

# Espansione di sequenze trinucleotidiche ripetute



## Microsatelliti

- Corte regioni genomiche contenenti brevi (1-4 nt) sequenze ripetute in tandem.
- Le più comuni nel DNA umano sono: **CAG, CGG, CAA, TAA, GAG**
- il numero di ripetizioni in un dato locus genico, sono polimorfici nel genoma umano, dando origine a sequenze dette **VNTRs** (variable number of tandem repeats)

## Malattie da triplette

### Espansione in regioni non codificanti

(CGG;GCC,GAA,CTG,CAG)

La mutazione causa perdita di funzione o danni a livello di mRNA.

### Espansione in regioni codificanti:

La mutazione porta ad una proteina mutata con guadagno di funzione tossica e/o perdita di funzionalità.



# Mutazioni dinamiche e patologia

<b>Malattia</b>	<b>localizzazione della sequenza</b>	<b>ripetizione</b>
-----------------	--	--------------------

espansioni modeste in regioni codificanti: seq. normali ca 4-40 ripetizioni,  
geni mutati ca 20-100 ripetizioni

•Huntington's disease	codificante	(CAG) <sub>n</sub>
•Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1)	codificante	(CAG) <sub>n</sub>
•Machado-Joseph's disease	codificante	(CAG) <sub>n</sub>
•Kennedy's disease (SBMA)	codificante	(CAG) <sub>n</sub>
•Dentatorubral-pallidoluysian	codificante	(CAG) <sub>n</sub>

espansioni molto estese in regioni non codificanti: seq. normali 2-55 ripetizioni,  
geni mutati ca 50-4000 ripetizioni

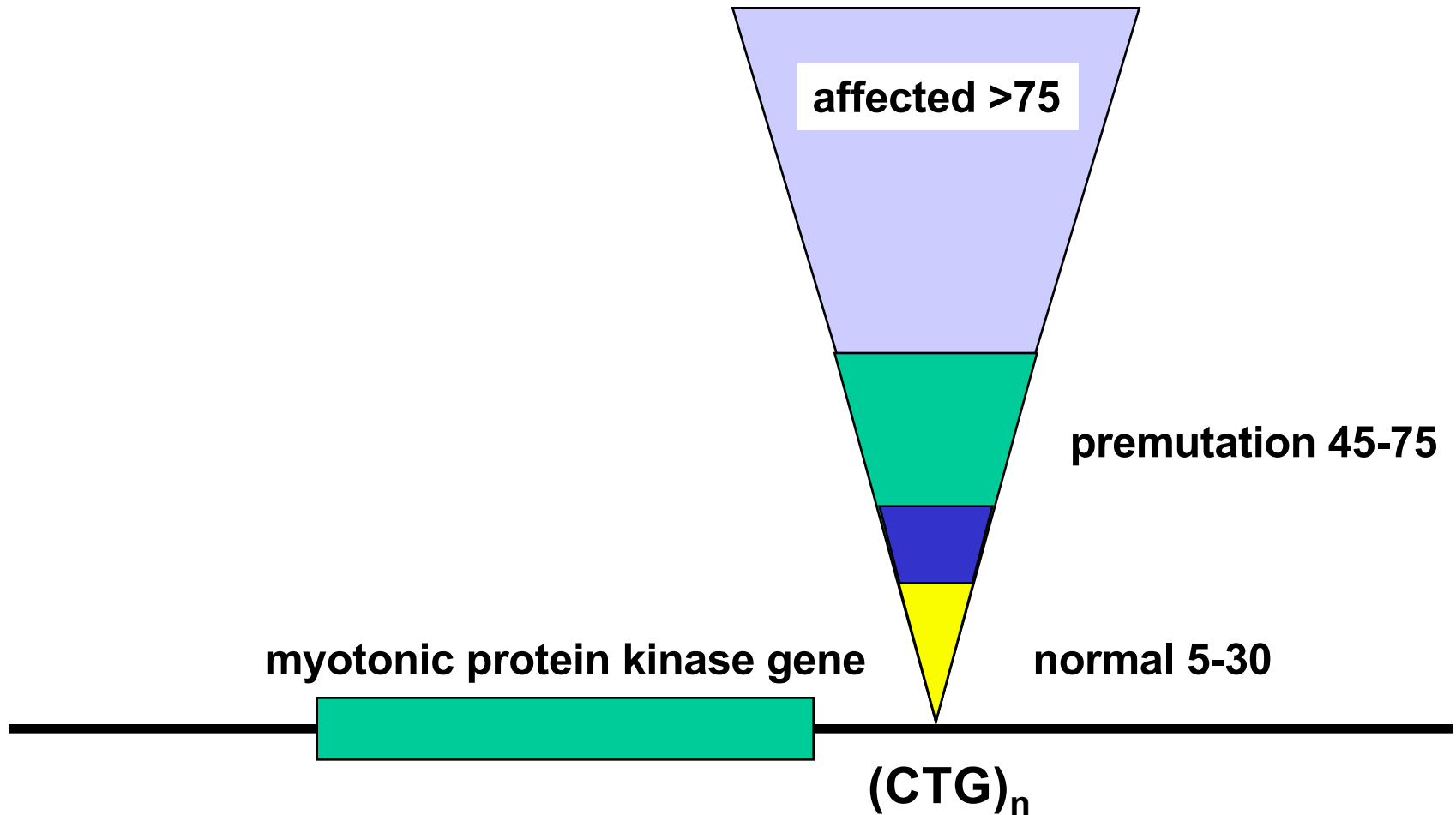
•Fragile XA syndrome	5' UTR	(CGG) <sub>n</sub>
•Myotonic dystrophy	3' UTR	(CTG) <sub>n</sub>

# Distrofia Miotonica

- patologia autosomica dominante
- caratterizzata da miotonia e progressiva degenerazione muscolare
- la forma più comune di distrofia muscolare con esordio nell'adulto
- manifestazioni scheletriche, cardiovascolari, e oculari (cataratta)
- associazione con cambiamenti cognitivi, incluso il ritardo mentale
- la patologia mostra il fenomeno dell'**“anticipazione”**
  - esordio tardivo con sintomi lievi nella prima generazione
  - quindi esordio neo-natale, associato a ritardo mentale, alla 3° -4° generazione
- causata da mutazioni nel gene DM-1 (miotonina protein kinasi), espresso nel cervello, cuore, e muscolo
- il gene normale ha al 3'-UTR una ripetizione CTG polimorfica nella popolazione (5-30 ripetizioni)
- i pazienti hanno un numero espanso di ripetizioni, fino a molte centinaia, che causano una diminuzione dei livelli di mRNA

Sequestramento RNA binding proteins?

# Structure and inheritance of CTG repeats in myotonic dystrophy

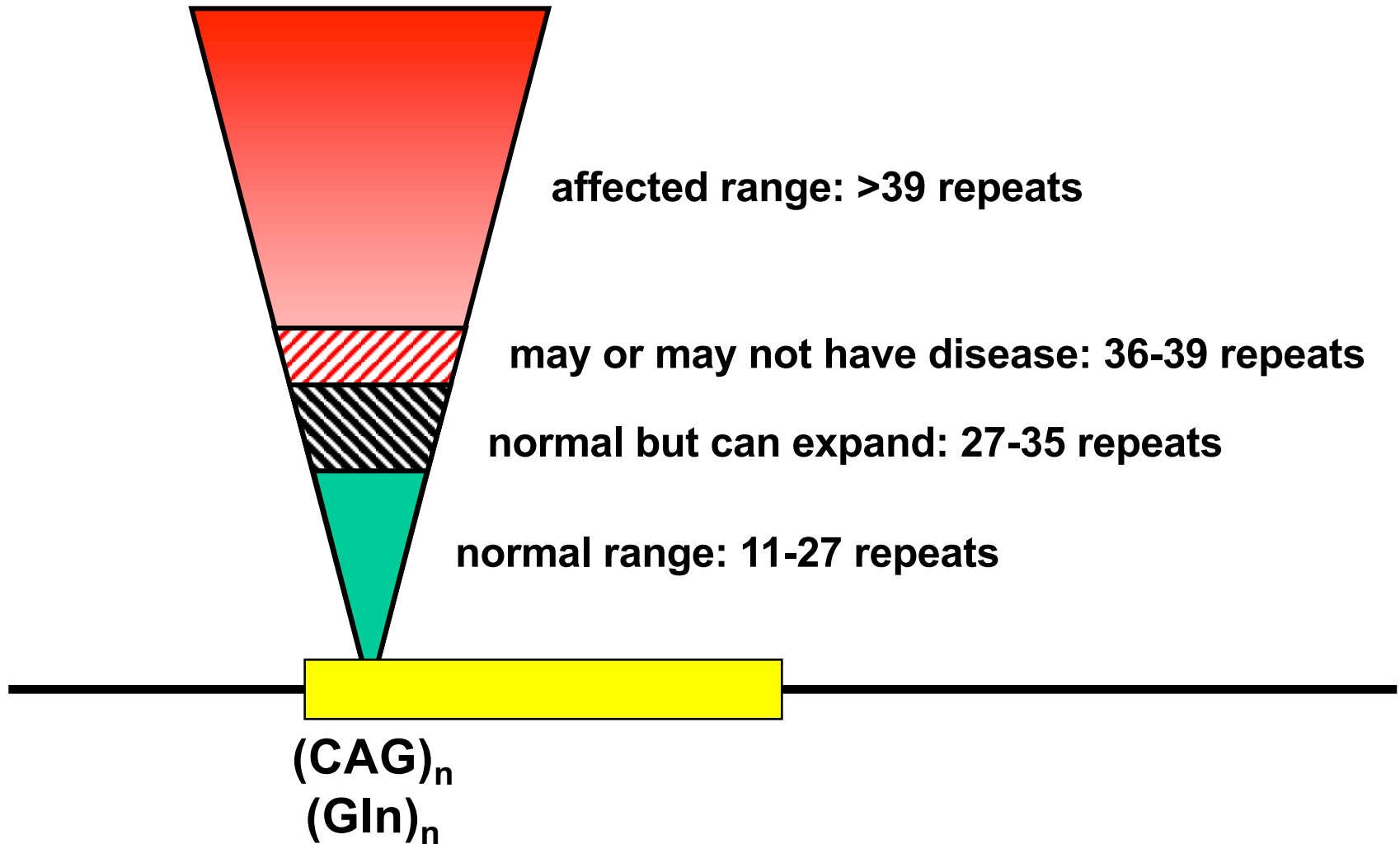


# Huntington's disease

- patologia **autosomica dominante**
- esordio sia giovanile che adulto
- associato a movimenti involontari (chorea)
- causata da **mutazioni nel gene IT15 (Huntingtonina)**
  
- il gene normale ha una ripetizione **CAG polimorfica nella popolazione**  
( 11-35 ripetizioni)
- i pazienti hanno un numero espanso di ripetizioni (>35)
- la ripetizione CAG è tradotta in **tratti di poliglutamina** nella proteina. Tale tratto può causare **un ripiegamento anomalo del polipeptide e il sequestro di altre proteine della cellula, portando alla degenerazione del neurone.**
- la patologia mostra il fenomeno dell'**anticipazione**, ma la severità non sempre correla strettamente con il grado di espansione
  - figli affetti di padri affetti mostrano un esordio di 8-10 anni più tardivo rispetto ai loro padri
  - figli affetti di madri affette mostrano un esordio simile alle loro madri



# CAG repeats in Huntington's disease



## Huntington's disease

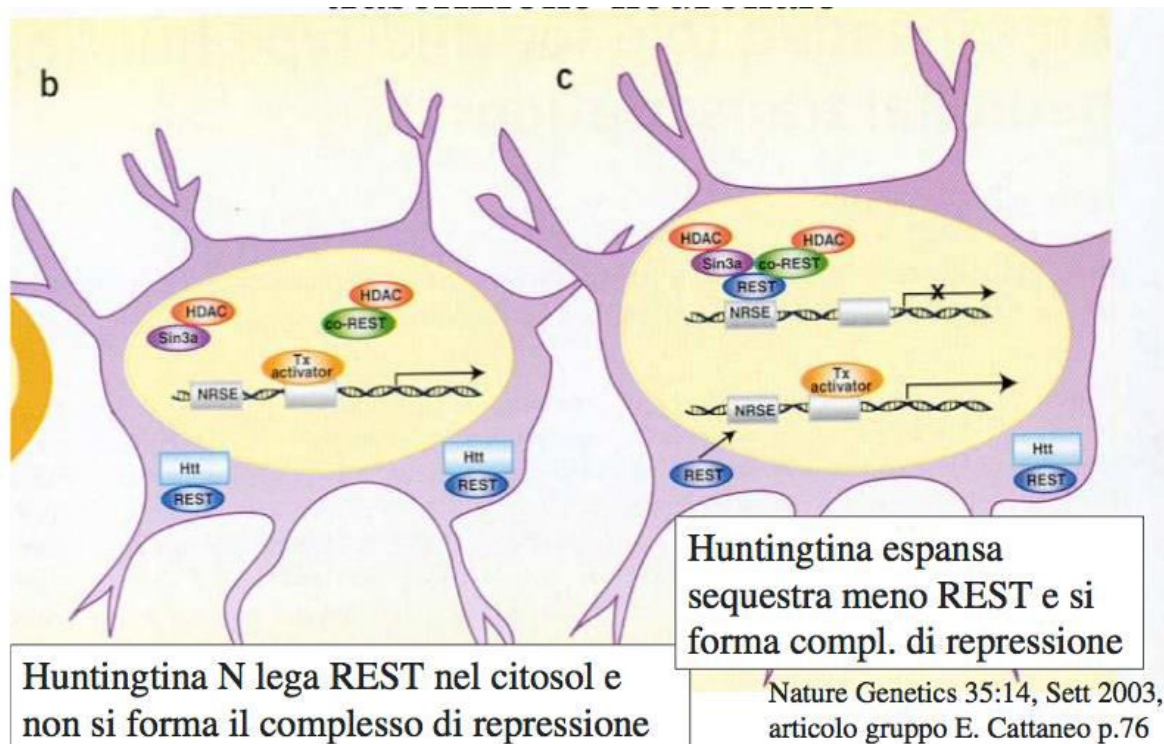
Htt è localizzata nel citoplasma, assoni, sinapsi e nel nucleo. E' coinvolta nello shuttling nucleo-citoplasma e nella regolazione trascrizionale.

### Nel Nucleo:

-si lega al repressore trascrizionale (REST/NRSF=neuro restrictive silencer factor) e lo sequestra nel citoplasma.

NRSF

non può agire sul DNA sui NRSE presenti su geni come BDNF.

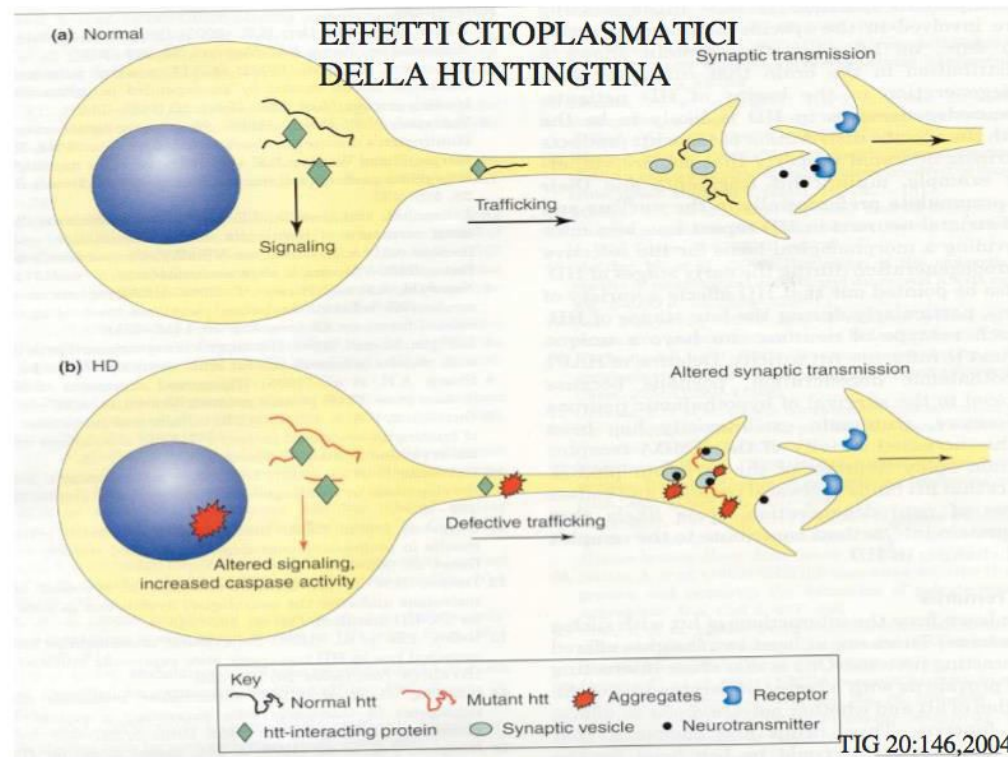


# Nel citoplasma

-Ha ruolo nel trasporto assonale ,interazioni con vescicole, interagisce con diverse proteine responsabili del trasporto intracellulare ed endocitosi.

-Regola signalling del calcio

La forma mutata causa un alterato signaling nei neuroni



# DISOMIA UNIPARENTALE



Nell'uomo, dopo divisione meiotica, un solo cromosoma per ognuna delle 23 coppie che caratterizzano la specie viene normalmente incluso nella cellula germinale

Ciascun soggetto umano è il risultato della fecondazione di un gamete femminile da parte di un gamete maschile

si ricostituisce così in un nuovo soggetto

- il n° cromosomico corretto
- la diploidia allelica (allele materno + allele paterno)
- e viene determinato il sesso

Il processo meiotico è soggetto ad errori: lo studio sistematico di ampi campioni di nati vivi e/o aborti spontanei ha rivelato un'alta frequenza di anomalie cromosomiche numeriche (aneuploidie).

Engel nel 1980 suggeriva che una quota di genomi apparentemente normali ( $2n=46$ ) fosse di fatto dovuta ad un processo chiamato

“**complementazione gametica**”

gamete nullisomico + gamete disomico

(0)

(15,15)

concepimento a 46 cromosomi (15,15 unipar.)

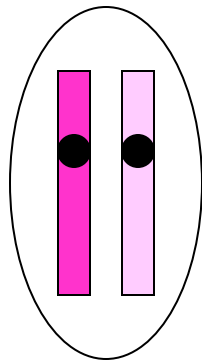
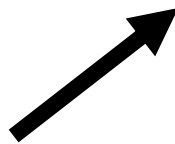
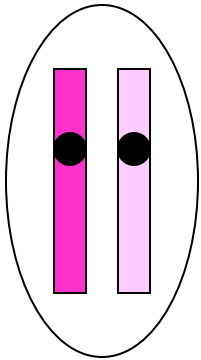
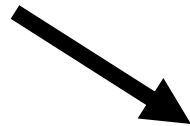
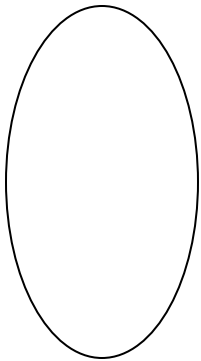
Engel 1980

3/ 10 000 UPD

(20% aborti spontanei hanno anomalie a carico dei cromosomi 15, 16, 21, 22, X e Y)

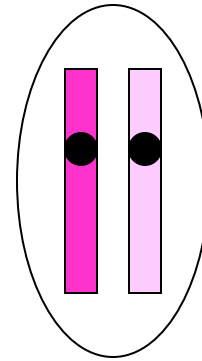
# COMPLEMENTAZIONE GAMETICA

gamete paterno



zigote con  
UPD

mitosi

A black arrow pointing from the zygote to the UPD (etero) cell.

UPD  
(etero)

gamete materno

**ETERODISOMIA:** eredità di 2 diverse copie di un cromosoma da un solo genitore

**ISODISOMIA:** eredità di 2 copie identiche di un cromosoma da un solo genitore

I meccanismi produttori di UPD sono diversi, non solo dovuti a complementazione gametica

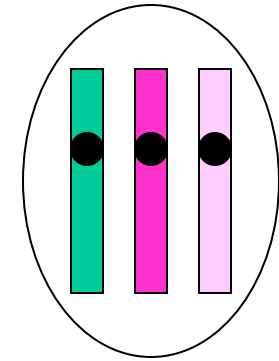
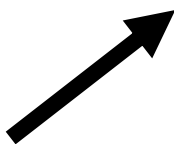
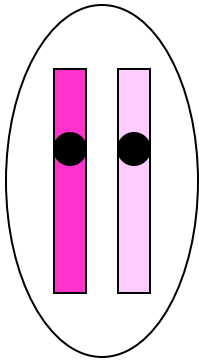
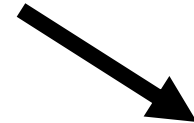
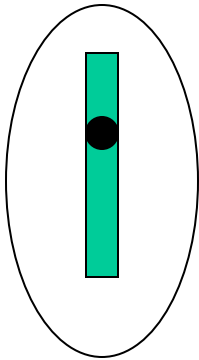
Il meglio documentato caso è la perdita di un cromosoma in un concepimento trisomico (**trisomic rescue**) per successione di 2 errori

→ 1° errore      meiosi (gamete disomico) →      zigote trisomico

→ 2° errore      mitosi post-zigotica →      ricostituzione 2n  
per non disgiunzione mitotica  
o perdita anafasica

# "RESCUE" DI TRISOMIA

gamete paterno

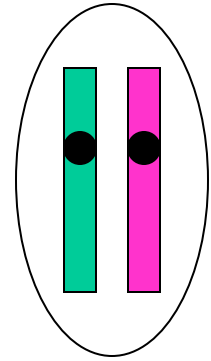


zigote  
trisomico

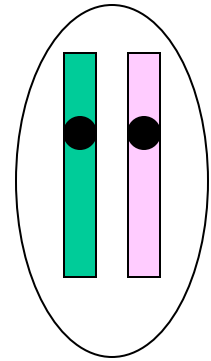
perdita  
cromosomica



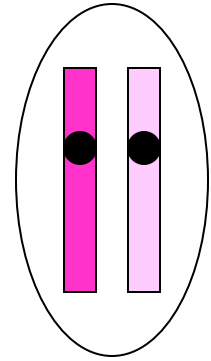
"rescue"  
di  
trisomia



NOR



NOR

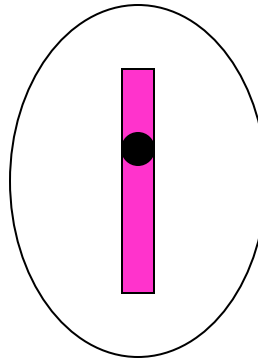
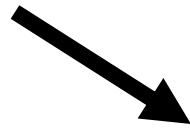
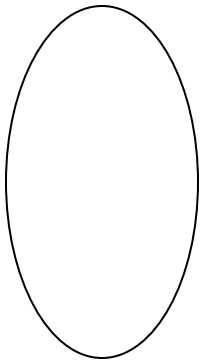


UPD  
(etero)

gamete materno

# “RESCUE” DI MONOSOMIA

gamete paterno



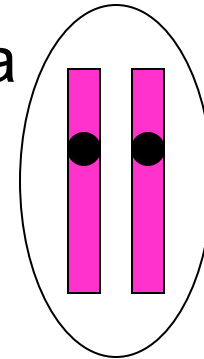
zigote  
monosomico

duplicazione  
cromosomica



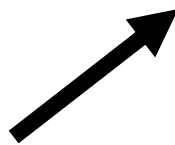
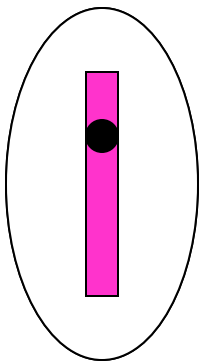
“rescue”  
di

monosomia



UPD  
(iso)

gamete materno



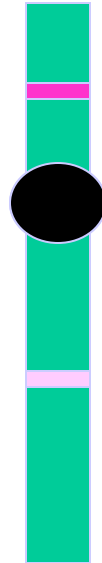
una delle conseguenze di UPD è l'interferenza con il meccanismo di "imprinting genomico"

UPD può portare allo sbilancio di alleli la cui espressione nei nati dipende di norma dal sesso del genitore-in-origine



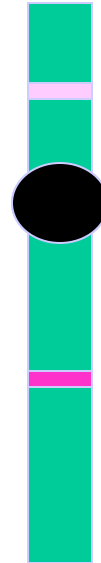
l'imprinting genomico si definisce come  
**epifenomeno**  
che esprime l'influenza parentale sul genoma

gene Am inattivo



M

gene Bm attivo

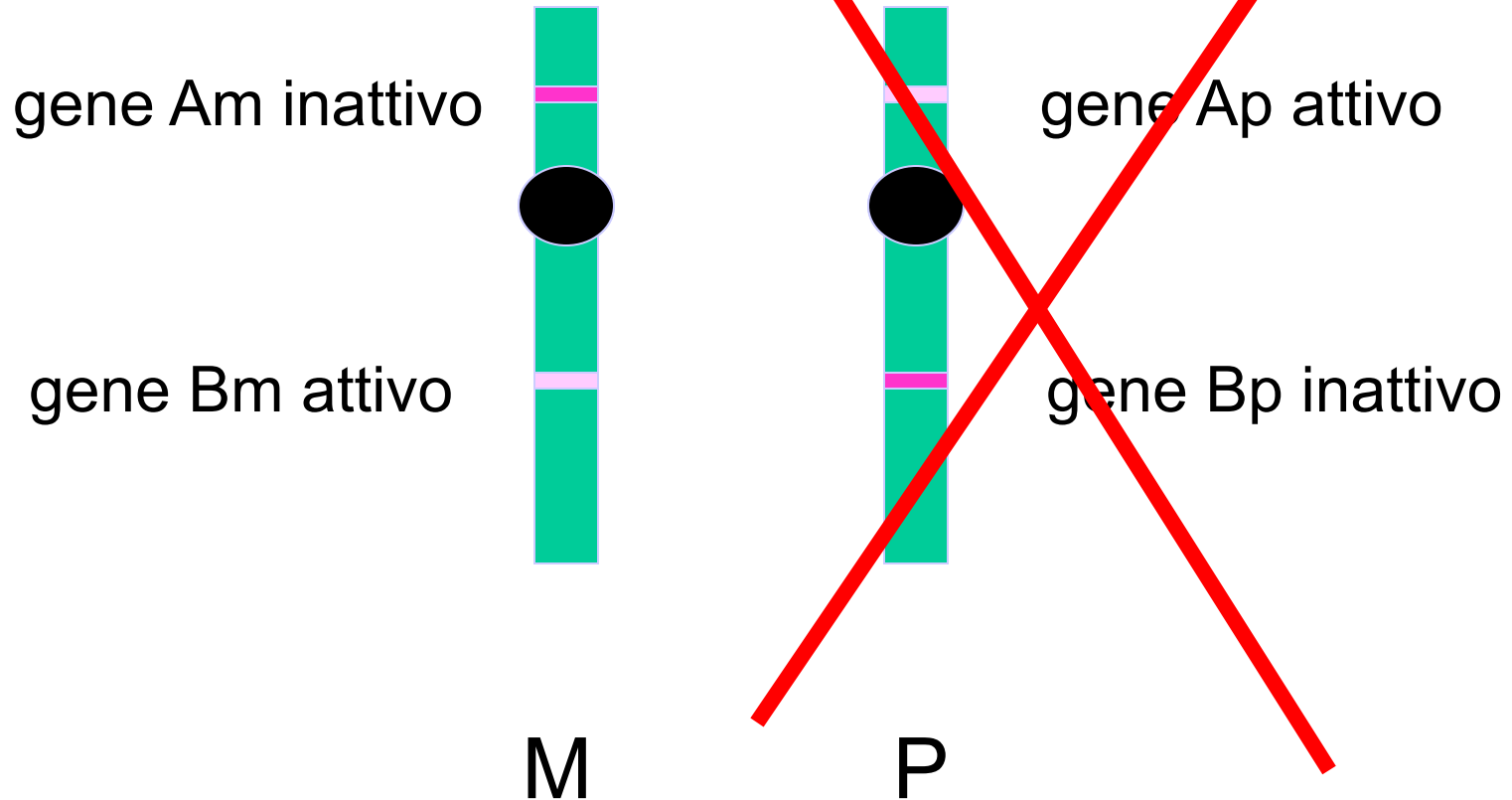


P

gene Ap attivo

gene Bp inattivo

se viene a mancare il cromosoma P ...



.... viene a mancare il prodotto del gene Ap  
(nullisomia funzionale)

Imprinting:

≠ espressione degli alleli di alcuni loci  
o di regioni cromosomiche  
in base alla loro origine parentale

# **Imprinting genomico: espressione differenziata di un gene perfettamente funzionale, legata all'origine parentale, indipendente dal sesso della progenie**

- Una caratteristica comune alla maggior parte dei geni imprinted è quella di essere organizzati in clusters
- Questi clusters contengono uno o più geni imprinted, che possono essere sia espressi per via materna che paterna
- I geni di un dato cluster sono regolati da una regione di controllo dell'imprinting (ICR)

**EPIGENOTIPO: informazione ereditabile in grado di influire sul fenotipo senza che vi sia cambiamento di sequenza del DNA**

**👉 Il meccanismo epigenetico meglio conosciuto è la metilazione del DNA. La metilazione di una regione genomica viene considerata un indicatore di inattivazione.**

Concetto contrario alle leggi di Mendel secondo le quali l'origine materna o paterna di un'informazione non ne influenza l'espressione (equivalenza degli incroci reciproci)

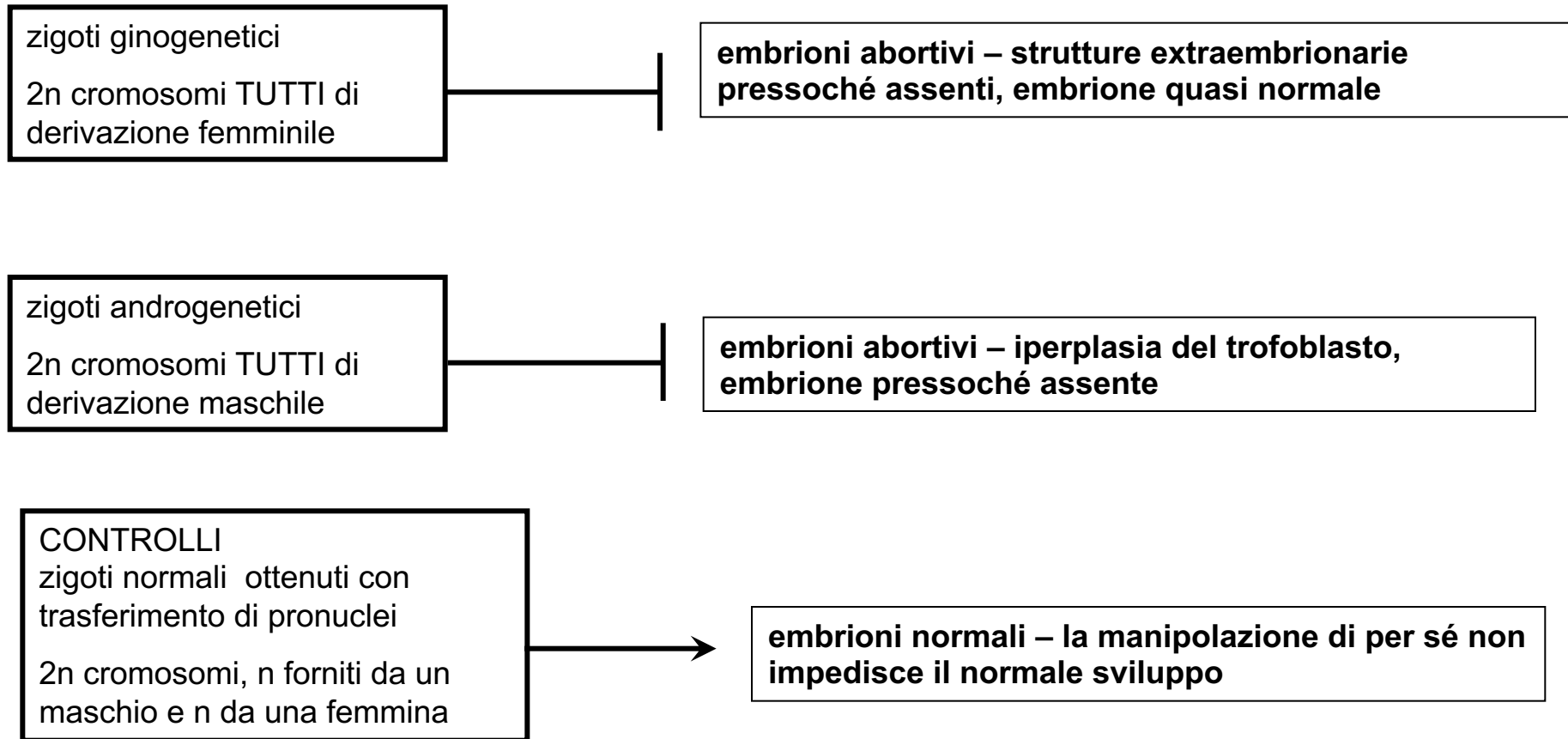
- ❖ Geni soggetti a imprinting paterno → la copia fornita dal padre viene silenziata
- ❖ Geni soggetti a imprinting materno → la copia fornita dalla madre viene silenziata

# Osservazioni che suggeriscono l'esistenza dell'imprinting

- **Mutazioni che provocano fenotipi differenti a seconda del genitore d'origine o che sembrano essere ereditate con modalita' diverse a seconda del genitore che trasmette il locus.**
- **Esperimenti di trasferimento dei pronuclei nei topi**
- **Aborti triploidi, mola idatiforme e teratomi nell'uomo**
- **Disomie uniparentali**
- **Differente espressione del DNA nel topo transgenico**

# PROVE DELL' ESISTENZA DELL' IMPRINTING

esperimenti di trapianti di pronuclei nel topo: creazione di zigoti androgenetici e ginogenetici

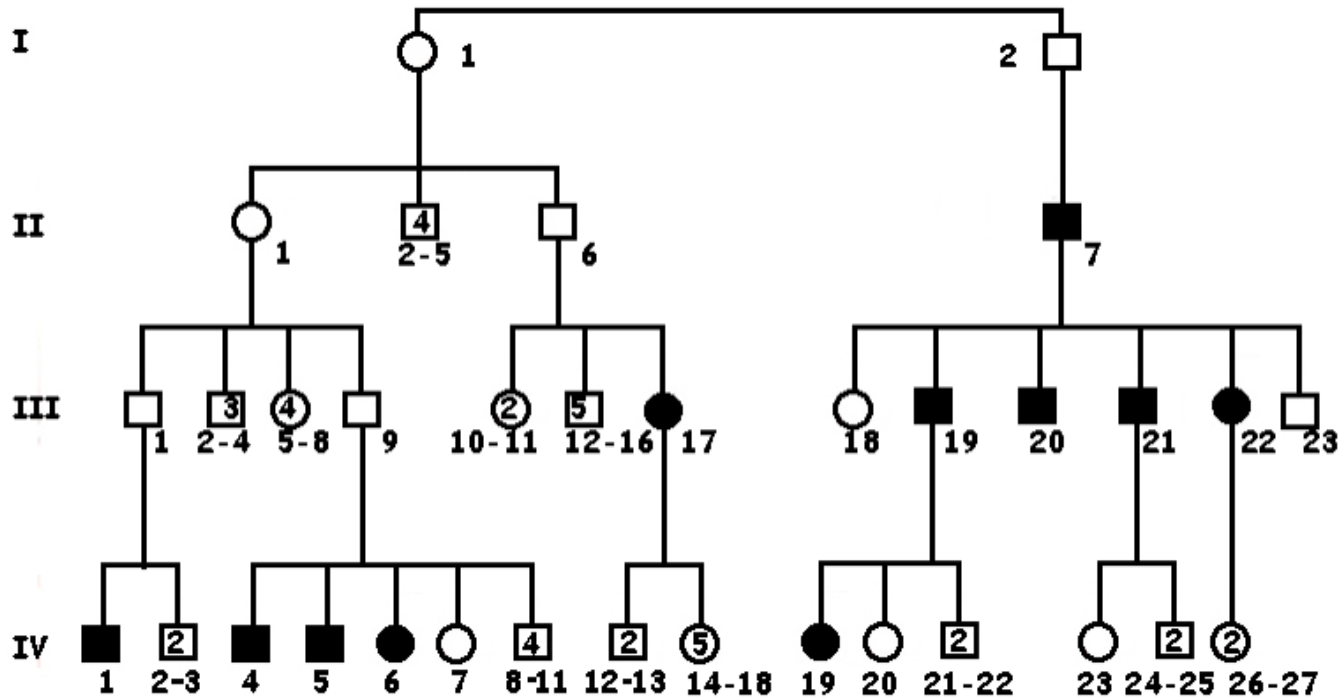




# PROVE DELL' ESISTENZA DELL' IMPRINTING NELL' UOMO

- ◆ **Esistono due patologie umane paragonabili agli zigoti ginogenetici e androgenetici:  
teratomi, 2n cromosomi forniti SOLO dalla madre  
mole idatiforme, 2n cromosomi forniti SOLO dal padre**
- ◆ **I triploidi (3n cromosomi = 69) sono tutti abortivi, ma il fenotipo dei  $2n^P1n^M$  è diverso da quello dei  $2n^M1n^P$ , nei primi si osserva un'iperplasia delle strutture extraembrionarie e assenza dell'embrione vero e proprio, viceversa, nei secondi si hanno strutture extraembrionarie quasi assenti e embrione pressoché normale**
- ◆ **Alcune disomie cromosomiche uniparentali (UPD) (entrambi i cromosomi di una coppia forniti dallo stesso genitore) hanno effetti fenotipici diversi dettati dal sesso del genitore che ha fornito la coppia di cromosomi**

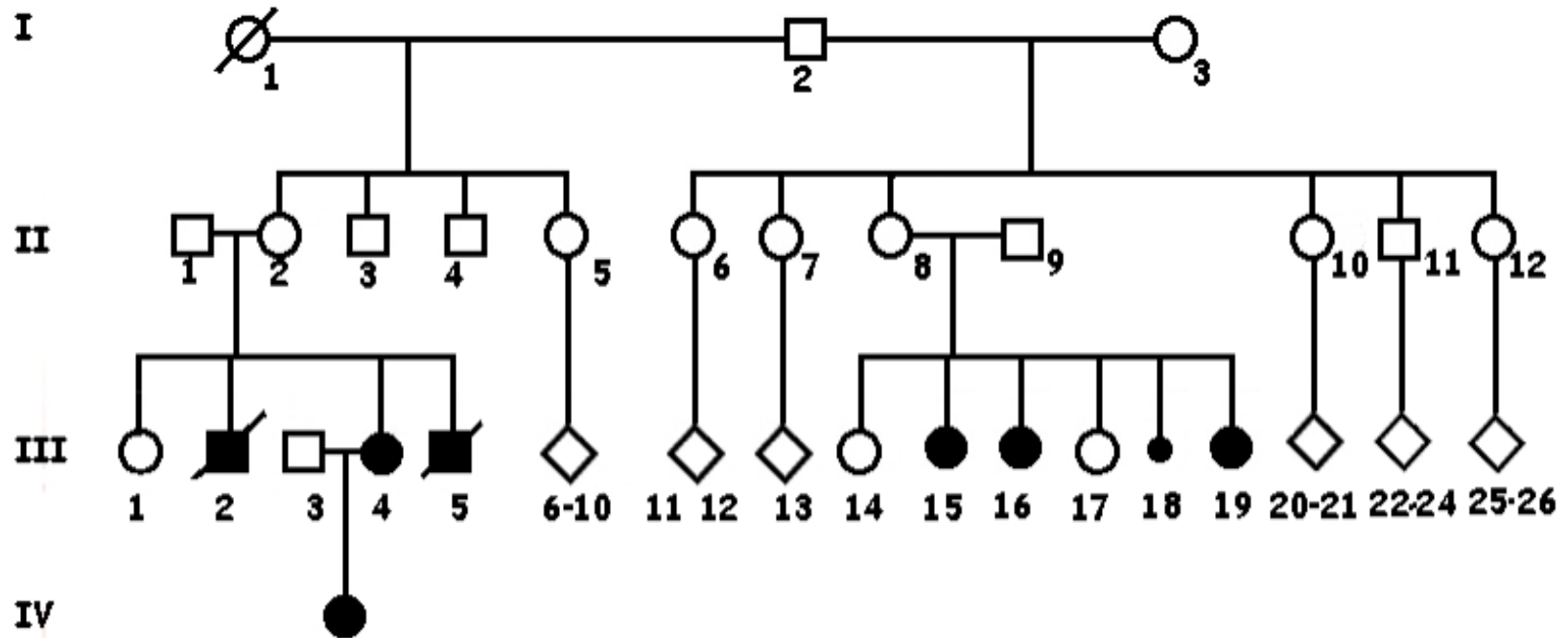
# Imprinting materno



il carattere viene espresso quando ereditato dal padre

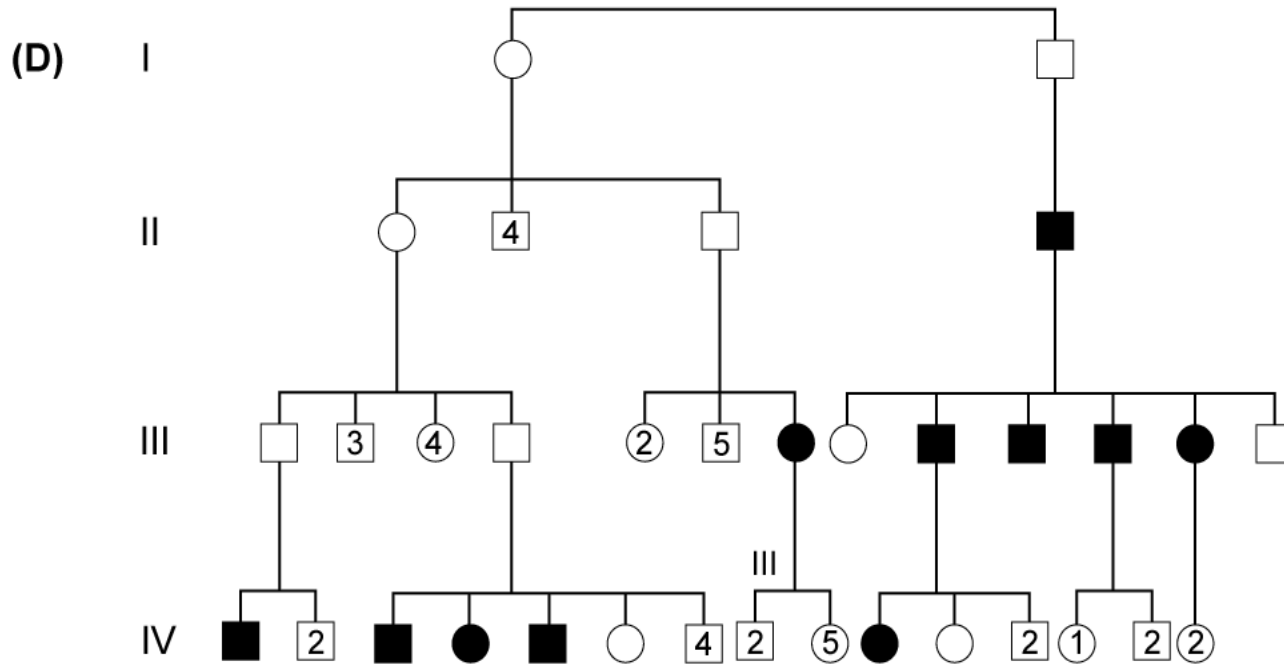
**l'allele materno e' silente**

# Imprinting paterno



**Penetranza elevata quando il locus e' ereditato dalla madre**

allele paterno silente



pedigree di una malattia dovuta ad un gene soggetto ad imprinting materno (è attiva solo la copia fornita dal padre)

il rapporto maschi : femmine tra gli affetti è 1:1, una femmina malata non trasmette MAI la malattia, che può ricomparire però nei suoi nipoti

L'imprinting e' una forma di regolazione genica, che si esprime attraverso meccanismi epigenetici che si attuano nel corso dello sviluppo e della vita dell'organismo.

**Come e quando i genomi parentali vengono “marcati” per consentire ai meccanismi di regolazione di selezionare i diversi alleli ?**



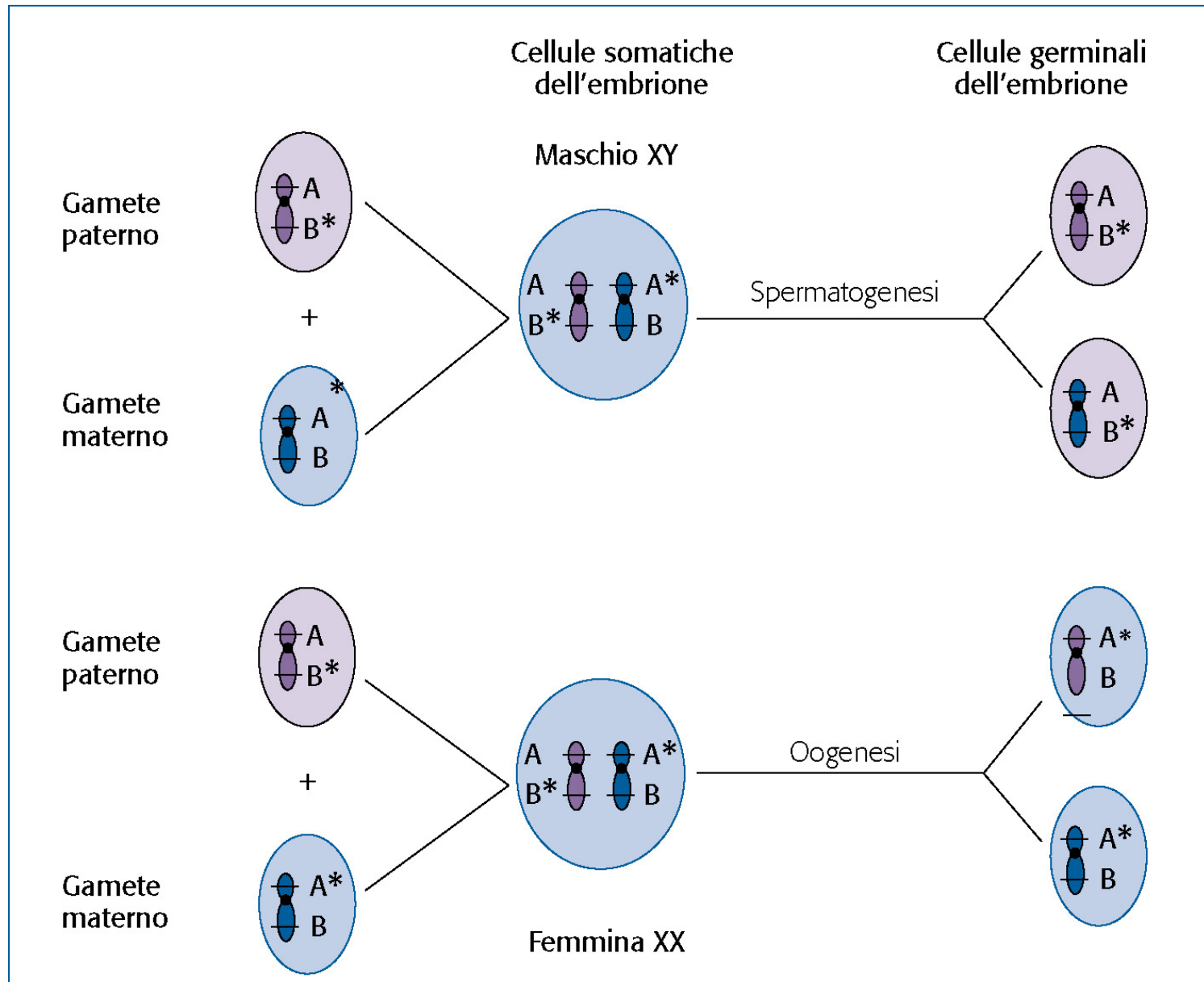
Bisogna ricordare che gli attori di questa azione sono 2:

- ▶ **Il locus su cui l'imprinting agisce**
- ▶▶ **Il locus che ha questa capacita'**

# Imprinting

- **Non e' un cambiamento *permanente* del DNA**
- **Deve essere abolito prima di trasmettere il genoma**
- **Deve essere ripristinato coerentemente al sesso dell'individuo che trasmette**
- **Su questa nuova “etichettatura” agiscono i meccanismi di regolazione genica secondo i pattern previsti per cellule, tessuti.....**

# L' imprinting deve essere resettato ad ogni generazione



Si stima che nell' uomo i geni soggetti a imprinting siano dell' ordine di 200, si trovano sulle seguenti regioni cromosomiche:

6, 7q, 11p, 14q, 15q11-q13, 20

- Of 20-some identified genes, most are involved in
  1. Fetal growth
    - Igf2, IgF2r, H19, Grb1
  2. Brain development
    - Prader-Willi syndrome (PS), Angelman syndromes (AS), Peg1/Mest



# Alcuni geni sottoposti ad imprinting

- Chr1 (p73);
- Chr5 (U2AFBPL);
- Chr6 (MAS1; M6P/IGF2R..);
- Chr7 (GAMMA2-COP..);
- Chr11 (H19;IGF2;INS..);
- Chr13 (HTR2A);
- Chr14 (MEG3/GTL2);
- Chr15 (GABRA5;GABRB3;NDN;PAR1;PAR5;SNRPN;UBE3A)
- Chr18 (IMPACT);
- Chr19 (PEG3);
- Chr20 (GNAS1;NEURONATIN)
- ChrX (XIST).

molto spesso i geni soggetti a imprinting sono riuniti in cluster contenenti geni ‘imprintati’ nella madre e geni ‘imprintati’ nel padre

i due cluster omologhi mostrano metilazione differenziale (ma non sempre la metilazione è a carico dell’ allele non espresso)

nei cluster sono in genere presenti sia geni strutturali (il loro prodotto finale è una catena polipeptidica) sia geni che producono RNA non codificanti

## Perché i geni imprinted sono spesso organizzati in clusters?

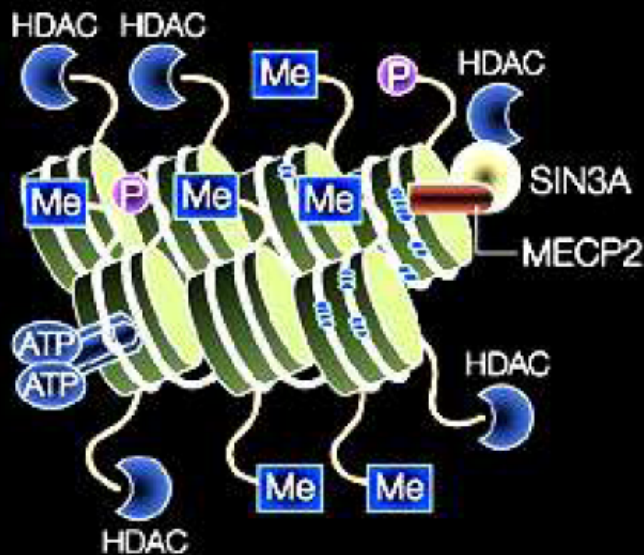
I diversi geni sottostanno al controllo di elementi in cis, “imprint control elements”, che agiscono su grande distanza.

All'interno di ciascun cluster è facile trovare sia geni che mostrano espressione paterna che geni con espressione materna.

Elementi di controllo specifici per l'espressione paterna o materna, IC (responsabili dell'imprinting e del suo mantenimento) sono presenti nelle immediate vicinanze.

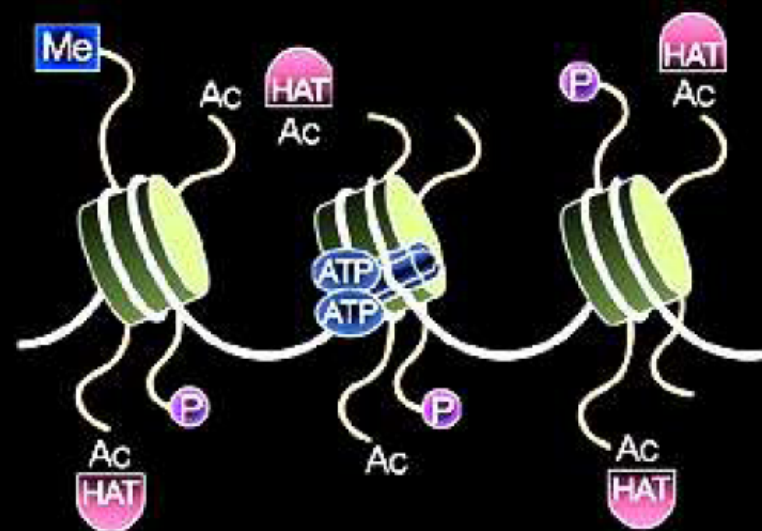
# CONTROLLO EPIGENETICO DELLA TRASCRIZIONE

**a** Closed chromatin: transcriptional repression



DNA methylation  
Histones deacetylation  
H3 K9 and K27 methylation

**b** Open chromatin: transcriptional activation



DNA demethylation  
Histones acetylation  
H3 K4 methylation

Drug Discovery

## Regolazione: come e quando?

la metilazione del DNA è il meccanismo molecolare chiave dell'imprinting

La metilazione marca i geni che devono essere "imprinted" in modo differenziale nella cellula uovo e nello spermatozoo e l'eredità di questa marcatura porta all'espressione genica differenziale

**DMRs** (differential methylated regions): sono determinate nelle cellule germinali e vengono mantenute in tutte le fasi dello sviluppo e nei tessuti; alcune DMRs mostrano cambiamenti durante lo sviluppo e acquisiscono metilazioni tessuto-specifiche associabili all'espressione tessuto-specifica

**l'imprinting genomico cambia in modo caratteristico durante il ciclo della vita di un organismo**

**“erasure”**

**genome-wide-demethylation**

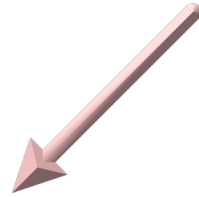
**“establishment”**

**de novo methylation (DNMT3a o b)  
(fasi finali fetali e dopo la nascita)**

**“manteinance”**

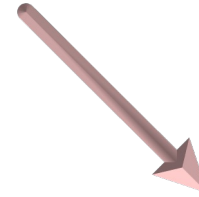
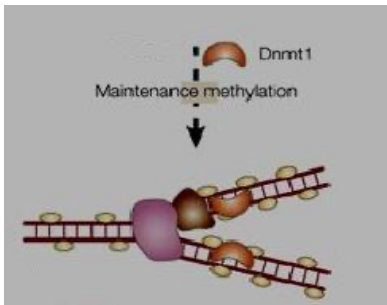
**DNMT1**

# MECCANISMO DI IMPRINTING



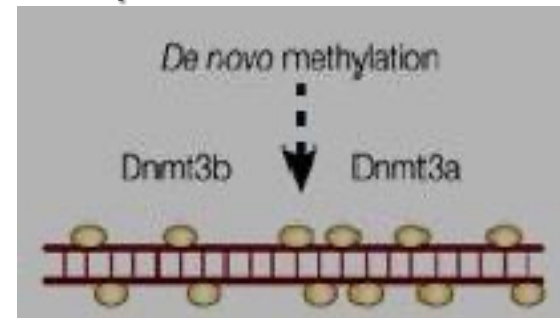
## TESSUTO-SPECIFICO

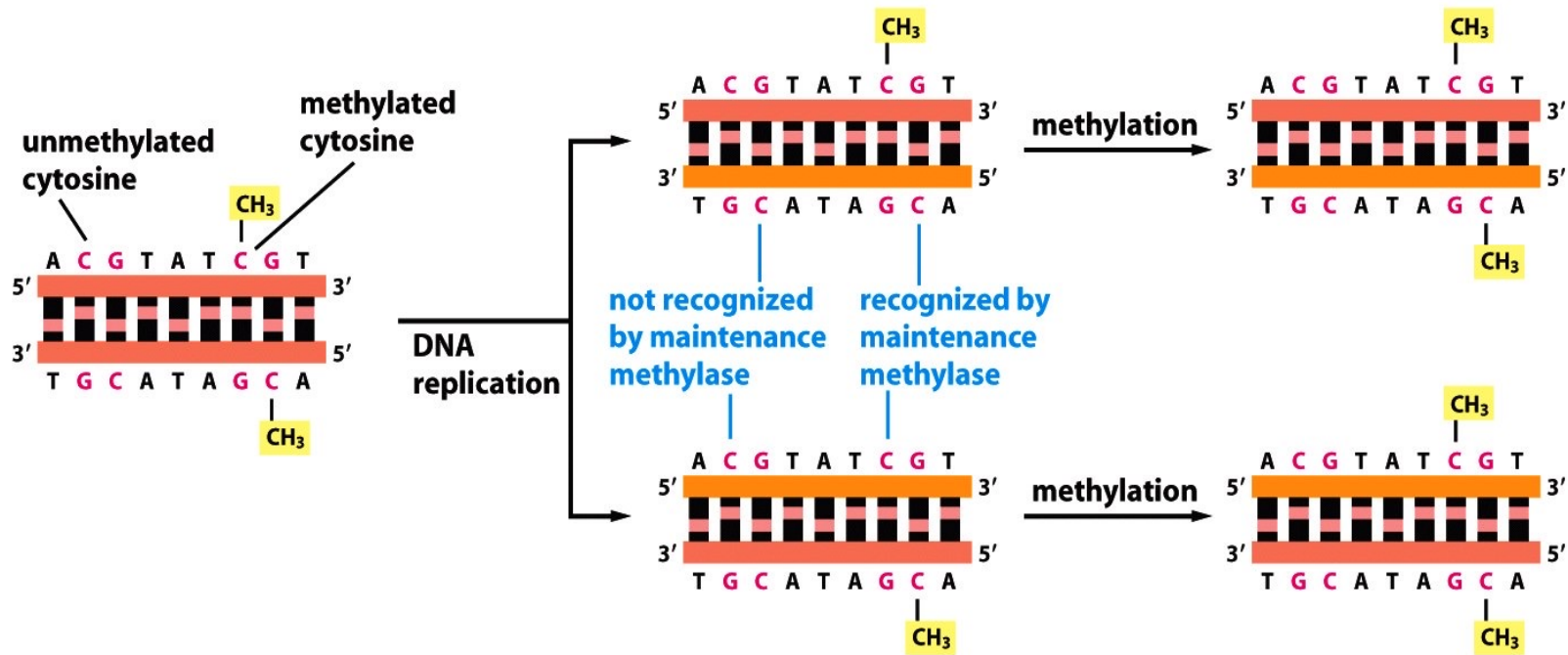
- cellule somatiche
- si trasmette stabilmente per mitosi
- Metiltrasferasi di mantenimento (*Dnmt1*)



## SVILUPPO-SPECIFICO

- gameti
- si instaura ex novo dopo meiosi
- Metiltrasferasi de novo (*Dnmt3a* e *Dnmt3b*)





## L'IMPRINTING DURANTE LA DIVISIONE CELLULARE

La *metiltrasferasi di mantenimento* agisce da stampo sul filamento parentale, per la metilazione del nuovo filamento. Tale schema viene ereditato alle cellule figlie, assicurando in tal modo che nei tessuti differenziati sia mantenuto il profilo di espressione genica appropriato anche nel caso in cui le cellule vengano sostituite o ne siano aggiunte di nuove

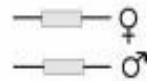
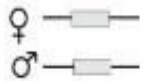


# L'IMPRINTING DURANTE LA GAMETOGENESI

Parents



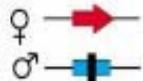
Immature germ cells



Mature germ cells



Offspring



La *metiltrasferasi de novo* rinnova l'imprinting ad ogni generazione : quindi, durante la gametogenesi, l'imprinting viene cancellato e ripristinato successivamente in base al sesso del soggetto

Il gene segue un imprinting paterno

Femmina

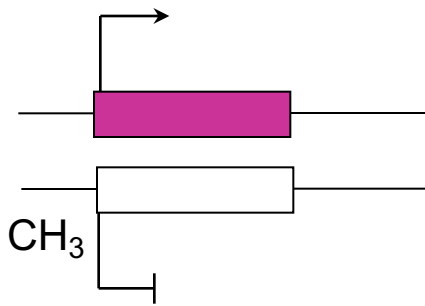
entrambi i geni che trasmette alla progenie NON saranno imprinted (entrambe le copie saranno attive)

Maschio

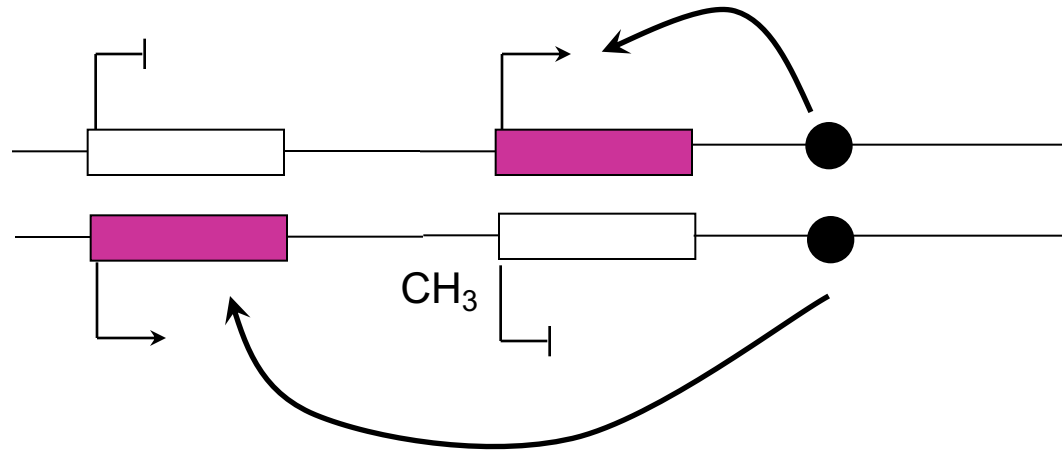
saranno imprinted entrambe le copie (entrambe NON funzionanti)

# Metilazione differenziale degli alleli parentali (DMRs)

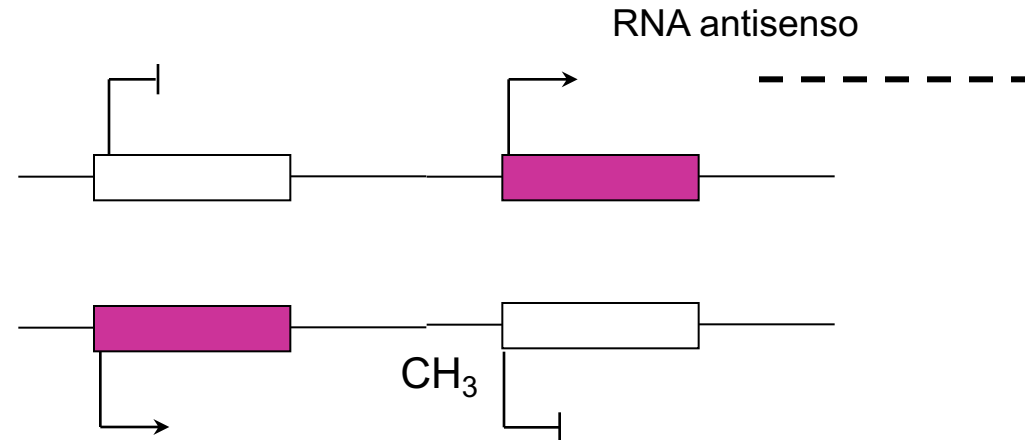
- La **metilazione** influisce sul grado di espressione genica in modo variabile: la metilazione può riguardare la **copia inattiva** o **attiva** del gene (es. gene Igf2).



metilazione diretta del promotore



competizione per l'enhancer

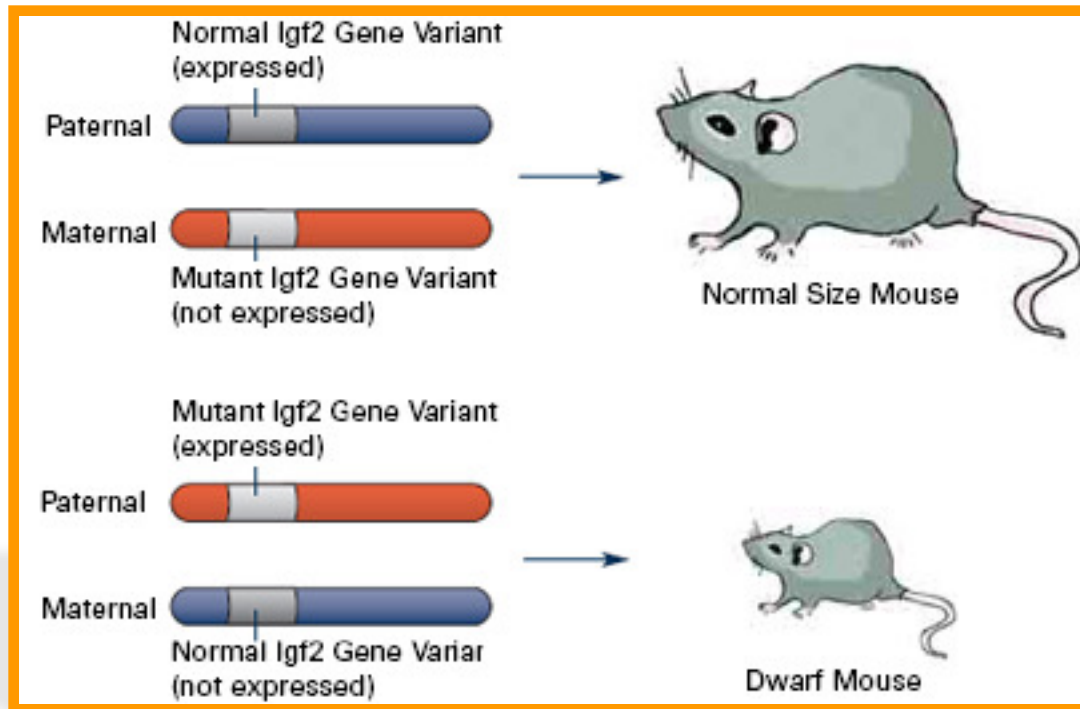


metilazione del gene che produce un RNA antisenso

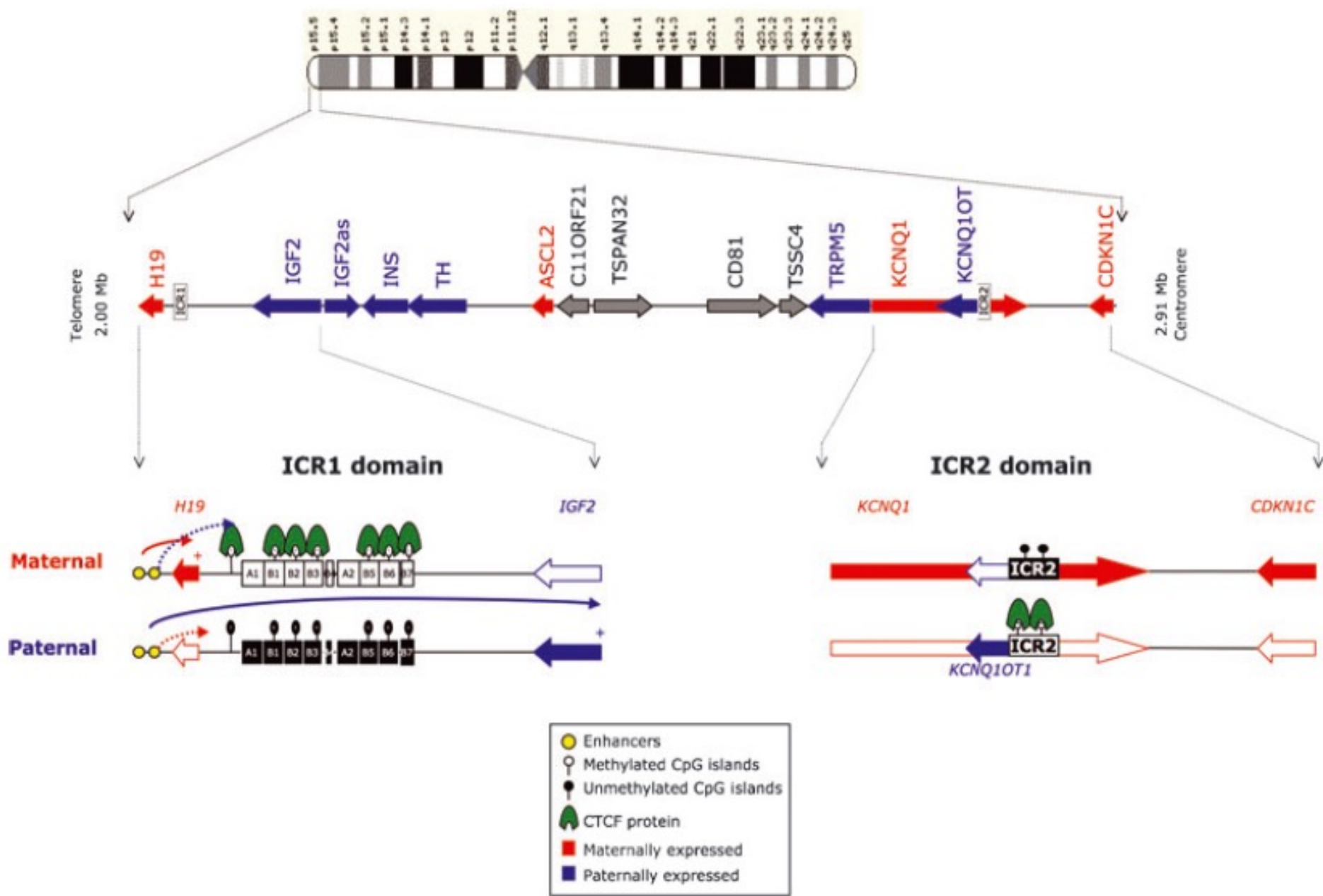
## Fattori coinvolti

- **DNA cytosine methyltransferases (Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b);**
- Methyl-CpG-binding proteins (MECP2);
- Histone acetyltransferase enzymes (GCN5/PCAF);
- ATP-dependent remodelling complexes (ISWI);
- Histone-modification enzymes (H3-K4 methyltransferases, H3-K9 methyltransferases),

Il gene per il fattore di crescita simile all'insulina 2 (Igf-2) è necessario per la crescita prenatale. Topi che non lo esprimono hanno alla nascita metà delle dimensioni di un topo normale. **Soltanto la copia paterna di Igf-2 è trascritta** ed ha importanza per il fenotipo.

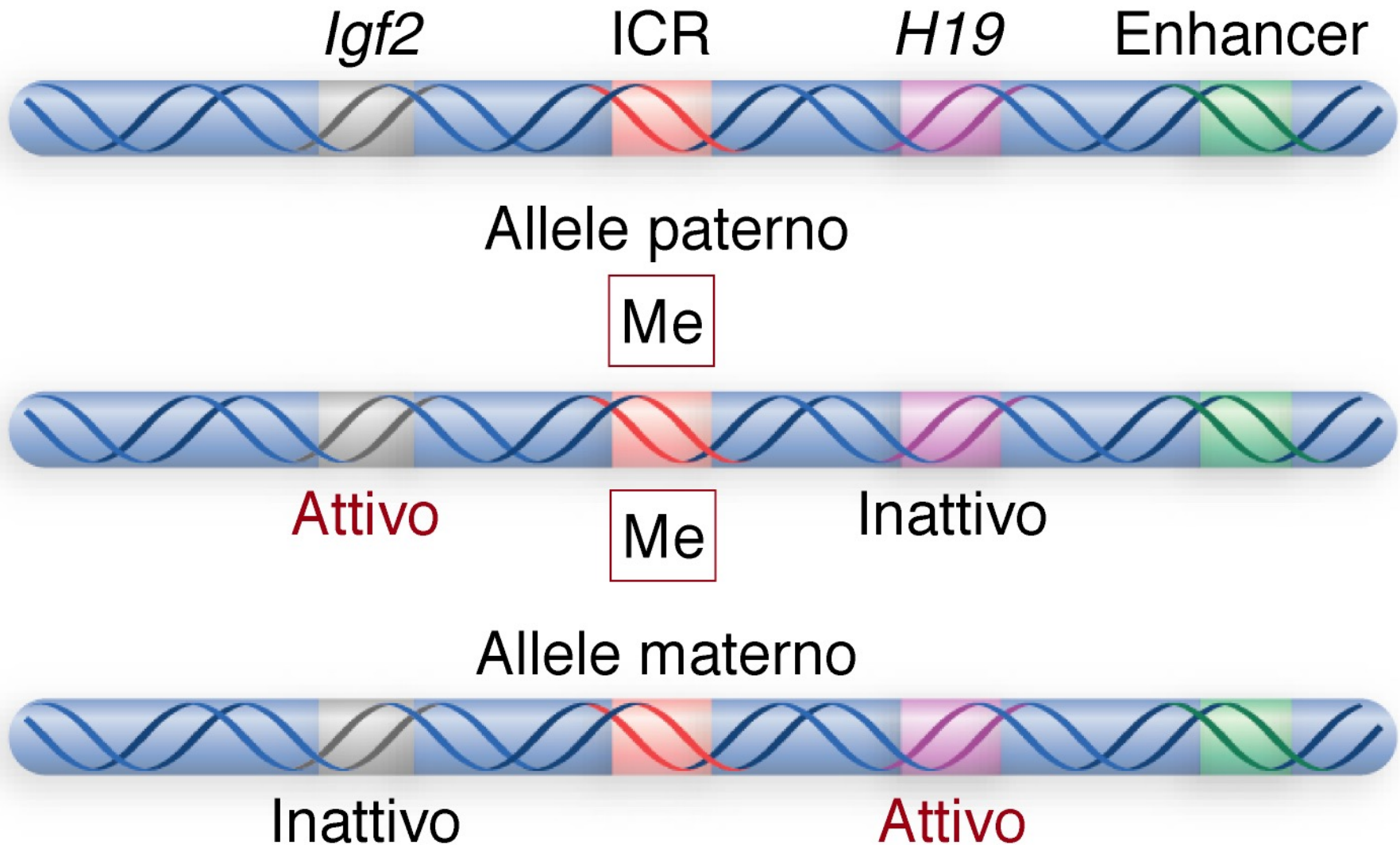


- Topi con un gene **Igf-2 mutato di derivazione paterna sono nani**
- Topi con un gene Igf-2 difettoso di origine materna sono normali



*Fig. 3.* The 11p15 region is organized in two imprinted domains. ICR1 is methylated (black lollipops) on the paternal allele and binds the CTCF protein on the unmethylated (white lollipops) maternal allele; ICR2 is methylated on the maternal allele and produces a non coding RNA (*KCNQ10T1*) from the paternal allele. For clarity, histone marks are not represented.

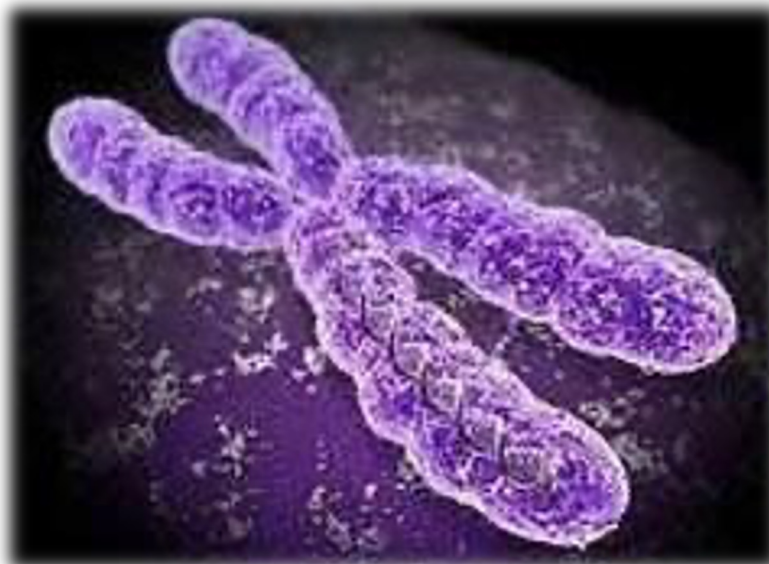
# La metilazione della ICR controlla *Igf2* e *H19*





## L'**ISOLATORE** IMPEDISCE AGLI ENHANCER DI INATTIVARE GENI INAPPROPRIATI

Nella maggior parte dei casi la metilazione silenzia l'espressione del gene. In alcuni casi, però, l'imprinting può attivare la funzione di un gene. Nel caso di Igf-2 la metilazione di un elemento isolatore sul cromosoma di derivazione paterna ne blocca la funzione e permette ad un enhancer distante di attivare la trascrizione del gene Igf-2. Sul cromosoma di derivazione materna l'isolatore non è metilato e il gene Igf-2 non è trascritto.



L'imprinting agisce a livello trascrizionale: è infatti nota l'esistenza di geni regolatori che controllano quali geni vadano accesi e quali spenti.

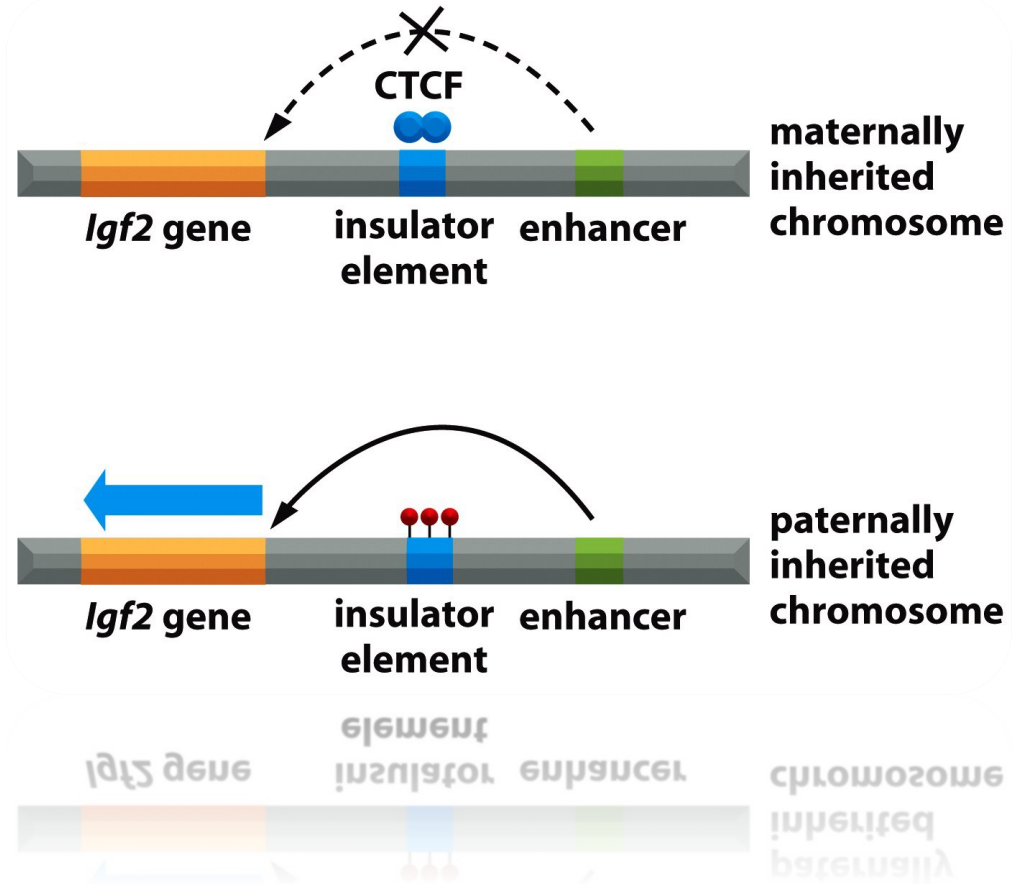


# LA PROTEINA *CTCF*

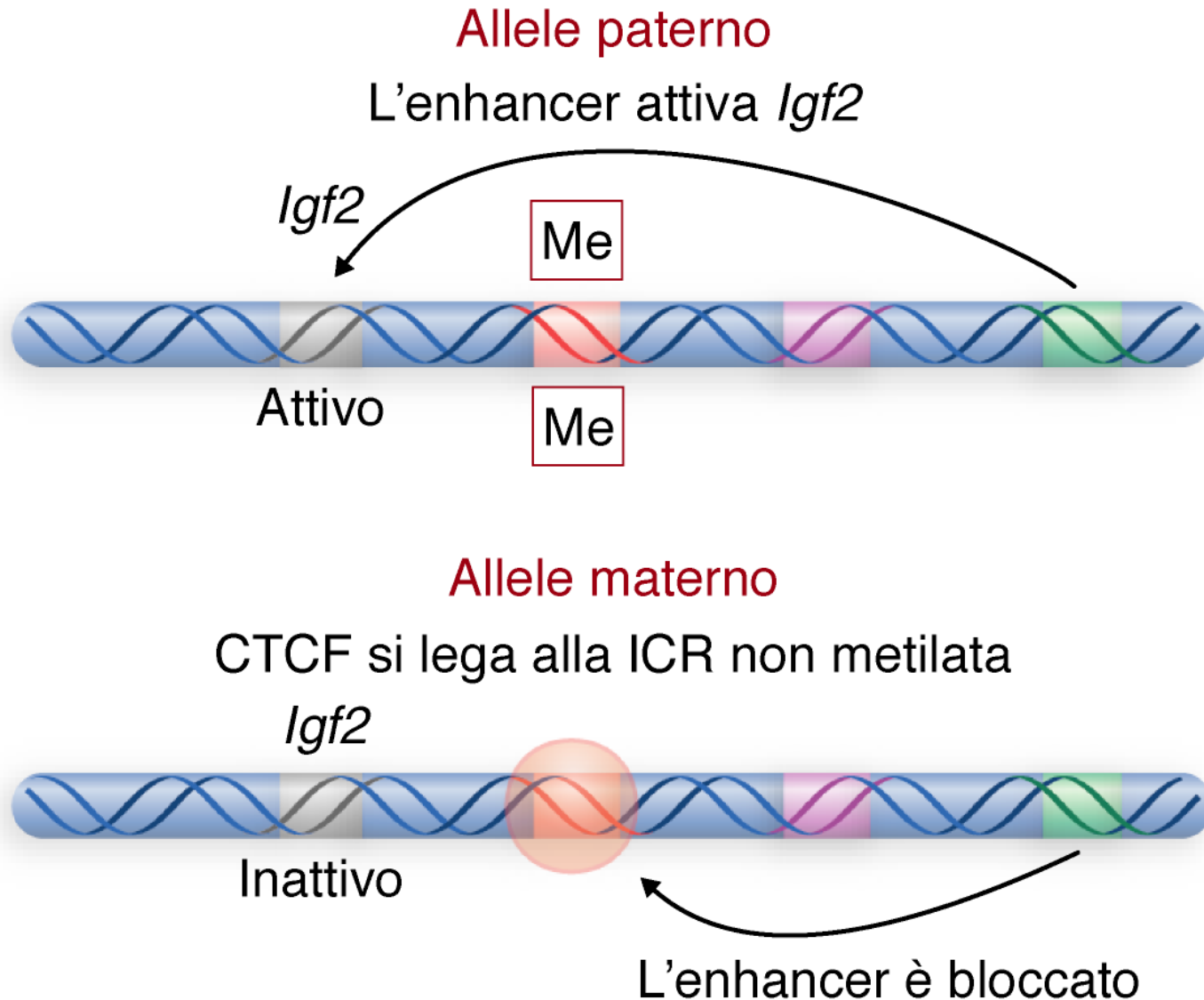
Sui cromosomi ereditati dalla **femmina**, la proteina CTCF si lega ad un isolatore, **bloccando l'interazione** fra l'enhancer e l'Igf-2, che non è quindi espresso.

CCCTC binding factor with 11 zinc fingers

A causa dell'imprinting, l'isolatore sul cromosoma ereditato dal padre è metilato, ciò lo rende inattivo bloccando l'attacco della proteina CTCF, e permette pertanto all'enhancer di attivare la trascrizione del gene Igf-2.



# *Igf2* è inattivo quando la proteina si lega all'ICR



# What is Beckwith-Wiedemann syndrome?

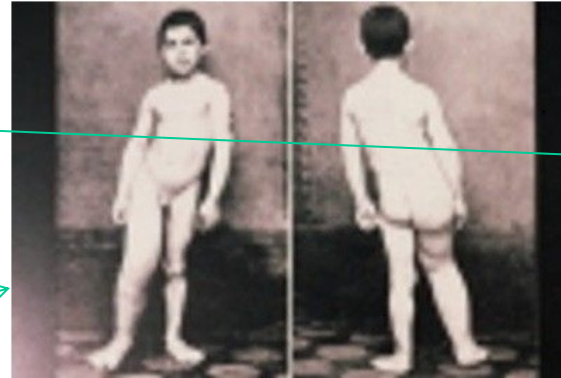
Table 7 Diagnostic criteria for Beckwith-Wiedemann syndrome\*

## Primary criteria

- Macroglossia (97%)
- Overgrowth (88%)  
(length, weight: 90th-97th centile)
- Abdominal wall defects (80%)  
(omphalocele > umbilical hernia > diastasis recti)

## Other criteria

- Hypoglycemia (54%)
  - Hemihyperplasia (14%)
  - Ear lobe grooves/posterior helical pits (63%)
  - Midface hypoplasia (85%)
  - Nevus flammeus (54%)
- COHEN JR., M.M.



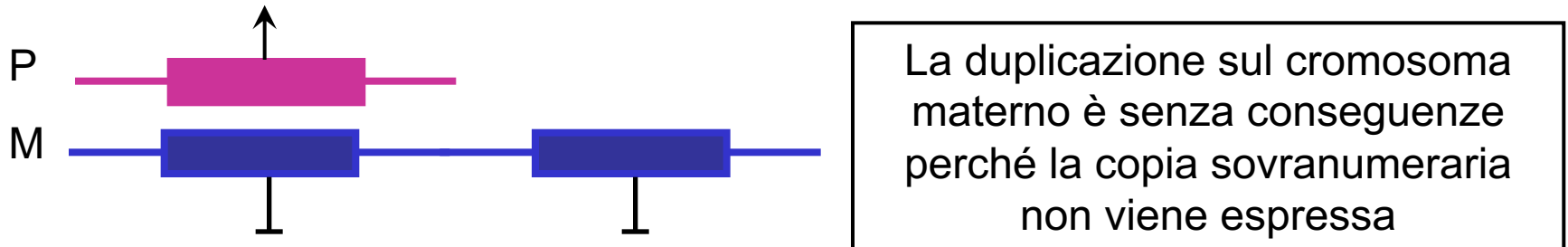
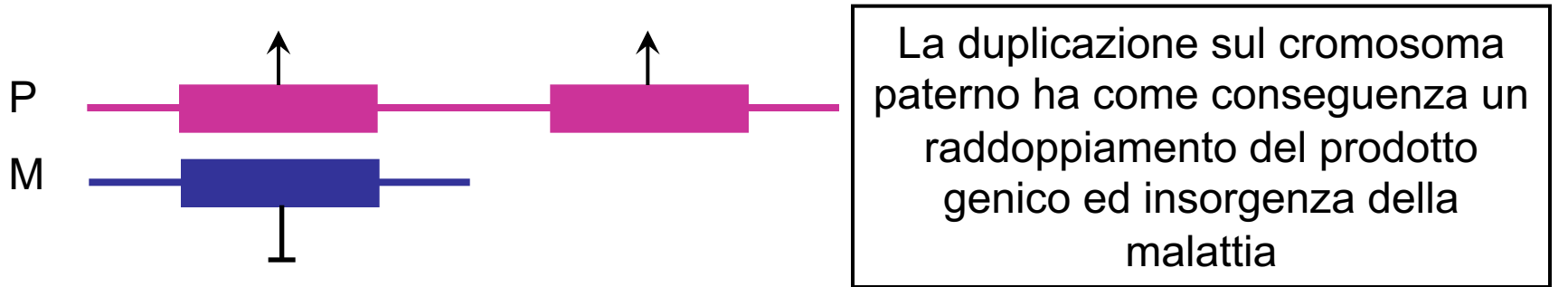
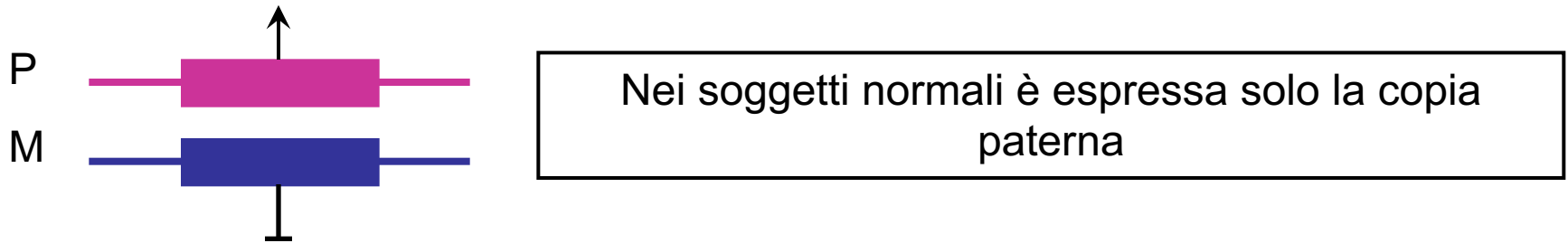
[http://beckwith-wiedemannsyndrome.org/graphics/uploadfile/1276/dia\\_0025a.jpg](http://beckwith-wiedemannsyndrome.org/graphics/uploadfile/1276/dia_0025a.jpg)



- 1-13,000 or 1-15,000

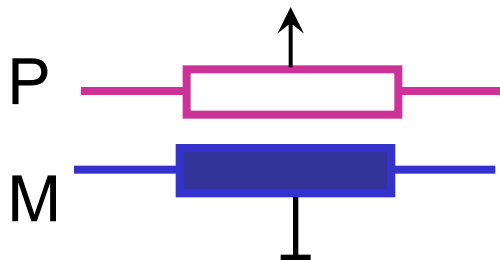
## Sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS) (1)

Malattia dovuta a un gene soggetto a imprinting materno (è attiva solo la copia fornita dal padre) causata da acquisizione di funzione. Il gene mappa in 11p15

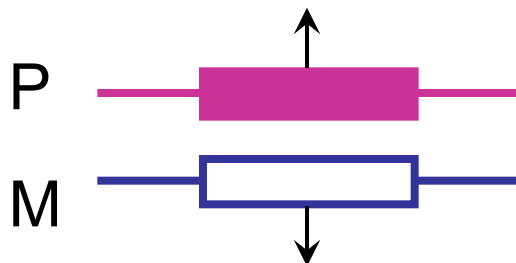


## Sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS) (2)

Una mutazione nel centro di imprinting impedisce il silenziamento del gene in cis



La mutazione è sul cromosoma paterno → non si hanno conseguenze fenotipiche perché la copia che non può essere spenta è comunque destinata ad essere espressa



La mutazione è sul cromosoma materno → l'individuo è malato perché ha due copie attive del gene

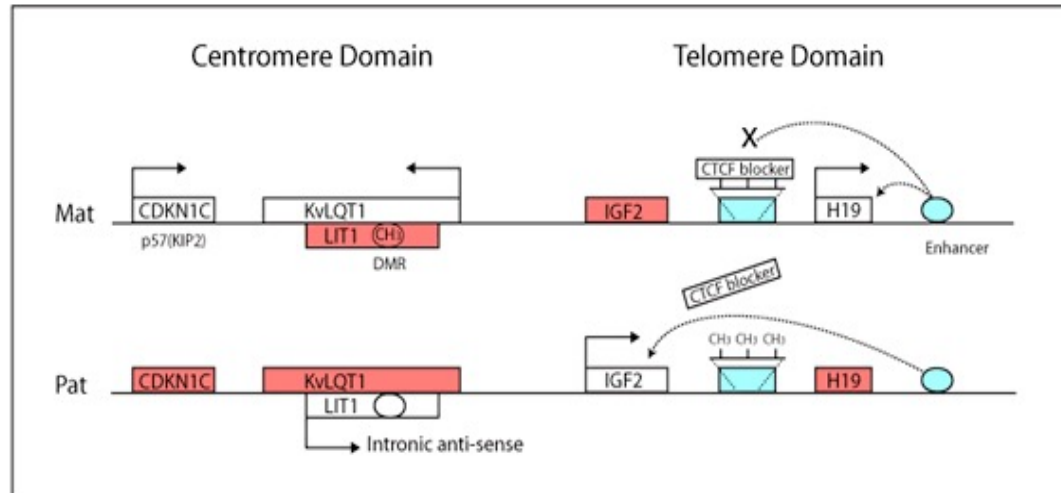
# Silver Russel Syndrome

Silver–Russell syndrome (SRS) is characterised by intrauterine growth restriction, poor postnatal growth, relative macrocephaly, triangular face, asymmetry and feeding difficulties. As many of these features are non-specific, clinical diagnosis of SRS remains difficult. Hypomethylation of the imprinting control region (ICR) 1 on chromosome 11p15 and maternal uniparental disomy (mUPD) for chromosome 7 are found in up to 60% and around 5–10% of patients with SRS, respectively. Patients with ICR1 hypomethylation are more likely to have classical features of SRS, including asymmetry; patients with mUPD7 are more likely to have learning difficulties, particularly speech problems, although these are usually mild. As features vary widely in severity, clinicians should have a low threshold for genetic investigation of patients with features suggestive of SRS.

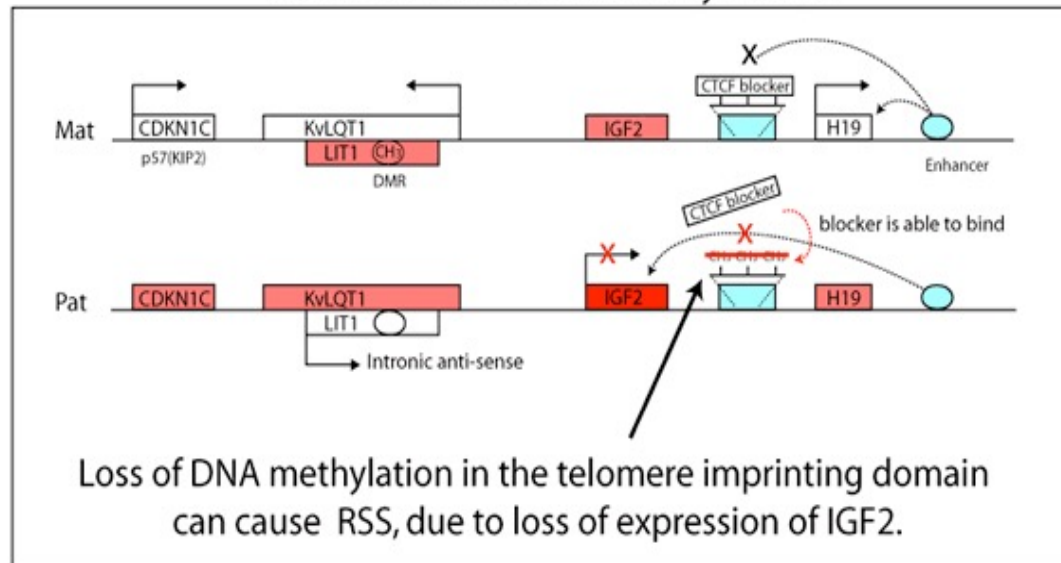


# Sindrome di SRS

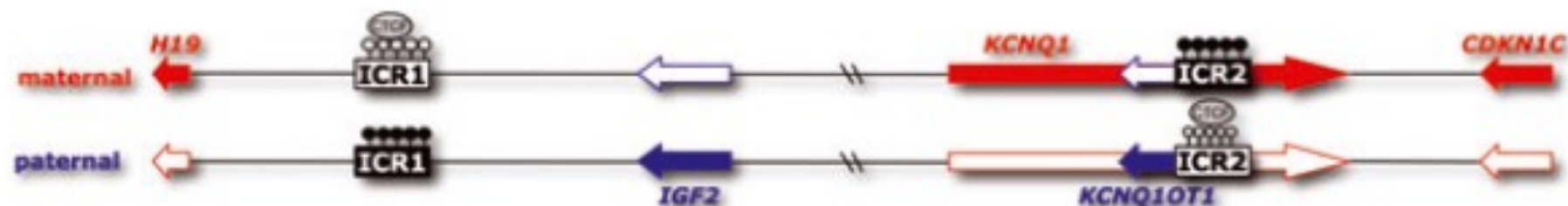
Normal



Abnormal in Russell-Silver Syndrome







**Silver-Russell syndrome**

**Defects of the whole 11p15 domain**

Maternal unbalanced translocations 1% [reviewed in (4, 38)]  
 maternal isodisomy: exceptional (49)

**Defects of the ICR1 domain**

- ICR1 loss of DNA methylation 60%
- > *trans*-acting mechanism: 10%  
 Multilocus Hypomethylation Disorder (64,67)  
 no *ZFP57* mutations (8)  
 no *MBD3* mutations (15)  
 no *CTCF*/*BORIS* mutations (16)
- > *cis*-acting mechanism: rare  
 maternal ICR1 microduplications: exceptional (32)  
 enhancers deletions: unknown frequency (48)  
 no segmental UPiD (32)

**Defects of the ICR2 domain**

maternal ICR2 duplications (41,42)  
 no segmental UPiD (32)



## IMPRINTING CROMOSOMA 15

La mancanza di un imprinting genetico corretto che coinvolge i geni del cromosoma 15 causa



SINDROME DI  
ANGELMAN



SINDROME DI  
PRADER-WILLI

Due sindromi complesse che influenzano lo stato ormonale, il metabolismo e la capacità di movimento.

# Prader-Willi Syndrome

- 1 in 15,000 live births
- mostly sporadic
- deletion at 15 q11-q13
- diagnosis at 2 years
- obesity, short, small hands/feet, unusual facial features, mild mental retardation
- compulsive overeaters



Prader Willi Syndrome- Due to paternal chromosome deletion

# Angelman Syndrome

–Angelman Syndrome- maternal chromosome deletion

- 1 in 25,000 live births
- mostly sporadic
- 80 % have deletion at 15q11-q13:
- Speech impairment
- None or minimal use of words
- Receptive and non-verbal communication skills higher than verbal ones
- Movement or balance disorder, usually ataxia of gait
- Behavioral uniqueness: any combination of frequent laughter/smiling; apparent happy demeanor
- easily excitable personality, often with hand flapping movements; hypermotoric behavior; short attention span

A



PW



microbrachicefalia  
lingua protrusa all'esterno  
spazio tra i denti  
ritardo mentale grave  
riso ingiustificato  
epilessia

**Aspetti clinici:**

mani e piedi piccoli  
ipogonadismo  
obesità  
ritardo mentale medio  
facies caratteristica  
problemi  
comportamentali

# LA GENETICA DELLE MALATTIE DI PRADER-WILLI E DI ANGELMAN

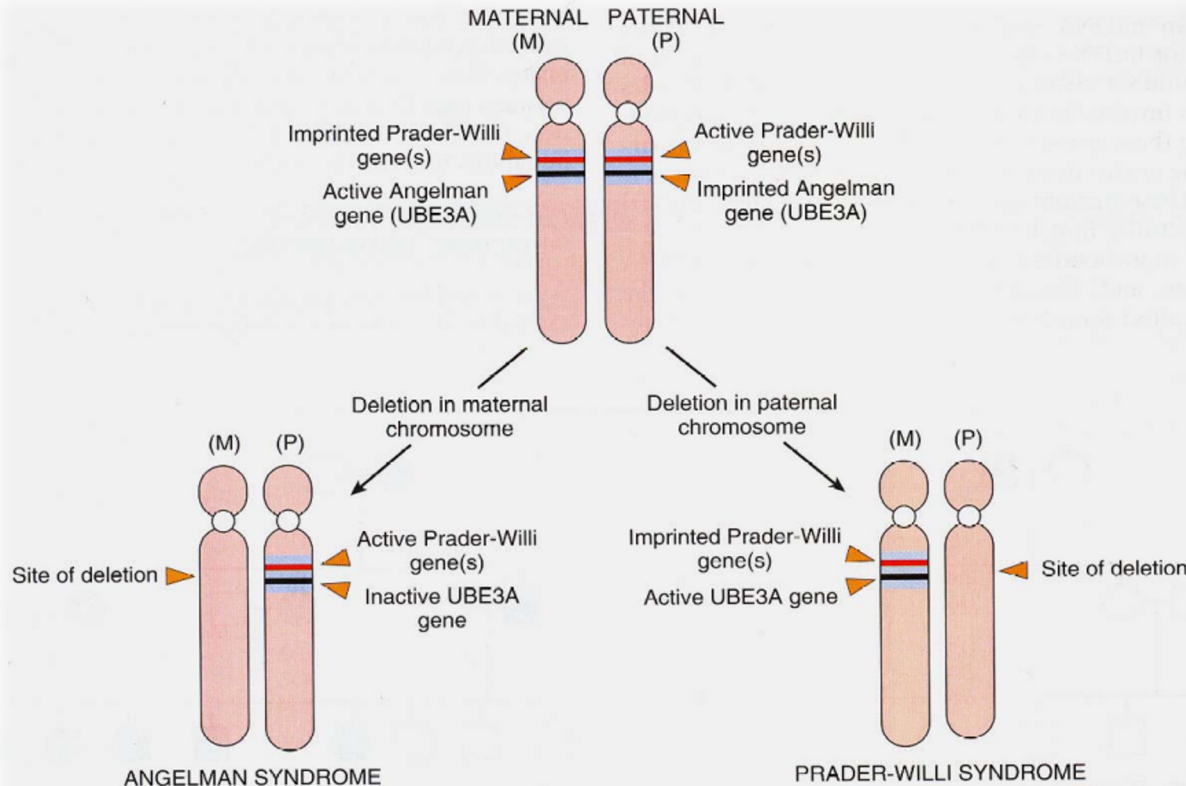


FIGURE 5-36 Diagrammatic representation of Prader-Willi and Angelman syndromes.

Le due malattie sono di solito causate da una **microdelezione** che colpisce il braccio lungo del cromosoma 15 ma, **mentre nella PWS il cromosoma colpito è quello di origine paterna**, nella **AS è quello di origine materna**. Il fatto che le due malattie siano clinicamente molto diverse è imputabile al fatto che i geni presenti in quella stessa regione genomica

sono espressi diversamente nei cromosomi ereditati dall'uno o **dall'altro genitore**. **Mentre la AS è causata dalla mancata espressione del solo gene UBE3A**, la PWS è **causata dalla mancata espressione di più geni**.

# Cromosoma 15

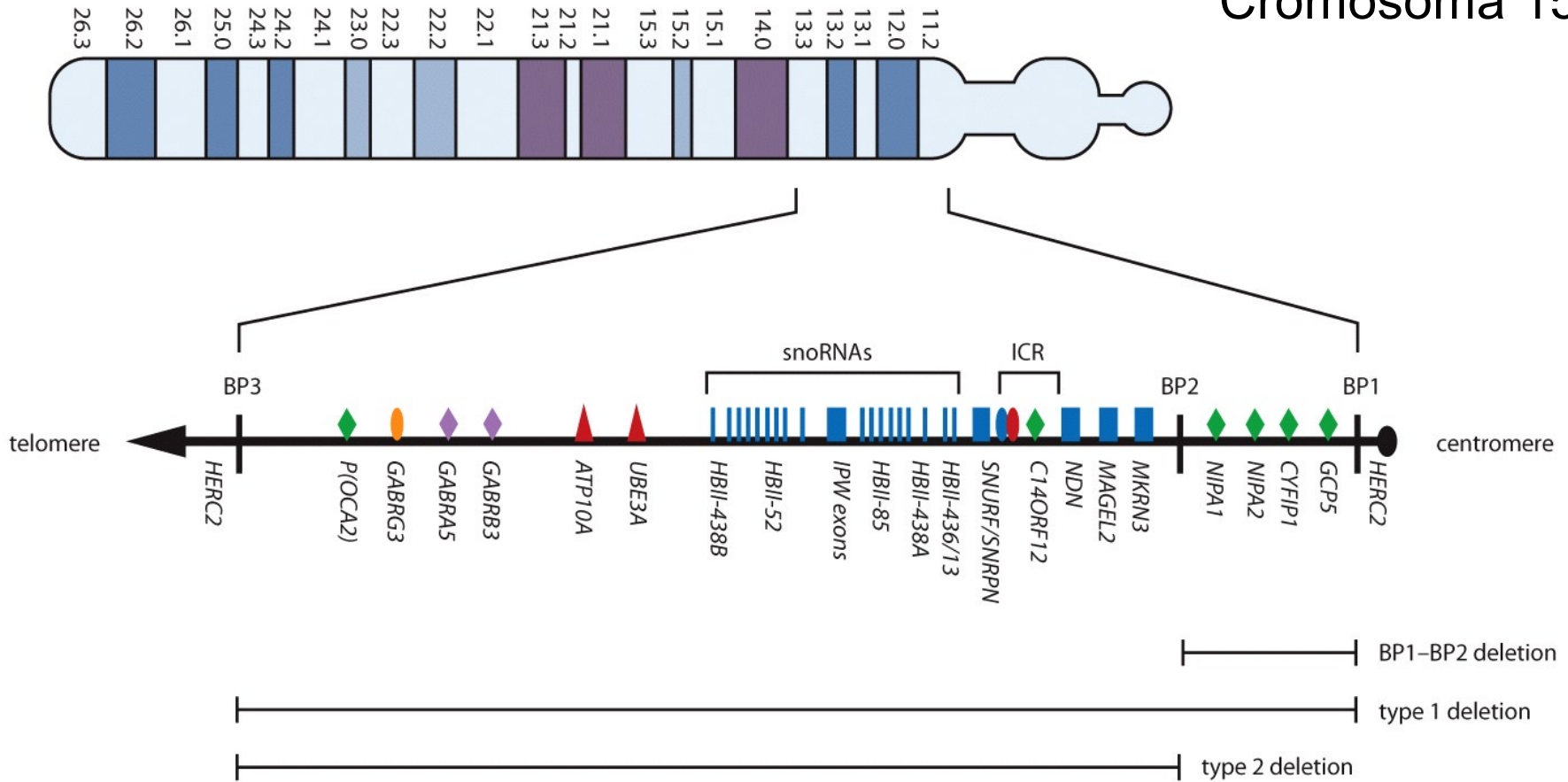


Figure 14.1 Epigenetics (© Garland Science 2014)

Localizzazione dei punti di rottura (da BP1 a BP3) tipici delle delezioni coinvolte nelle sindromi di Prader-Willi e Angelman.

-  : trascritti espressi per via materna, coinvolti nella Angelman
-  : trascritti espressi per via paterna, coinvolti nella Prader-Willi

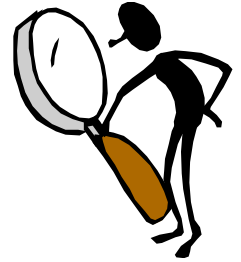
**Sindrome di Prader-Willi (PWS) - malattia dovuta ad assenza della funzione del 'gene' PWS (si tratta di vari geni che per semplicità vengono qui considerati come un unico gene), 'gene' soggetto ad imprinting nella madre (è espressa solo la copia fornita dal padre) che mappa in 15q11-13**

**Sindrome di Angelman (AS) - malattia dovuta ad assenza della funzione del gene AS (Specifically mutation of UBE3A gene), gene soggetto ad imprinting nel padre (è espressa solo la copia fornita dalla madre) che mappa in 15q11-13, cioè nella STESSA regione del 'gene' PWS**

**Entrambe le malattie possono essere dovute a:**

- 1. delezione dell'intera regione cromosomica 15q11-13;**
- 2. disomia uniparentale (UPD) (materna nella PWS, paterna nella AS);**
- 3. errore di imprinting;**
- 4. solo per la sindrome di Angelman: mutazione nella copia materna del gene AS**

# ALTRI LOCI "IMPRINTED"



☞ CROMOSOMA 6 in 6q24 (diabete mellito neonatale transitorio)

☞ CROMOSOMA 7 IN 7q (Russell-Silver Syndrome RSS)

☞ CROMOSOMA 11 IN 11q (Beckwith-Wiedemann Syndrome BWS)

☞ CROMOSOMA 14 IN 14q23 (sindrome polimalformativa da disomia uniparentale)



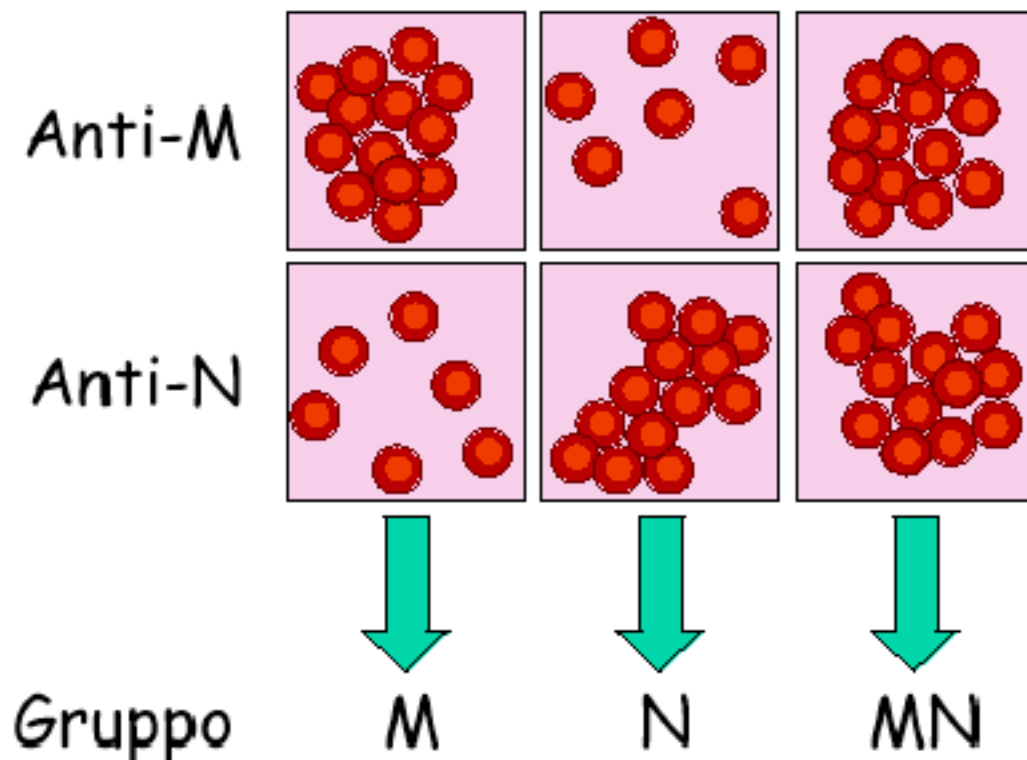
# Interazione tra alleli: Co-dominanza

Il locus MN codifica per uno degli antigeni presenti sui globuli rossi

## GRUPPO SANGUIGNO MN

Landsteiner e Levine, ai primi del 1900,  
avevano scoperto che  
i globuli rossi umani presentano  
un polimorfismo antigenico  
rispetto a due antisieri,  
detti **anti-M** e **anti-N**.

I globuli rossi umani di un individuo vengono agglutinati dai due antisieri con una di tre distinte modalità e pertanto classificati in "gruppi"

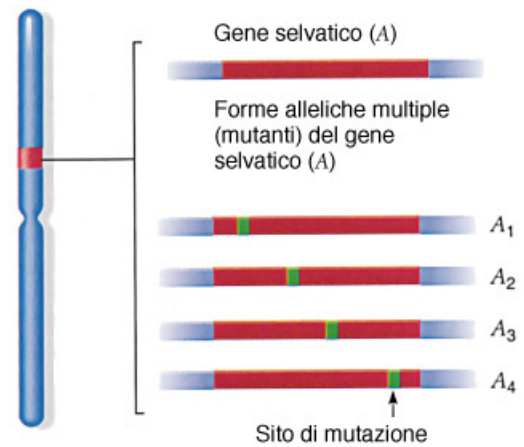


Gli alleli che determinano il gruppo sanguigno MN sono due,  $L^M$  e  $L^N$  e sono co-dominanti

Genotipi	Fenotipi
$L^M L^M$	M
$L^N L^N$	N
$L^M L^N$	MN

# Alleli Multipli

**Figura 12.1**  
Forme alleliche di un gene.



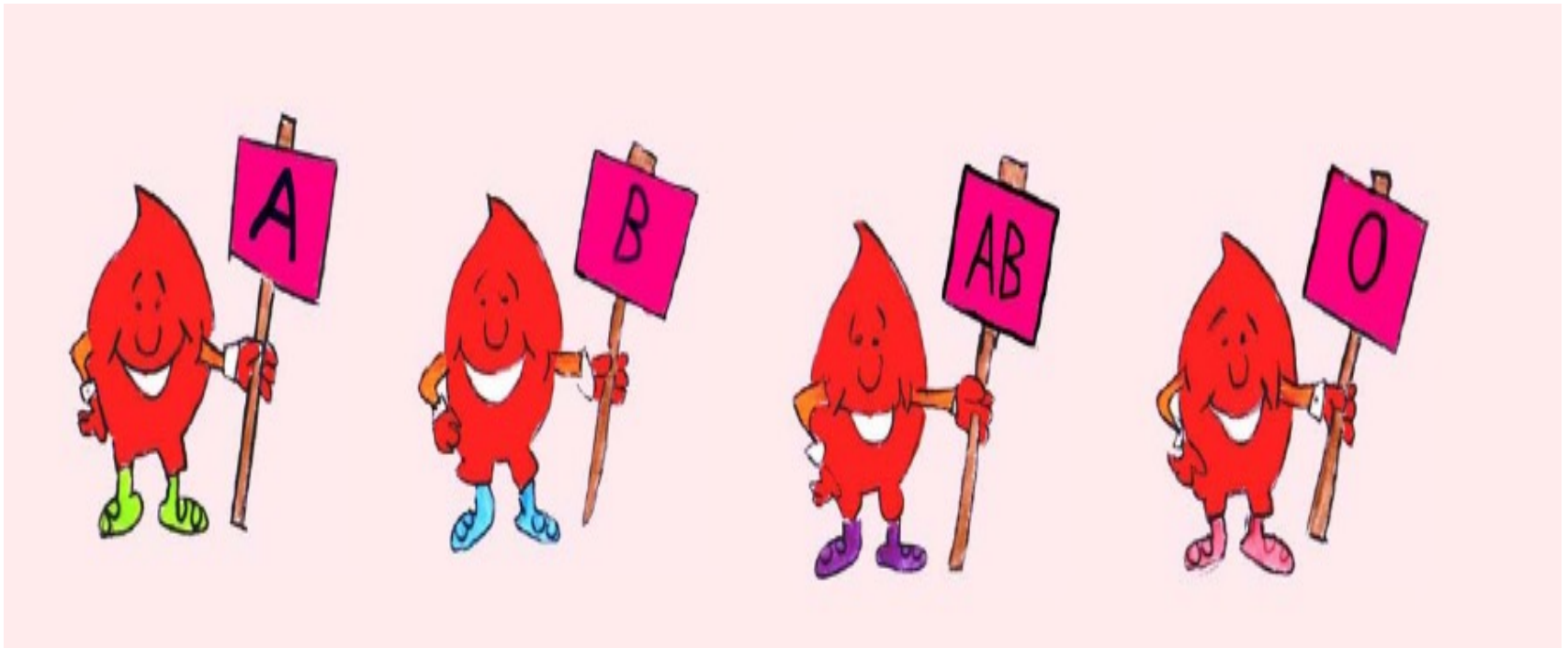
# La storia: Karl Landsteiner

- 1901: Mescolando sangue e siero di pazienti diverso identificò i gruppi AB0.

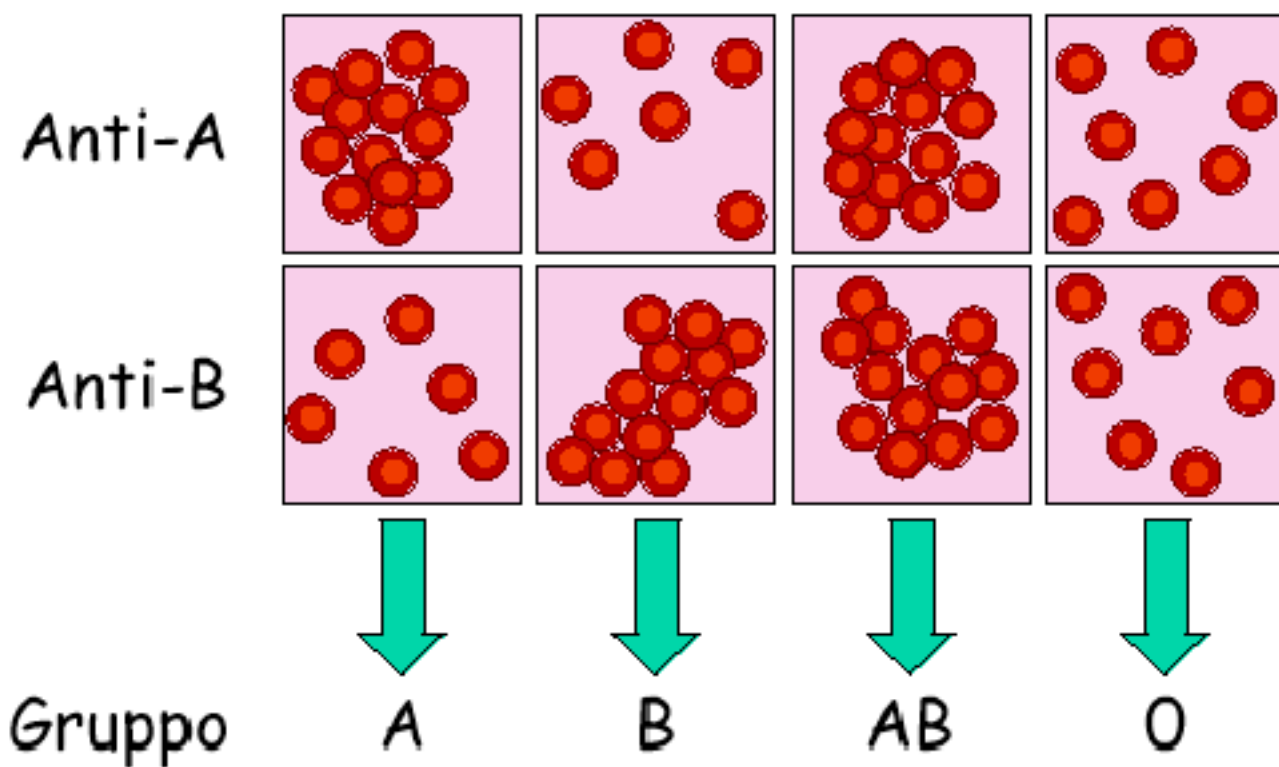


<http://www.nobelpreis.org/castellano/medizin/images/landsteiner.jpg>

**Nell'uomo sono noti  
quattro gruppi sanguigni:**



I globuli rossi umani di un individuo vengono agglutinati dai due antisieri con una di quattro distinte modalità e pertanto classificati in "gruppi"





# I gruppi sanguigni

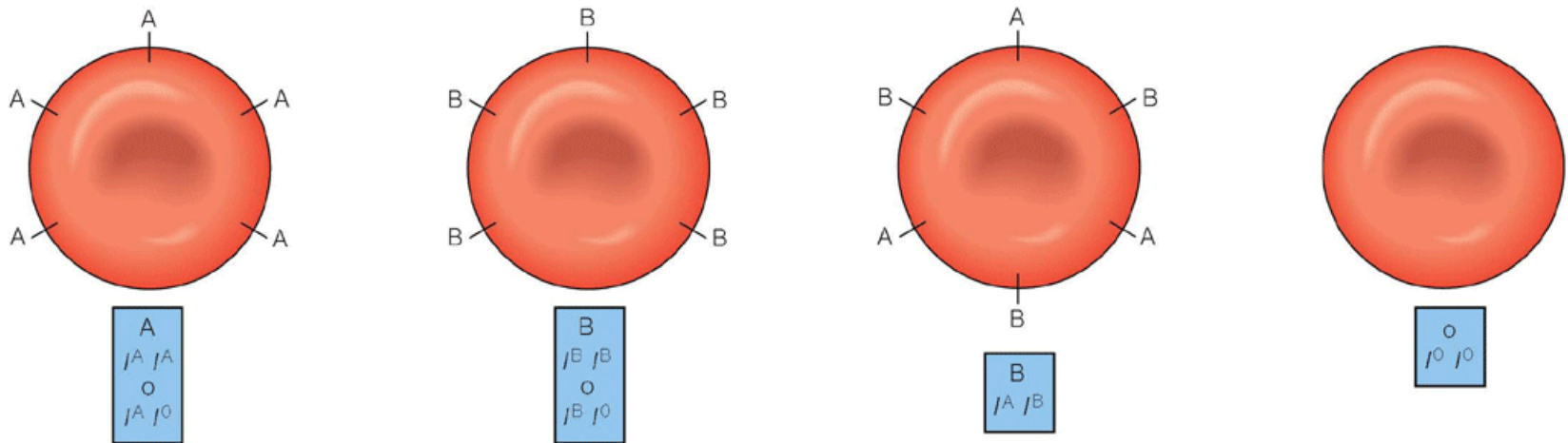
I gruppi sanguigni vengono distinti in base alla presenza o meno, **sul globulo rosso**, di determinate sostanze dette **antigeni**, e di determinate **agglutinine plasmatiche**

# Perchè è importante?

- E' l'unico sistema in cui, in assenza dell'antigene, sono attesi gli anticorpi corrispondenti
- Sia che siano IgG o IgM , gli anticorpi ABO attivano con efficienza il complemento
  - Questo significa che la trasfusione di emazie ABO incompatibili è in grado di causare reazioni emolitiche catastrofiche
- La compatibilità ABO è quindi il fondamento dei test pretrasfusionali

Il locus ABO (cr. 9)  
ha tre alleli maggiori ( $I^A$ ,  $I^B$  e  $i$ ).  
 $I^A$  differisce da  $I^B$  per 4 nucleotidi,  
mentre  $i$  non ha prodotto genico.  
I due enzimi corrispondenti  
sono **glicosil-trasferasi**  
che trasferiscono, rispettivamente,  
N-acetil-galattosamina, o galattosio.

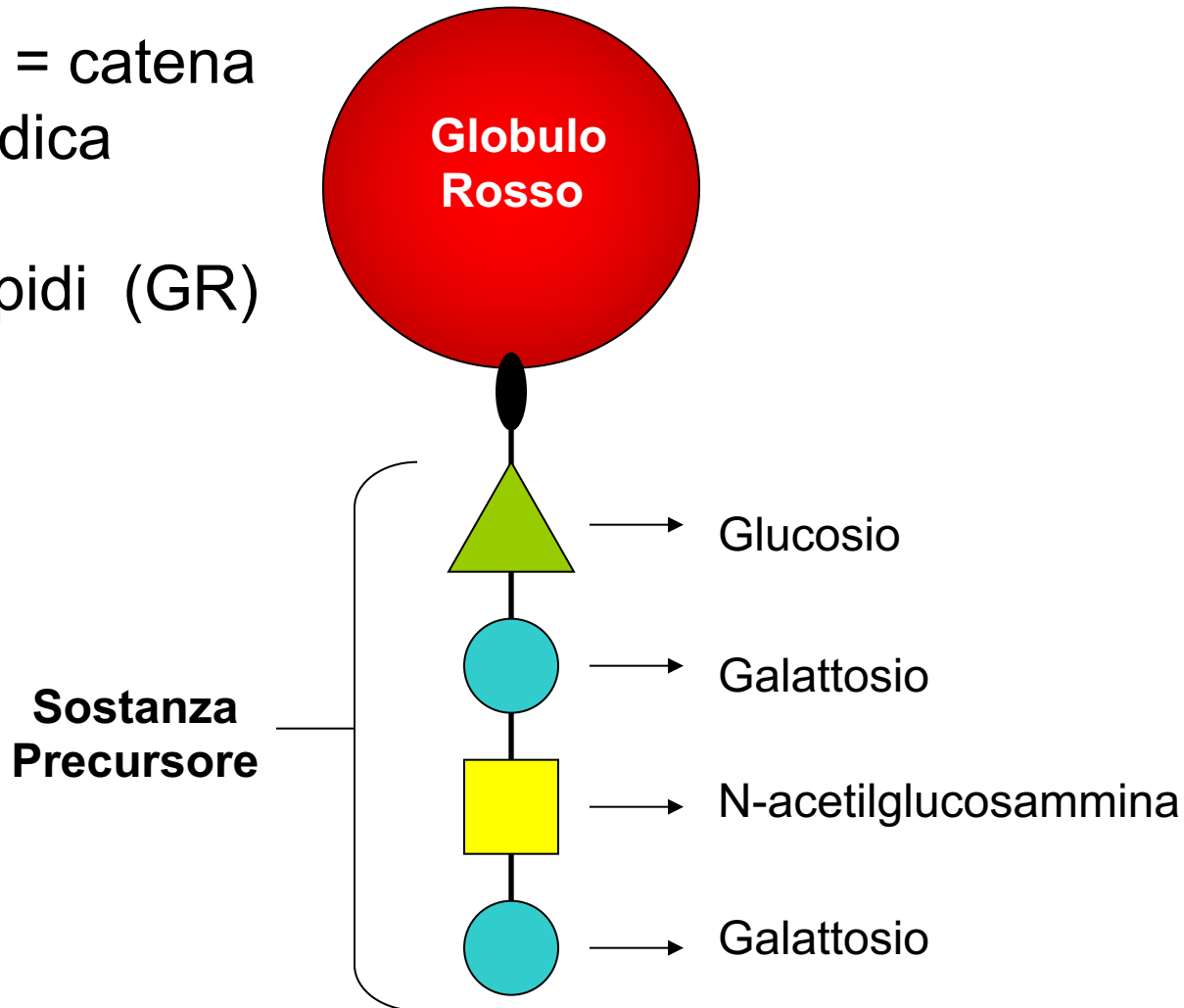
I = isoagglutinina



▲ **FIGURA 3.19** Ogni allele di un gene co-dominante è pienamente espresso nell'eterozigote. Il gruppo sanguigno A presenta gli antigeni A sulla superficie delle cellule e il gruppo B presenta gli antigeni B. Nel gruppo AB, sia gli antigeni A che quelli B sono presenti sulla superficie delle cellule. Gli alleli  $I^A$  e  $I^B$  del gene  $I$  sono co-dominanti. Nel gruppo sanguigno O non è presente alcun antigene. L'allele  $I^O$  è recessivo rispetto sia all'allele  $I^A$  che all'allele  $I^B$ .

# La molecola di base su cui vengono “costruiti” gli antigeni A, B e H è detta “**Precursore**”

**Precursore** = catena  
oligosaccaridica  
legata a  
glicosfingolipidi (GR)



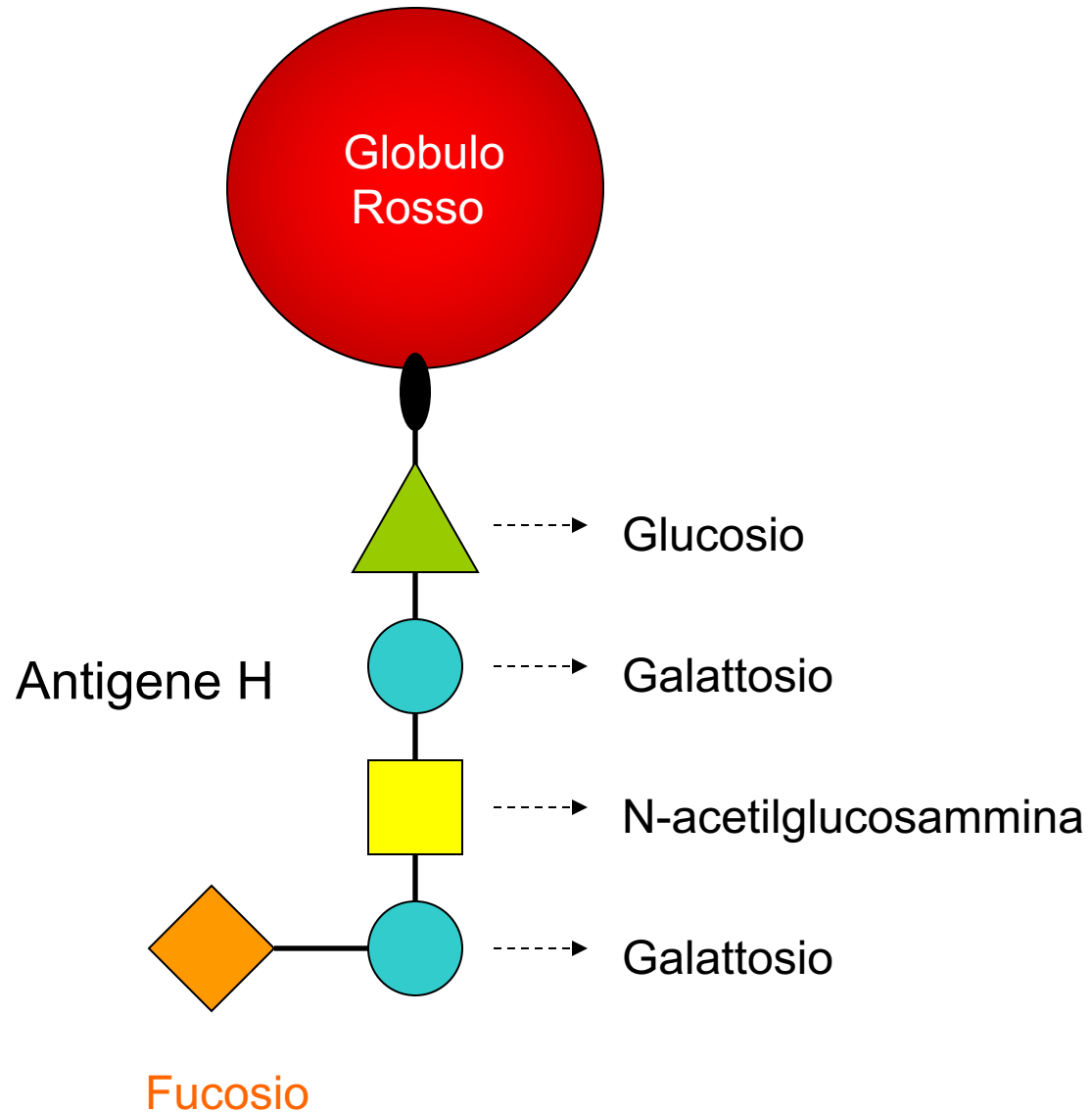
Mediante l'aggiunta di uno zucchero alla sostanza **precursore** viene ottenuto **l'antigene H**

Questa è la base su cui si costruiscono gli **antigeni A e B**.

I geni *I<sup>A</sup>* e *I<sup>B</sup>* codificano per **enzimi** che aggiungono uno **zucchero immunodominante** all'antigene H.

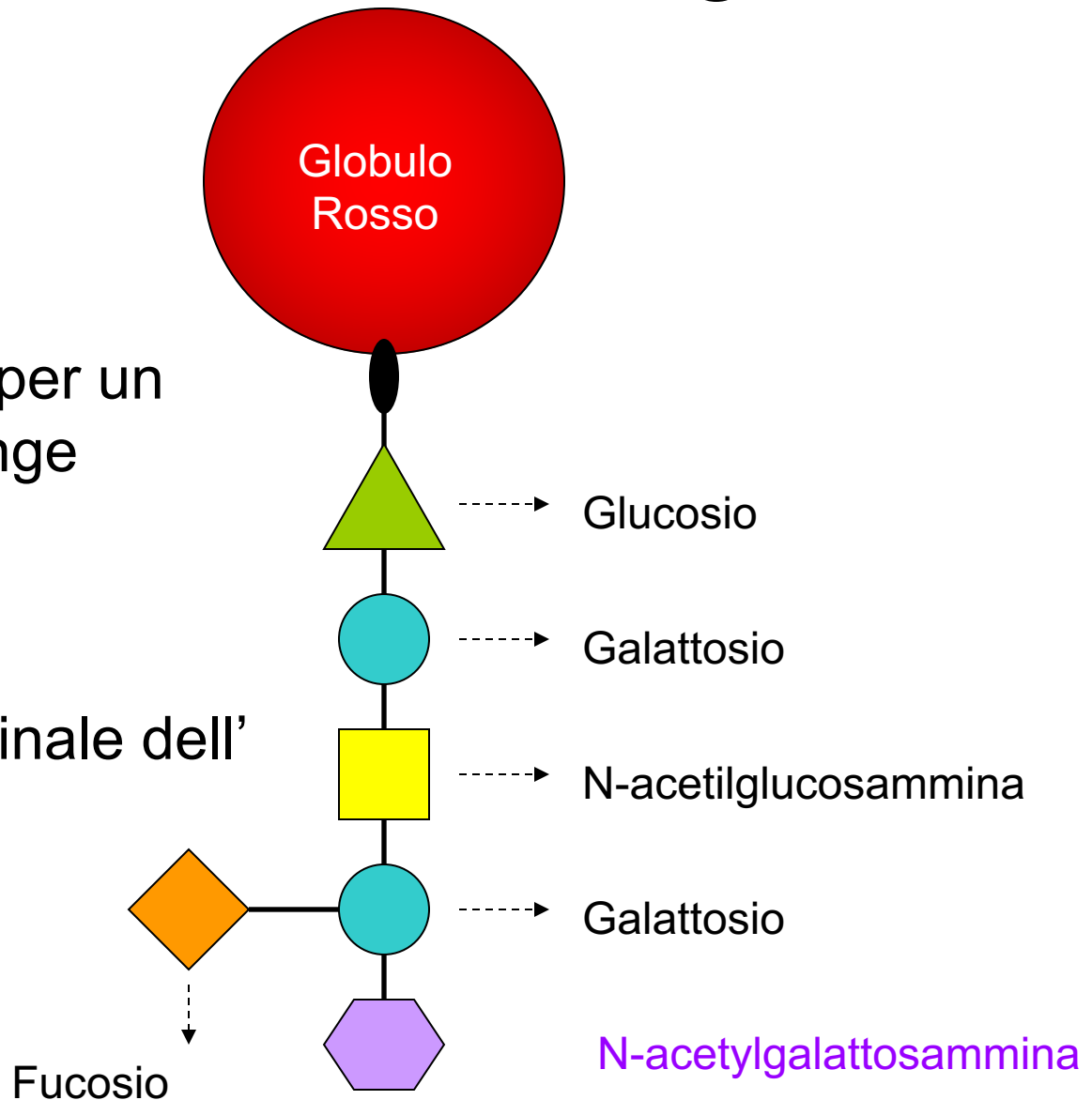
# Formazione dell'antigene H

Il **gene H** codifica per un enzima che aggiunge uno zucchero (**Fucosio**) allo zucchero terminale della sostanza precursore. La struttura biochimica costituisce l'[Antigene H](#).



# Formazione dell'Antigene A

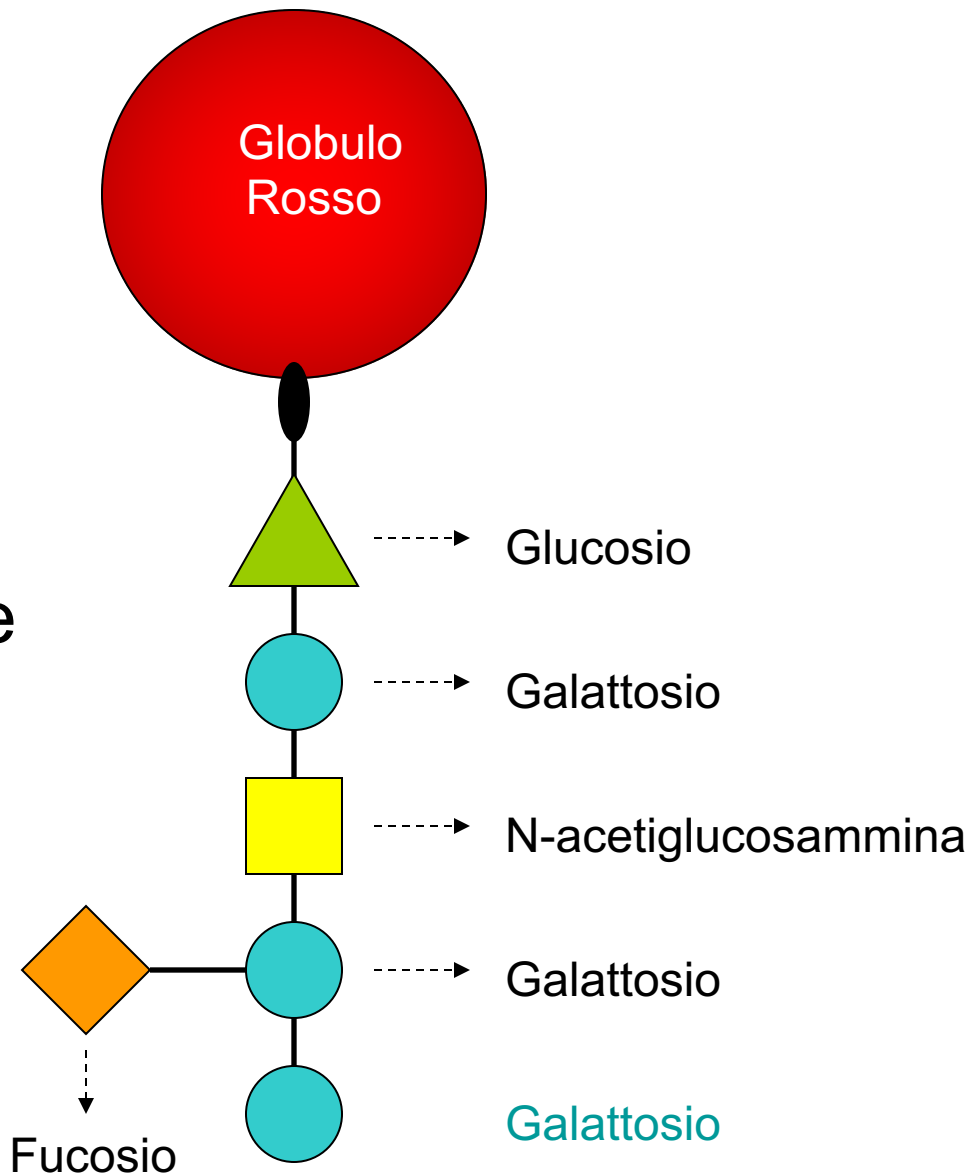
Il **gene IA** codifica per un enzima che aggiunge **GaINAc** (N-Acetil-D galattosammina) allo zucchero terminale dell'**Antigene H**





# Formazione dell'antigene B

Il gene **IB** codifica per un enzima che aggiunge **D-Galattoso** allo zucchero terminale dell' **Antigene H**.

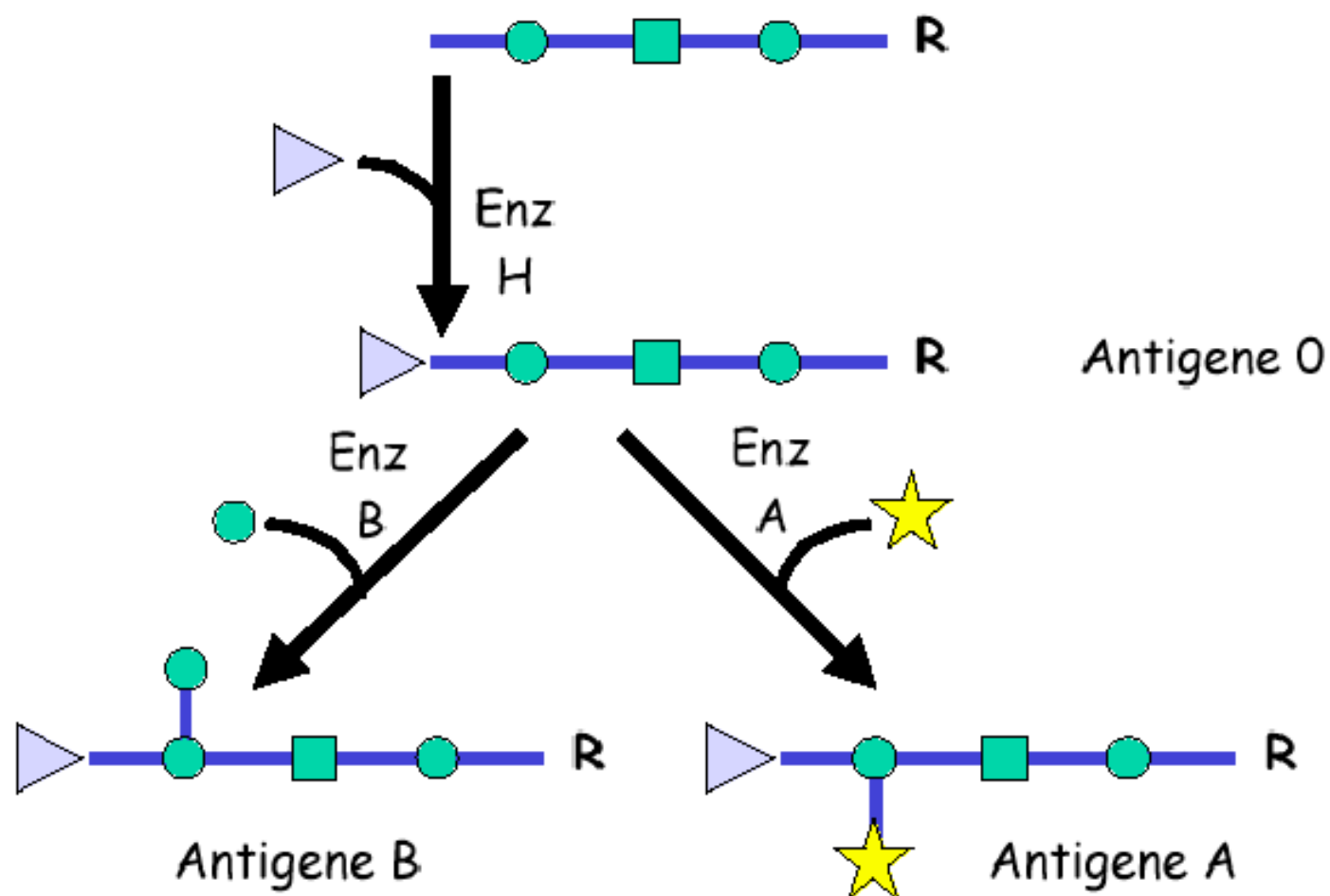


● = Galattosio

▲ = Fucosio

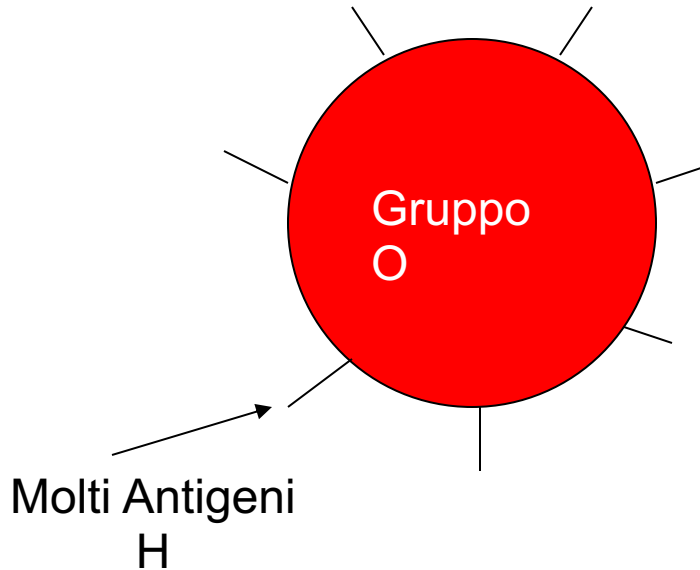
■ = N-acetil-glucosamina

★ = N-acetil-galattosamina

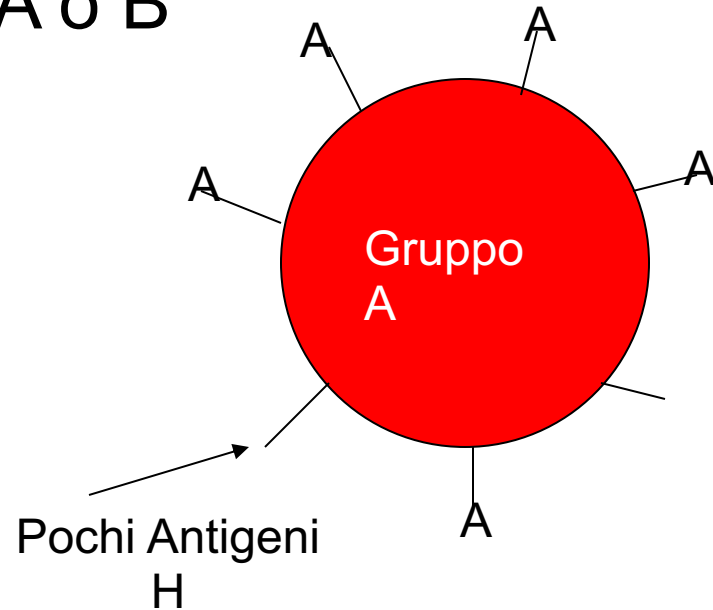


La grande maggioranza (ma non tutti) degli antigeni H nel gruppo A e B vengono trasformati in antigeni

A o B



**Maggiori**  
quantità di H



**Minori**  
quantità di H

**GRUPPI SANGUIGNI del  
SISTEMA ABO**

del Padre	della Madre	del Figlio
O	O	O
O	OA	AO - OO
O	AA	AO
O	OB	BO - OO
O	BB	BO
		AA - AO -
AO	AO	OO
AA	AO	AA - AO
AA	AA	AA
		AB - AO -
AO	BO	BO - OO
AA	BO	AB - AO
AO	BB	AB - BO
AA	BB	AB
		BB - BO -
BO	BO	OO
BO	BB	BB - BO
BB	BB	BB
O	AB	AO - BO
		AA - AB -
AO	AB	AO - BO
AA	AB	AA - AB
		AB - BB -
BO	AB	AO - BO
BB	AB	AB - BB
		AA - AB -
AB	AB	BB

# Fenotipo Bombay ( $O_h$ )



- Dipende da un genotipo  $hh$ 
  - I globuli rossi sono privi di antigeni H e quindi anche degli antigeni A e B... c'è solo la sostanza precursore
  - Descritto per la prima volta a Bombay, India
  - I GR **NON** sono agglutinati da anti-A, Anti-B o Anti-H (Ulex europaeus - lectina)
  - Il Siero ha attività anti-A, anti-B e anti-H; agglutina quindi tutti i gruppi ABO.

# Fenotipo Bombay

Individui che posseggono alleli  $I^A$  o  $I^B$ , che fenotipicamente risultano di gruppo 0.

Questo accade perché la sostanza H, che costituisce il substrato, non viene sintetizzata.

In una persona hh gli alleli A e B non vengono posizionati sulla superficie dei globuli rossi.

Il Locus H è **epistatico** e quello I è ipostatico!!

# Il sistema Rh

# Gruppo Rh

- Come per gli antigeni del sistema AB0, la presenza o l'assenza del fattore Rh è ereditaria ed in base ad essa la popolazione viene suddivisa in due gruppi:
  - Rh+ in cui è presente
  - Rh- in cui manca



# Gruppo Rh

- Gli antigeni che vengono genericamente denominati in questo modo sono, in realtà, **circa trenta**
- Tra questi, il più importante risulta quello indicato come **antigene D**
  - in base alla sua presenza o assenza, permette di distinguere il sangue rispettivamente in **Rh-positivo** e **Rh-negativo**;
  - è un antigene formato da una molecola di **natura proteica**.

- I termini **Rh positivo** ed **Rh negativo** si riferiscono alla presenza o assenza dell'antigene eritrocitario D
- Il primo anticorpo anti-D è stato descritto nel 1939 da **Stetson e Levine** in una donna il cui feto era affetto da malattia emolitica fetale/neonatale; la donna presentò una reazione emolitica dopo una trasfusione di sangue dal marito

- Nel 1940, Landsteiner e Wiener descrissero un anticorpo ottenuto immunizzando delle cavie e dei conigli con le emazie di **scimmie Rhesus**
- L'anticorpo agglutinava circa l'**85%** degli eritrociti umani esaminati
- L&W diedero il nome di Rh al determinante corrispondente

- Poco dopo la scoperta dell'anti-D, studi familiari dimostrarono che l'antigene D è geneticamente determinato e la via di trasmissione del carattere seguiva quella di un carattere **autosomico dominante**

# Significato clinico

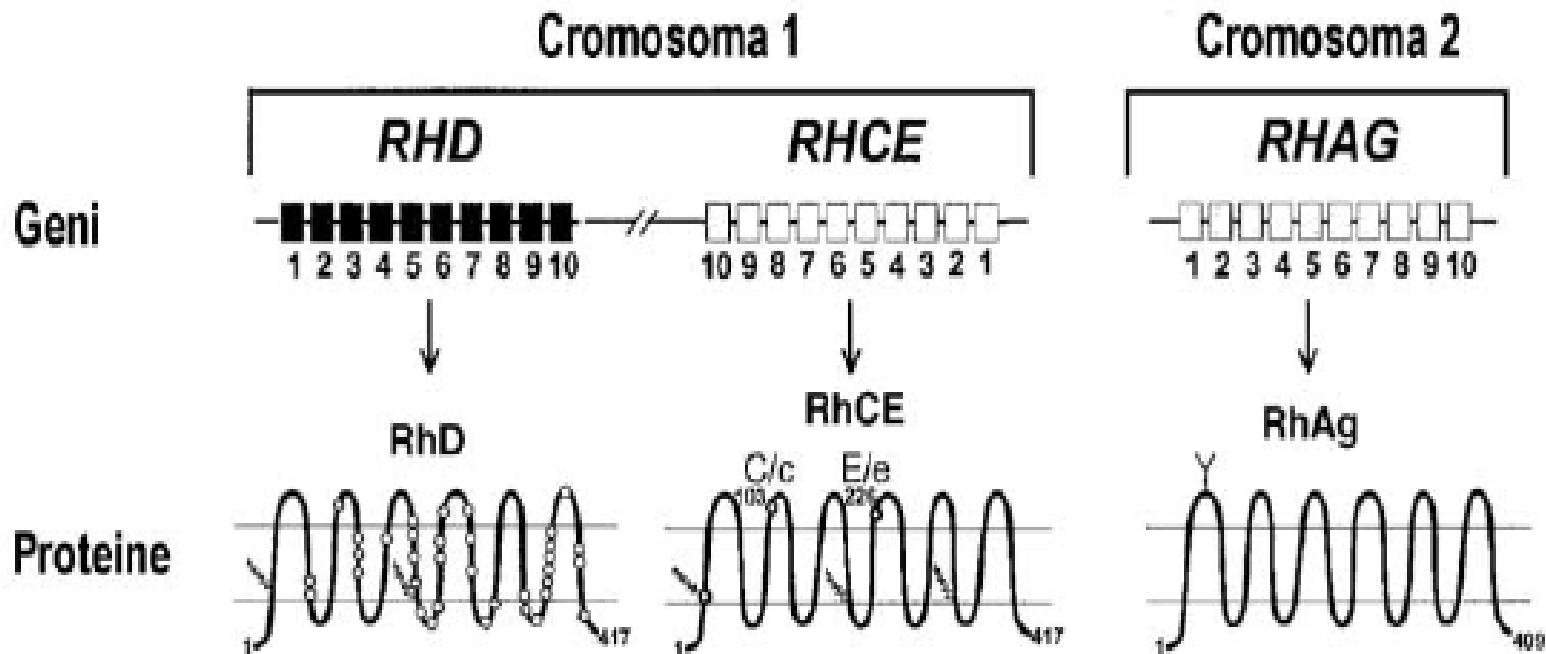
- Dopo gli antigeni (**ag**) A e B, il **D** è il più importante nella pratica trasfusionale
- Differentemente dagli **ag** A e B, le persone che NON possiedono l'ag D sui propri recettori NON presentano di norma l'anticorpo (**ab**) anti-D
- L'**ab** anti-D origina dalla esposizione ad emazie D+ in seguito a trasfusioni o gravidanze

# Oltre all'ag D

- A metà degli anni '40 sono stati descritti altri 4 ag C, c, E, e che vennero riconosciuti come facenti parte del sistema Rh
- In seguito sono stati scoperti molti altri antigeni; attualmente 49 antigeni sono correlati al sistema Rh
- molti di questi antigeni presentano differenze
  - qualitative
  - quantitative

# Genetica del sistema Rh 1

- Due geni altamente omologhi situati sul braccio corto del cromosoma 1, codificano per polipeptidi NON glicosilati che esprimono gli ag Rh



**Figura 14.1** - Rappresentazione schematica dei geni *RHD*, *RHCE* ed *RHAG* e delle proteine RhD, RhCE ed RhAG. I ○ su RhD rappresentano le differenze degli amminoacidi tra RhD e RhCE. I ○ su RhCE indicano gli amminoacidi critici coinvolti nell'espressione dell'antigene C/c ed E/e.



## Genetica del sistema Rh 2

- un gene, *RHD*, codifica una proteina che attraversa ripetutamente la membrana eritrocitaria e conferisce la specificità antigenica D al globulo rosso
- nei soggetti caucasici D negativi (Rh -) il gene *RHD* è **deleto**
- in altre popolazioni (africani, asiatici) il fenotipo D negativo è associato ad un gene *RHD* inattivo, mutato o parziale

# Incompatibilità Rh: MEN

- Il fattore Rh ha importanti riflessi in medicina. Un eventuale feto Rh+ avente madre Rh- e padre Rh+, provoca nel sangue della madre la comparsa di anticorpi capaci di agglutinare le emazie Rh+.
- Si parla di **incompatibilità materno-fetale** che si verifica in genere al secondo parto o nei successivi.
- Questa incompatibilità provoca la **malattia emolitica del neonato** (MEN) che nel passato aveva gravissime conseguenze. Le attuali terapie, consentono di evitare ai neonati ogni rischio.