

Ogni Corso di Area Pediatrica, staccato e raccolto, formerà nel tempo un volumetto.



BIOLOGIA MOLECOLARE

I corsi di

ACHILLE IOLASCON*, FAUSTA MONNO°

*Dipartimento di Biomedicina dell'Età Evolutiva e Centro interuniversitario per lo studio delle malattie ereditarie (CISME), Università di Bari

°Istituto di Pediatria, Università di Foggia

Il codice genetico può essere considerato il codice universale per eccellenza, perché è valido per ciascun essere vivente. La sua decodifica ha consentito una comprensione sempre più ampia delle malattie genetiche e delle loro modalità di trasmissione: ciò ha permesso la consulenza genetica e la valutazione del rischio di ricorrenza delle malattie ereditarie.

La coppia di genitori che chiede una consulenza genetica ha un figlio o un parente prossimo già affetto da una malattia ereditaria e l'oggetto della consulenza è la valutazione del "rischio" nel concepimento di un altro bambino.

Per poter fornire un'adeguata consulenza genetica è necessaria un'anamnesi familiare completa e una corretta compilazione dell'albero genealogico.

L'albero genealogico costituisce infatti un mezzo essenziale per poter ricostruire l'iter ereditario della malattia e della sua espressione, basandosi sui rapporti di parentela conosciuti. Per tale compilazione si fa riferimento a una simbologia universale riportata in **figura 1**.

LA TRASMISSIONE EREDITARIA MENDELIANA

Se un particolare genotipo in un locus è necessario e sufficiente a determinare l'espressione di un carattere, questo viene definito mendeliano.

La trasmissione mendeliana comprende:

❖ **la trasmissione autosomica dominante**, nella quale il carattere è presente in tutte le generazioni, viene trasmesso dal genitore al figlio

Struttura del corso

Basi teoriche

1- Pediatria e genetica.

L'importanza del linguaggio. Glossario (Pubblicato su AP n. 2/2000)

2- Organizzazione del genoma umano: struttura e funzione di DNA e RNA. Funzione e struttura dei geni (Pubblicato su AP n. 5/2000)

3- **Le basi cromosomiche dell'ereditarietà: dominanza, recessività, X-linked**

4- L'ereditarietà non mendeliana: isodisomia, imprinting, malattia delle triplette

5- L'ereditarietà mitocondriale

6- Le biotecnologie: che cosa offrono al pediatra. Un volo sulle tecniche e sulla loro applicazione nella pratica pediatrica

indipendentemente dal sesso e presenta quindi un andamento verticale;

❖ **la trasmissione autosomica recessiva**, nella quale il carattere compare nell'ambito della stessa generazione (andamento orizzontale), mentre i genitori non lo manifestano;

❖ **la trasmissione X-linked**, con andamento diagonale, in quanto le femmine sono in genere portatrici sane e trasmettono il carattere ai figli maschi; quasi sempre si tratta di caratteri recessivi; nel caso raro di carattere dominante, questo sarà manifesto anche nelle figlie femmine.

Molte malattie sono causate da mutazioni in un unico gene e si trasmettono con modalità di tipo mendeliano.



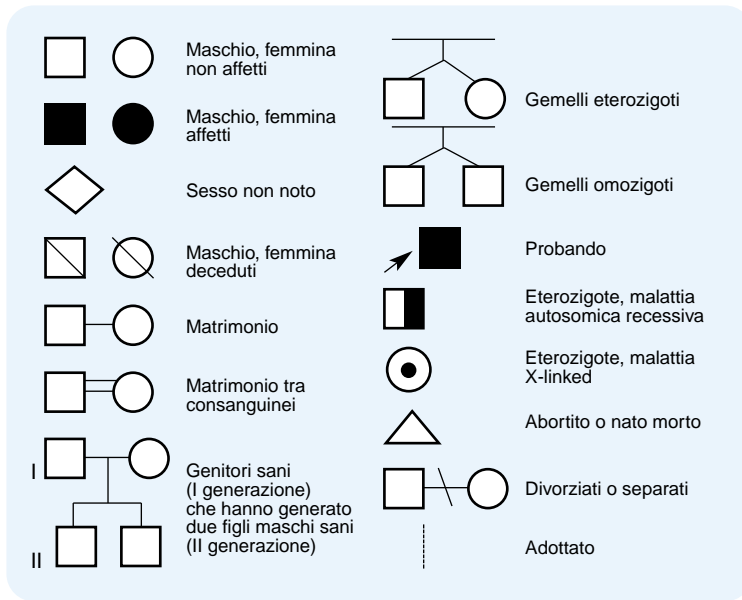


Figura 1 La simbologia.

Nell'uomo si conoscono più di 5.000 caratteri mendeliani che sono disponibili in un database on line (OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man) che viene aggiornato ogni settimana e nel quale a ciascun carattere è stato attribuito un numero di identificazione di sei cifre. È possibile così ottenere informazioni sui caratteri mendeliani umani, patologici o meno.

LA TRASMISSIONE EREDITARIA NON MENDELIANA

La trasmissione non mendeliana, che verrà trattata più avanti in questo corso, comprende:

- ❖ l'eredità multifattoriale,
- ❖ l'eredità mitocondriale.

MALATTIE AUTOSOMICHE DOMINANTI

Sono malattie dovute a mutazioni di geni dominanti che esprimono il loro fenotipo sia in eterozigosi sia in omozigosi e che sono localizzati sugli autosomi (cromosomi non sessuali).

Queste le principali caratteristiche:

- ❖ in un albero genealogico non si osservano salti generazionali per cui la malattia è presente in ogni generazione;
- ❖ un individuo affetto trasmette la malattia alla sua progenie con una probabilità del 50% dei casi;

- ❖ una persona normale genera una progenie normale;
- ❖ la trasmissione della malattia è indipendente dal sesso e sia i maschi sia le femmine hanno la stessa probabilità di esserne affetti.

Il rischio di ricorrenza di una malattia autosomica dominante è del 50%. Tale rischio resta costante, indipendentemente dal numero di soggetti affetti o non affetti che sono già nati.

Un esempio di albero tipico di una trasmissione autosomica dominante è riportato in **figura 2A**.

La corretta interpretazione di un albero genealogico nel caso di una malattia autosomica dominante può essere complicata da alcuni fenomeni, quali:

- ❖ la ridotta penetranza,
- ❖ l'espressività variabile di un carattere,
- ❖ l'insorgenza di una mutazione *de novo*,
- ❖ l'esordio tardivo della malattia.

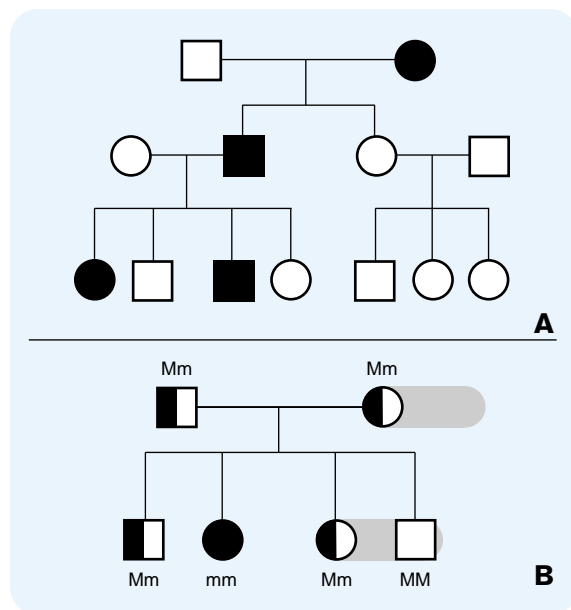


Figura 2 **A:** Malattia autosomica dominante; **B:** Malattia autosomica recessiva.

La ridotta penetranza

Alcuni soggetti, pur possedendo nel loro patrimonio il gene malattia, non risultano affetti, ma possono avere genitori e figli affetti (**figura 3**, soggetto contrassegnato con asterisco); si par-

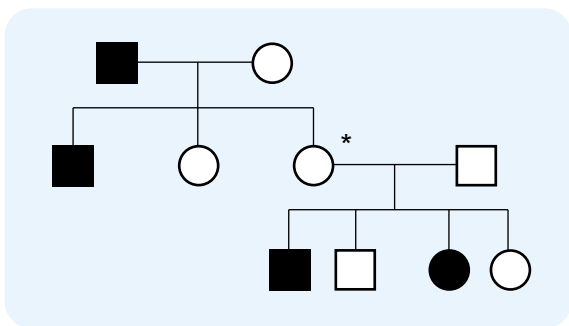


Figura 3 Penetranza ridotta.

la allora di carattere a penetranza ridotta perché non si manifesta nella totalità degli individui portatori.

La penetranza è una misura quantitativa data dalla percentuale di portatori obbligati che esprimono il fenotipo; un classico esempio può essere rappresentato dall'anemia di Blackfan-Diamond una forma pura di eritroblastopenia a ridotta penetranza.

È importante quindi, nella consulenza genetica, la conoscenza del grado di penetranza di una malattia con eredità dominante.

L'espressività variabile di un carattere

Un fenotipo può manifestarsi anche con diversa intensità e una stessa malattia con caratteristiche cliniche differenti, ed è per questo che si parla di espressività variabile. La sindrome di Marfan ne è un buon esempio: essa interessa il tessuto connettivo e in maniera prioritaria il sistema scheletrico (dita delle mani lunghe e sottili, articolazioni lasse, deformità ossee delle vertebre e dello sterno), l'occhio (dislocazione del cristallino) e il cuore (incontinenza valvolare, ectasia dell'aorta). Un soggetto affetto da Marfan può presentare uno o più dei suddetti segni di malattia.

Le cause della ridotta penetranza e dell'espressività variabile sono comuni e riconducibili all'influenza che altri geni, detti **geni modificatori**, o alcuni fattori ambientali possono esercitare sullo sviluppo di un fenotipo.

Un fenomeno connesso all'espressività variabile è l'**anticipazione**, cioè la tendenza di alcune patologie a divenire più gravi nelle generazioni successive. Si tratta delle malattie da instabilità del DNA o da mutazioni dinamiche. Alcune malattie infatti si manifestano con gra-

vità o età di insorgenza correlabili al numero di ripetizioni di triplette instabili, numero che tende ad aumentare man mano che il gene viene trasmesso di generazione in generazione. Alcune volte tale numero supera un valore soglia, causando la distruzione dell'attività di quel gene (sindrome di Martin-Bell o X-fragile) o la presenza di prodotti tossici per la cellula che contengono delle ripetizioni dello stesso amminoacido (malattie neurologiche).

L'insorgenza di una mutazione de novo

In alcuni casi si ha la comparsa di mutazioni *de novo*, per cui da genitori sani nasce un soggetto portatore del gene malattia, che a sua volta trasmetterà la malattia alla sua progenie. Il rischio che i suoi genitori generino un altro figlio malato è invece ridotto ed equivale alla probabilità di insorgenza di una mutazione *de novo*.

In alcune patologie come l'acondroplasia, i casi riconducibili a nuove mutazioni sono molto più numerosi di quelli dovuti a trasmissione familiare. Questa situazione si verifica quando la malattia tende a ridurre il potenziale riproduttivo del soggetto affetto.

L'esordio tardivo della malattia

Esistono malattie che possono manifestarsi clinicamente anche quando il soggetto portatore ha raggiunto un'età avanzata (esordio tardivo). Un esempio classico è la Corea di Huntington, che presenta una penetranza che aumenta con l'avanzare dell'età del soggetto portatore, il quale il più delle volte, al momento dell'insorgenza della malattia, ha già generato una prole.

MALATTIE AUTOSOMICHE RECESSIVE

Sono malattie legate a geni recessivi, per cui un soggetto affetto dalla malattia è omozigote per il gene malattia, perché lo ha ricevuto da entrambi i suoi genitori che sono portatori di tale gene, ma non affetti.

Tali malattie sono distinguibili quando:

- ❖ in un albero genealogico la malattia si presenta in linea orizzontale, compare solo nei fratelli di una stessa progenie ma è assente nei lo-



ro genitori e nei loro figli che sono eterozigoti;

- ❖ la malattia può essere trasmessa al 25% di una progenie di genitori entrambi portatori.

La trasmissione della malattia è indipendente dal sesso e sia i maschi sia le femmine hanno la stessa probabilità di essere affetti.

Nei matrimoni tra consanguinei aumenta la probabilità di generare soggetti affetti dalla malattia; analogamente una maggiore incidenza può realizzarsi per un effetto fondatore di un isolato genetico, cioè di un sottogruppo di una popolazione che per ragioni fisiche e/o sociali resta separato dalla restante parte.

Un esempio di albero tipico di una trasmissione autosomica recessiva è riportato in **figura 2B**.

Esempi classici di malattie a eredità recessiva sono la beta-talassemia e la fibrosi cistica.

Il rischio di ricorrenza di una malattia autosomica recessiva è in genere del 25%; nel caso dell'unione però di un omozigote affetto con un eterozigote, si avrà una modalità di ereditarietà di tipo quasi dominante, con un rischio di ricorrenza del 50%.

Nell'analisi di un albero genealogico, anche il riconoscimento di una malattia a trasmissione autosomica recessiva può essere complicato da alcuni fenomeni, quali:

- ❖ l'eterogeneità,
- ❖ la complementazione.

L'eterogeneità

Tale condizione si manifesta quando mutazioni in differenti geni si determinano con lo stesso fenotipo unico. In questo caso si parla di eterogeneità genica. Quando fenotipi clinici apparentemente diversi sono causati da mutazioni differenti dello stesso gene si parla di eterogeneità clinica.

La retinite pigmentosa, per esempio, è una patologia causata da una mutazione in uno dei molteplici geni, alcuni con trasmissione autosomica dominante, altri autosomica recessiva, altri ancora X-linked; comunque tutti codificanti per proteine implicate nella funzione della visione, si tratta quindi di un esempio di eterogeneità genica.

La complementazione

Al fenomeno dell'eterogeneità genica è legato quello della complementazione per cui

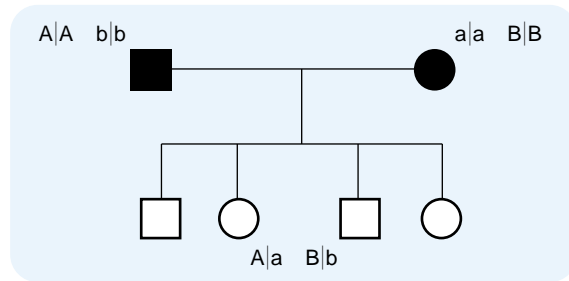


Figura 4 *La complementazione: genitori con sordità autosomica recessiva possono generare figli con udito normale se sono portatori di mutazioni non alleliche.*

può accadere che, dall'unione di due persone affette da sordità, possano nascere figli con udito normale (**figura 4**).

IL MOSAICISMO

Le mutazioni possono verificarsi anche durante lo sviluppo di un organismo. In questo caso, tali mutazioni post-zigotiche producono dei mosaici, cioè soggetti caratterizzati dalla contemporanea presenza di più linee cellulari geneticamente diverse.

Il mosaicismo può coinvolgere sia i tessuti somatici sia quelli della linea germinale. Nel **mosaicismo somatico** rientrano varie patologie genetiche non ereditabili, soprattutto alcuni tumori.

Il **mosaicismo germinale** si ha quando si verificano mutazioni nella gametogenesi, con conseguente formazione di un clone di gameti mutanti. In situazioni di questo tipo l'albero genealogico è simile a quello tipico di una patologia con eredità autosomica recessiva, perché da genitori normali, senza alcun precedente familiare, nascono più figli affetti. In questo caso una corretta valutazione del rischio di ricorrenza risulta difficile.

MALATTIE CON EREDITÀ X-LINKED

Sono malattie causate da mutazioni di geni localizzati sul cromosoma X.

In questo caso i meccanismi di trasmissione di una malattia sono condizionati dal sesso: i soggetti di sesso femminile presentano sempre due cromosomi X nel loro assetto cromosomi-

co, per cui per un locus X-linked con due alleli, ad esempio G e g, si potranno avere tre possibili combinazioni, GG, Gg, gg; un soggetto di sesso maschile, invece, ha solo un cromosoma X, per cui presenterà sempre una condizione di emizigotità per un locus X-linked, che nel caso dello specifico esempio potrà essere G o g.

Il genotipo di un soggetto maschile inoltre è chiaramente determinato dal genotipo della madre, per cui una malattia X-linked non potrà essere mai trasmessa da un padre al proprio figlio maschio, mentre al genotipo di sesso femminile contribuiscono in egual modo sia il padre sia la madre.

Il gene malattia X-linked può essere sia dominante sia recessivo, ma bisogna comunque considerare in questo tipo di ereditarietà il fenomeno della **lyonizzazione**, cioè dell'inattivazione casuale di uno dei due cromosomi X nelle cellule di un soggetto di sesso femminile, per cui il cromosoma X inattivato non sarà trascritto e apparirà in forma eterocromatica fortemente condensata, nota come corpo di Barr.

Eredità X-linked dominante

Una malattia con eredità X-linked dominante sarà individuabile quando in un albero genealogico:

- ❖ il 50% della progenie, derivante dall'unione tra una donna eterozigote affetta e un uomo sano, sarà affetta indipendentemente dal sesso (**figura 5A**);

- ❖ il 100% della progenie, derivante dall'unione tra una donna omozigote affetta e un uomo sano, sarà affetta (**figura 5B**);

- ❖ il 100% della progenie femminile di un uomo affetto e una donna sana sarà affetta, mentre tutti i figli maschi saranno sani (**figura 5C**).

Spesso le femmine sono affette in misura più lieve rispetto ai maschi; questa è una diretta conseguenza del fenomeno della lyonizzazione.

Un esempio di patologia con eredità X-linked dominante, letale nei soggetti di sesso maschile, è l'incontinentia pigmenti 2 (IP2). Le femmine affette mostrano caratteristiche eruzioni cutanee, spesso associate ad anomalie a carico dei denti e della retina. Nei leucociti e nei fibroblasti di questi soggetti è stata osservata, sia in gruppi familiari più o meno numerosi sia

in casi isolati, un'inattivazione non casuale del cromosoma X. Le mutazioni di origine paterna sembrano inoltre più numerose di quelle di origine materna.

Eredità X-linked recessiva

Una malattia con eredità X-linked recessiva sarà invece individuabile quando in un albero genealogico:

- ❖ i maschi affetti trasmettono la malattia a tutta la progenie di sesso femminile e a nessun figlio di sesso maschile;

- ❖ le donne portatrici non sono affette, ma genereranno figli di sesso maschile che saranno affetti nel 50% dei casi, mentre le figlie saranno per il 50% portatrici;

- ❖ la malattia si manifesta molto più frequentemente nei maschi e le donne affette possono essere generate dall'unione di una donna portatrice con un maschio affetto.

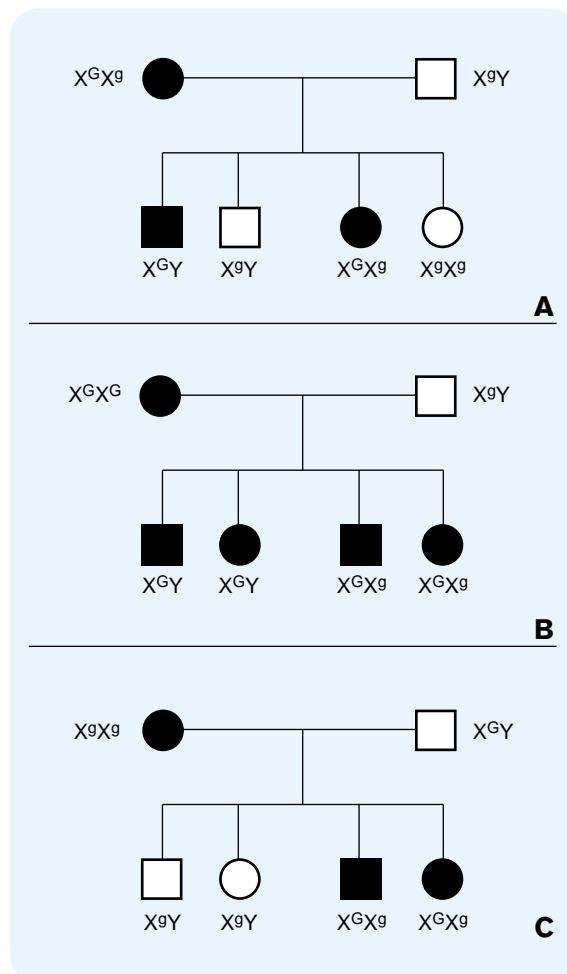


Figura 5 Eredità X-linked dominante.



La malattia di Gilbert: con eredità autosomica dominante o recessiva?

A questo punto proviamo insieme a decifrare il meccanismo ereditario di questa forma di ittero a bilirubina indiretta presente in un nucleo familiare (figura 6).

Nella figura 6A si direbbe che il gene malattia ha un meccanismo ereditario dominante con una penetranza non completa, in quanto compaiono dei salti di generazione.

Ma nella seconda parte della figura (figura 6B), ottenuta con i dati derivanti dall'analisi molecolare del

gene UGT1A1, è evidente che si tratta di una malattia autosomica recessiva.

La confusione del meccanismo ereditario è dovuta all'enorme frequenza del gene patologico, che è presente allo stato di omozigosi in circa il 15% della popolazione italiana e allo stato di eterozigosi almeno nel 35% dei soggetti. È evidente quindi come si possa verificare facilmente il matrimonio tra un individuo omozigote con uno eterozigote. Tale gene malattia causa la malattia di Gilbert.

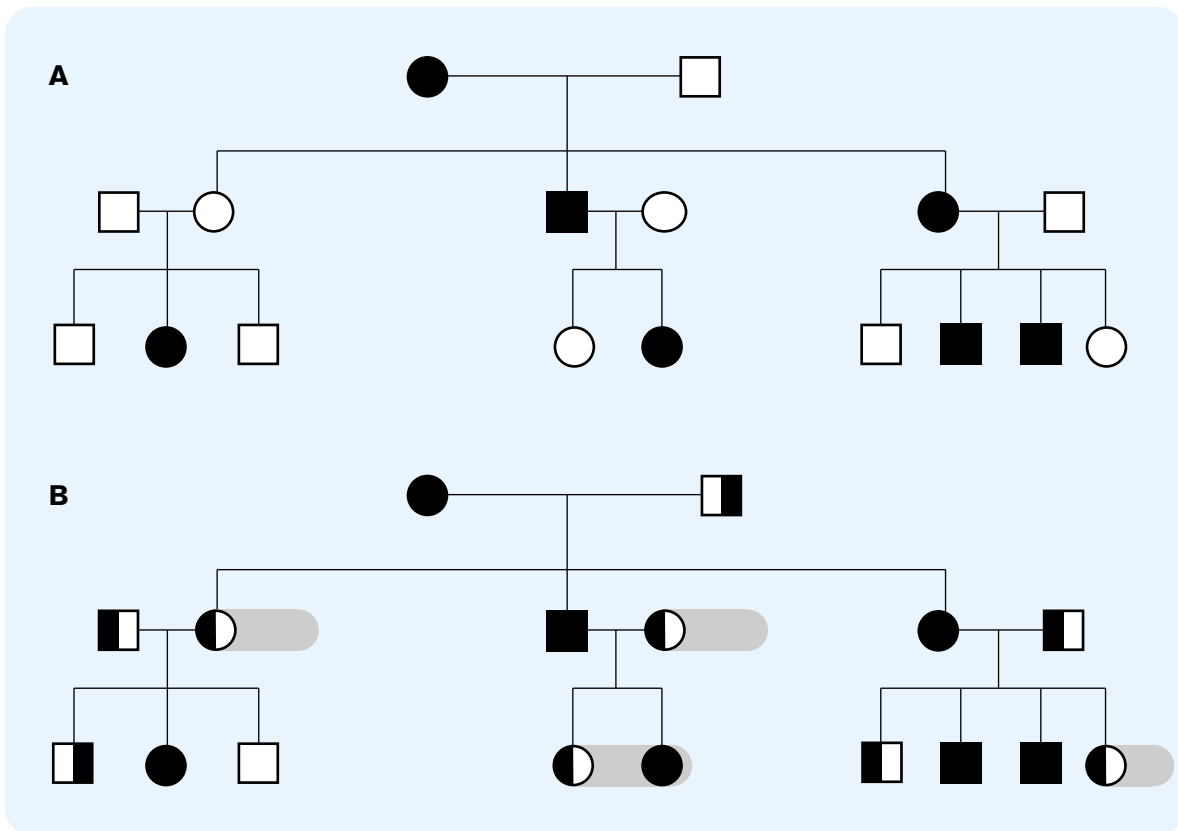


Figura 6 Gilbert: malattia con eredità autosomica dominante o recessiva?

