

Frontiere

Ribosomi e malattia: dalle aplasie midollari congenite ai tumori

Irma Dianzani¹
Ugo Ramenghi²
Anna Aspesi¹

¹ Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, Novara; ² Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino

Il termine ribosomopatie si riferisce a una serie di patologie, ereditarie o acquisite, dovute a difetto nella biogenesi dei ribosomi e alla conseguente induzione di un tipo particolare di stress cellulare, detto stress ribosomale. Vengono, quindi, attivate vie di segnalazione che conducono le cellule bersaglio al blocco proliferativo e alla morte cellulare. Il fenotipo delle forme ereditarie è molto eterogeneo in rapporto al gene responsabile e alla specificità del tessuto coinvolto. Una parte delle ribosomopatie è caratterizzata da insufficienza midollare, con compromissione di una o più linee emopoietiche e predisposizione allo sviluppo di leucemie e tumori solidi. Recentemente, sono state descritte anche ribosomopatie acquisite, che includono forme preneoplastiche e neoplastiche. Mutazioni nei geni codificanti proteine ribosomali sono state riscontrate in vari tipi di leucemia e tumori solidi. Si ritiene che favoriscano la cancerogenesi, modificando la sintesi proteica o favorendo la comparsa di instabilità genomica.

Riassunto

Ribosomopathies are inherited or acquired diseases due to an abnormal ribosome biogenesis. This condition activates a specific cellular stress, called ribosomal stress, that induces hypoproliferative and proapoptotic pathways and death of target cells. Inherited ribosomopathies show different phenotypes according to the mutated gene and affected tissues. A proportion of these diseases are characterised by bone marrow failure with lineage specific abnormalities and susceptibility to leukaemia and solid tumours. Acquired ribosomopathies include preneoplastic and neoplastic conditions. Mutations in genes encoding ribosomal proteins have been found in several forms of leukaemia and solid tumours. The link between a ribosome biogenesis defect and carcinogenesis might be due to abnormal protein synthesis or genomic instability.

Summary

Abbreviazioni

DBA: anemia di Diamond-Blackfan
SDS: sindrome di Shwachman-Diamond
DC: discheratosi congenita
TCS: sindrome di Treacher Collins
rRNA: RNA ribosomale
RP: proteina ribosomale
eADA: adenosina deaminasi eritrocitaria
AML: leucemia mieloide acuta

Metodologia della ricerca bibliografica effettuata

La ricerca degli articoli relativi agli argomenti della rassegna è stata effettuata nella banca bibliografica Medline, utilizzando come motore di ricerca PubMed e come parole chiave: “ribosomopathy”, “ribosomes AND diseases”, “ribosome biogenesis AND diseases”, “ribosomes AND cancer”, “Diamond Blackfan anemia”, “Shwachman Diamond syndrome”, “Treacher Collins syndrome”, “dyskeratosis congenita”.

Introduzione

Le ribosomopatie sono malattie dovute a difetto della biogenesi del ribosoma, per carenza di una proteina ribosomale o di un componente necessario per la trascrizione o la maturazione dell'rRNA. Sebbene condividano la compromissione di una struttura ubiquitaria, sono molto eterogenee dal punto di vista clinico. Se ne conoscono di ereditarie e di acquisite (Danilova e Gazda, 2015). Alcune sono incluse tra le sindromi ereditarie con insufficienza midollare e sono caratterizzate da anomalie dell'emopoiesi (Tab. I). Molte ribosomopatie ereditarie vengono diagnosticate nella prima infanzia, sia in rapporto alla presenza di malformazioni, sia a causa della sintomatologia emopoietica, che richiede le competenze dell'ematologo pediatrico. Tuttavia, negli ultimi anni è emerso che alcune forme cosiddette non classiche possono esordire con sintomi ematologici anche nell'età adulta (Vlachos et al., 2008). Sono quelle che presentano maggiori difficoltà diagnostiche, proprio perché poco conosciute al di fuori del campo di competenza dei pediatri e dei genetisti. Un grande colpo di scena è stata la scoperta che una mielodisplasia acquisita dell'adulto, la sindrome 5q-, è dovuta a un difetto ribosomale (Ebert et al., 2008). Più recentemente, si è osservata una frequente compromissione della funzione ribosomale in alcuni tipi di tumori, a partire dalla leucemia linfoblastica acuta a cellule T (Goudarzi e Lindström, 2016). Il difetto ribosomale, quindi, non è più limitato a rare sindromi di competenza pediatrica, ma è venuto alla ribalta sulla scena della medicina oncologica. Nel corso di questa rassegna verranno descritte le varie forme di ribosomopatia, con particolare attenzione alla patogenesi e ai rapporti con la trasformazione neoplastica. Verrà trattata in maniera più approfondita l'anemia di Diamond-Blackfan, poiché è stata più studiata delle altre forme.

Ribosomopatie con compromissione midollare

Anemia di Diamond-Blackfan

L'anemia di Diamond-Blackfan (DBA) è una rara forma di aplasia eritroide ereditaria, caratterizzata nel 30% dei casi da malformazioni a carico della mano,

del distretto craniofacciale e di quello urogenitale (Vlachos et al., 2008). I pazienti presentano un rischio di sviluppare tumori aumentato rispetto alla popolazione generale, in particolare per quanto riguarda la leucemia mieloide acuta (AML), l'osteosarcoma e il cancro del colon (Vlachos et al., 2012). Nella forma classica l'esordio avviene nel corso del primo anno di vita. Il paziente presenta anemia macrocitica con bassi livelli di reticolociti, mentre sono indenni le altre linee emopoietiche. A livello midollare si osserva la scomparsa dei precursori eritroidi. La diagnosi per lungo tempo è stata ottenuta per esclusione di altre forme acquisite o ereditarie di aplasia eritroide. Per esempio, l'analisi del titolo anticorpale permette di escludere i casi di aplasia eritroide da Parvovirus, mentre la normalità del test delle rotture cromosomiche esclude la sindrome di Fanconi a esordio precoce. Utile, nei pazienti non ancora trasfusi, il riscontro di un'elevata attività della adenosina deaminasi eritrocitaria (eADA) test che, tuttavia, viene effettuato solo in centri selezionati e richiede un prelievo di sangue intero fresco.

Una parte dei pazienti, circa il 50%, risponde alla terapia cortisonica. Quelli che non rispondono e quelli che sviluppano complicanze vengono avviati alla terapia trasfusionale cronica con chelazione del ferro. La riduzione delle aspettative di vita dipende dalle conseguenze dell'emocromatosi secondaria. Di recente l'affinamento dei protocolli di trapianto di cellule emopoietiche da donatore HLA compatibile, in particolare la riduzione delle complicanze, permette al curante di consigliare questo intervento risolutivo nei primi anni di vita, prima quindi che si verifichi il danno da accumulo di ferro. Circa il 20% dei pazienti va incontro a remissione spontanea, spesso nell'adolescenza. I livelli di emoglobina, pur ai limiti della norma, consentono di evitare le trasfusioni per periodi più o meno lunghi. Permane la macrocitosi.

La DBA viene ereditata con meccanismo autosomico dominante, anche se, nella maggioranza dei casi, i pazienti risultano i primi ammalati della loro famiglia per la comparsa di mutazioni *de novo*.

La scoperta che il meccanismo patogenetico si basa sulla compromissione della sintesi dei ribosomi (Box 1) è derivata dalla scoperta del primo gene responsabile di DBA, *RPS19* (Drapchinskaia et al., 1999). Sicuramente nessuno si aspettava che fosse coinvolto un gene codificante una proteina ribosomale (RP). Mutazioni in *RPS19* si trovano in circa un quarto dei pazienti DBA. Successivamente, sono stati identificati altri 17 geni responsabili di DBA. Sedici geni codificano per RP della piccola (RPS) o della grande subunità (RPL) del ribosoma: *RPS19*, *RPS24*, *RPS10*, *RPS17*, *RPS7*, *RPS26*, *RPS28*, *RPS29*, *RPS27*, *RPL5*, *RPL11*, *RPL35A*, *RPL26*, *RPL15*, *RPL27*, *RPL31*. Due ulteriori geni non ribosomali molto raramente sono causa di DBA: *GATA1* e *TSR2*. Mentre il primo è un fattore trascrizionale eritroide, il secondo è una chaperonina di *RPS26*, quindi anch'esso, indirettamente, è coinvolto

Tabella I. Malattie caratterizzate da compromissione della biogenesi del ribosoma.

Malattia	Fenotipo	Difetto ribosomale	Gene	Ereditaria o acquisita	Quadro emopoietico
Anemia di Diamond-Blackfan	Anemia macrocitica, malformazioni del pollice, cardiovascolari, urogenitali, bassa statura. Predisposizione al cancro.	Proteine ribosomali della piccola e della grande subunità	RPS19, RPS24, RPS10, RPS17, RPS7, RPS26, RPS28, RPS29, RPS27, RPL5, RPL11, RPL35A, RPL26, RPL15, RPL27, RPL31	Ereditaria (autosomica dominante)	Aplasia eritroide pura
Sindrome di Shwachman-Diamond	Neutropenia, insufficienza pancreatica, bassa statura, malformazioni scheletriche. Predisposizione al cancro.	Difetto del <i>joining</i> delle due subunità ribosomali	SBDS	Ereditaria (autosomica recessiva)	Difetto dei progenitori mieloidi
Discheratosi congenita	Pigmentazione anomala della pelle, distrofia ungueale, insufficienza midollare, bassa statura, microcefalia, immunodeficienza. Predisposizione al cancro.	Difetto di discherina (pseudouridina sintasi)	DKC1	Ereditaria (legata al cromosoma X)	Compromissione trilineare
Ipoplasia cartilagine capelli (sindrome CHH)	Bassa statura, ipoplasia del capillizio, anemia, malassorbimento. Predisposizione al cancro.	Clivaggio del pre-rRNA	RMRP	Ereditaria (autosomica recessiva)	Talora immunodeficienza, neutropenia, aplasia eritroide.
Displasia anauxetica	Grave bassa statura, ritardo mentale.	Clivaggio del pre-rRNA	RMRP	Ereditaria (autosomica recessiva)	Midollo indenne
Sindrome 5q-	Anemia macrocitica. Predisposizione alla leucemia mieloide acuta.	Delezione di RPS14 e altri geni adiacenti	RPS14	Acquisita	Aplasia eritroide pura, evoluzione in mielodisplasia
Sindrome di Treacher Collins	Malformazioni nel distretto facciale, sordità di trasmissione.	Trascrizione dell'rRNA	TCOF1, POLR1C, POLR1D	Ereditaria (di solito autosomica dominante)	Midollo indenne
Cirrosi infantile ereditaria degli Indiani del Nord America	Ittero neonatale transitorio con evoluzione verso la cirrosi biliare	Maturazione del pre-rRNA	CIRH1A	Ereditaria (autosomica recessiva)	Midollo indenne
Aplasia isolata della milza	Agenesia o ipoplasia della milza con immunodeficienza	Proteina ribosomale della piccola subunità	RPSA (anche laminin receptor)	Ereditaria (autosomica dominante)	Midollo indenne
Aplasia cutis congenita	Agenesia della cute, generalmente al vertice	GTPasi ribosomale	BMS1	Ereditaria (autosomica dominante)	Midollo indenne
Sindrome di Bowen-Conradi	Ritardo di crescita pre- e postnatale, ritardo mentale, microcefalia, micrognazia, contratture articolari, piedi a barca.	specifico pseudouridina-N1-metiltransferasi	EMG1	Ereditaria (autosomica recessiva)	Midollo indenne
Alopecia, difetti neurologici e sindrome endocrina	Ipoplasia del capillizio, micrognazia, ritardo mentale, ritardo motorio, insufficienza surrenalica	Componente nucleolare necessaria per la biogenesi della grande subunità ribosomale	RBM28	Ereditaria (autosomica recessiva)	Midollo indenne

Box 1**Biogenesi del ribosoma**

I ribosomi sono gli organelli citoplasmatici deputati alla sintesi proteica. Sono costituiti da due subunità, denominate grande e piccola (o 60S e 40S, rispettivamente), ciascuna costituita da rRNA e da proteine strutturali, le proteine ribosomali. Ciascuna subunità è formata da diverse tipologie di rRNA (18S, la piccola, 28S, 5S e 5.8S la grande subunità), che assolvono la funzione catalitica nella formazione del legame peptidico tra due aminoacidi, e da differenti RP (33 la piccola subunità, denominate RPS, e 47 la grande, chiamate RPL), che si pensava un tempo avessero solo un ruolo strutturale.

Il processo di sintesi del ribosoma è molto complesso e richiede la funzione coordinata di circa 200 molecole che non fanno parte del ribosoma maturo. Si tratta di fattori coinvolti nella trascrizione, nella traslocazione dentro e fuori dal nucleo, nella traduzione, nella modificazione, nell'assemblaggio e nella maturazione dei componenti delle due subunità. Includono, per esempio, elicasi, eso ed endonucleasi, metiltransferasi, ma anche isomerasi che modificano l'rRNA.

Negli ultimi anni sono state attribuite varie funzioni alle RP, alcune nell'ambito della biogenesi del ribosoma, altre a livello extra-ribosomale. In particolare, molte RP svolgono un ruolo importante nella maturazione dell'rRNA (Fig. 1).

Le RP vengono sintetizzate da altri ribosomi nel citoplasma e vengono poi traslocate nel nucleo, dove si raccolgono a livello del nucleolo, il luogo dove avviene la sintesi del ribosoma. Qui interagiscono con il precursore comune degli rRNA 18S, 28S e 5.8S (l'rRNA 5S viene trascritto indipendentemente da un gene differente) e favoriscono il suo clivaggio, a opera di specifiche endo ed esonucleasi, nei frammenti da cui derivano, dopo altre modificazioni, gli rRNA maturi (Fig. 1). Nel nucleolo si formano le due subunità che vengono traslocate, indipendentemente l'una dall'altra, attraverso la membrana nucleare. Giunte nel citoplasma, la subunità 40S si lega prima a un mRNA e poi alla 60S, costituendo il ribosoma maturo, il quale, interagendo con altre proteine regolatorie e con l'RNA di trasferimento, cui è legato un aminoacido specifico, inizia la traduzione dell'mRNA nella proteina da esso codificata.

Alcuni tipi cellulari producono ribosomi con differente composizione di RP e diverse modificazioni post-traduzionali, in rapporto alle condizioni di crescita. Questi meccanismi adattativi sono stati studiati nei batteri, nelle piante, nel lievito, ma anche in cellule di mammifero. La popolazione dei ribosomi è quindi eterogenea. Altri livelli di eterogeneità sono rappresentati dalle modifiche a carico dell'rRNA e dalle possibili differenze a carico dei *long-non coding RNA* che si trovano associati ai ribosomi (Goudarzi e Lindström, 2016).

nella funzione del ribosoma (per la bibliografia specifica si rimanda alla rassegna di Danilova e Gazda, 2015). Tutti questi geni permettono di caratterizzare circa 70% dei pazienti.

Ogni paziente ha un'unica mutazione su un solo gene, in eterozigosi con la sequenza normale. Si pensa, infatti, che l'assenza totale di una RP sia incompatibile con la vita, come riscontrato in esperimenti con animali modello.

Questo scenario rappresenta un'incontrovertibile dimostrazione del ruolo nell'eritropoiesi delle 16 RP, e, di conseguenza, del ribosoma (Box 2). La peculiare sensibilità dell'eritropoiesi al difetto ribosomale non era nota prima dell'identificazione delle cause genetiche della DBA.

Questa scoperta ha incrementato gli studi volti a svelare le conseguenze del difetto dei ribosomi nelle cellule. Precedentemente, erano stati condotti studi solo sul lievito, sulla rana *Xenopus* e sulla *Drosophila*. In seguito, sono stati prodotti nuovi modelli, utilizzando

il topo e lo *zebrafish*. Curiosamente, è stato il modello di *zebrafish* che ha mostrato maggiori affinità con la sindrome umana, poiché presentava anemia e malformazioni nel distretto facciale (Danilova et al., 2008; Uechi et al., 2008). Come mai il topo eterozigote per l'ablazione di un gene *Rps19* non abbia alcun fenotipo è un mistero ancora oggi. Il topo omozigote, invece, muore in utero (Matsson et al., 2004). Forse vengono messi in atto meccanismi di protezione nei confronti delle conseguenze del difetto ribosomale, sufficienti a impedirne le conseguenze ematologiche. È interessante osservare che, alcuni anni fa, è stato ottenuto un modello murino con sintomatologia più simile al quadro umano, ma è stato necessario intervenire su un topo già adulto riducendo drasticamente l'espressione genica di *Rps19* ben al di sotto del 50% per avere una lieve anemia (Jaako et al., 2011). Studi sul topo DBA, su vari mutanti *zebrafish* e su cellule umane silenziate per i geni DBA hanno fornito importanti informazioni su quello che succede a livello

Box 2**Eritropoiesi**

L'eritropoiesi è il processo di maturazione che, a livello midollare, conduce dalla cellula staminale emopoietica al globulo rosso maturo. Consta di due fasi: la prima conduce dalla cellula staminale indifferenziata ai progenitori dei globuli rossi, che sono morfologicamente indistinguibili dalla cellula staminale, ma esprimono marcatori di superficie specifici; la seconda fase è caratterizzata dalla formazione di precursori facilmente identificabili in base all'aspetto, poiché in essi è attiva la sintesi dell'emoglobina. Nel corso di questo processo il precursore si carica di emoglobina e va incontro all'estruzione del nucleo, diventando un reticolocita e poi un eritrocita. Il processo è controllato e scandito da differenti fattori di crescita, dall'espressione dei loro recettori e dai fattori trascrizionali che controllano l'espressione di queste proteine.

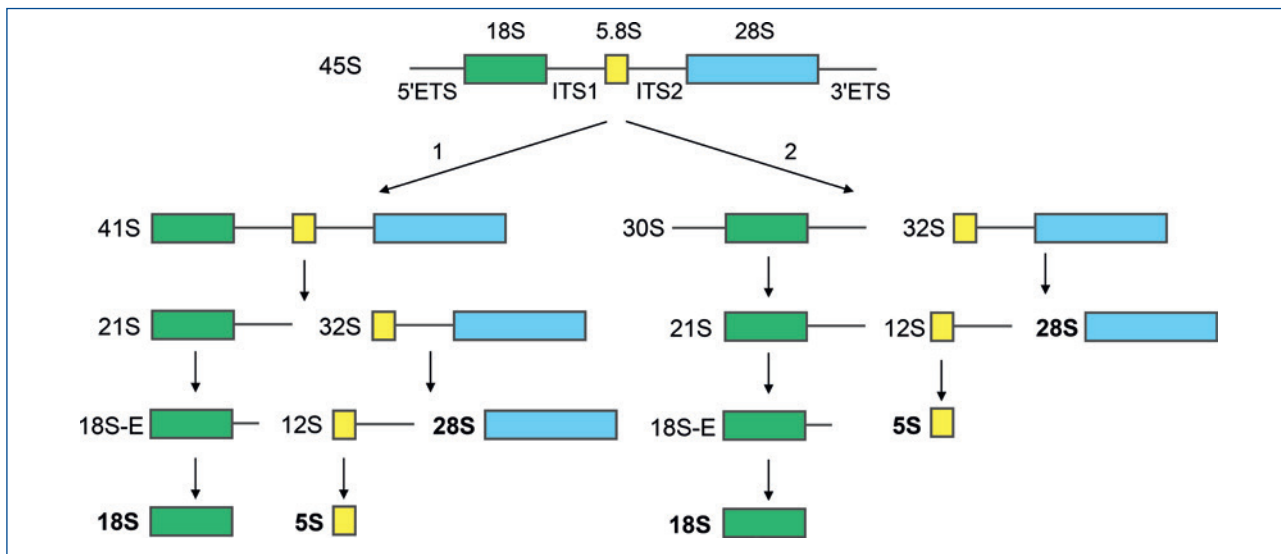


Figura 1. Biogenesi del ribosoma: maturazione dell'rRNA.

Nel nucleolo il precursore comune degli rRNA 18S, 28S e 5.8S va incontro a un processo di maturazione, che include il taglio effettuato in punti specifici a opera di endo ed esonucleasi, in modo da formare gli rRNA della taglia corretta. Questo fenomeno richiede la partecipazione delle RP. In assenza di una RP si verifica, infatti, l'accumulo di uno specifico precursore degli rRNA maturi.

della cellula e dell'organismo quando viene ridotto il quantitativo di una RP. Si è visto che vengono prodotti meno ribosomi e che viene inibita la stessa maturazione degli rRNA (Fig. 1) (Flygare et al., 2007). Ciò dimostra un ruolo basilare di ogni RP coinvolta nella DBA in questo processo. In particolare, ogni RP sembra avere un ruolo specifico, poiché il silenziamento di un singolo gene conduce all'accumulo di uno specifico precursore, come se ciascuna RP controllasse uno solo dei vari tagli che il precursore comune deve sostenere, affinché si formino gli rRNA maturi. Il fenomeno è stato dimostrato anche su cellule umane di pazienti con mutazioni in specifici geni ed è talmente tipico che viene utilizzato per indirizzare la scelta dei geni da analizzare e confermare l'effetto di una mutazione (Fig. 1) (Farrar et al., 2014). Il test degli rRNA e l'analisi di sequenza dei geni sono entrati nella comune prassi diagnostica dei centri che seguono i pazienti DBA (Quarello et al., 2016).

Ma in che modo questo difetto di biogenesi si ripercuote sull'omeostasi cellulare?

Quando non vengono prodotti abbastanza ribosomi si attivano peculiari fenomeni a livello cellulare, che definiscono uno stato di sofferenza cellulare, definito "stress ribosomale". Di conseguenza vengono attivate vie di segnalazione, in parte mediate da p53, che conducono al blocco proliferativo e alla morte cellulare (Danilova e Gazda, 2015; James et al., 2014; Aspesi et al., 2014).

Tuttavia, nessuno di questi studi ha pienamente spiegato i due grandi paradossi di questa malattia: perché il difetto di una funzione generale porti a specificità di tessuto e perché una condizione caratterizzata da ipoproliferazione sia associata a rischio neoplastico.

Sono state proposte differenti ipotesi, suffragate da dati sperimentali, per spiegare la peculiare suscettibilità del progenitore del globulo rosso allo stress ribosomale (Dutt et al., 2011). Esse non si escludono vicendevolmente, ma possono concorrere nella patogenesi del fenotipo. È possibile che i progenitori eritroidi abbiano bisogno di un maggiore quantitativo di ribosomi rispetto ad altri tessuti oppure che esista una risposta tessuto-specifica a livello delle vie di segnalazione che regolano l'apoptosi. Molto interessante è il ruolo ascrivito all'accumulo di eme. Come è noto, per produrre l'emoglobina la cellula deve sintetizzare non solo le due globine, ma anche un adeguato numero di molecole di eme. La riduzione della sintesi proteica, determinata dal minor numero di ribosomi, modificherebbe il rapporto tra eme e globine. Si verrebbe, quindi, a creare un eccesso di eme libero a livello del progenitore, altamente tossico per il suo effetto pro-ossidante. I radicali liberi dell'ossigeno determinerebbero danno locale e attivazione di p53 (Mercurio et al., 2016; Yang et al., 2016). Un'altra ipotesi propone che in caso di stress ribosomale i pochi ribosomi prodotti favoriscano la traduzione di mRNA con struttura semplice, rispetto a quelli con struttura complessa. Poiché l'mRNA di *GATA1*, importante fattore trascrizionale che controlla l'eritropoiesi, ha una struttura difficile da tradurre, questa proteina verrebbe sintetizzata in quantità minore con conseguenze catastrofiche per l'eritropoiesi (Ludwig et al., 2014). Infine, sono state chiamate in causa possibili interazioni specifiche delle singole RP e anche le loro eventuali funzioni extraribosomali, aspetti nel complesso non ancora ben chiariti (Danilova e Gazda, 2015).

Il secondo paradosso di difficile comprensione è come possa coesistere un fenotipo proapoptotico e ipoproliferativo con un aumentato rischio oncologico. Tra le tante ipotesi (discusse nel Box 3) forse la più lineare è quella che prevede un'alterata traduzione degli oncogeni e degli oncosoppressori. Questo fenomeno rappresenterebbe da un lato una scappatoia per sopravvivere, dall'altro favorirebbe la trasformazione neoplastica. È anche possibile che lo stress ribosomale possa selezionare la comparsa di mutanti che presentano vantaggio proliferativo, un po' come avviene quando nelle colture di batteri, in presenza di un antibiotico, si generano alcuni cloni resistenti (Goudarzi e Lindström, 2016).

Altri aspetti della DBA non sono stati ancora chiariti, nonostante l'ampia messe di studi negli ultimi anni. L'espressività variabile che si riscontra in membri della stessa famiglia, che hanno la stessa mutazione, potrebbe essere spiegata da un diverso patrimonio genetico dei fratelli (e quindi dalla presenza di varianti in geni modificatori del fenotipo) o da differenze di espressione genica dovute a effetti epigenetici, cioè derivati da fenomeni non ereditari.

Non è stata documentata una correlazione genotipo-fenotipo per quanto riguarda il difetto eritroide, cioè non sembra che alcuni geni conducano a quadri ematologici più o meno severi, ma esiste una associazione preferenziale, ma non esclusiva, per quanto attiene al tipo di malformazione. In particolare, i difetti di *RPL5* e *RPL11* condurrebbero più frequentemente a malformazioni della mano e a cheiloschisi. Forse ciò dipende dall'esistenza di altri ruoli, extraribosomali, di queste due proteine.

Altre ribosomopatie con compromissione midollare

I pazienti con la sindrome di Shwachman-Diamond (SDS) presentano neutropenia e insufficienza del pancreas esocrino, insieme a malformazioni ossee di vario tipo. È causata da mutazioni nel gene *SBDS* (*Shwachman-Bodian-Diamond syndrome*), che ha un ruolo nel *joining* delle due subunità del ribosoma a livello citoplasmatico prima dell'inizio della traduzione. In breve, in assenza di *SBDS*, la subunità 60S non può congiungersi alla 40S, perché non viene completata la sua maturazione, cioè non viene rimossa una proteina ad essa legata (il fattore eucariotico di inizio della traduzione eIF6).

Non è chiaro se il fenotipo dipenda da una riduzione generale della sintesi proteica o da effetti più specifici. Anche in questo caso si osserva l'attivazione di p53 nel tessuto bersaglio, come riscontrato nel midollo osseo dei pazienti. Anche questi pazienti hanno un elevato rischio di tumori, in particolare AML, maggiore di quello dei soggetti con DBA.

La discheratosi congenita (DC) è caratterizzata da anomalie della pigmentazione della cute, distrofia

ungueale, leucoplachia e insufficienza midollare. È dovuta a mutazioni in alcuni geni coinvolti nel mantenimento della lunghezza dei telomeri. La forma legata al cromosoma X, più grave delle altre, è causata da mutazioni nel gene che codifica per la discherina, una proteina in parte localizzata nel nucleolo e associata agli snoRNP (*small nucleolar ribonucleoprotein*), responsabili sia della maturazione dell'rRNA sia del controllo della funzione telomerasica. I pazienti hanno un alto rischio di sviluppare AML, linfomi e tumori solidi, tra cui il carcinoma squamoso. Il rischio tumorale è maggiore di quello della DBA. Anche in questo caso i livelli di p53 appaiono aumentati, almeno nei modelli di *zebrafish* e di topo.

L'ipoplasia cartilagine capillizio (sindrome CHH) è una forma di nanismo disarmonico, con capelli radi, anemia, immunodeficienza e aumentato rischio di tumori. Ne esiste una forma molto più grave per quanto attiene alle alterazioni ossee, che però non presenta rischio neoplastico, la displasia anauxetica (AD). Le due sindromi sono dovute a mutazioni nello stesso gene, codificante per la componente di RNA della RNasi MRP (*RNAse for mitochondrial RNA processing*), un enzima con molti substrati, tra i quali anche gli rRNA e gli mRNA. La bassa statura è attribuita al difetto di maturazione dell'rRNA 5.8S, che non viene tagliato dal precursore. Ciò provocherebbe una ridotta proliferazione dei condrociti. Invece, la suscettibilità al cancro sarebbe dovuta a un'alterata degradazione dell'mRNA della ciclina B, un altro bersaglio della RNasi MRP. Questo spiega la differenza per quanto riguarda la suscettibilità ai tumori della CHH, rispetto alla AD: le mutazioni presenti nella AD non comportano l'accumulo della ciclina.

La prima forma identificata di ribosomopatia acquisita è la Sindrome 5q-, una forma di anemia macrocitica derivata dalla formazione di un clone mutante a livello midollare, caratterizzato dalla delezione di una parte del braccio lungo del cromosoma 5, in eterozigosi con la sequenza normale. Studi funzionali hanno dimostrato che l'anemia è dovuta alla delezione del gene *RPS14*. Anche in questo caso il difetto induce p53. La mielodisplasia tende a evolvere verso la AML (Ebert et al., 2008). In seguito, sono state identificate mutazioni nei geni RP in varie forme di leucemia e tumori solidi (Box 3).

Ribosomopatie senza compromissione midollare

La sindrome di Treacher Collins (TCS) è caratterizzata da anomalie dello sviluppo craniofacciale, che causano una *facies* caratteristica con rima palpebrale a orientamento antimongolico, ipoplasia degli zigomi e della mandibola, atresia del meato uditivo esterno, sordità di trasmissione per alterazioni a carico dell'orecchio medio. È causata da mutazioni in geni coinvolti nella trascrizione dell'rRNA, in particolare *TCOF1* e due geni che codificano per subunità comuni alle RNA

Box 3**Ribosomi e cancro**

Poiché la cellula neoplastica prolifera continuamente, ha bisogno di una sintesi proteica ben funzionante. Tuttavia, negli ultimi anni una serie di studi basati sull'analisi dell'intero genoma in cellule neoplastiche hanno riscontrato la frequente presenza di mutazioni nei geni codificanti le proteine ribosomali, facendo ipotizzare un loro ruolo nel processo di cancerogenesi. Mutazioni sono state identificate nel cancro endometriale (*RPL22*), nella leucemia linfoblastica acuta a cellule T (*RPL10*, *RPL5*, *RPL11*), nel cancro del retto colon (*RPS20*), nel glioma (*RPL5*). Alcune delle RP coinvolte sono le stesse che, quando mutate a livello germinale, provocano la DBA (*RPL5*, *RPL11*). Anche modelli animali, tra cui la *Drosophila* e lo *zebrafish*, sviluppano tumori quando presentano il difetto di una RP. D'altronde, le ribosomopatie con compromissione emopoietica sono caratterizzate da un aumentato rischio di sviluppare tumori, in particolare la DBA, la SDS, la DC legata all'X, la sindrome 5q-.

Il nesso tra il difetto a carico dei geni codificanti RP, che dovrebbe condurre di per sé a una ridotta proliferazione, e il fenotipo neoplastico non è stato ancora del tutto chiarito. Dati sperimentali, ottenuti su animali modello, permettono di formulare varie ipotesi per spiegare il meccanismo con cui le mutazioni nelle RP possono favorire la cancerogenesi. La prima si basa sull'osservazione che mutazioni nelle RP alterano la regolazione delle vie di segnalazione intracellulari indotte da p53, la proteina che controlla l'integrità del genoma e il processo vita/morte nella cellula. In particolare, una continua attivazione di p53 indotta dallo stress ribosomale indurrebbe uno stato di selezione a favore di eventuali cloni cellulari emersi per una mutazione somatica, di origine casuale, conferente un vantaggio proliferativo. Da questi cloni partirebbe la trasformazione neoplastica.

Un'altra ipotesi, invece, si basa sull'osservazione che una corretta organizzazione del nucleolo sia importante per l'organizzazione spaziale di regioni cromosomiche eterocromatiniche a esso adiacenti. L'alterazione dell'architettura della cromatina attorno ai nucleoli è stata osservata in cellule con difetto di RP. Ciò indica un fine bilanciamento tra la biogenesi del ribosoma e l'organizzazione cromatinica. Un'alterata organizzazione dell'eterocromatina potrebbe favorire l'instabilità cromosomica, il danno sul DNA e, di conseguenza, la trasformazione neoplastica.

Sono anche state chiamate in causa vie di segnalazione, che verrebbero attivate per lenire in qualche modo il danno determinato dallo stress ribosomale, dovuto alla riduzione dei ribosomi.

Un altro meccanismo interessante, collegato funzionalmente a questa ipotesi, è relativo alla possibilità che, in condizioni di stress ribosomale, si verifichino delle modificazioni di tipo qualitativo a livello della traduzione. In altre parole, ribosomi anomali, perché mancanti di una proteina ribosomale, o semplicemente ridotti drasticamente di numero, potrebbero preferire la traduzione di specifici mRNA, in grado di favorire la sopravvivenza e la proliferazione cellulare in condizioni di stress. In questo modo si genererebbe una situazione favorevole alla comparsa del fenotipo neoplastico. Esempi di questo tipo esistono in letteratura. In modelli di discheratosi congenita è stata riscontrata una specifica alterazione dell'espressione di alcuni geni (Yoon et al., 2006). La discherina nucleolare si associa a un gruppo di snoRNP chiamati H/ACA, che hanno un ruolo nella pseudo-uridilazione dell'rRNA, nel corso della sua maturazione. La discherina mutante altera tale meccanismo e i ribosomi risultano avere un pattern di pseudouridilazione anomalo, a cui conseguirebbe una anomala traduzione di alcuni mRNA. Inoltre, uno studio ha mostrato una ridotta traduzione dei trascritti Hox nel topo con delezione di *Rpl38* (Kondrashov et al., 2011). Un altro esempio interessante è dato dall'osservazione che il fattore trascrizionale GATA1, critico per l'eritropoiesi normale, verrebbe meno tradotto in cellule con una mutazione in una RP. Poiché la porzione 5'dell'mRNA di GATA1 ha una struttura complessa, si è ipotizzato che un ridotto numero di ribosomi possa causare una minore sintesi di proteine il cui mRNA sia tecnicamente difficile da tradurre a favore di proteine codificate da trascritti, per così dire, più semplici. Una ridotta sintesi dei fattori coinvolti nella replicazione e nel restauro del DNA, come pure degli istoni, potrebbe condurre a instabilità genomica. La tecnologia del *ribosome profiling* (una tecnica in grado di rivelare quali mRNA vengono in un preciso momento tradotti dalla cellula) nel contesto di difetti di biogenesi del ribosoma è una tecnica essenziale per verificare la validità di queste ipotesi.

Inoltre, non bisogna dimenticare che alcune RP hanno funzioni extraribosomali. Alcune di queste funzioni potrebbero essere rilevanti nello sviluppo del tumore, in particolare quelle connesse con il restauro del DNA, la trascrizione e il controllo dell'apoptosi. Studi di trascrittomica hanno dimostrato che l'espressione di alcune RP è anomala in vari tumori: alcune aumentano, altre si riducono. Infine, è stato anche proposto che in condizione di stress si verifichi un'alterazione della fedeltà della traduzione.

polimerasi I e III (*POLR1D* e *POLR1C*). La polimerasi I trascrive il precursore comune dell'rRNA, che darà origine alle specie 18S, 28S, e 5.8S, mentre la III trascrive l'RNA 5S. Il gene *TCOF1*, responsabile della maggioranza dei casi, codifica per *treacle*, proteina altamente espressa a livello degli archi branchiali dell'embrione, secondo uno schema spaziotemporale. Modelli di *zebrafish* e di topo hanno mostrato un tipico difetto nella migrazione delle cellule della cresta neurale dovuto a ridotta proliferazione e aumento dell'apoptosi. Queste

anomalie sono state chiamate in causa per spiegare la sordità dei pazienti, poiché l'orecchio medio deriva dalla cresta neurale. Il tessuto sensibile al difetto ribosomale, in questo caso, è quello della cresta neurale. Non è chiaro quale sia esattamente la funzione di *treacle*, ma si ritiene che il fenotipo dei pazienti derivi da un difetto dell'interazione di *treacle* con altre proteine. È nota la sua interazione con il fattore UBF (*upstream binding factor*) che modula l'attività delle RNA polimerasi. Infatti, una riduzione di *treacle* riduce la trascrizio-

ne dell'rRNA in modelli sperimentali. Questo effetto è in accordo con le forme di TCS dovute a mutazioni nei due geni che codificano per le subunità delle RNA polimerasi. *Treacle* interagisce anche con proteine coinvolte nella metilazione dell'rRNA. Anche in questo caso si ha attivazione di p53 (Lau et al., 2016)

I pazienti con la cirrosi infantile degli indiani nordamericani (NAIC) presentano ittero neonatale, che evolve verso la cirrosi biliare. L'unica terapia possibile è il trapianto di fegato da donatore. È stata associata a una variante missense nel gene *CIRH1A* (*cirrhosis, autosomal recessive 1A*), che codifica per la cirrina, una proteina coinvolta nel processamento dell'rRNA. Recentemente il ruolo di questa variante è stato messo in discussione. Altre forme molto rare includono l'aplasia isolata della milza (caratterizzata dalla mancata formazione della milza), l'aplasia cutis congenita (caratterizzata da aree di alopecia per alterata maturazione dei follicoli), la sindrome di Bowen-Conradi (caratterizzata da grave ritardo psicomotorio e morte nell'infanzia), la sindrome con alopecia, danno neurologico e endocrinopatia (alopecia, microcefalia, ritardo mentale e insufficienza surrenalica).

Si ritiene che in tutti i casi si verifichi un'anomalia della biogenesi o della funzione dei ribosomi. L'eterogeneità avalla l'ipotesi che ribosomi anomali possano determinare un'abnorme sintesi proteica specifica per alcuni tessuti e per alcuni mRNA.

Si tratta di forme molto rare, che menzioniamo in questa trattazione solo per mostrare la notevole eterogeneità delle ribosomopatie. Rimandiamo alla Tabella I e alla letteratura per maggiori dettagli (Armistead e Triggs-Raine, 2014; Danilova e Gazda, 2015).

Conclusioni e prospettive per il futuro

In seguito alla scoperta delle cause genetiche delle ribosomopatie le conoscenze scientifiche hanno fatto passi da gigante. È interessante osservare come, pur

mostrando una notevole eterogeneità clinica, la maggior parte di queste forme siano caratterizzate da attivazione di p53 nei tessuti bersaglio. La via di p53 rappresenta un importante *checkpoint*, il cui scopo è di verificare l'integrità del ribosoma prima che la cellula possa iniziare la divisione cellulare. Se la biogenesi del ribosoma è anomala vengono attivati segnali di arresto del ciclo e/o apoptosi per garantire che cellule con difetto della biogenesi del ribosoma non possano sopravvivere (Fig. 2). Gli effetti tessuto specifici che si riscontrano nelle varie ribosomopatie possono essere determinati da molteplici fattori, tra cui l'alterazione della specificità dei ribosomi dovuta a modificazioni degli rRNA o del contenuto delle RP, l'espressione tessuto specifica del gene coinvolto, gli effetti dettati dall'interazione della relativa proteina con altri *partner*, nonché differenze nella risposta a vie di segnalazione indotte dallo stress.

Per quanto riguarda la clinica, nel caso della DBA l'identificazione dei geni responsabili ha enormemente facilitato la conferma diagnostica, prima ottenuta solo per esclusione di altre forme di insufficienza midollare. Una delle conseguenze più immediate è la possibilità di richiedere la diagnosi prenatale nelle famiglie in cui sia nato un bambino ammalato. La diffusione delle strategie del *Next Generation Sequencing* a livello diagnostico renderà molto più veloce l'identificazione del gene mutato nei pazienti, poiché con questi mezzi è possibile analizzare contemporaneamente tutti i geni coinvolti. Un chiaro esempio di interazione tra le nuove conoscenze in campo di patogenesi e la gestione del paziente è stata l'applicazione in campo diagnostico delle analisi volte a studiare la biogenesi ribosomale (Quarello et al., 2015).

Nonostante la grande massa di informazioni a livello della patogenesi, finora non si sono ancora avute grandi innovazioni per quanto concerne le prospettive terapeutiche delle forme con grave compromissione dell'emopoiesi. Occorre dire che negli ultimi anni sono notevolmente migliorati i protocolli di trapianto di cellule emopoietiche da donatore aploidentico (ad

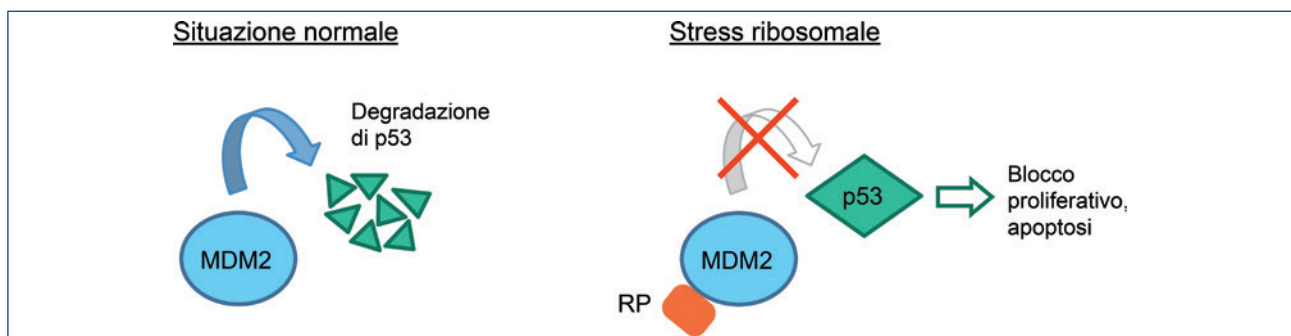


Figura 2. Lo stress ribosomiale.

In condizioni normali la proteina MDM2 degrada p53, permettendo la proliferazione cellulare. In cellule sottoposte a stress ribosomiale alcune RP non complessate nelle subunità ribosomiali possono legarsi a MDM2 impedendo che interagisca con p53. In queste condizioni p53 non viene degradato e provoca blocco della proliferazione e morte cellulare. Sono state descritte anche altre vie di segnalazione attivate dallo stress ribosomiale.

esempio un genitore) e ciò rende possibile questa terapia risolutiva anche per i pazienti che non hanno la disponibilità di un donatore HLA identico. L'introduzione in clinica di chelanti orali del ferro ha migliorato la *compliance* per la chelazione in molti pazienti con DBA. I successi ottenuti dalla terapia genica in altre malattie emopoietiche, o comunque curabili tramite trapianto di cellule emopoietiche, rende ipotizzabile l'applicazione di queste terapie anche per le ribosomopatie ematologiche, in un futuro non lontano.

Nel caso della DBA la migliore conoscenza della patogenesi ha reso possibile l'allestimento di saggi funzionali applicabili su vasta scala per lo studio contemporaneo di migliaia di molecole, allo scopo di osservare una risoluzione del difetto eritroide. Sono emerse molecole potenzialmente interessanti, che si stanno avviando alla sperimentazione clinica (Lee et al., 2015). Alcuni aspetti delle ribosomopatie devono ancora essere caratterizzati. In particolare, non è chiaro: 1)

come mai il difetto di una struttura ubiquitaria come il ribosoma produca fenotipi tessuto-specifici; 2) come avvenga la transizione da una situazione ipoproliferativa e proapoptotica al fenotipo neoplastico nelle forme ematologiche; 3) che cosa determini i quadri così differenti, che si riscontrano per alcune ribosomopatie anche nell'ambito della stessa famiglia e quindi in presenza della stessa mutazione (in particolare, nel caso della DBA non sono note le cause che conducono alla remissione una parte dei pazienti); 4) quali siano i meccanismi che conducono alla morte cellulare e al fenotipo ipoproliferativo senza il coinvolgimento di p53 (ma anche quelli che richiedono p53 non sono del tutto chiariti). Infine, lo stress ribosomale deve essere meglio caratterizzato, non solo per meglio comprenderne il ruolo nel processo di trasformazione neoplastica, ma anche per la possibilità di utilizzarne l'effetto proapoptotico nella terapia dei tumori.

Box di orientamento

- **Cosa sapevamo prima**

Le ribosomopatie parevano essere tipicamente patologie ereditarie rare, caratterizzate da compromissione dell'emopoiesi, e di interesse esclusivamente pediatrico.

- **Cosa sappiamo adesso**

Ora sappiamo che esistono forme che compaiono nell'adulto e altre senza compromissione della funzione midollare. Soprattutto, sappiamo che anomalie a carico della biogenesi e della funzione dei ribosomi sono presenti anche nelle cellule di molti tumori ed hanno un'azione favorente lo sviluppo della neoplasia. Conosciamo meglio il processo patogenetico che conduce allo stress ribosomale.

- **Quali ricadute sulla pratica clinica**

È ora più facile la diagnosi delle forme ereditarie. La migliore conoscenza della patogenesi ha permesso di generare strategie volte a individuare nuovi farmaci atti a potenziare la ridotta eritropoiesi nei pazienti con DBA. Le innovazioni in campo di terapia genica e il successo nel trattamento di altre malattie ematologiche permettono di predirne l'applicazione anche alle ribosomopatie con compromissione midollare.

Bibliografia

Armistead J, Triggs-Raine B. *Diverse diseases from a ubiquitous process: the ribosomopathy paradox*. FEBS Lett 2014;588:1491-500.

* *Review* focalizzata sulla discussione del paradosso relativo alla specificità del danno nel corso di stress ribosomale.

Aspesi A, Pavesi E, Robotti E, et al. *Dissecting the transcriptional phenotype of ribosomal protein deficiency: implications for Diamond-Blackfan Anemia*. Gene 2014;545:282-9.

* L'articolo descrive il trascrittoma di modelli cellulari silenziati per RPS19, RPL5, RPL11 in cellule umane (TF1) che non esprimono p53. Le modificazioni osservate sono quindi indotte da vie indipendenti da p53.

Danilova N, Gazda HT. *Ribosomopathies: how a common root can cause a tree of pathologies*. Dis Model Mech 2015;8:1013-26.

* La *review* riporta tutti gli effetti dei danni ribosomali causa di malattia umana, incluse le alterazioni delle vie di trasduzione del segnale.

Danilova N, Sakamoto KM, Lin S. *Ribosomal protein S19 deficiency in zebrafish leads to developmental abnormalities and defective erythropoiesis through activation of p53 protein family*. Blood 2008;112:5228-37.

* L'articolo descrive il modello di difetto di RPS19 in *zebrafish*. Oltre a dimostrare l'attivazione di p53 e un fenotipo caratterizzato da anemia e malformazioni, il lavoro suggerisce che le malformazioni riscontrate nei pazienti possano derivare da anomalie nell'espressione di p63, omologo di p53

con un ruolo importante nella maturazione embrionale degli arti, del massiccio facciale e dei derivati ectodermici.

De Keersmaecker K, Atak ZK, Li N, et al. *Exome sequencing identifies mutation in CNOT3 and ribosomal genes RPL5 and RPL10 in T-cell acute lymphoblastic leukemia*. Nat Genet 2013;45:186-90.

** Si tratta del primo articolo che presenta il riscontro di mutazioni somatiche nei geni delle RP nella leucemia linfoblastica acuta a cellule T. Il gene *RPL5* è causa di DBA quando mutato a livello germinale.

Draptchinskaia N, Gustavsson P, Andersson B, et al. *The gene encoding ribosomal protein S19 is mutated in Diamond-Blackfan anemia*. Nat Genet 1999;21:169-75.

** L'articolo descrive l'identificazione del primo gene riconosciuto come causa di DBA. *RPS19* è il gene più frequentemente

mutato nei pazienti (è mutato in circa 25% dei pazienti).

Dutt S, Narla A, Lin K, et al. *Haploinsufficiency for ribosomal protein genes causes selective activation of p53 in human erythroid progenitor cells*. Blood 2011;117:2567-76.

* Il lavoro dimostra l'attivazione di p53 in progenitori eritroidi.

Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. *Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen*. Nature 2008;451:335-9.

* È il primo lavoro che mostra la compromissione di una proteina ribosomale in una patologia preneoplastica acquisita.

Farrar JE, Quarello P, Fisher R, et al. *Exploiting pre-rRNA processing in Diamond Blackfan anemia gene discovery and diagnosis*. Am J Hematol 2014;89:985-91.

* Il lavoro propone l'utilizzo dell'analisi della biogenesi ribosomale per confermare la patogenicità di una mutazione riscontrata in un gene codificante una RP. L'accumulo del precursore 32S è tipico di un difetto di una RP facente parte della grande subunità. Il lavoro descrive anche un nuovo gene DBA, *RPL31*.

Flygare J, Aspesi A, Bailey JC, et al. *Human RPS19, the gene mutated in Diamond-Blackfan anemia, encodes a ribosomal protein required for the maturation of 40S ribosomal subunit*. Blood 2007;109:980-6.

** È il primo lavoro che dimostra un'anomalia della biogenesi dei ribosomi in cellule di pazienti con difetto di *RPS19* e in modelli cellulari. Il difetto di *RPS19* è caratterizzato da un accumulo dell'rRNA 21S, precursore dell'rRNA 18S.

Flygare J, Kiefer T, Miyake K, et al. *Deficiency of ribosomal protein S19 in CD34+ cells generated by siRNA blocks erythroid development and mimics defects seen in Diamond-Blackfan anemia*. Blood 2005;105:4627-34.

* Si tratta del primo studio che riproduce il difetto di *RPS19* per silenziamento in progenitori emopoietici umani.

Goudarzi KM, Lindström MS. *Role of ribosomal protein mutations in tumor development (Review)*. Int J Oncol 2016;48:1313-24.

** *Review* che presenta le più recenti informazioni e ipotesi sul ruolo delle RP nello sviluppo dei tumori.

Jaako P, Flygare J, Olsson K, et al. *Mice with ribosomal protein S19 deficiency develop bone marrow failure and symptoms like patients with Diamond-Blackfan anemia*. Blood 2011;118: 6087-95.

** Si tratta del primo modello murino che mima la DBA da difetto di *RPS19* e che presenta un fenotipo ematologico. La soppressione dell'espressione di p53 impedisce la comparsa del fenotipo. Lo studio dimostra *in vivo* il ruolo di p53 nella patogenesi della DBA e produce un modello su cui testare eventuali nuove terapie. La terapia genica, caratterizzata da espressione di un cDNA WT di *RPS19*, migliora l'eritropoiesi in questi topi, dimostrando la fattibilità di tale terapia anche nell'uomo.

James A, Wang Y, Raje H, et al. *Nucleolar stress with and without p53*. Nucleus 2014;5:402-26.

** *Review* che riporta le vie di segnalazione attivate nello stress nucleolare.

Kondrashov N, Pusic A, Stumpf CR, et al. *Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning*. Cell 145:383-397:2011.

* Il lavoro dimostra una ridotta traduzione dei trascritti Hox nel topo con delezione di *Rpl38*. È un esempio della possibilità di alterazioni qualitative della traduzione in cellule in cui esiste un difetto di biogenesi del ribosoma.

Lee HY, Gao X, Barrasa MI, et al. *PPAR-α and glucocorticoid receptor synergize to promote erythroid progenitor self-renewal*. Nature 2015;522:474-7.

** Il lavoro descrive gli effetti di un farmaco in grado di ridurre la quantità di steroidi necessaria a favorire l'eritropoiesi nei modelli di DBA.

Ludwig LS, Gazda HT, Eng JC, et al. *Altered translation of GATA1 in Diamond-Blackfan anemia*. Nat Med 2014;20:748-53.

Matsson H, Davey EJ, Drapchinskaia N, et al. *Targeted disruption of the ribosomal protein S19 gene is lethal prior to implantation*. Mol Cell Biol 2004;24:4032-7.

* Il lavoro descrive il primo topo modello per la DBA, prodotto per inattivazione di *RPS19*. Questo topo, che presenta fenotipo letale allo stato di omozigosi, è normale quando eterozigote.

Mercurio S, Aspesi A, Silengo L, et al. *Alteration of heme metabolism in a cellular model of Diamond-Blackfan anemia*. Eur J Haematol 2016; 6:367-74.

* Il lavoro, effettuato su linee cellulari umane TF1 silenziate per *RPS19*, suggerisce un difetto nel metabolismo dell'eme nella patogenesi della DBA.

Quarello P, Garelli E, Carando A, et al. *Ribosomal RNA analysis in the diagnosis of*

Diamond-Blackfan Anaemia. Br J Haematol 2016;172:782-5.

* Il lavoro riporta l'utilizzo dell'analisi della biogenesi dell'rRNA a livello diagnostico.

Taylor AM, Humphries JM, White RM, et al. *Hematopoietic defects in rps29 mutant zebrafish depend upon p53 activation*. Exp Hematol 2012;40:228-37.

* L'articolo riporta un nuovo modello di DBA in *zebrafish*.

Uechi T, Nakajima Y, Chakraborty A, et al. *Deficiency of ribosomal protein S19 during early embryogenesis leads to reduction of erythrocytes in a zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia*. Hum Mol Genet 2008;17:3204-11.

* L'articolo descrive per la prima volta un modello di DBA in *zebrafish*. A differenza dei modelli murini prodotti fino ad allora, il modello in *zebrafish* presenta un fenotipo eritroide.

Vlachos A, Ball S, Dahl N, et al. *Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference*. Br J Haematol 2008;142:859-76.

** Lavoro prodotto in collaborazione da tutti gli ematologi del mondo attivi nella cura e nel *follow-up* dei pazienti con DBA, con lo scopo di fornire delle linee guida universalmente accettate.

Vlachos A, Rosenberg PS, Atsidaftos E, et al. *Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry*. Blood 2012;119:3815-9.

* È il primo lavoro che dimostra il rischio neoplastico nei pazienti DBA, tramite uno studio su vasta scala, prodotto utilizzando il Registro della DBA del Nord America.

Yang Z, Keel SB, Shimamura, A, et al. *Delayed globin synthesis leads to excess heme and the macrocytic anemia of Diamond Blackfan anemia and del(5q) myelodysplastic syndrome*, in Sci Transl Med 2016;8:338ra367.

** Lavoro che dimostra il ruolo dell'accumulo dell'eme nella patogenesi dell'anemia della DBA e della sindrome 5q-.

Yoon A, Peng G, Brandenburger Y, et al. *Impaired control of IRES-mediated translation in X-linked dyskeratosis congenita*. Science 2006;312:902-6.

* Questo articolo mostra che in cellule murine con difetto di *Dkc1* (il gene responsabile della discheratosi congenita legata a X) è alterata la traduzione di peculiari mRNA.

Corrispondenza

Irma Dianzani

Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100 Novara.

E-mail: irma.dianzani@med.uniupo.it