

www.fisiokinesiterapia.biz

MUTAZIONI

MUTAZIONE

- Mutazione: cambiamento ereditario del materiale genetico
- Molte mutazioni sono neutrali; alcune possono essere vantaggiose, altre svantaggiose (patogene)
- Il processo di mutazione è fondamentale per l'evoluzione, in quanto è il principale meccanismo che genera variabilità genetica

TIPI DI MUTAZIONI

CROMOSOMICHE

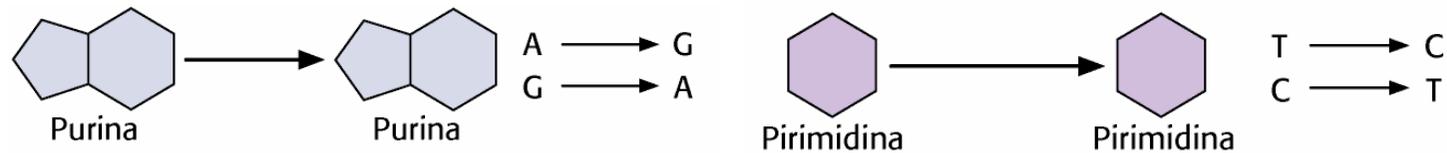
- Di numero (dette anche mutazioni genomiche)
- Strutturali

GENICHE

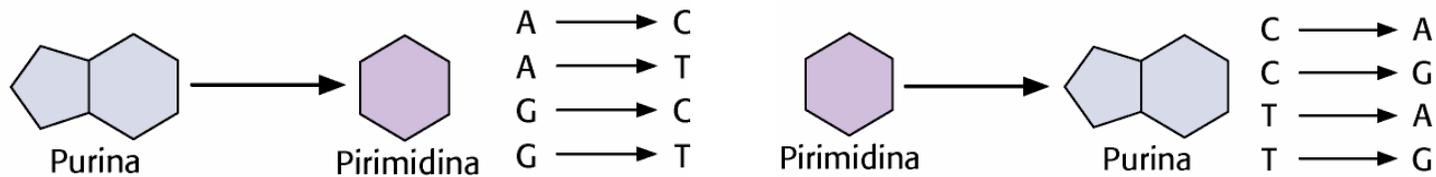
- Sostituzione di basi
- Inserzioni
- Delezioni

SOSTITUZIONI DI BASI

Transizione: sostituzione di una pirimidina con un'altra pirimidina o di una purina con un'altra purina



Trasversioni: sostituzione di una pirimidina con una purina e viceversa



Le mutazioni per sostituzioni di base e le delezioni o inserzioni che coinvolgono uno o pochi nucleotidi sono dette mutazioni puntiformi e sono il tipo di mutazione genica piu' frequente

DA CHE COSA SONO CAUSATE LE MUTAZIONI?

MUTAZIONI SPONTANEE

- errori che avvengono spontaneamente durante la replicazione del DNA o durante i processi di divisione cellulare
- lesioni spontanee del DNA

MUTAZIONI INDOTTE

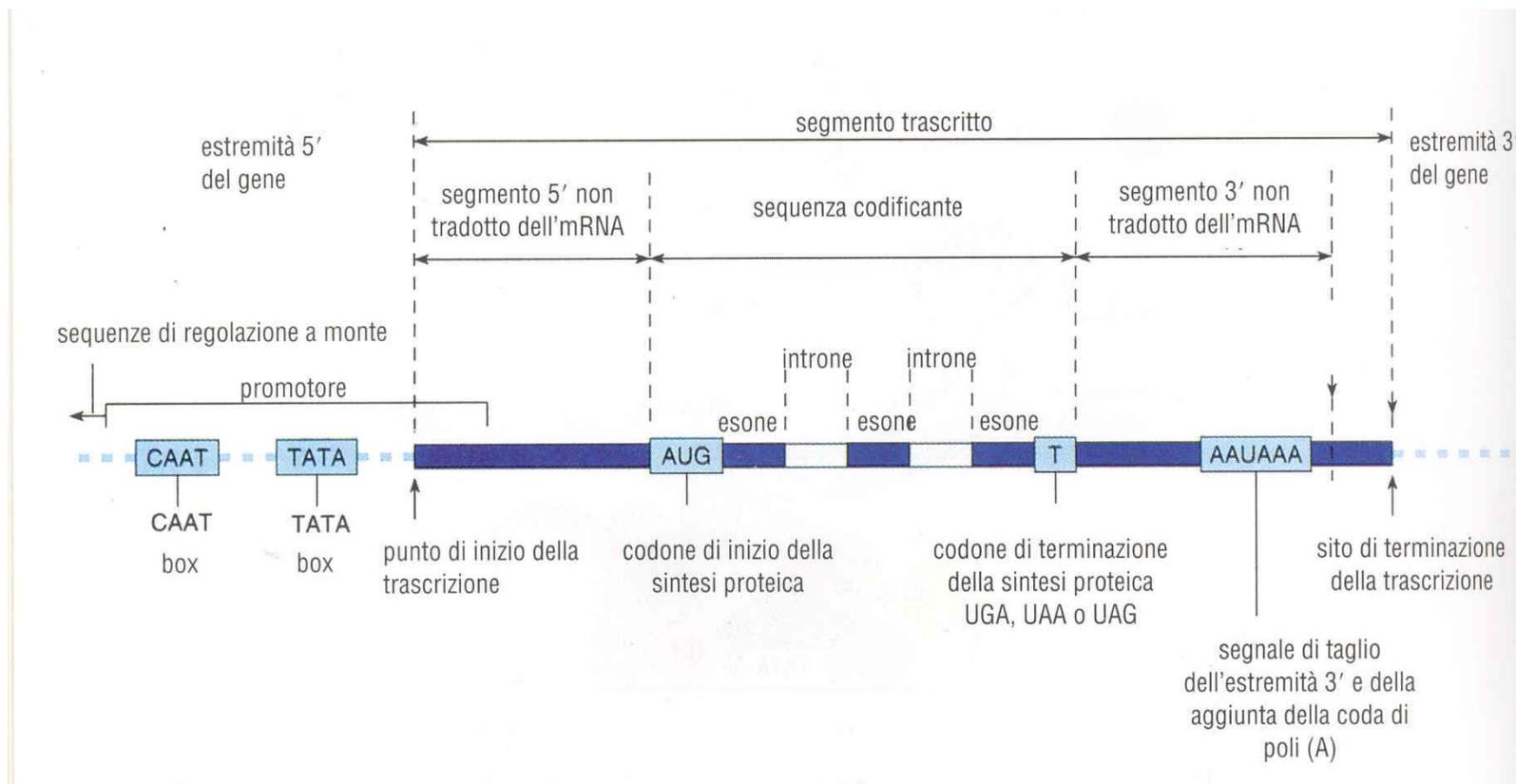
Avvengono in seguito all'esposizione ad agenti mutageni

Mutageni fisici: radiazioni ionizzanti, come raggi X e gamma, o raggi UV

Mutageni chimici
aflotossina, benzene, nitrati,...

ALL'INTERNO DI UN GENE LE MUTAZIONI POSSONO VERIFICARSI IN POSIZIONI DIVERSE

- Nelle sequenze codificanti
- Nelle sequenze non codificanti intrageniche
- Nelle sequenze alle estremità del gene (ad es. nel promotore)



IN BASE ALLE CONSEGUENZE LE MUTAZIONI GENICHE CHE CADONO NELLE SEQUENZE CODIFICANTI SONO CLASSIFICATE IN:

- mutazioni sinonime
- mutazioni missense (o di senso errato)
- mutazioni nonsense (o non senso)
- mutazioni frameshift (di sfasamento del modulo di lettura dell'mRNA)
- mutazioni che portano a delezione o inserzione di amminoacidi

MUTAZIONI SINONIME: in seguito alla sostituzione di una base si ottiene una tripletta che codifica per lo stesso aminoacido; spesso coinvolgono la terza base di un codone

Le mutazioni sinonime sono silenti perché non hanno nessuna conseguenza sulla sequenza e quindi sulla funzionalità della proteina

DNA	TCA → TCC
RNA	UCA → UCC
Proteina	Ser → Ser

		Seconda lettera					
		U	C	A	G		
Prima lettera	U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGU Cisteina UGC UGA Codone di stop UGG Triptofano	U	C
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC CAA Glutamina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	U	C
	A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina Codone di inizio	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG	U	C
	G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido aspartico GAC GAA Acido glutamico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG	U	C
						A	G

MUTAZIONI MISSENSE: portano alla sostituzione di un amminoacido con un altro amminoacido

DNA	TCA	→	TTA
RNA	UCA	→	UUA
Proteina	Ser	→	Leu

Conseguenze variabili:

- *nessun effetto se cambio con un aa con caratteristiche simili a quello originario*
- *effetti, anche pesanti, sulla funzionalità della proteina se cambio con un aa con caratteristiche chimiche diverse*

MUTAZIONI NONSENSE: portano alla formazione di un codone prematuro di stop della traduzione

La proteina sarà più corta rispetto a quella normale e quindi non funzionale

AAA	GUG	UCA	CCG	AGG	AAA	UAA
Lys	Val	Ser	Pro	Arg	Lys	
AAA	GUG	UAA	CCG	AGG	AAA	UAA
Lys	Val	Stop				

NB: per semplicità è riportata solo la sequenza dell'mRNA anche se la mutazione è avvenuta nel DNA

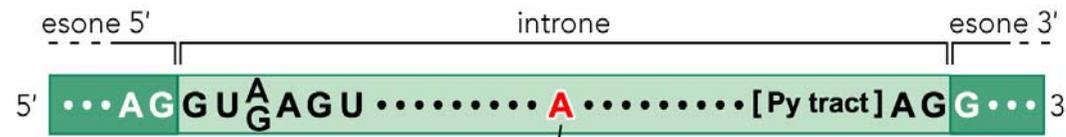
MUTAZIONI FRAMESHIFT: delezioni o inserzioni di un numero di nucleotidi diverso da 3 o da un suo multiplo. Portano allo sfasamento (shift) della fase (frame) di lettura dell'mRNA.



Dalla delezione in poi la fase di lettura dell'mRNA è alterata, con inserimento di amminoacidi sbagliati; inoltre si viene generalmente a creare un codone prematuro di stop, con produzione di una proteina più corta.

MUTAZIONI CHE PORTANO ALLA DELEZIONE O ALLA PERDITA DI UN AMMINOACIDO: si possono avere quando i nucleotidi deleti o inseriti sono 3 o un suo multiplo.

- **MUTAZIONI NEL PROMOTORE:** possono modificare i livelli di espressione dell'mRNA e quindi della proteina
- **MUTAZIONI DI SPLICING:** cadono nelle sequenze consenso di splicing (sia parte esonica che intronica) e possono alterare il corretto splicing dell'RNA. Ad es., un introne può non essere eliminato e rimanere nell'mRNA, generando così una proteina anomala



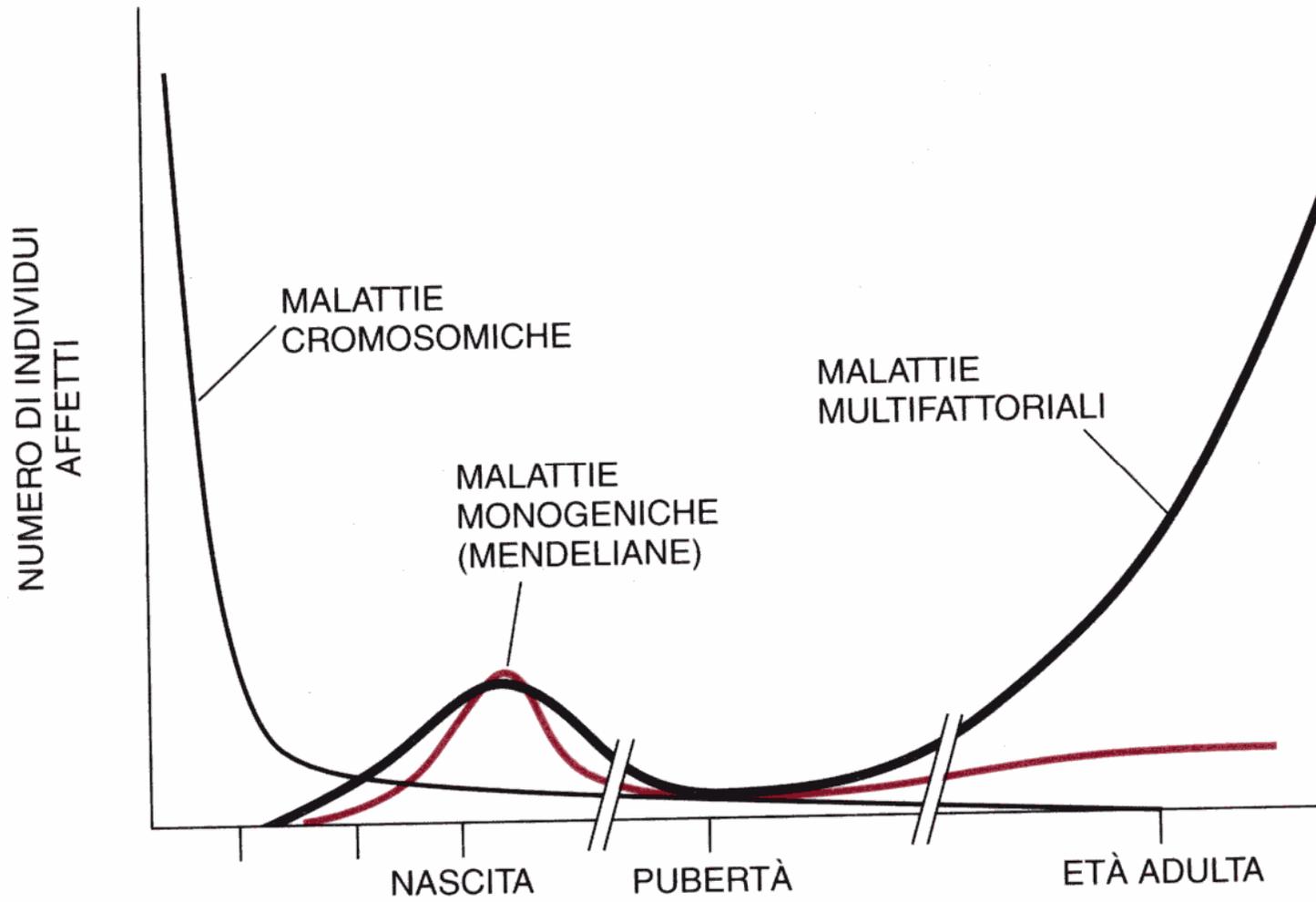
- **MUTAZIONI INTRONICHE:** sono le più frequenti. Generalmente non hanno effetti, a meno che non cadano in sequenze di splicing

MALATTIE GENETICHE

Classificazione delle malattie genetiche

- Cromosomiche
- Geniche
 - Monogeniche (mendeliane)
 - Autosomiche dominanti
 - Autosomiche recessive
 - X-linked (dominanti, recessive)
 - Multifattoriali (poligeniche)
- Mitocondriali

IMPATTO DELLE MALATTIE GENETICHE NELLE DIVERSE FASCE D'ETA'



MALATTIE MONOGENICHE (MENDELIANE)

Nell'uomo sono note più di 4000 malattie genetiche mendeliane

A seconda delle modalità di trasmissione si distinguono:

MALATTIE AUTOSOMICHE

- **recessive**
- **dominanti**

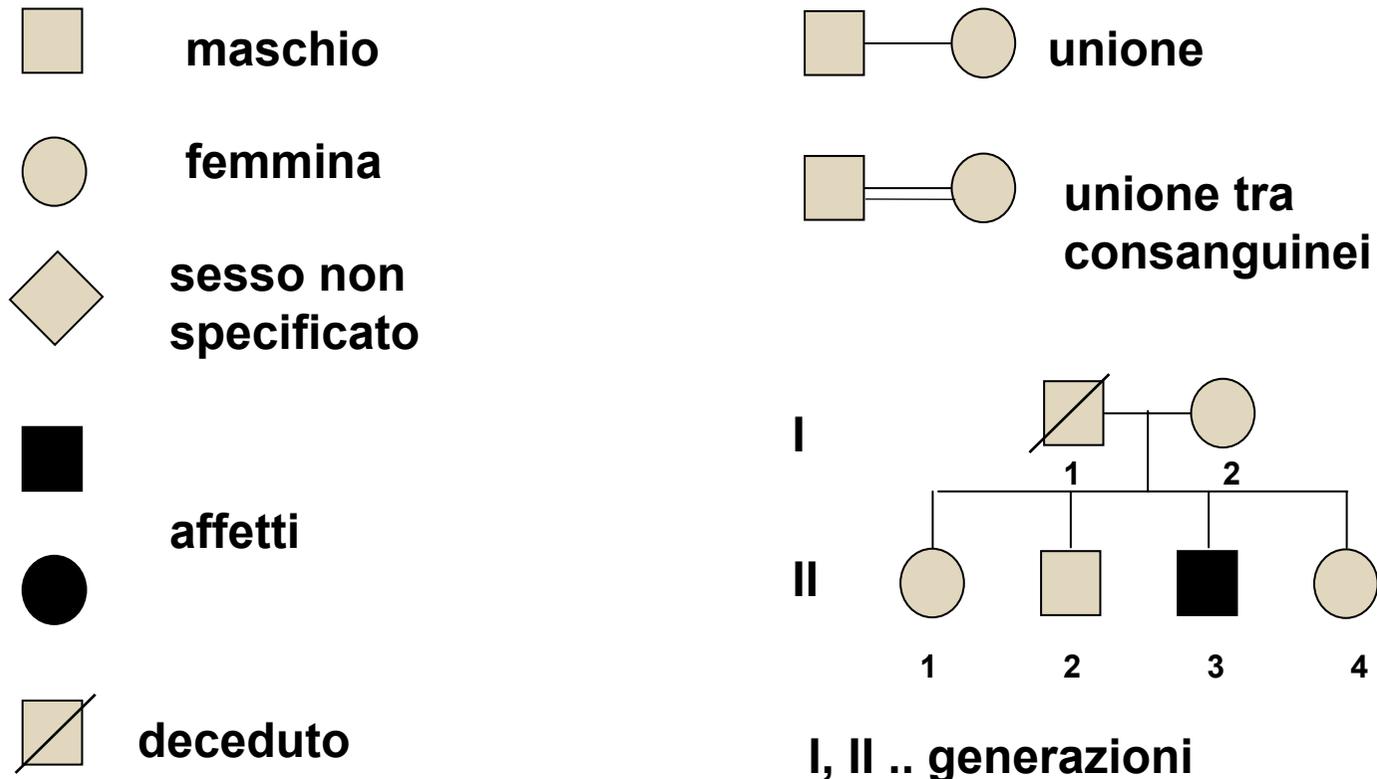
MALATTIE X-LINKED

- **recessive**
- **dominanti**

Come si fa a capire le modalita' di trasmissione di una certa malattia genetica?

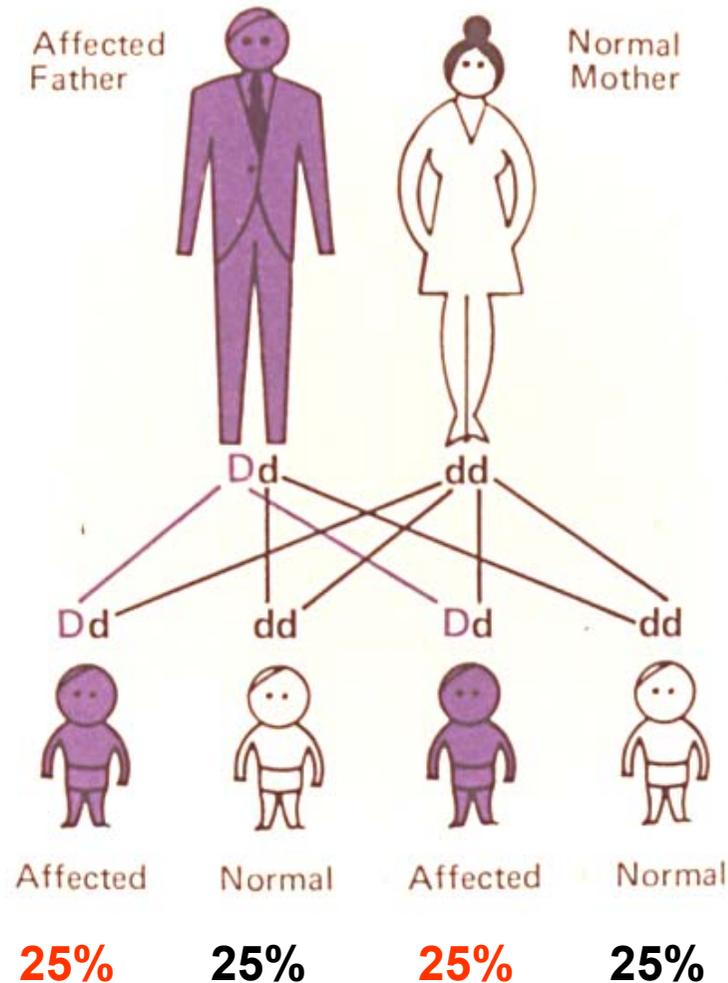
Dall'analisi degli alberi genealogici (o pedigrees)

Alcuni simboli usati nei pedigrees



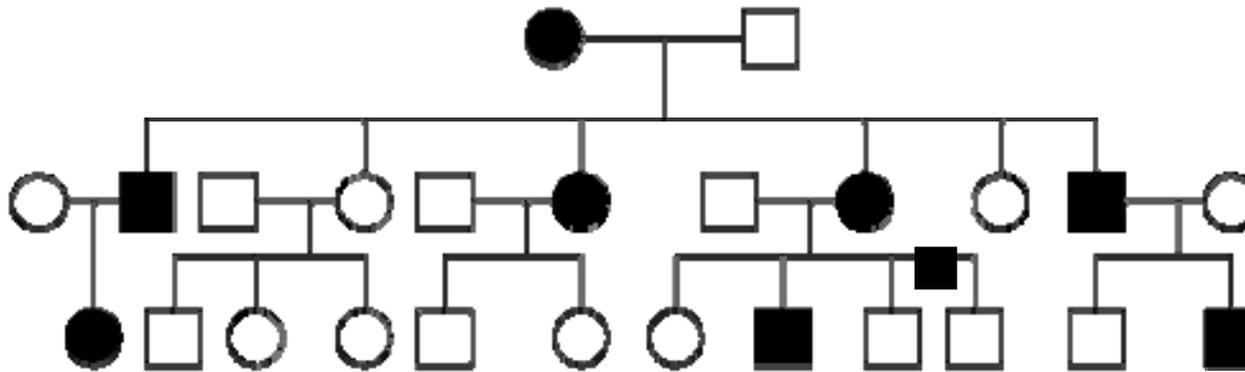
EREDITARIETA' AUTOSOMICA DOMINANTE

situazione piu' frequente



- Generalmente un soggetto affetto ha un genitore affetto (quasi sempre eterozigote)
- L'altro genitore è solitamente sano
- 50% di probabilità di figli affetti
- 50% di probabilità di figli sani

EREDITARIETA' AUTOSOMICA DOMINANTE



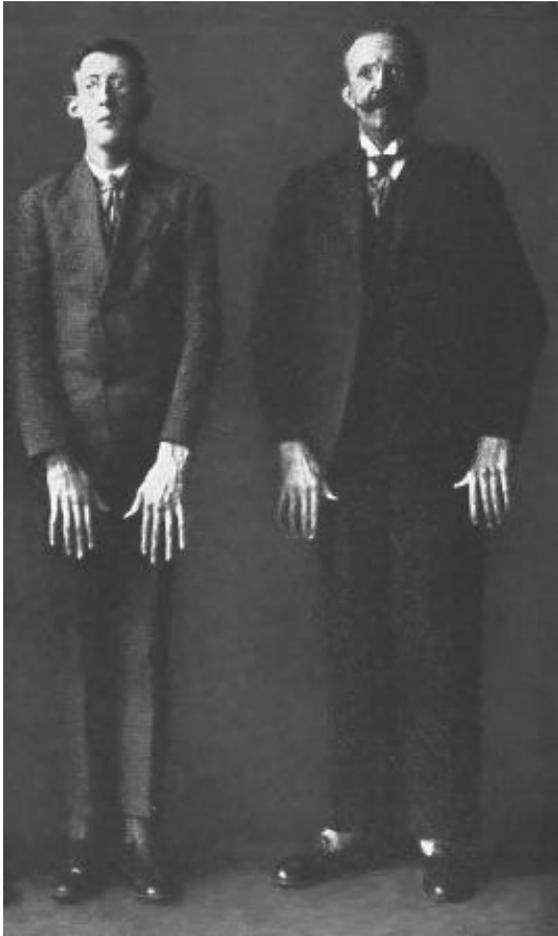
- Ogni individuo affetto ha almeno un genitore affetto
- Maschi e femmine sono affetti nelle stesse proporzioni
- Il rischio di malattia per il figlio di un'unione affetto x non affetto (tipo più frequente) è del 50%
- Se la malattia non è letale si osserva la presenza di ascendenti affetti in ogni generazione (trasmissione verticale)

Alcune malattie autosomiche dominanti

Malattia	Fenotipo	Frequenza
Ipercolesterolemia familiare	Livelli elevati di colesterolo; predispone alla formazione di placche aterosclerotiche e all'infarto. E' la malattia genetica più diffusa	1/500
Rene policistico congenito	Formazione di cisti nei reni; porta ad ipertensione ed insufficienza renale	1/3.000
Sindrome di Marfan	Difetto che colpisce i tessuti connettivi, soprattutto dello scheletro, dell'occhio e del cuore	1/5.000
Corea di Huntington	Degenerazione progressiva del sistema nervoso; demenza; morte precoce	1/20.000
Acondroplasia (nanismo disarmonico)	Bassa statura; arti brevi. Difetto nelle regioni di crescita delle ossa lunghe	1/25.000

SINDROME DI MARFAN

FREQUENZA: 1/5000



MANIFESTAZIONI CLINICHE

Apparato scheletrico

Statura elevata, aspetto longilineo, arti lunghi e sottili, aracnodattilia

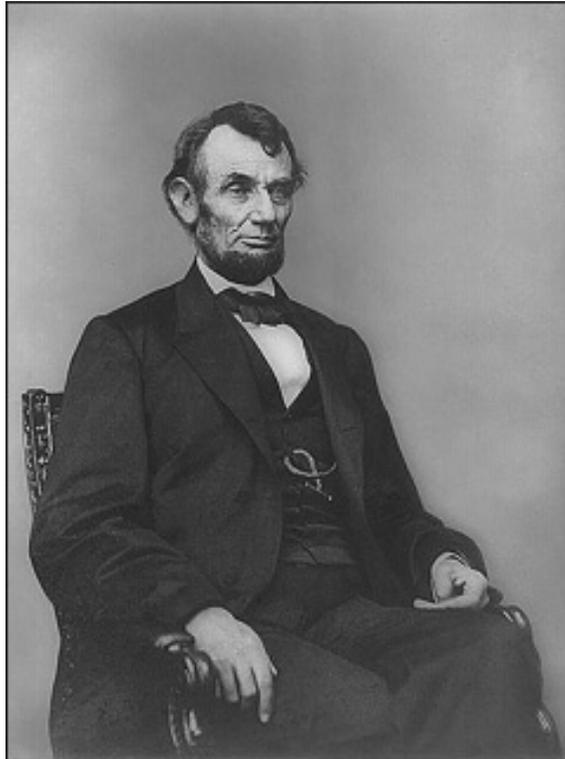
Lassità delle articolazioni

Spesso deformità della gabbia toracica, scoliosi o lordosi

Apparato oculare: miopia grave, dislocazione del cristallino

Apparato cardiovascolare: dilatazione progressiva dell'aorta che può portare a morte prematura per rottura di un'aneurisma; insufficienza cardiaca

SINDROME DI MARFAN ?



Abraham Lincoln



Niccolò Paganini

SINDROME DI MARFAN

Nella maggior parte dei casi dovuta a mutazioni del gene per la fibrillina-1 (FBN1), localizzato sul braccio lungo del cromosoma 15 (15q21.1).

Fibrillina: proteina che forma le microfibrille associate alle fibre di elastina, che entrano a far parte del pericondrio, del periostio, del legamento sospensorio del cristallino, della parete dei vasi sanguigni, della cute

A tutt'oggi sono note più di 500 diverse mutazioni, nella maggior parte puntiformi, del gene FBN1

Altro gene coinvolto: FBN2, localizzato sul cromosoma 5, che codifica per una proteina appartenente alla famiglia delle fibrilline

ETEROGENEITA' GENETICA

ETEROGENEITA' ALLELICA: la malattia e' dovuta a mutazioni diverse nello stesso gene. Osservabile nella maggior parte delle malattie mendeliane

Ad es. nei pazienti Marfan sono state finora identificate 500 diverse mutazioni del gene FBN1

ETEROGENEITA' DI LOCUS: stesso fenotipo causato da mutazioni in geni (loci) diversi

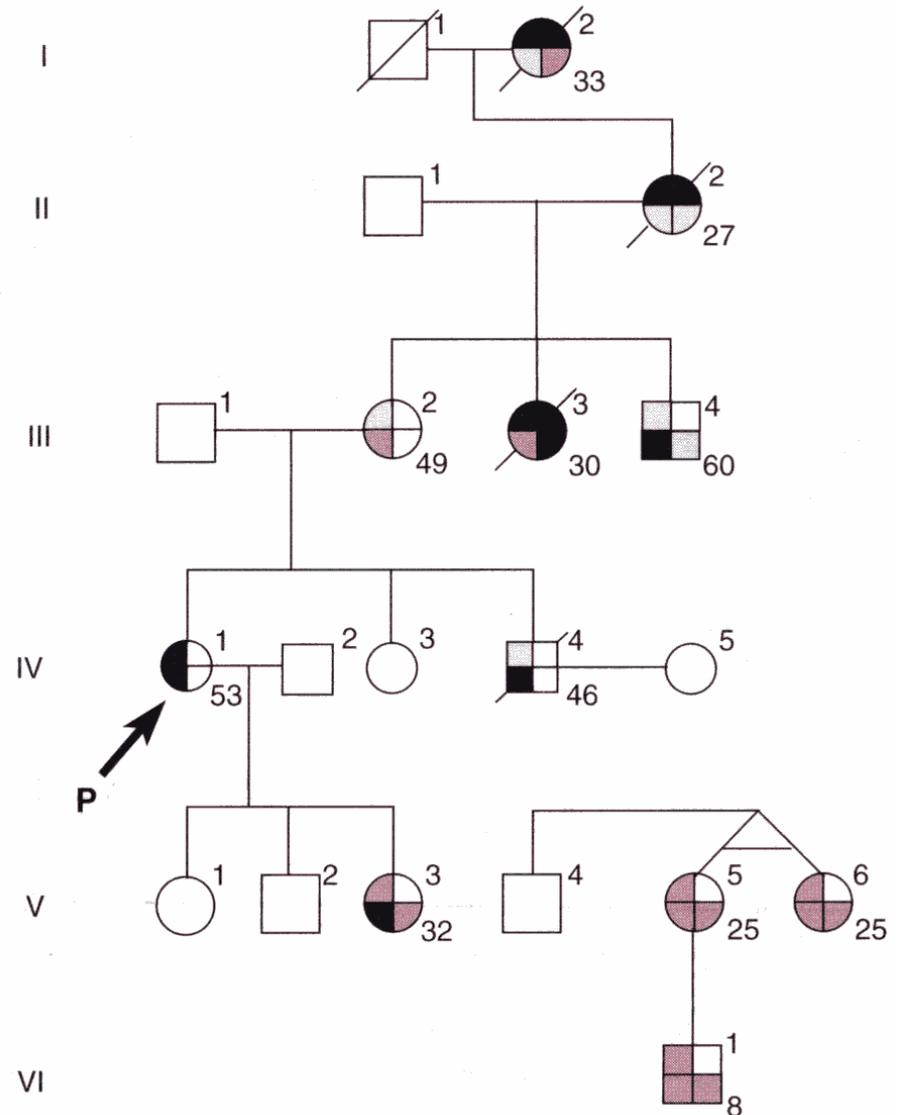
Ad es. sindrome di Marfan: mutazioni nei gene FBN1 o FBN2

Espressività variabile

- La stessa malattia si manifesta, anche all'interno della stessa famiglia, con sintomi e gravità variabile
- Frequente nelle malattie AD
- Es: nella sindrome di Marfan un soggetto affetto può mostrare alterazioni più o meno gravi dei diversi sistemi coinvolti (scheletrico, oculare, cardio-circolatorio)

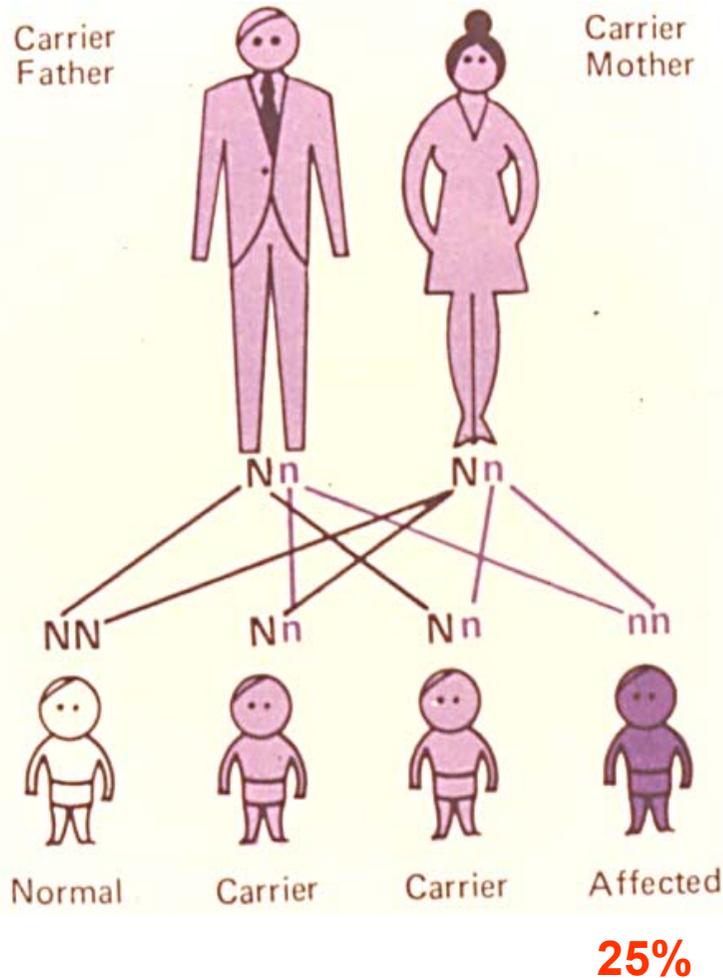
	CUORE	SCHIELETRO	OCCHIO
■ Grave	Dilatazione aortica	Scoliosi	Dislocazione del cristallino
■ Lieve	Prolasso della valvola mitrale	Lassità articolare aracnodattilia	Miopia
□ Sconosciuto			
□ Assente			

■	CUORE	■	MORTE PER DISSECAZIONE AORTICA
■		■	
■		■	
■		■	
■	SCHIELETRO	■	OCCHIO



EREDITARIETÀ AUTOSOMICA RECESSIVA

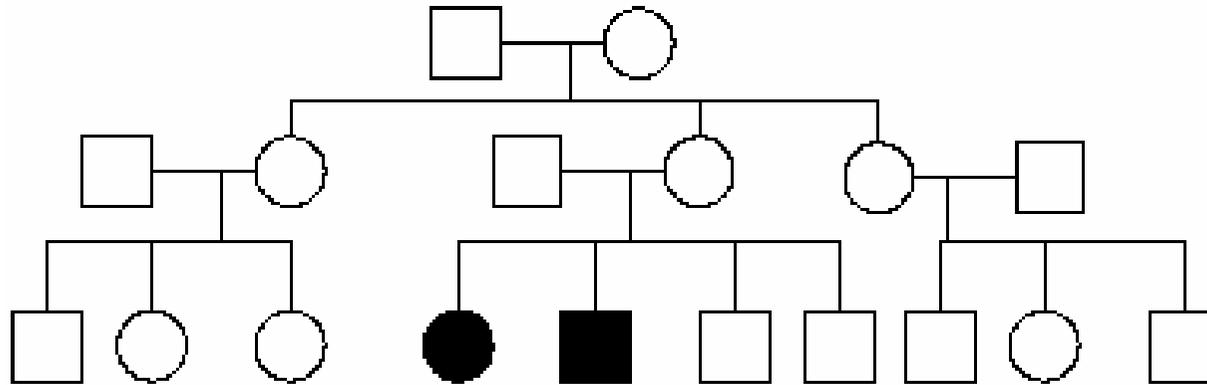
situazione piu' frequente



Carrier = portatore

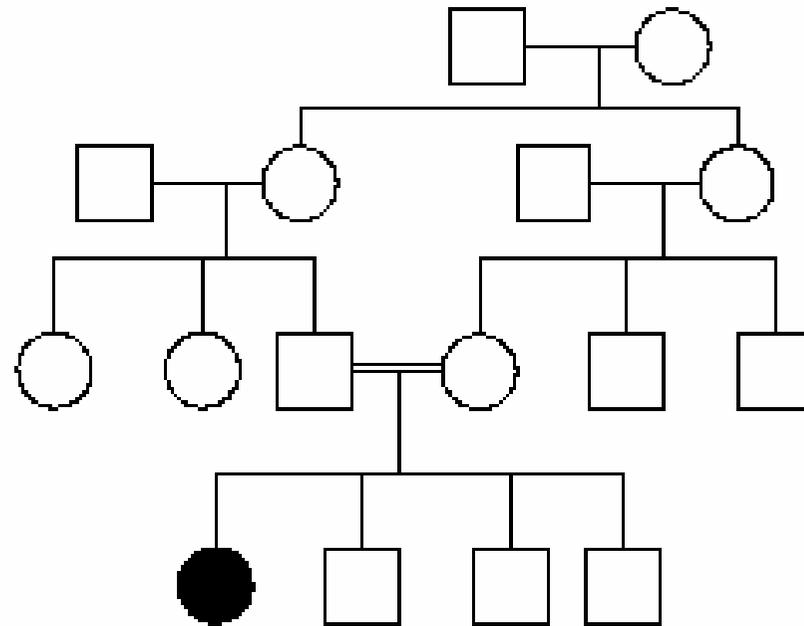
- I genitori sono portatori sani e hanno fenotipo normale
- Gli individui affetti sono omozigoti recessivi
- 25% della discendenza è affetto
- 75% della discendenza è sano (50% portatori)

EREDITARIETA' AUTOSOMICA RECESSIVA



- Gli individui affetti sono omozigoti per l'allele malattia
- Un individuo affetto ha generalmente genitori entrambi sani ma eterozigoti (portatori); il rischio di un altro figlio affetto da questo tipo di unione è $1/4$
- Maschi e femmine sono affetti nelle stesse proporzioni
- Solitamente gli affetti si presentano in una singola fratria e in una sola generazione (trasmissione orizzontale)

EREDITARIETA' AUTOSOMICA RECESSIVA



Se la malattia è rara i genitori sono spesso **consanguinei**

Alcune malattie autosomiche recessive

Malattia	Fenotipo	Frequenza
Anemia falciforme	Emoglobina anomala; globuli rossi deformati che occludono i vasi sanguigni con gravi conseguenze su tutti gli organi	1/500 tra gli Africani
Fibrosi cistica	Produzione di muco estremamente viscoso nelle vie respiratorie (infezioni polmonari ricorrenti) e nel pancreas (insufficienza pancreatica)	1/2.500 tra i Caucasici (bianchi)
Beta talassemia	Produzione alterata di catene beta dell'emoglobina. Anemia grave	1/2.500 tra i Sardi
Sordità	Le forme genetiche recessive sono la causa più frequente di sordità congenita	1/2.500
Fenilchetonuria	Accumulo di fenilalanina nel sangue; grave ritardo mentale	1/10.000

FIBROSI CISTICA

Frequenza individui affetti: 1: 2.500 Caucasici

1: 17.000 Africani

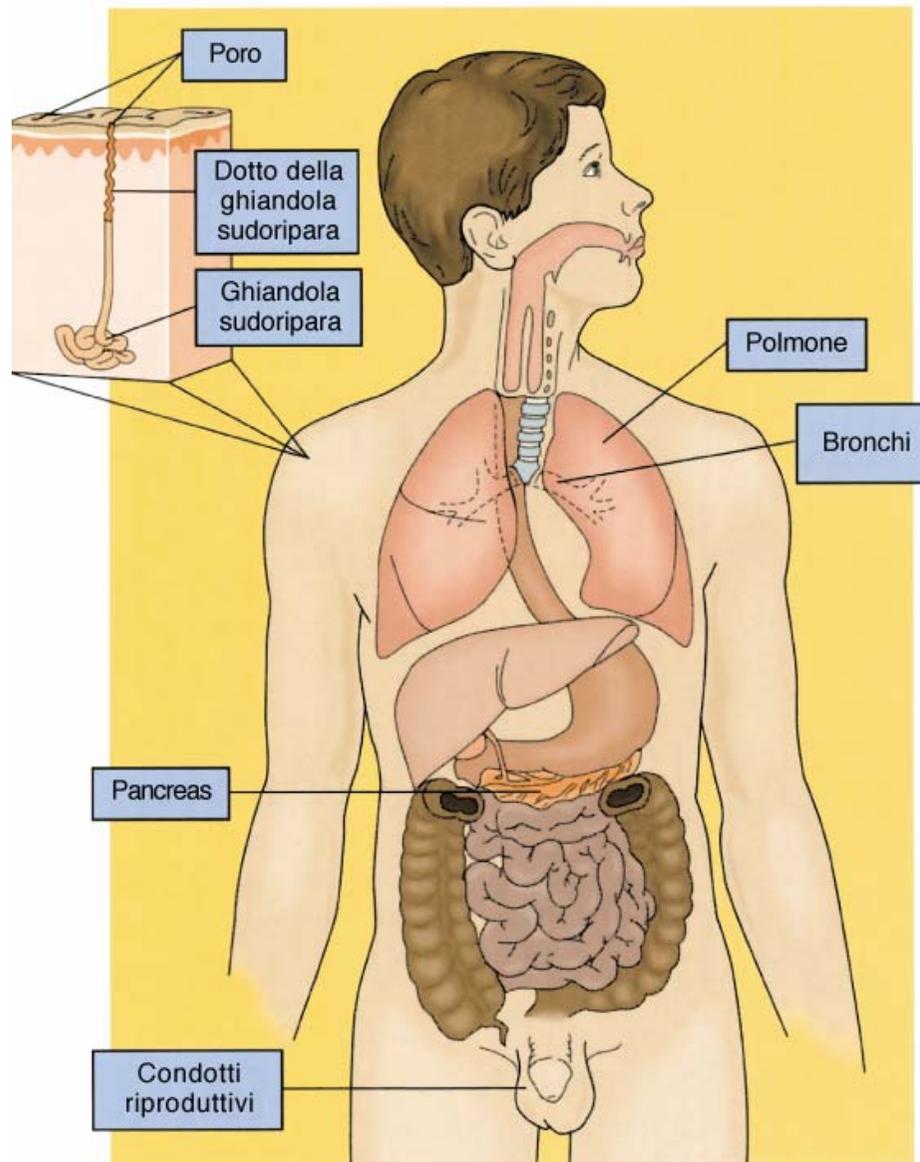
1: 90.000 Asiatici

Frequenza portatori tra i Caucasici: 1:25

Gli individui affetti nascono in quasi tutti i casi da genitori entrambi portatori sani

La malattia è caratterizzata da secrezione mucose dense e viscose a livello delle vie respiratorie e dei dotti ghiandolari

Fino a poco tempo fa la malattia era generalmente letale entro i 30 anni; attualmente, grazie a interventi terapeutici appropriati (profilassi antibiotica, fisioterapia respiratoria, etc) l'aspettativa di vita può arrivare ai 50 anni



Apparato respiratorio: il muco spesso e viscoso ostruisce le vie respiratorie e rallenta la rimozione di virus e batteri, provocando difficoltà respiratorie e infezioni polmonari ricorrenti.

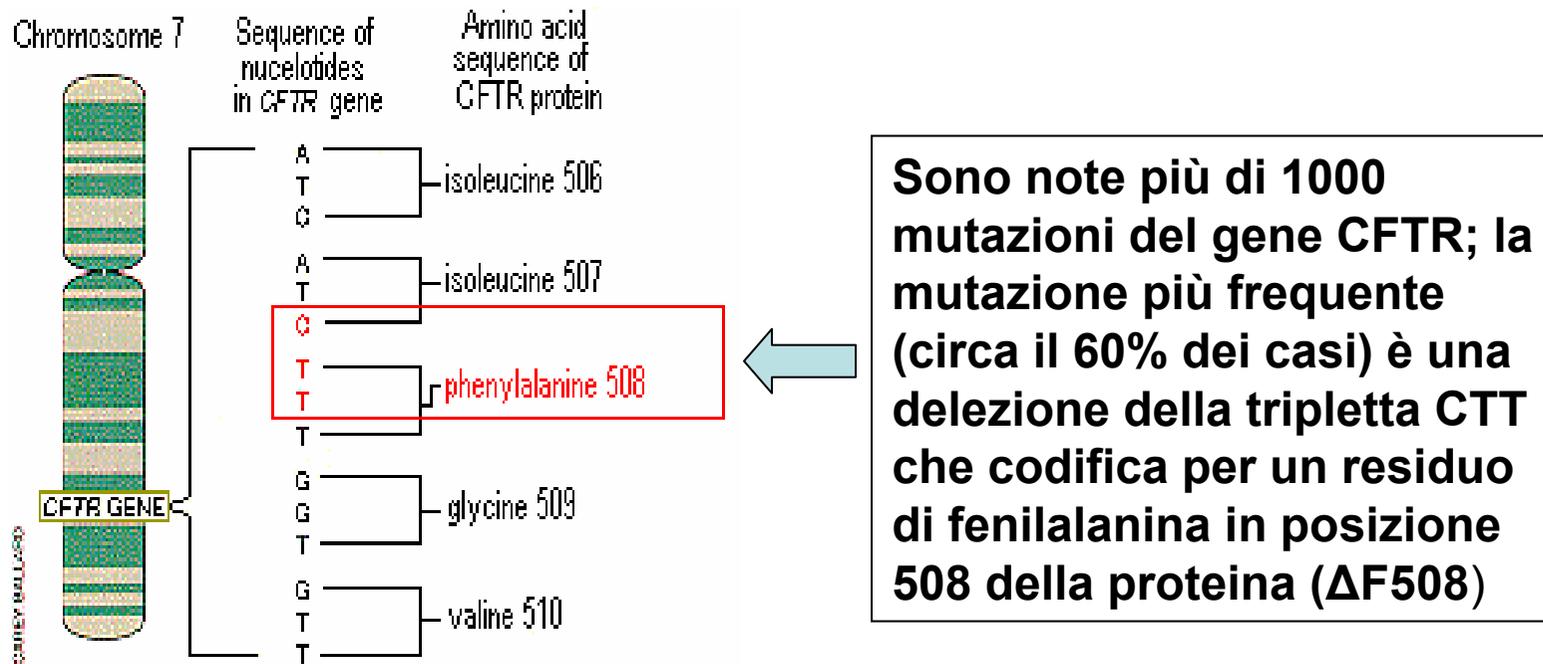
Pancreas: il muco ostruisce i dotti che portano gli enzimi digestivi dal pancreas all'intestino; ne consegue malassorbimento degli alimenti e crescita corporea rallentata.

Apparato riproduttivo: ostruzione dei vasi deferenti e infertilità nel 95% dei casi. Anche nelle femmine ridotta fertilità.

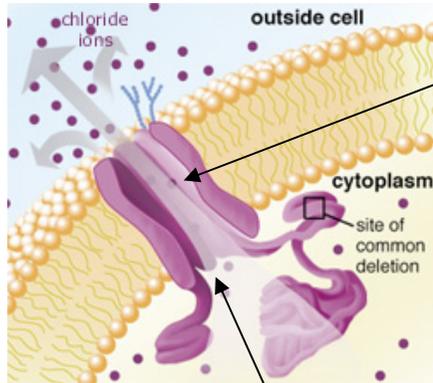
Pelle: malfunzionamento delle ghiandole sudoripare che rilasciano elevate quantità di NaCl nel sudore (sudore salato)

La fibrosi cistica è dovuta a mutazioni in un gene (CFTR) che mappa sul cromosoma 7.

Il prodotto del gene CFTR è una proteina di 1480 amminoacidi

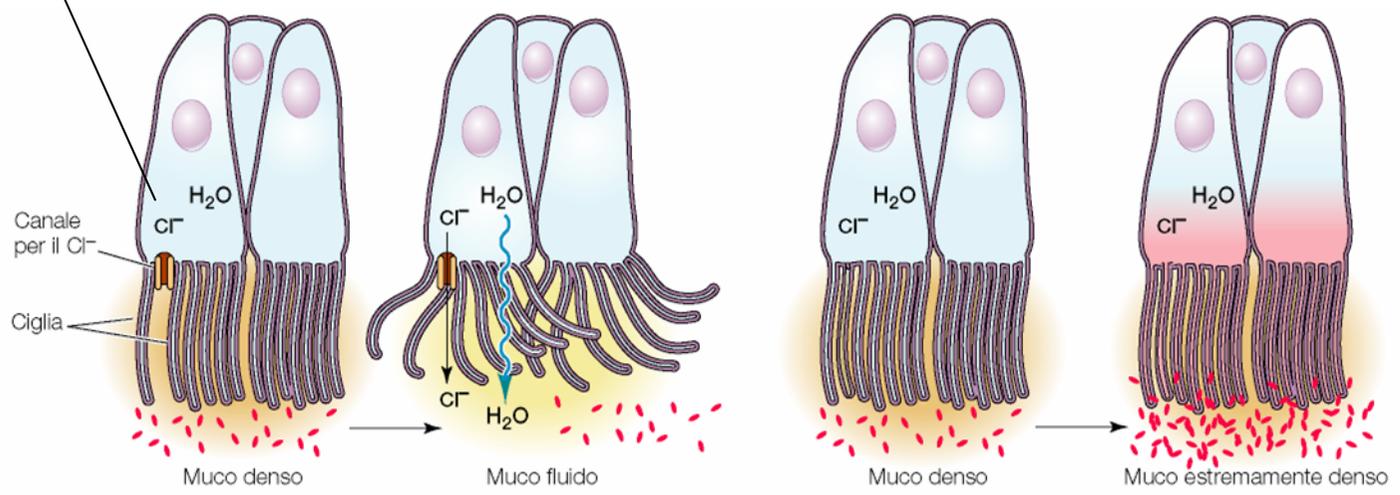


L'identificazione del gene e delle mutazioni responsabili della malattia hanno reso possibile la diagnosi prenatale



Il gene CFTR codifica per una proteina canale che trasporta gli ioni Cl^- fuori dalla cellula. La proteina e' localizzata nella parte apicale delle cellule epiteliali delle ghiandole esocrine

Cellule epiteliali vie respiratorie



Cellule soggetto normale
 Quando gli ioni Cl^- vengono trasportati fuori dalla cellula fuoriesce anche H_2O , rendendo fluido il muco

Cellule soggetto con fibrosi cistica
 Proteina CFTR mutata → il canale di trasporto manca o è bloccato → non c'è movimento di Cl^- , l' H_2O non fuoriesce e il muco rimane denso

ANEMIA FALCIFORME

Malattia autosomica recessiva frequente tra gli Africani (1/500)

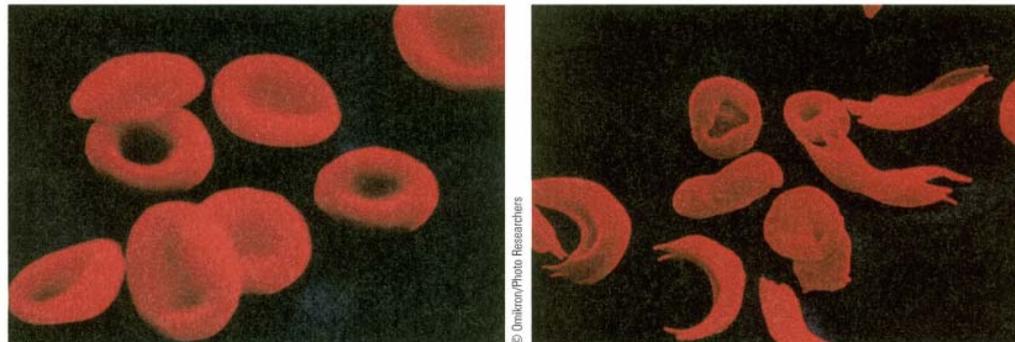
Causata dall'omozigosi per una mutazione missense A→T nel 6° codone del gene che codifica per la catena β della globina e che porta alla sostituzione di un residuo di acido glutammico con una valina (Glu→Val)

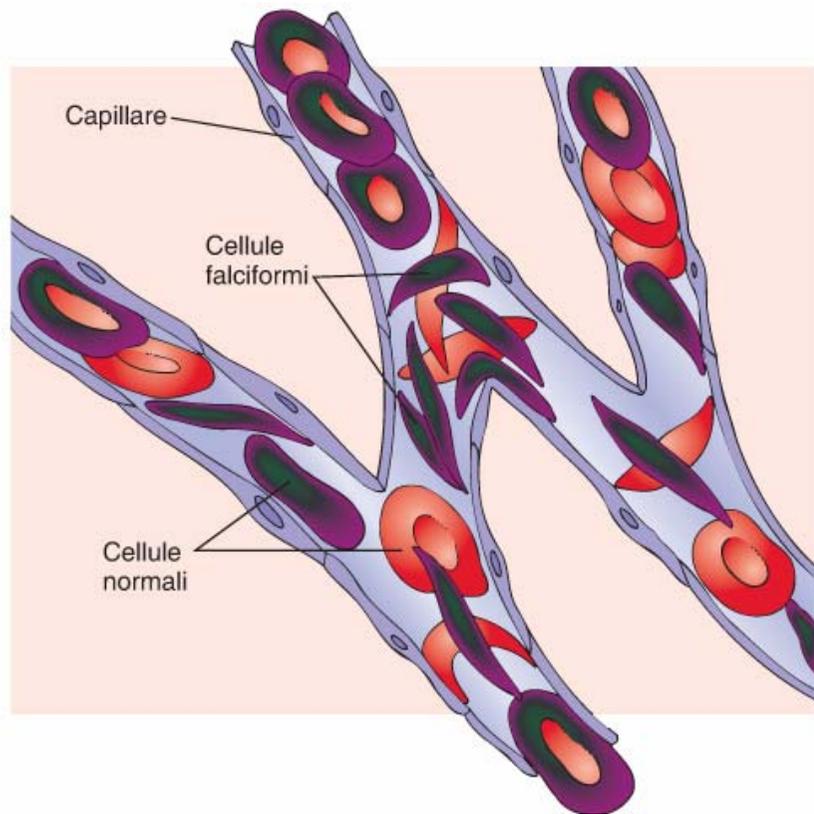


β globina normale **GAG (Glu)**

β globina mutata **GTG (Val)**

L'emoglobina mutata è insolubile e tende a precipitare deformando i globuli rossi che assumono una caratteristica forme a falce





I globuli rossi falciformi ostruiscono i capillari più piccoli, causando un rallentamento del microcircolo, con grave danno a tutti gli organi interni; possono anche verificarsi ictus cerebrali.

Inoltre, poiché gli eritrociti falciformi hanno un'emivita più breve rispetto a quelli normali, gli individui affetti sono cronicamente anemici.

Se non trattata (con trasfusioni o altre terapie) l'anemia falciforme è letale entro i primi anni di vita

EREDITARIETA' DEI GENI LOCALIZZATI SUL CROMOSOMA X (GENI X-LINKED)

**LE FEMMINE HANNO DUE COPIE DEI GENI LOCALIZZATI SULL'X
I MASCHI UNA SOLA COPIA (SONO EMIZIGOTI PER QUESTI GENI)**

**I MASCHI TRASMETTONO IL LORO CROMOSOMA X A TUTTE LE
FIGLIE FEMMINE E IL LORO CROMOSOMA Y A TUTTI I FIGLI
MASCHI**

**LE FEMMINE TRASMETTONO L'UNO O L'ALTRO DEI DUE
CROMOSOMI X A TUTTI I FIGLI, MASCHI O FEMMINE CHE SIANO**

**QUESTE DIFFERENZE FANNO SI' CHE I CARATTERI X-LINKED
SEGUANO DELLE MODALITA' DI TRASMISSIONE DIVERSE
RISPETTO AI CARATTERI AUTOSOMICI**

I CARATTERI X-LINKED RECESSIVI SI MANIFESTANO PIU' FREQUENTEMENTE NEI MASCHI

Consideriamo un carattere recessivo determinato da un gene localizzato sull'X, quale ad es., l'emofilia (difetto di coagulazione). Indichiamo con E l'allele normale e con e l'allele emofilia

Le femmine possono essere:

$X^E X^E$ normali

$X^E X^e$ normali

$X^e X^e$ emofiliche

I maschi possono essere:

$X^E Y$ normali

$X^e Y$ emofilici

I maschi sono EMIZIGOTI e quindi manifestano sempre l'unico allele presente, anche se recessivo. Per manifestare il carattere recessivo, invece, le femmine devono essere omozigoti per l'allele recessivo

LE MALATTIE X-LINKED RECESSIVE VENGONO TRASMESSE AI FIGLI MASCHI DALLA MADRE, CHE È GENERALMENTE PORTATRICE SANA

		Madre		
		X^E	X^e	
P a d r e	X^E	$X^E X^E$	$X^E X^e$	Femmine tutte normali 50% portatrici
	Y	$X^E Y$	$X^e Y$	Maschi 50% malati 50% sani

PER LE MALATTIE X-LINKED RECESSIVE NON SI OSSERVA MAI TRASMISSIONE DAL PADRE MALATO AI FIGLI MASCHI, DAL MOMENTO CHE QUESTI RICEVONO SEMPRE IL CROMOSOMA X DALLA MADRE.

SE IL PADRE E' MALATO TUTTE LE FIGLIE FEMMINE SARANNO SANE, MA PORTATRICI DELL'ALLELE MALATTIA. QUESTE FEMMINE POTRANNO PERO' TRASMETTERE LA MALATTIA AI LORO FIGLI MASCHI

		Madre		
		X^E	X^E	
P a d r e	X^e	$X^E X^e$	$X^E X^e$	Femmine tutte normali e portatrici
	Y	$X^E Y$	$X^E Y$	Maschi tutti normali

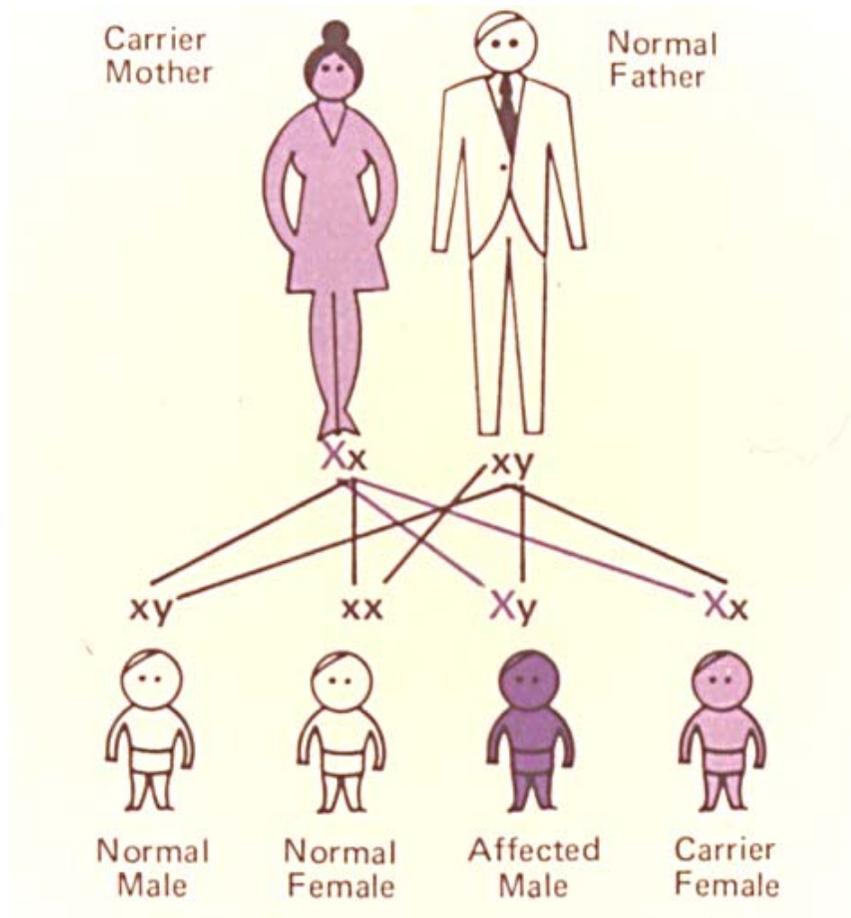
e = allele malattia

LE FEMMINE MANIFESTANO UNA MALATTIA X-LINKED RECESSIVA SOLO SE IL PADRE E' MALATO E LA MADRE E' ALMENO PORTATRICE (SITUAZIONE POCO PROBABILE)

		Madre		
		X^E	X^e	
P a d r e	X^e	$X^E X^e$	$X^e X^e$	Femmine 50% malate 50% normali e portatrici
	Y	$X^E Y$	$X^e Y$	Maschi 50% malati 50% normali

EREDITARIETA' X-LINKED RECESSIVA

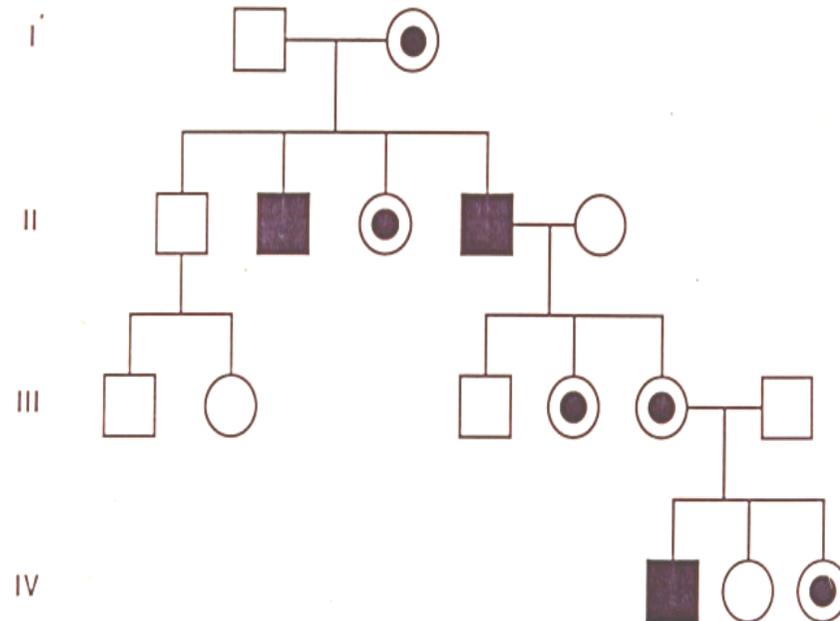
Situazione più frequente



**50% figli
maschi**

- Mamma normale ma portatrice dell'allele malattia
- Padre normale
- Solo figli maschi affetti:
 - 50% dei figli maschi malati
 - 100% figlie femmine sane (50% portatrici)

EREDITARIETA' X-LINKED RECESSIVA



- Gli individui affetti sono generalmente maschi
- Non si osserva trasmissione dal padre al figlio maschio
- L'allele malattia viene passato attraverso le femmine portatrici
- Il rischio che nasca un figlio maschio affetto dall' unione tra una donna portatrice e un uomo normale (tipo di unione più frequente) è $1/2$

Alcune malattie X-linked recessive

Malattia	Fenotipo	Frequenza (tra i maschi)
Distrofia muscolare di Duchenne	Progressiva debolezza muscolare che costringe alla sedia a rotelle e provoca gravi complicanze respiratorie	1/3.500
Emofilia A	Emorragie frequenti dovute a deficit del fattore VIII della coagulazione	1/5.000
Emofilia B	Emorragie dovute a deficit del fattore IX della coagulazione	1/30.000
Sindrome di Lesh-Nyhan	Grave ritardo mentale, auto-aggressività, morte precoce	1/20.000

EMOFILIA

Malattia X-linked recessiva che colpisce quasi esclusivamente i maschi

Gli individui affetti mancano di una proteina (fattore di coagulazione) necessaria per la coagulazione del sangue. Se si feriscono, anche in modo lieve, l'emorragia non si arresta e rischiano di morire dissanguati

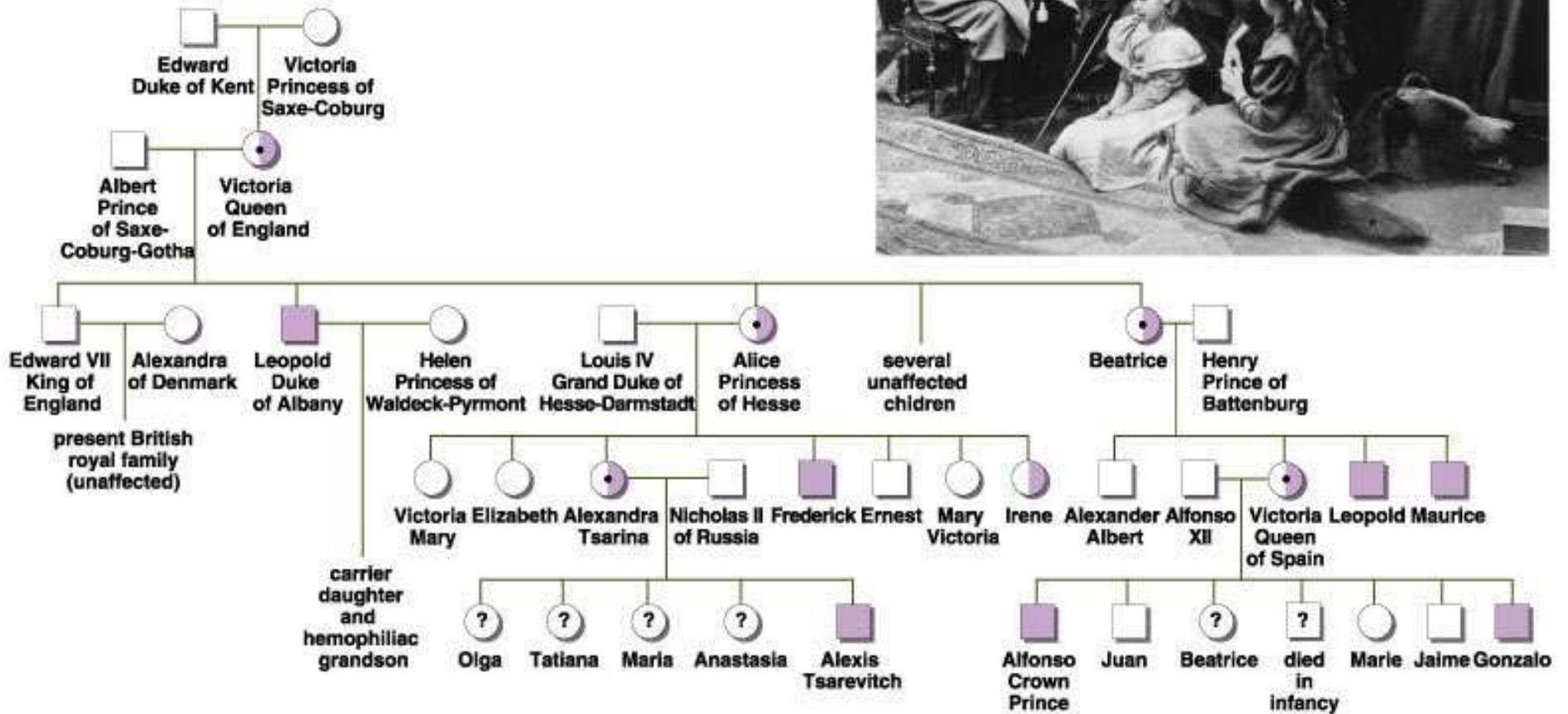
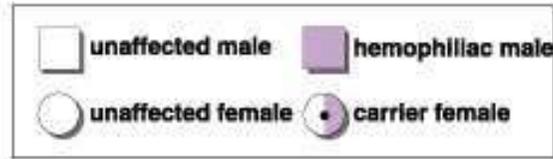
Oggi curabile mediante somministrazione del fattore di coagulazione mancante, prodotto industrialmente mediante le tecniche del DNA ricombinante

Due tipi di emofilia:

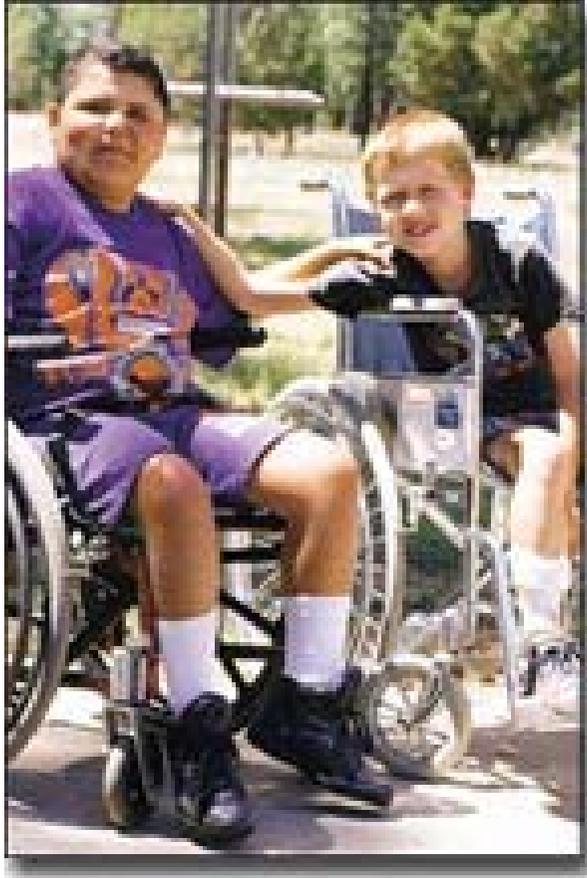
Emofilia A: deficit del fattore VIII

Emofilia B: deficit del fattore IX

Emofilia nelle famiglie reali europee discendenti dalla regina Vittoria



DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE



Frequenza: 1/3.500 maschi

Manifestazioni cliniche: malattia degenerativa dei muscoli che si manifesta già nei primi 2- 6 anni di vita con difficoltà nel salire le scale e nel rialzarsi da terra. La malattia progredisce rapidamente e all'età di 12 anni i soggetti affetti sono già costretti alla sedia a rotelle

La debolezza muscolare interessa anche i muscoli del diaframma rendendo difficile la respirazione

Sono anche presenti cardiomiopatie

DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE

Difetto molecolare: delezioni del gene DMD (60% dei casi) e mutazioni puntiformi. 1/3 delle mutazioni sono “de novo”

Proteina: Distrofina, localizzata nella membrana plasmatica delle cellule dei muscoli striati; assente nei muscoli di pazienti affetti da DMD

EREDITARIETA' X-LINKED DOMINANTE

LE MALATTIE X-LINKED DOMINANTI SONO RARE

**A DIFFERENZA DELLE X-LINKED RECESSIVE COLPISCONO SIA I
MASCHI CHE LE FEMMINE**

**SE IL PADRE E' MALATO TUTTE LE FIGLIE FEMMINE SARANNO
AFFETTE MENTRE I FIGLI MASCHI SARANNO TUTTI SANI**

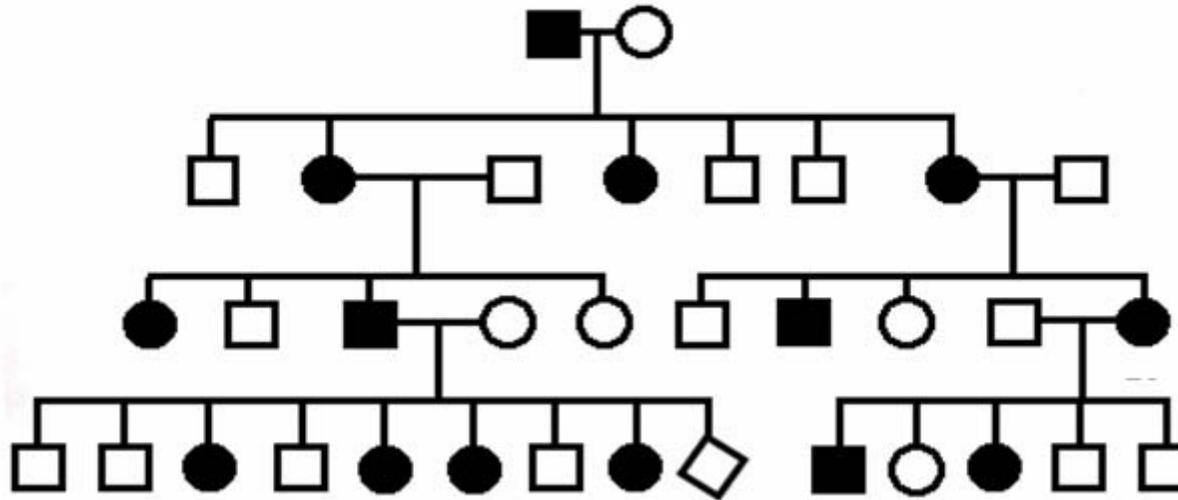
		Madre		
		X^a	X^a	
P a d r e	X^A	$X^A X^a$	$X^A X^a$	Femmine 100 % malate
	Y	$X^a Y$	$X^a Y$	Maschi 100 % normali

A = allele malattia dominante

SE LA MADRE E' MALATA E IL PADRE E' SANO 50% DEI FIGLI, SIA FEMMINE CHE MASCHI, SARA' AFFETTO

		Madre		
		X^A	X^a	
P a d r e	X^a	$X^A X^a$	$X^a X^a$	Femmine 50 % malate 50 % normali
	Y	$X^A Y$	$X^a Y$	Maschi 50% malati 50 % normali

EREDITARIETA' X-LINKED DOMINANTE



- Sono affetti sia maschi che femmine
- Le femmine sono generalmente eterozigoti
- Le figlie di un maschio affetto sono tutte affette
- Una donna affetta avrà il 50% dei figli affetti, indipendentemente dal sesso
- Generalmente nei maschi la malattia è più severa

Alcune malattie X-linked dominanti (molto rare)

Malattia	Fenotipo	Frequenza
Incontinentia pigmenti	Macchie e bolle della pelle talvolta associata a epilessia, malformazione dell'occhio, dei denti e del cuore. Colpisce solo le femmine perché nei maschi è letale	1/10.000
Rachitismo ipofosfatemico	Bassi livelli di fosfato nel sangue, bassa statura e deformità ossee	1/30.000

CARATTERI INFLUENZATI DAL SESSO **(da non confondersi con i caratteri X-linked)**

Sono determinati da geni autosomici ma si esprimono con frequenza diversa nei due sessi. Ad es. la calvizie è un carattere autosomico che si manifesta più frequentemente nei maschi perché l'espressione del gene che la determina dipende dai livelli di testosterone

