

Patologia Genetica (cause endogene)

- Malattie monogeniche mendeliane classiche
- **Malattie monogeniche**
 - Malattie monogeniche da espansione di triplette nucleotidiche
- **Malattie citogenetiche**
- **Malattie Poligeniche Multifattoriali**
- **Malattie genetiche mitocondriali**

1) MALATTIE MONOGENICHE

<https://www.omim.org/about>

i) Autosomiche Dominanti

ii) Autosomiche Recessive

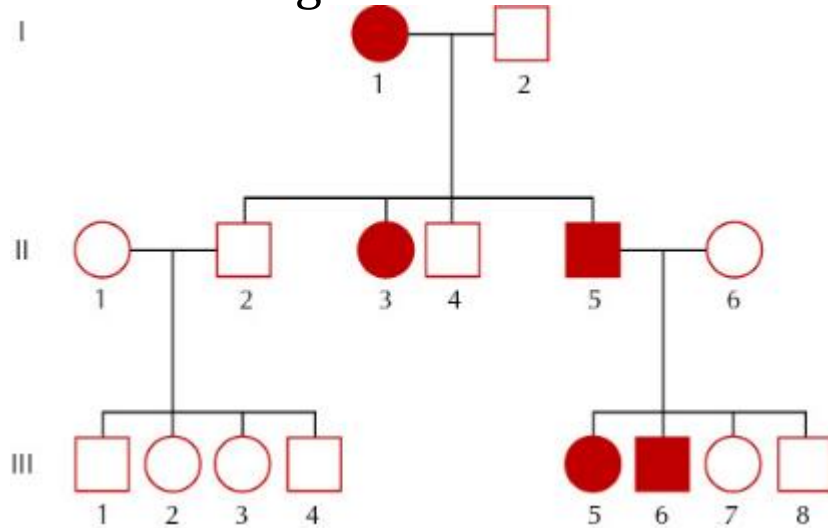
iii) Dominanti legate all'X

iv) Recessive legate all'X

i) Autosomiche Dominanti

Fenotipo patologico: Aa; aa

Un gene patologico si dice dominante quando determina la malattia anche allo stato eterozigote



- Si manifesta se almeno 1 dei genitori è malato
- indipendente dal sesso
- spesso ereditaria (nuove mutazioni)
- a volte compare in età avanzata
- solo una % di individui manifesta la patologia (penetranza incompleta)
- espressione variabile

- mutazioni loss of function
- mutazioni gain of function

Tabella 6-5

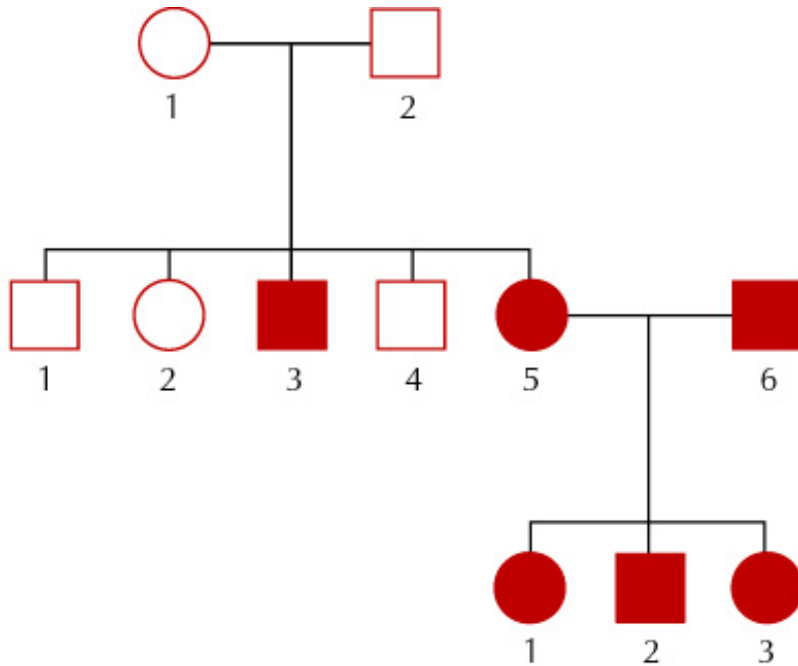
Esempi di patologie autosomiche dominanti

Patologia	Frequenza	Cromosoma
Ipercolesterolemia familiare	1/500	19p ←
Malattia di von Willebrand	1/8000	12p
Sferocitosi ereditaria (forma major)	1/5000	14, 8
Ellissocitosi ereditaria (tutte le forme)	1/2500	1, 1p, 2q, 14
Osteogenesi imperfetta (tipi I-IV)	1/10,000	17q, 7q
Sindrome di Ehlers-Danlos tipo III	1/5000	2q
Sindrome di Marfan	1/10,000	15q
Neurofibromatosi tipo 1	1/3500	17q
Malattia di Huntington	1/15,000	4p ←
Retinoblastoma	1/14,000	13q
Tumore di Wilms	1/10,000	11p
Poliposi adenomatosa familiare	1/10,000	5q
Porfiria acuta intermittente	1/15,000	11q
Amiloidosi ereditaria	1/100,000	18q
Rene policistico dell'adulto	1/1000	16p

ii) Autosomiche recessive (circa 900)

Fenotipo patologico: aa

- mutazioni loss of function



- Indipendente dal sesso
- esclusivamente ereditaria
- comparsa precoce
- penetranza completa
- espressione omogenea

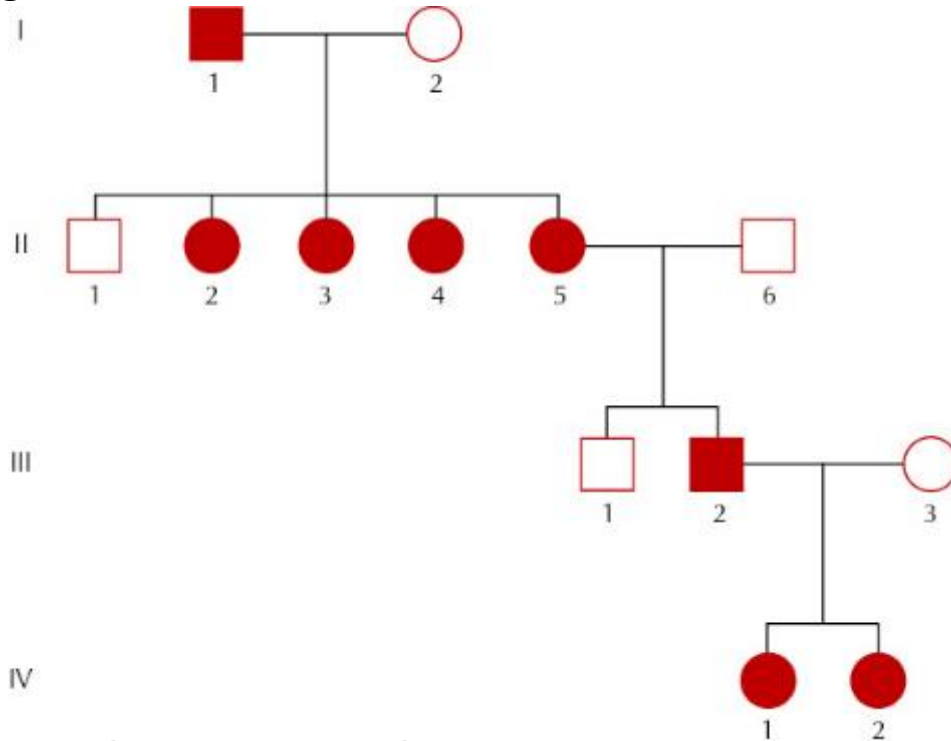
Tabella 6-6

Esempi rappresentativi di patologie autosomiche recessive

Patologia	Frequenza	Cromosoma
Fibrosi cistica	1/2500	7q
α -Talassemia	Alta	16p
β -Talassemia	Alta	11p
Anemia falciforme	Alta	11p
Deficit di mieloperossidasi	1/2000	17q
Fenilchetonuria	1/10,000	12q
Malattia di Gaucher	1/1000	1q
Malattia di Tay-Sachs	1/4000	15q
Sindrome di Hurler	1/100,000	22p
Malattia da accumulo di glicogeno Ia (von Gierke)	1/100,000	17
Malattia di Wilson	1/50,000	13q
Emocromatosi ereditaria	1/1000	6p
Deficit di α_1 -antitripsina	1/7000	14q
Albinismo oculocutaneo	1/20,000	11q
Alcaptonuria	1/100,000	3q
Leucodistrofia metacromatica	1/100,000	22q

iii) Dominanti legate all'X

Tutte le malattie legate al sesso sono trasmesse dal cromosoma X e quasi tutte sono recessive. La maggior parte dei geni del cromosoma Y sono legati alla spermatogenesi e quindi maschi con mutazioni nel cromosoma Y sono sterili pertanto non c'è ereditarietà legata all'Y.



rare

Es. rachitismo resistente alla vitamina D

- Colpisce tutte le generazioni
- Tutte le figlie dei maschi affetti sono affette
- La femmina malata trasmette la malattia a metà dei suoi figli sia maschi che femmine

iv) Recessive legate all'X

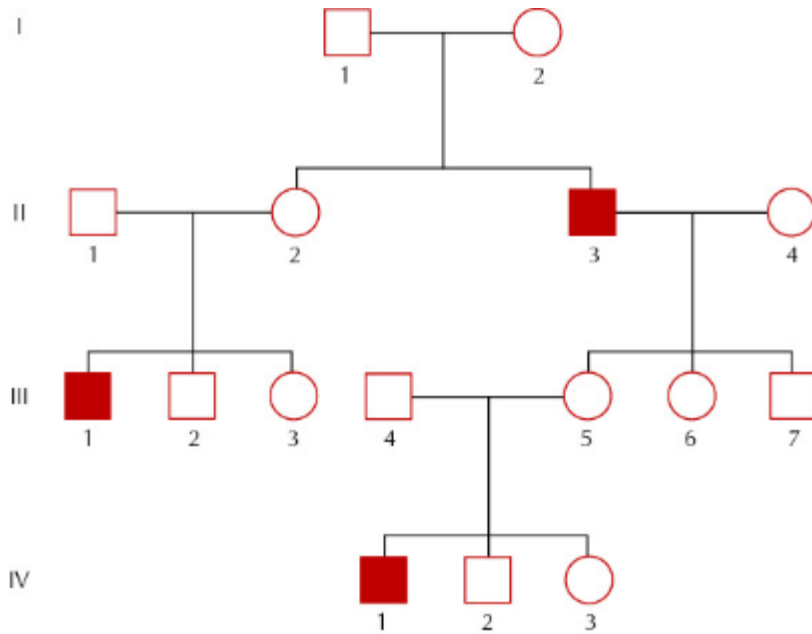


Tabella 6-9

Principali malattie X-linked recessive

Patologia	Frequenza nei maschi
Sindrome dell'X fragile	1/2000
Emofilia A (deficit del fattore VIII)	1/10,000
Emofilia B (deficit del fattore IX)	1/70,000
Distrofia muscolare di Duchenne-Becker	1/3500
Deficit glucosio-6-fosfato deidrogenasi	Fino a 30%
Sindrome di Lesch-Nyhan (deficit di HPRT)	1/10,000
Malattia granulomatosa cronica	Non raro
Agammaglobulinemia X-linked	Non raro
Immunodeficienza combinata severa legata all'X	Raro
Malattia di Fabry	1/40,000
Sindrome di Hunter	1/70,000
Adrenoleucodistrofia	1/100,000
Malattia di Menkes	1/100,000

HPRT = ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi.

- Patogenesi: X e Y non sono omologhi: geni su X non hanno alleli su Y: malattia solo nei maschi
- trasmissione a tutte le figlie femmine di maschi malati
- malattia nelle femmine solo se inattivo X sano
- femmina eterozigote trasmette al 50% della prole

Malattie monogeniche sono dovute a mutazioni submicroscopiche

- Delezioni parziali o complete del gene
- Mutazioni puntiformi con sostituzione di una singola base
- Mutazioni frameshift (inserzione o delezione di 1-2 basi)

Sito genomico delle mutazioni

-Regione codificante: Mutazioni SENSO
Mutazioni NON SENSO (codone di STOP)

-Regioni non codificanti:

Promotore od enhancer → riduzione o blocco della trascrizione

Introni → alterazione dei siti di splicing → no maturazione mRNA

UN PARTICOLARE TIPO DI MUTAZIONE SUBMICROSCOPICA:

MUTAZIONI DA TRIPLETTE RIPETUTE

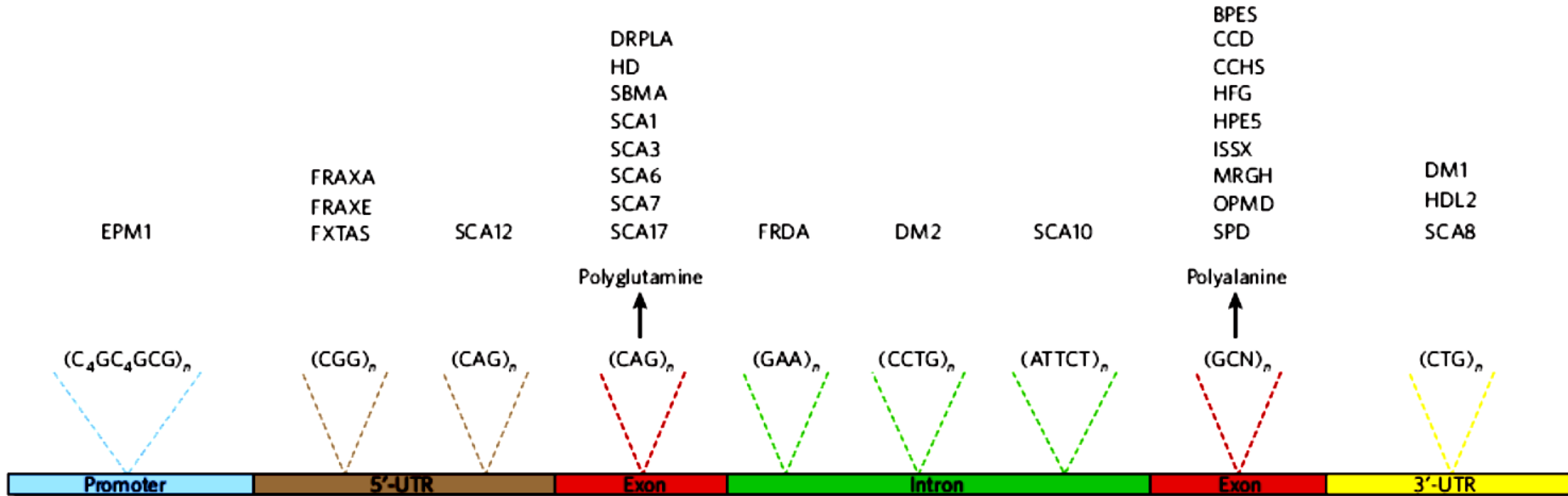


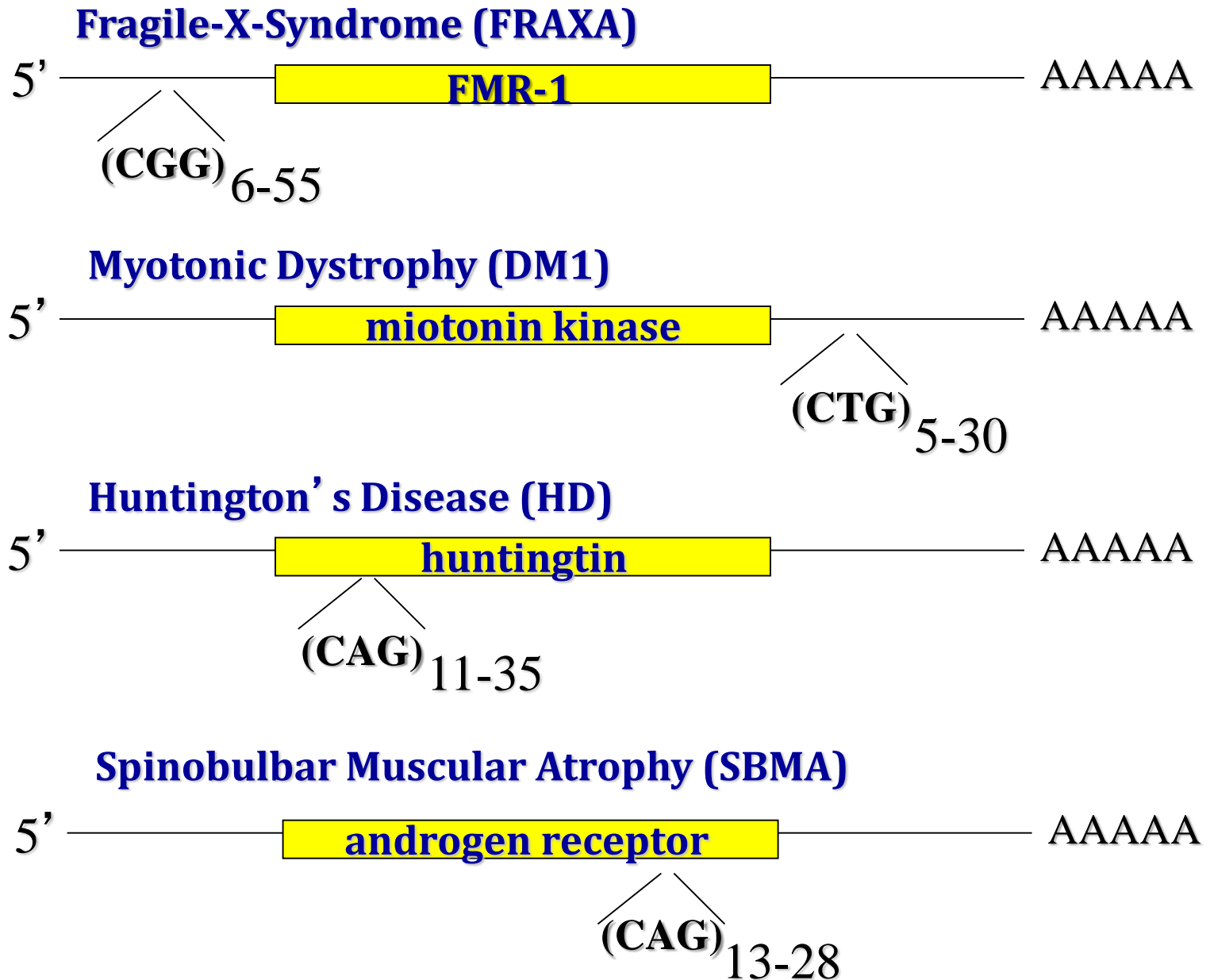
***MALATTIE DA ESPANSIONE DI TRIPLETTE
NUCLEOTIDICHE***

**Circa una trentina di patologie dovute a
questo tipo di difetto.**

**Tutte associate a quadri
NEURODEGENERATIVI**

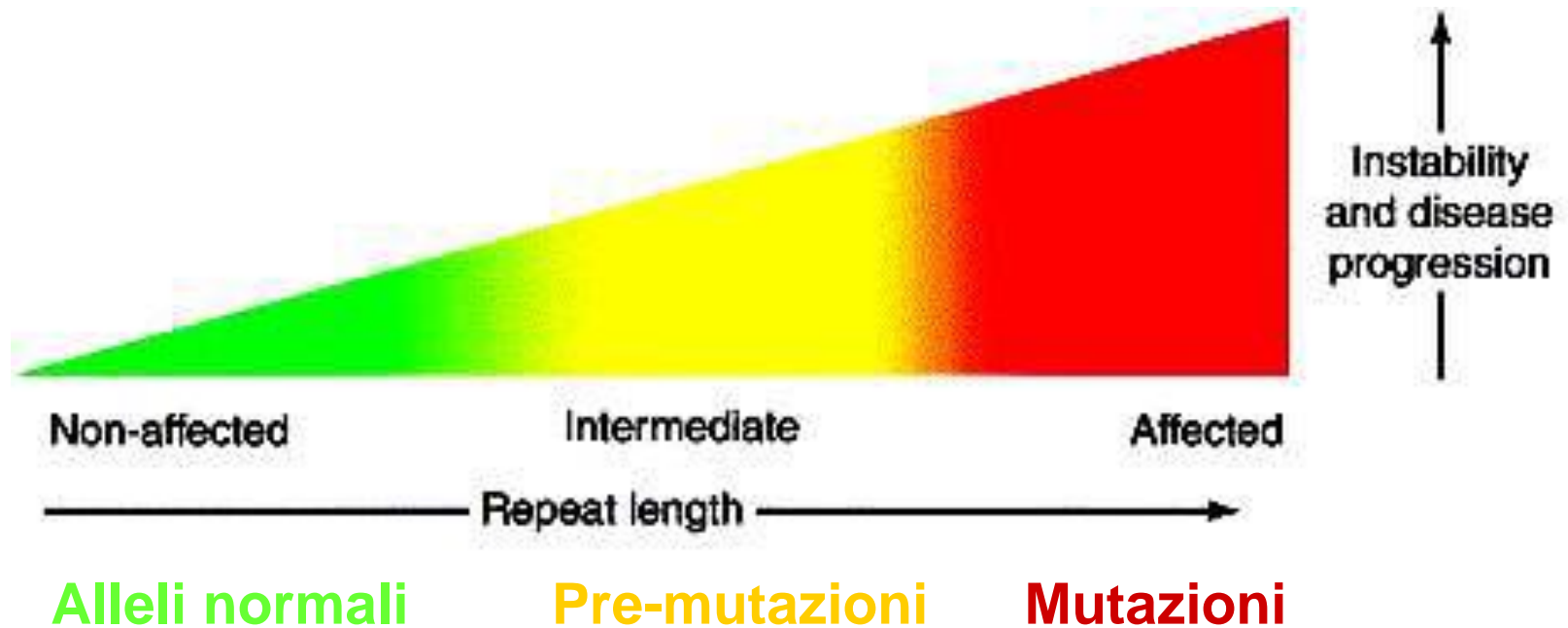
Repeat Expansion Diseases





MUTAZIONI DINAMICHE

Una delle caratteristiche di queste malattie è la dinamicità delle mutazioni cioè il grado di amplificazione aumenta durante la gametogenesi. Ciò influenza il **pattern di ereditarietà** e le **manifestazioni fenotipiche** delle malattie provocate da questo tipo di mutazione



Le alterazioni fenotipiche (patologia) si manifestano al di là di un **valore soglia**

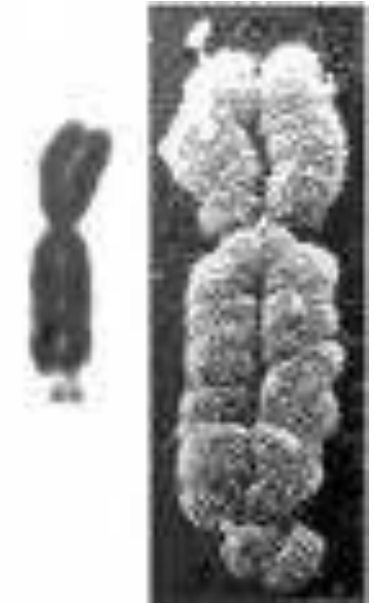
A causa della dinamicità delle mutazioni queste malattie
sono caratterizzate dal
FENOMENO DELL'ANTICIPAZIONE

- ❑ La malattia esordisce più precocemente da una generazione alla successiva
- ❑ La severità della malattia aumenta da una generazione alla successiva

La gravità della malattia è collegata al numero di ripetizioni e maggiore è il numero di triplette ripetute, maggiore è la probabilità di una ulteriore espansione.

LA SINDROME DELL'X FRAGILE

- E' la seconda causa più frequente di ritardo mentale ereditario dopo la sindrome di Down
- L'incidenza è di circa 1 su 1250 soggetti di sesso maschile. Le donne portatrici sane sono circa 1 su 259
- Mostra ANTICIPAZIONE
- Il nome della sindrome "X fragile" deriva dall'osservazione del tratto terminale del cromosoma X in presenza della mutazione completa. Il cromosoma infatti sembra quasi rotto
- Causata dalla mutazione del gene FMR1 sul cromosoma X FMR-1 particolarmente espresso nei neuroni e nei testicoli da cui ritardo mentale e macrorchidismo



Il sito fragile a Xq27.3

Sindrome dell'X fragile



Caratteristiche cliniche

ritardo mentale IQ tra 20 e 70

- moderato nei maschi
- lieve nelle femmine

altri segni

- macrocefalia, faccia allungata
- orecchie sporgenti e basse
- lassità articolare
- macro-orchidismo

Biologia molecolare

99% dei casi: CGG >200

1% dei casi: delezioni, mut puntiformi






Prevalenza

16-25 su 100.000 maschi



Review

Fragile X Syndrome: From Molecular Aspect to Clinical Treatment

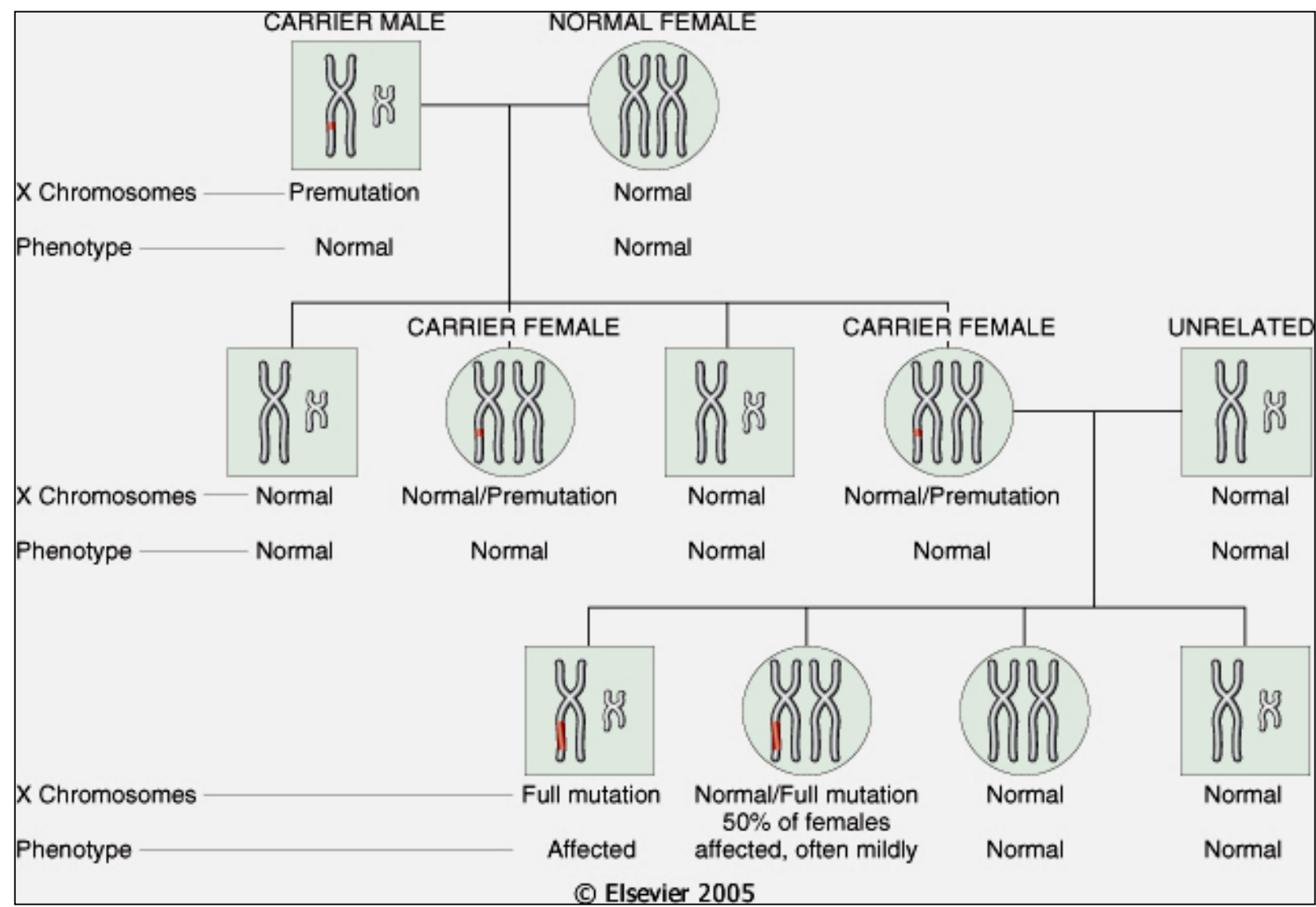
Dragana D. Protic^{1,*}, Ramkumar Aishworiya^{2,3}, Maria Jimena Salcedo-Arellano^{2,4,5}, Si Jie Tang²,
Jelena Milisavljevic⁶, Filip Mitrovic⁶, Randi J. Hagerman^{2,4} and Dejan B. Budimirovic^{7,8,*}



Four brothers with typical physical features of FXS. All four boys have prominent broad foreheads, high palate, joint hypermobility and especially prominent ear pinnae

L'analisi degli alberi genealogici evidenzia alcune modalità di trasmissione non tipiche di altre malattie recessive legate all' X

L'amplificazione da premutazione a mutazione franca avviene durante l'OOGENESI



Alterazione responsabile della malattia:

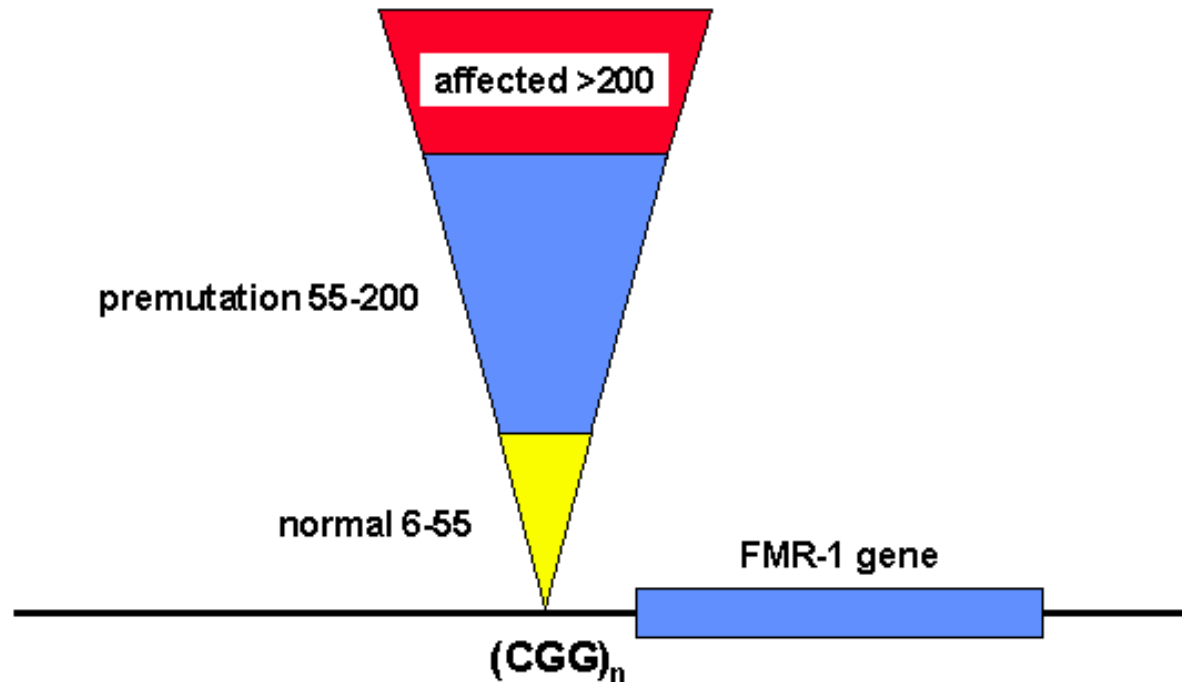
Espansione della tripletta **CGG** nella 5'UTR del gene **FMR-1** che ne determina il silenziamento genico (malattia da perdita di funzione) e la mancata produzione della proteina **FMRP** (fragile X-mental retardation protein).

Fenotipo normale: <50 repeats

Fenotipo premutato: 55-200 repeats

Fenotipo malato: >200 repeats

Structure and inheritance of CGG repeats in fragile X syndrome

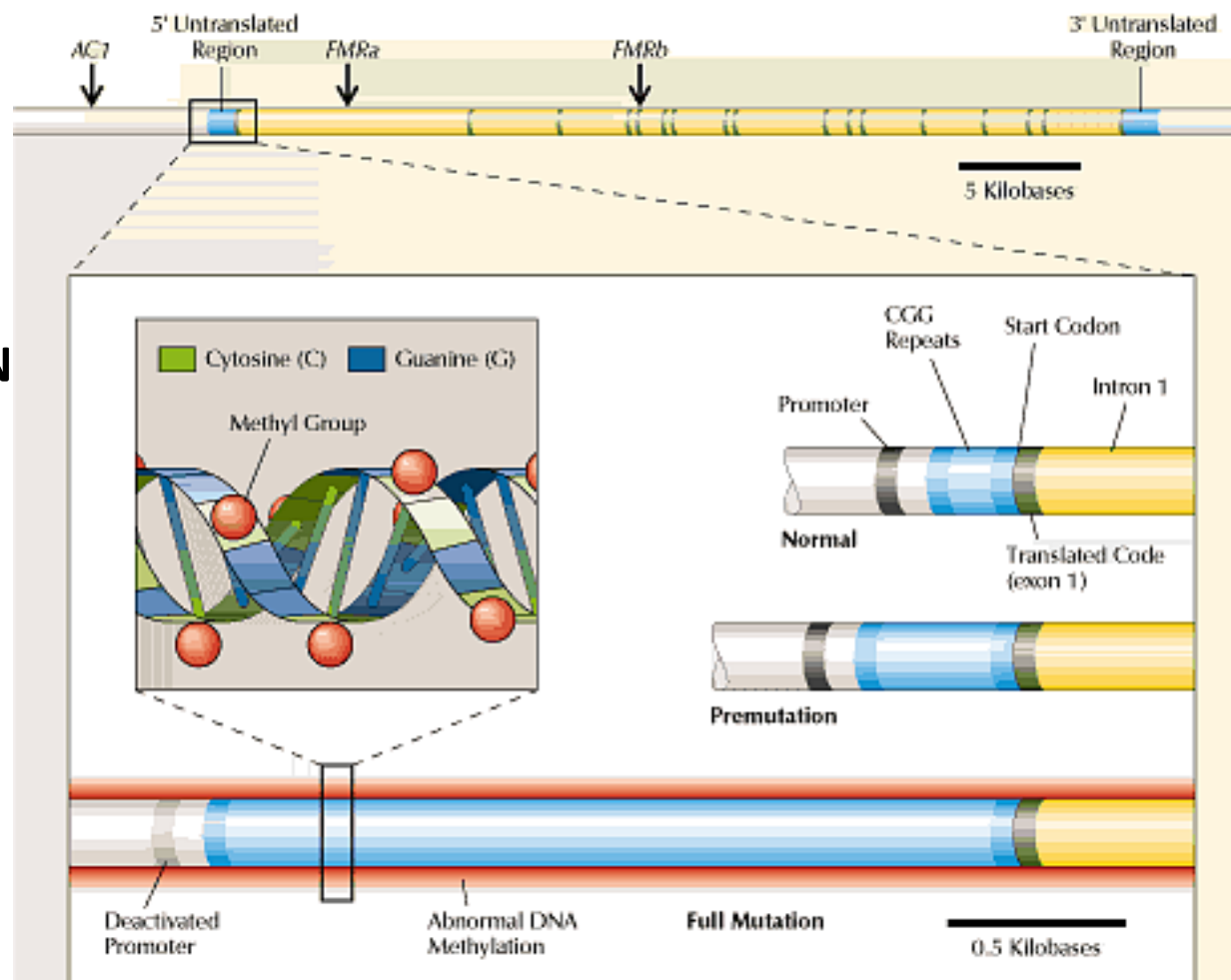


Meccanismo patogenetico

ESPANSIONE CGG
AL 5' NON TRADOTTO
DI FMR-1 (Xq27.3)

METILAZIONE
INAPPROPIATA
FINO AL PROMOTORE

SOPPRESSIONE
TRASCRIZIONE
DI FMR-1



Qual è la funzione di FMRP?

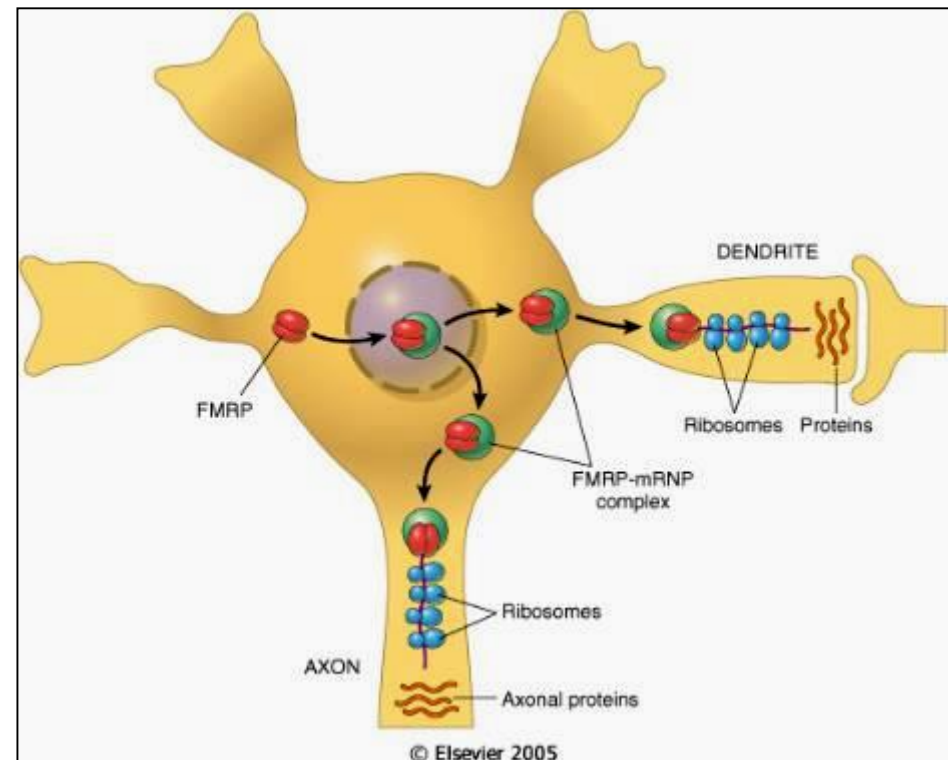
- *FMRP è una RNA binding protein*
- *Espressa soprattutto nei testicoli e nel cervello, i tessuti più colpiti dalla sindrome*
- *FMRP si associa ad RNA messaggeri codificanti importanti proteine neuronali, e ne regola alcuni aspetti essenziali, quali il trasporto lungo i dendriti e verso le sinapsi e la traduzione in proteine*

New insights into fragile X syndrome: from molecules to neurobehaviors

Peng Jin and Stephen T. Warren

Department of Human Genetics, Emory University School of Medicine, 615 Michael Street GA 30322, Atlanta, USA

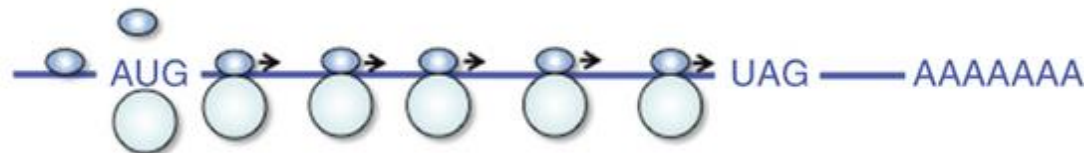
FMRP is an RNA binding protein, localizes to cytosol, shuttles between the nucleus and cytosol, and is associated with polyribosomes, involved in translational repression. New studies also suggest the role of FMRP in regulated mRNA transport in dendrites and a possible local function in axons that may be important for guidance, synaptic development, and formation of neural circuits



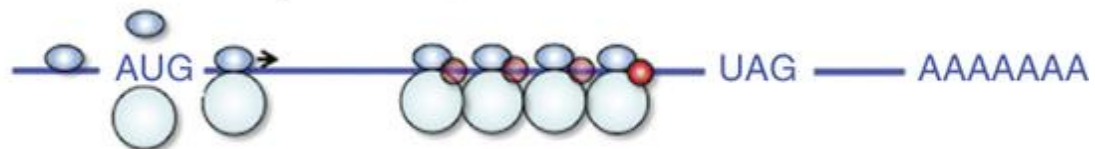
The Fragile X Protein and Genome Function

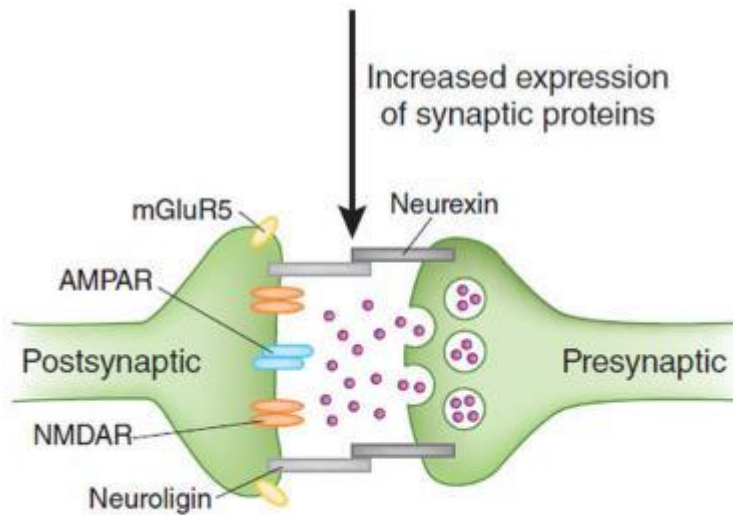
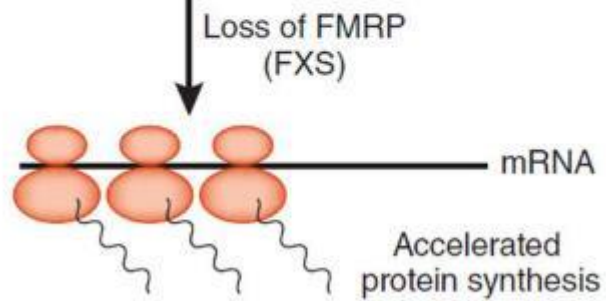
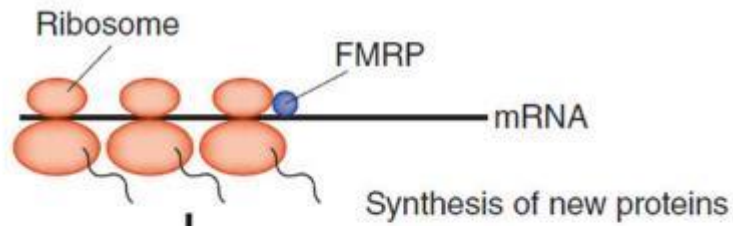
Thomas C. Dockendorff¹ & Mariano Labrador¹
Molecular Neurobiology 2018

Active translation



Repressed translation by FMRP





Abnormal synaptic function

Cognitive and behavioral impairment in FXS

This block contains the final two steps of the diagram, which are text labels. An arrow points from the synapse diagram to the text 'Abnormal synaptic function', and another arrow points from that text to 'Cognitive and behavioral impairment in FXS'.

For the Prime, visit [doi:10.1038/nrdp.201745](https://doi.org/10.1038/nrdp.201745)

➔ Fragile X syndrome (FXS) — the leading inherited cause of autism spectrum disorder — is typically caused by a trinucleotide repeat expansion in *FMR1*. A CGG repeat number of >200 leads to transcriptional silencing of the gene and loss of fragile X mental retardation 1 protein (FMRP).

MECHANISMS

DIAGNOSIS

Diagnosis is based on the identification of the *FMR1* CGG expansion using PCR or Southern blot analysis. Diagnostic testing should be ordered in children who present with developmental delay, intellectual disability or autism spectrum disorder without a known cause. Manifestations of FXS depend on a range of factors, including patient sex, age and other genetic features. Infants with FXS typically present with poor suck, frequent emesis and hypotonia, and might develop seizures, hyperactivity, delayed language development, anxiety and sensory hyperarousal later in infancy. Older children tend to have disruptive behaviour and develop autism-like symptoms, impulsivity and aggression, which persist into adolescence. Adolescents with FXS have poor attention and perseveration (repetitive behaviours) and, in later life, some individuals develop parkinsonism symptoms and cognitive decline.

<1% of cases of FXS have been attributed to a point mutation or a deletion in *FMR1*

Individuals with the *FMR1* premutation (a CGG repeat length of 55–200) can develop fragile X-associated tremor/ataxia syndrome or fragile X-associated primary ovarian insufficiency

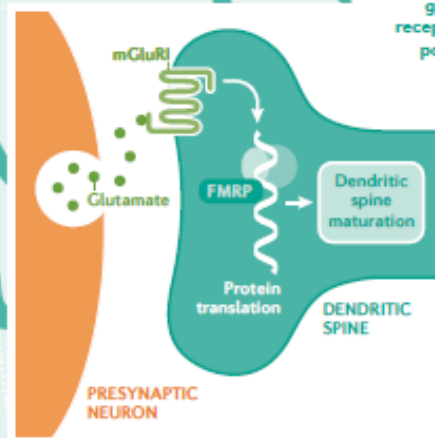
Loss of FMRP is believed to alter mGluRI-dependent dendritic spine remodelling and neuroplasticity

OUTLOOK

Targeted treatments for FXS, such as mGluRI modulators for the treatment of neurological and behavioural manifestations, have been identified, although these drugs failed to show

efficacy in several clinical trials in adults. However, the failure of these trials is thought to be due to patient selection (adults rather than children) and a lack of adequate outcome

measures, rather than a lack of drug effect. Accordingly, several trials in children are now underway and more objective outcome measures are being developed.



FMRP is a RNA-binding protein that negatively regulates the translation of several mRNAs, in particular, mRNAs linked to activity of metabotropic group 1 glutamate receptors (mGluRI), in the postsynaptic region of neurons

Rx MANAGEMENT

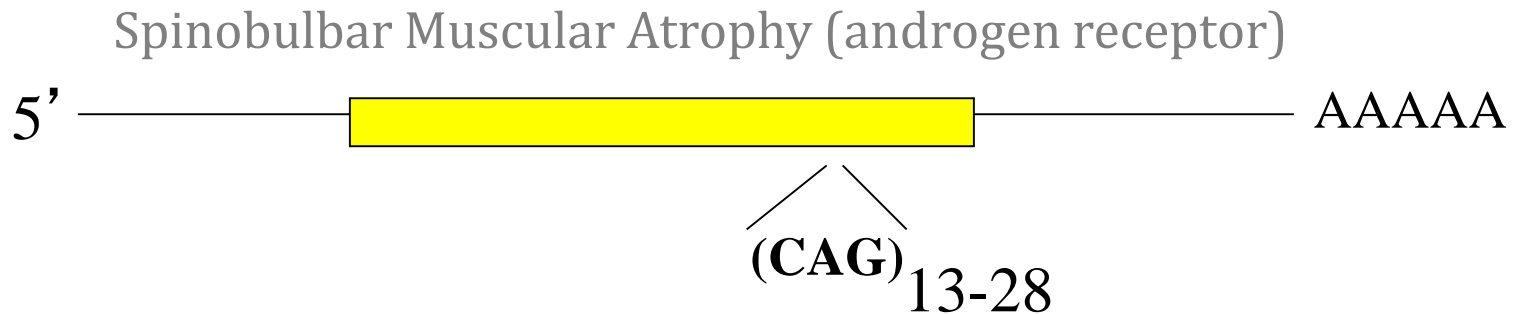
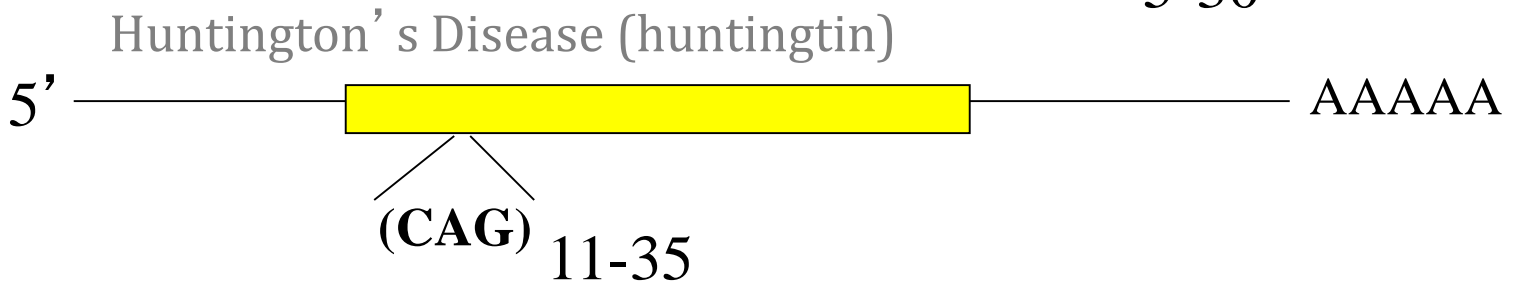
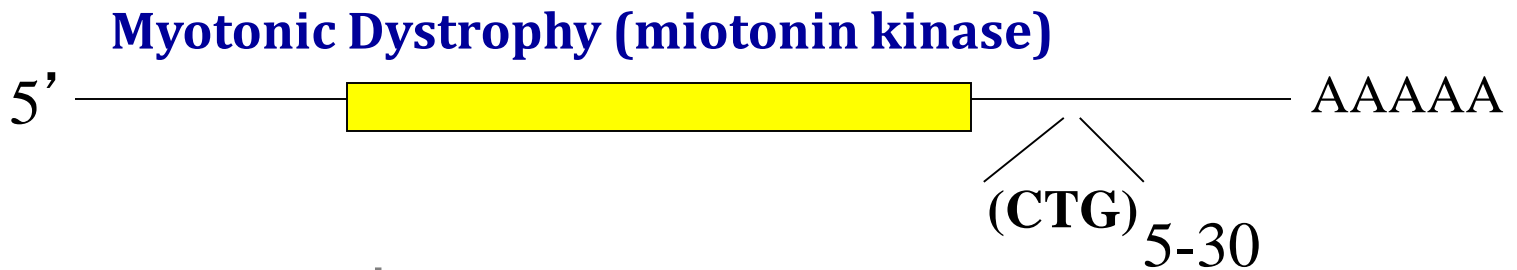
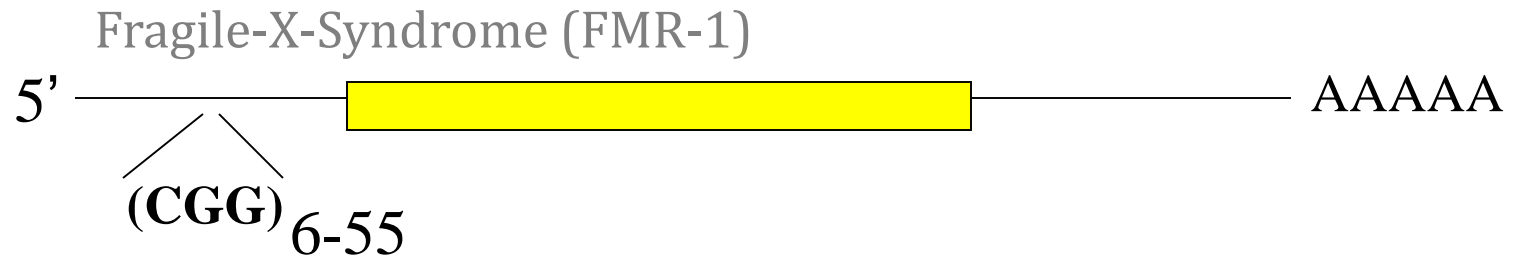
In general, individuals with FXS require lifelong care. Children with FXS can benefit from speech and language intervention, specialist education programmes and working with a behavioural therapist. In addition, pharmacological treatments can be used for some behavioural manifestations, such as stimulants for hyperactivity and selective serotonin reuptake inhibitors for anxiety. Epileptic seizures, which are the most substantial medical issue facing children with FXS, can be treated with anticonvulsants



SCREENING

Once an individual is diagnosed with FXS, screening of other family members, particularly siblings who have signs of learning, emotional or behavioural problems, is essential. Screening can identify family members with the *FMR1* premutation, who can then seek treatment and, should they wish to conceive a child, can elect to use in vitro fertilization to avoid passing the *FMR1* mutation or premutation to their offspring.





Distrofia miotonica DM1 o m. di Steinert

CARATTERISTICHE

- E' la più comune distrofia muscolare dell'adulto (1/8000). Rappresenta la seconda forma di distrofia muscolare più diffusa dopo la distrofia muscolare di Duchenne.
- Perdita progressiva di massa muscolare e MIOTONIA (difficoltà al rilassamento muscolare dopo una contrazione)
- Presente in forma lieve (dell'adulto), in forma classica (esordio in età adulta o giovanile) ed una forma congenita (presente alla nascita)

GENETICA

- Presenta eredità autosomica dominante con anticipazione
- Espansioni trasmesse per via materna (l'amplificazione avviene nell'oogenesi materna)
- E' causata da un'espansione CTG nel 3'UTR del gene DMPK nel cromosoma 19q13.3 che codifica per la miotonina fosfochinasi del muscolo

Table 1. Range of symptoms in myotonic dystrophy

Description	Symptoms	Age of Onset or Recognition	Lifespan
“Mild”	<ul style="list-style-type: none"> • Cataracts • Mild myotonia • Balding • May have diabetes 	Adulthood	Normal
“Classical”	<ul style="list-style-type: none"> • Weakness • Myotonia • Cataracts • Balding • Irregular heartbeat • May have diabetes 	Childhood to early adulthood	May be shortened
“Congenital”	<ul style="list-style-type: none"> • Severe weakness • Myotonia • Breathing difficulties • Often mild to moderate mental retardation 	Birth - childhood	Shortened

Anticipazione nella distrofia miotonica

3 generations of DM1



Forma lieve

Forma classica

Forma congenita

Gene responsabile

l'espansione riguarda la tripletta **CTG** e si trova nella regione 3'UTR del gene **DMPK** che mappa sul cromosoma 19 e codifica per la proteina miotoninaprotein-chinasi (MT-PK):

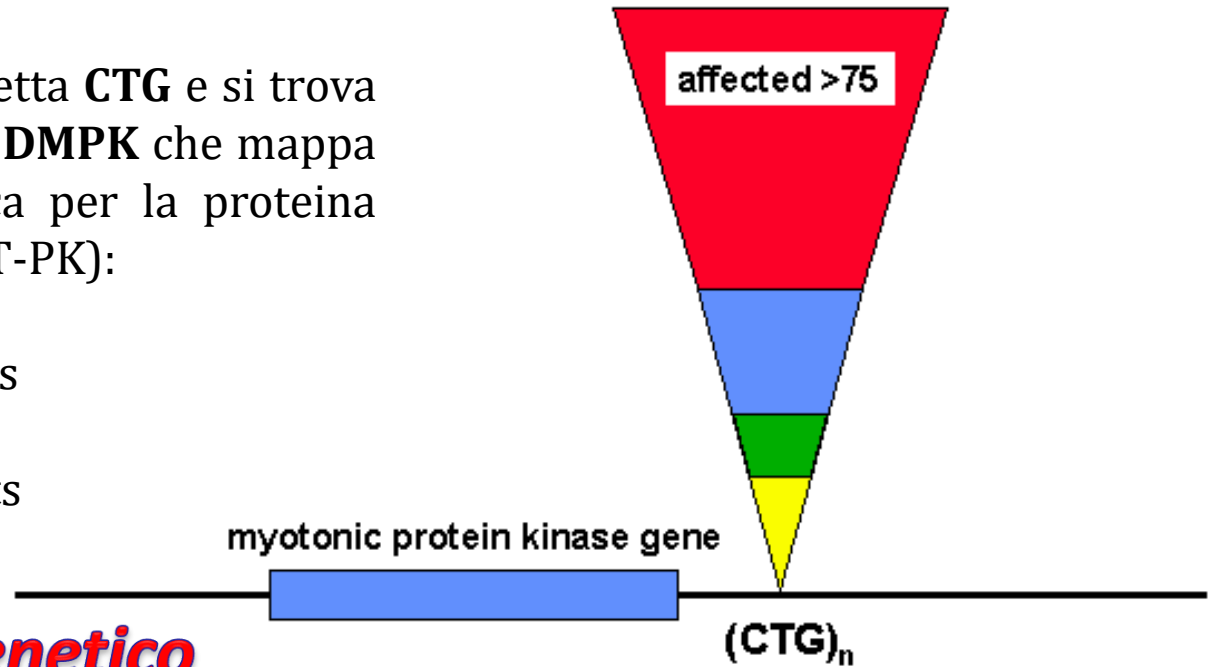
alleli normali: 5-35 repeats

alleli premutati: 36-49 repeats

DM lieve: 50-150 repeats

DM classica: 150-1000 repeats

DM congenita: >1000 repeats



Meccanismo patogenetico

**ESPANSIONE CTG
AL 3' NON TRADOTTO
DEL GENE NEL CR. 19**

**Accumulo nel nucleo
di RNA espanso che
forma aggregati**

- 1. Minor sintesi di DMPK**
- 2. Effetto tossico dell'RNA accumulato nel nucleo**
GAIN OF FUNCTION

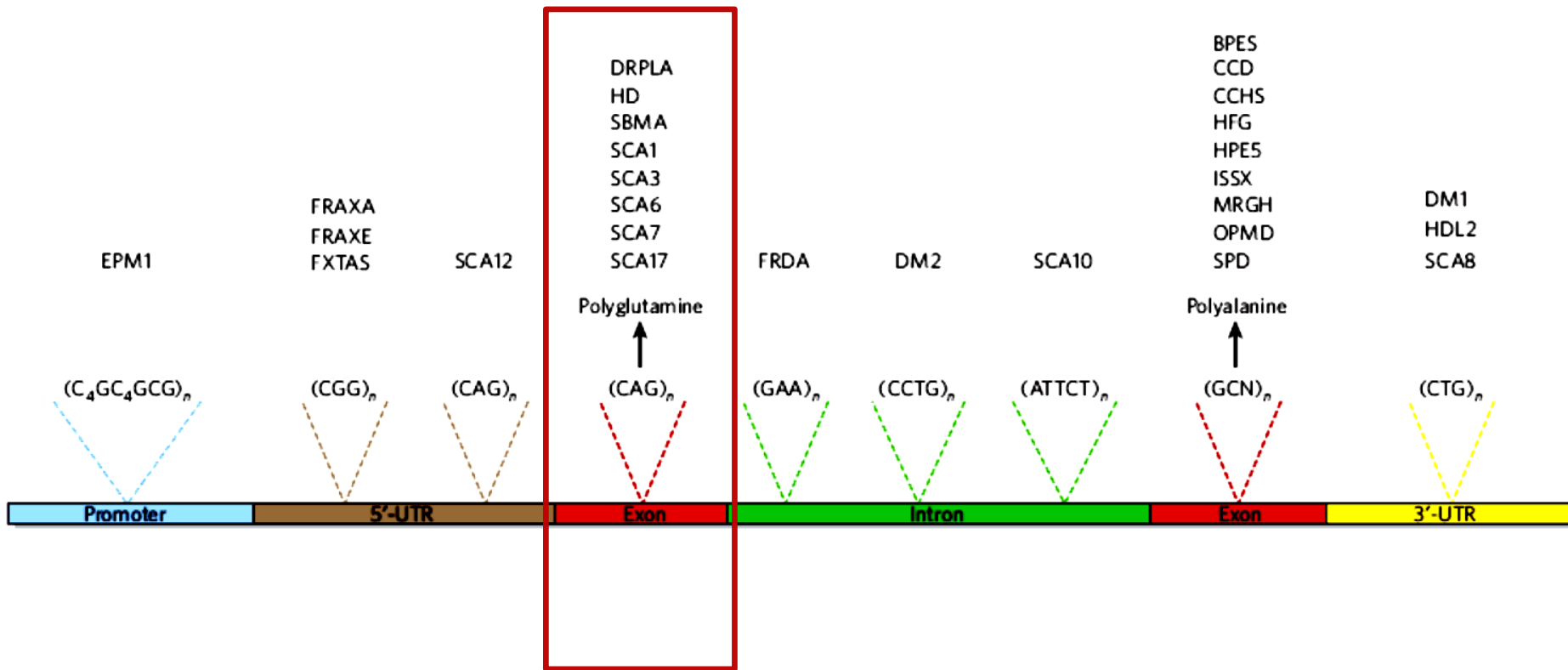
Gli aggregati ("foci") di RNA sequestrano una classe di proteine necessarie per un corretto assemblaggio dello spliceosoma.

L'effetto finale è l'alterazione dello splicing di altri geni, con conseguente alterazione funzionale di diversi *pathways* (effetto in *trans*).

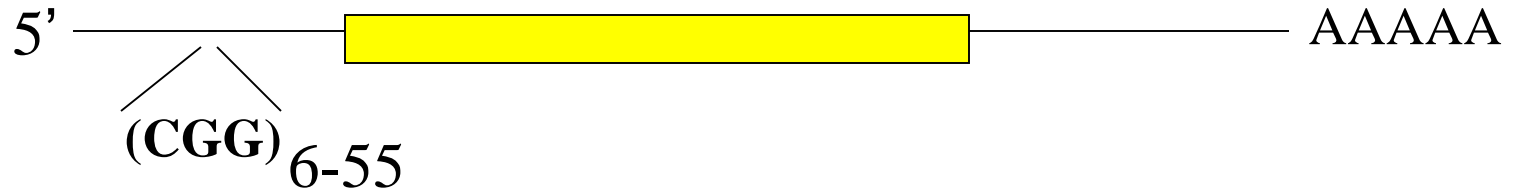
Genetic and Epigenetic Interplay Define Disease Onset and Severity in Repeat Diseases

Lise Barbé^{1,2,3} and Steve Finkbeiner^{1,2,3}*

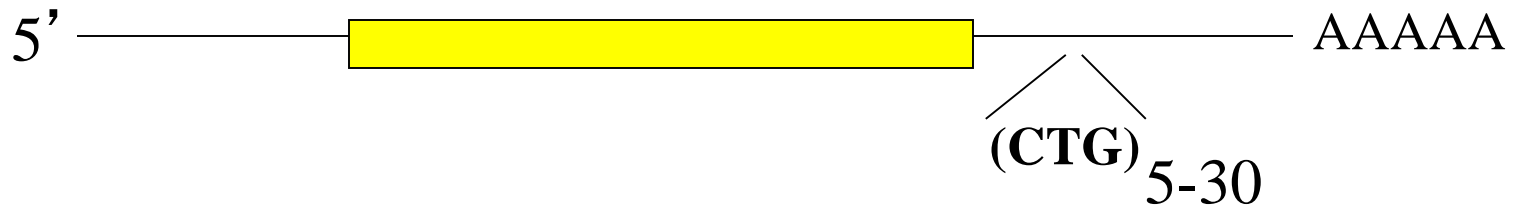
Repeat Expansion Diseases



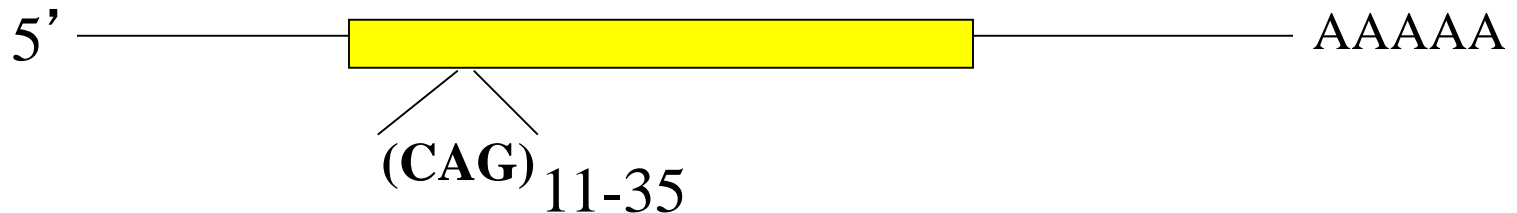
Fragile-X-Syndrome (FMR-1)



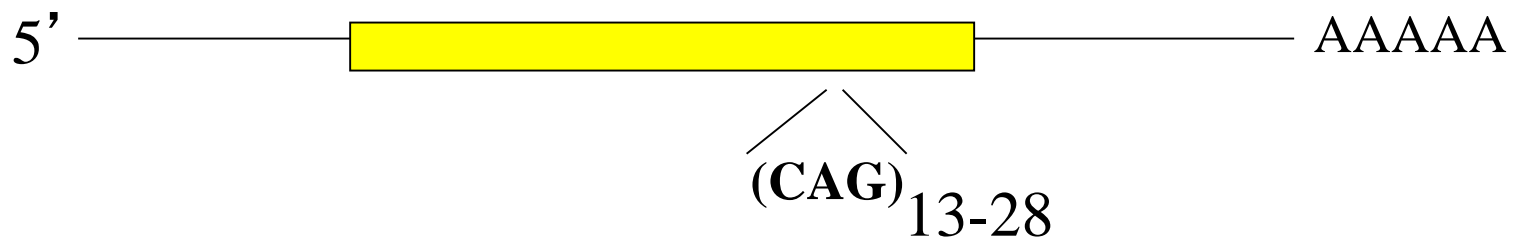
Myotonic Dystrophy (miotonin kinase)



Huntington's Disease (huntingtin)



Spinobulbar Muscular Atrophy (androgen receptor)



Polyglutamine disease: common mechanism

Expanded polyglutamine causes neurotoxicity


Genetic
Anticipation

Poly-Q Length

Symptom severity

Age of onset

Còrea di Huntington

- Descritta da George Huntington nel 1872, è detta anche còrea che in greco indica la danza per i movimenti involontari degli arti inferiori
- Prevalenza di 1/10,000 e presenta il fenomeno dell'anticipazione
- La mutazione viene ereditata dal genitore di sesso maschile
  **amplificazione avviene durante la spermatogenesi**
- si trasmette nel 97% dei casi come carattere **autosomico dominante** associato al **gene IT15 sul cromosoma 4p16.3**
- solo il 3% dei casi è dovuto a nuove mutazioni
- un'espansione dinamica della tripletta CAG che codifica per la glutammina

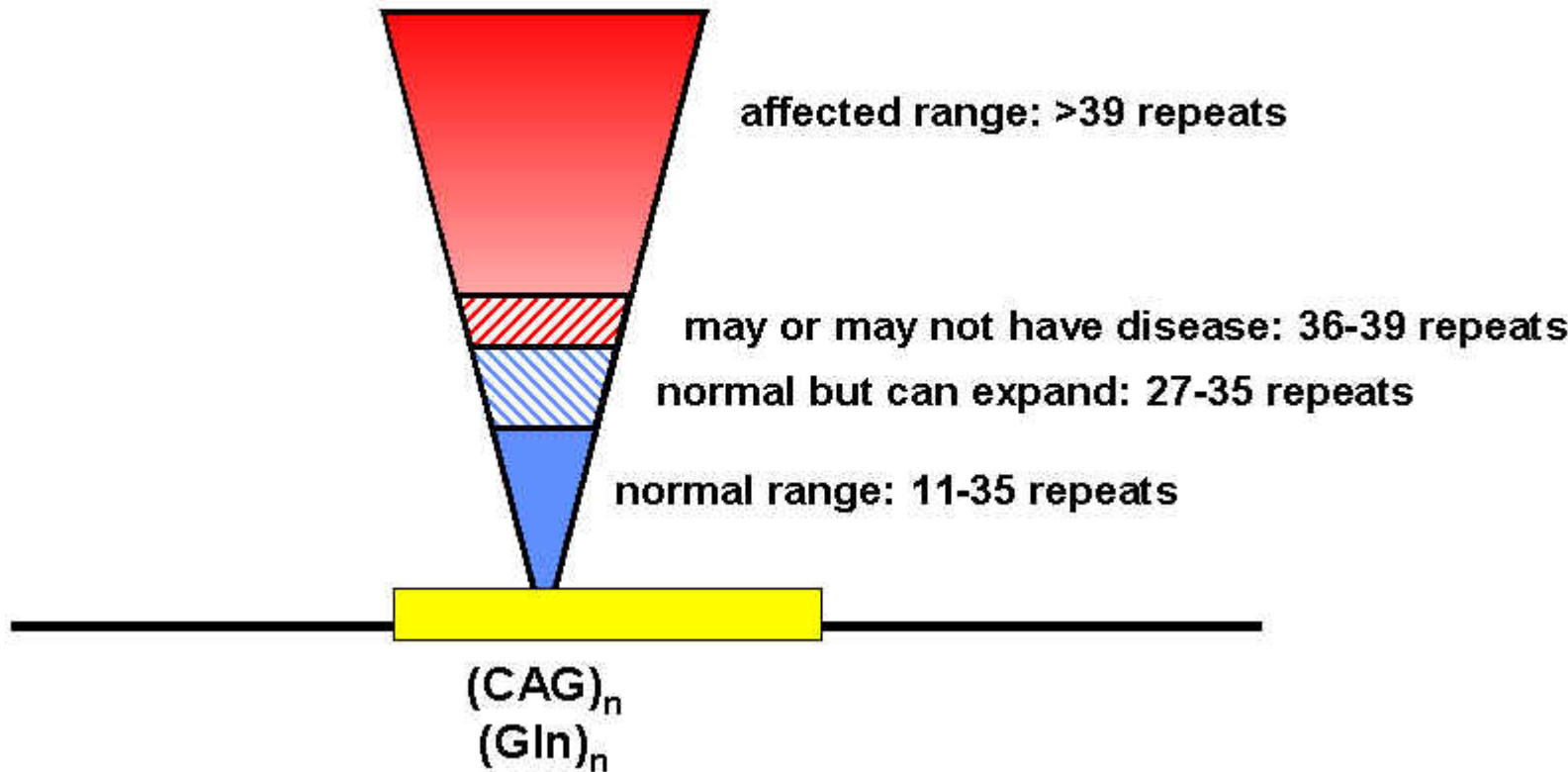
Degenerazione dei neuroni dei gangli della base sptt. dello striato in particolare quelli del nucleo caudato e del putamen

QUADRO CLINICO

L'esordio in genere è tra i 40 e 50 anni, spesso con sintomi poco specifici e non di rado di natura psichiatrica. Nel caso di un'insorgenza precoce (attorno ai 20 anni) si parla di Malattia di Huntington giovanile.

- Caratterizzata principalmente da disturbi dei movimenti volontari e quindi anche della deambulazione.
- Inizialmente lentezza dei movimenti, rigidità, deambulazione goffa e difficoltà nella parola.
- Presenza di movimenti involontari ed eccessivi degli arti inferiori che conferiscono un aspetto danzante alla deambulazione (còrea) che con il tempo diventa una disabilità motoria.
- Successivamente subentrano alterazioni cognitive e psichiatriche con disturbi maniaco-depressivi e aggressività che influenzano la vita affettiva e di relazione.
- Il decesso si verifica in genere a causa del deperimento, per la comparsa di problemi cardiaci o altre complicazioni 10-15 anni dopo la comparsa dei primi sintomi.

CAG repeats in Huntington's disease



Forma giovanile per espansioni > 60 CAG

Meccanismo patogenetico

ESPANSIONE CAG
NELLA REGIONE
CODIFICANTE DEL GENE
IT15 NEL CROMOSOMA 4

SINTESI PROTEINA
(HUNTINGTINA)
ANOMALA

PROPRIETA'
TOSSICHE DELLA
PROTEINA
ANOMALA E PERDITA
DELLE PROPRIETA' NEURO-
PROTETTIVE

HUNTINGTIN LOSS OF FUNCTION

- La proteina normale è neuroprotettiva e regola la trascrizione e il trasporto di neurotrofine come BDNF

www.sciencemag.org SCIENCE VOL 293 20 JULY 2001

Loss of Huntingtin-Mediated BDNF Gene Transcription in Huntington's Disease

Chiara Zuccato,^{1,2} Andrea Ciammola,^{1,2,3} Dorotea Rigamonti,^{1,2}
Blair R. Leavitt,⁴ Donato Goffredo,^{1,2} Luciano Conti,^{1,2}
Marcy E. MacDonald,⁵ Robert M. Friedlander,⁶ Vincenzo Silani,^{2,3}
Michael R. Hayden,⁴ Tönis Timmusk,⁷ Simonetta Sipione,^{1,2}
Elena Cattaneo^{1,2}

Cell, Vol. 118, 127–138, July 9, 2004, Copyright ©2004 by Cell Press

Huntingtin Controls Neurotrophic Support and Survival of Neurons by Enhancing BDNF Vesicular Transport along Microtubules

HUNTINGTIN LOSS OF FUNCTION

- **La proteina normale inibisce l'attivazione della caspasi 3 e previene la morte per apoptosi dei neuroni dello striato**

The EMBO Journal (2006) 25, 5896–5906 | © 2006 European Molecular Biology Organization | All Rights Reserved
www.embojournal.org

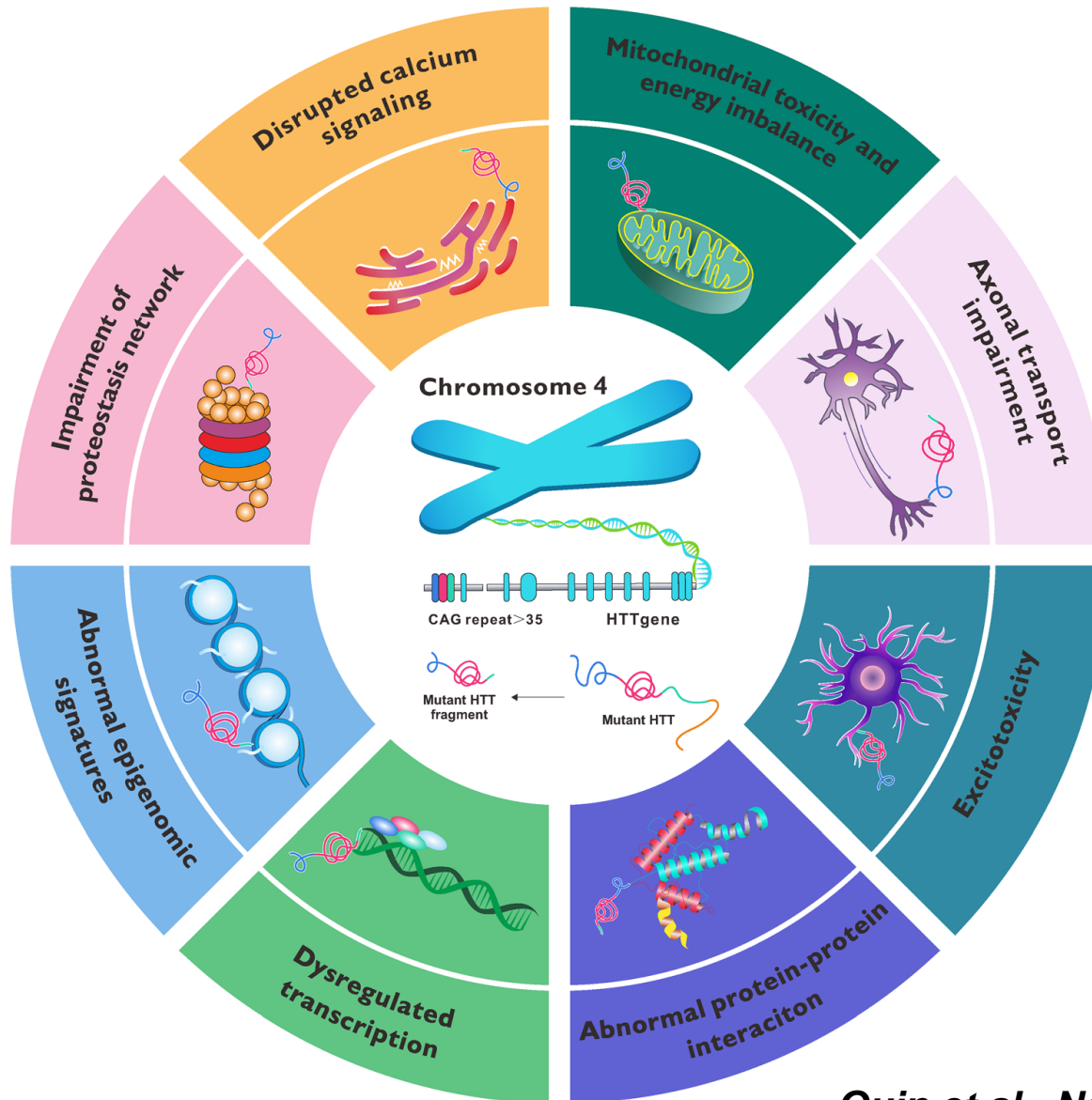
Huntingtin inhibits caspase-3 activation

HUNTINGTIN GAIN OF FUNCTION

- La proteina mutata è tagliata dalle caspasi e i frammenti migrano nel nucleo e formano aggregati che possono interferire con la trascrizione genica
- La proteina mutata interagisce con l'enzima acetiltransferasi causando l'inibizione dell'acetilazione degli istoni che è un processo di attivazione della trascrizione

Mechanisms of Disease: histone modifications in Huntington's disease

Summary of the major pathogenic mechanisms of Huntington's disease (HD) currently identified



➔ Huntington disease is an autosomal dominant neurological disorder caused by mutation in the *HTT* gene. The disease typically manifests in adulthood and is characterized by progressive motor, cognitive and behavioural impairment. Although incurable, treatment is symptom-focused.

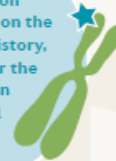


DIAGNOSIS

Heritable increases or decreases of up to a few CAG repeats might reflect CAG repeat instability during spermatogenesis as these events occur during transmission from fathers

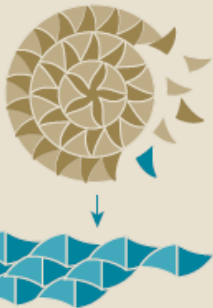


A diagnosis of Huntington disease is made on the basis of family history, genetic testing for the CAG expansion in *HTT* and clinical evaluation



MECHANISMS

HTT encodes the protein huntingtin, the normal function of which is not fully understood but is known to be critical in the development of the nervous system. Huntington disease results when the CAG trinucleotide DNA sequence, which encodes a polyglutamine segment of the protein, is expanded. CAG repeat lengths of ≥ 40 units are disease-causing and highly penetrant. A strong body of evidence shows that the huntingtin protein is fragmented in affected individuals, through the activity of caspases, calpains and other proteases, but how these fragments cause toxicity is not wholly clear. The most studied fragment — called HTT exon1 — can take different conformations and can bind to various other proteins. Accordingly, determining how this fragment is involved in disease initiation and progression is extremely challenging. However, HTT exon1 is capable of forming amyloid fibril aggregates that might mediate toxicity, a feature that Huntington disease shares with other neurodegenerative conditions such as Alzheimer disease, Parkinson disease and amyotrophic lateral sclerosis.



Neuropsychiatric features are variable in patients but include apathy, irritability and depression



Cognitive difficulties often occur before motor onset and are also progressive; inattention and emotion recognition deficits predominate



Motor dysfunction in Huntington disease is predominantly chorea (involuntary muscle contractions)



QUALITY OF LIFE

Huntington disease places a tremendous burden on an individual, and their family, because of its seemingly foreseeable nature and its long progressive course. The disease

invariably affects all aspects of life, from physical and psychological health to work, social relationships and independence (financial and physical). However, the extent to which each of these

quality-of-life domains is affected varies throughout the disease course: psychosocial issues dominate early, but they later normalize and give way to issues of functional capacity.



MANAGEMENT

The current management strategy for patients is centred around relieving symptoms and requires a multidisciplinary team to address all the facets of one's life that are affected by this condition: from physiotherapists and speech pathologists to nutritional experts and psychologists. Only one drug has gained FDA approval for patients with Huntington disease — tetrabenazine for the treatment of chorea. Other prescribed treatments are used off-label on the basis of efficacy in non-Huntington populations (for example, antidepressants). In late stages of the disease, patients often require specialist residential care.

OUTLOOK



Biomarker discovery is centred on finding tools to enable the precise measurement of prognosis, progression and treatment response. Cognitive and motor measures; biochemical species in cerebrospinal fluid, blood and urine samples; neuroimaging features; and pharmacodynamic markers are all being investigated. Drug development is exploring numerous targets (such as phosphodiesterases and histone deacetylases) and strategies (such as *HTT* RNA interference and antisense oligonucleotides) to reduce the production and activity of mutant huntingtin.

