

Aggiornamenti Genetica e Comunicazione

Gervasini

Da circa sei anni il gruppo di Genetica Medica dell'Università di Milano coordinato dalla Prof.ssa Lidia Larizza si occupa degli aspetti genetici della sindrome di Cornelia de Lange (CdLS).

Lo studio e la ricerca sono stati (e continuano ad essere) possibili grazie alla collaborazione con i vari gruppi italiani della genetica clinica, ma soprattutto dell'Associazione di Volontariato Cornelia de Lange e di ciascuna famiglia.

In questi sei anni sono avvenuti importanti progressi sulle conoscenze della CdLS, particolarmente sulle cause genetiche, che hanno avuto una significativa ricaduta sul versante clinico migliorando la diagnosi e il follow-up dei pazienti

Breve cenno alla storia: cosa sappiamo sulla Cornelia de Lange nei suoi aspetti genetici ad oggi?

Le definizioni della CdLS in ambito genetico sono molteplici: la CdLS è innanzitutto una malattia genetica, monogenica ma eterogenea, a trasmissione autosomica (ma anche X-linked) e dominante, è una coesinopatia....

Innanzitutto la CdLS è una **malattia genetica**, e **congenita**. Congenita è una malattia presente alla nascita, genetica è una malattia dovuta ad alterazioni del nostro patrimonio genetico, cioè del nostro DNA. Molto spesso le malattie genetiche sono congenite.

La CdLS è dunque una malattia congenita (i segni sono presenti già alla nascita) a base genetica, cioè dovuta ad alterazioni del nostro patrimonio genetico che è il DNA: il DNA è presente nelle nostre cellule sotto forma di cromosomi. Nelle nostre cellule vi sono 46 cromosomi cioè 23 coppie: 22 coppie sono dette autosomi e sono uguali nelle cellule di un individuo maschio e nelle cellule di un individuo femmina (due copie di cromosoma 1, due di cromosoma 2, etc, ciascuna copia della coppia viene ereditata una dalla madre, l'altra dal padre), mentre la 23° coppia è definita coppia di cromosomi sessuali: X e Y nel maschio (la X ereditata dalla madre e la Y dal padre), XX nella femmina (una X ereditata dalla madre e l'altra X dal padre).

Il gene è una parte del nostro DNA con una specifica funzione che è portare l'informazione perché venga sintetizzata una proteina. Per ogni gene si hanno due copie (una ereditata dalla madre, l'altra dal padre), dette alleli.

La malattia genetica si verifica in seguito ad una mutazione nel DNA: cioè un cambiamento accidentale che molto spesso interessa solo una piccola parte del DNA di cui è fatto un gene.

La CdLS è genetica (cioè dovuta a mutazioni cioè alterazioni del nostro patrimonio genetico) ma **eterogenea**. Ciò vuol dire che mutazioni in geni diversi possono causare la CdLS: non c'è un unico gene responsabile nella popolazione di pazienti CdLS, ma ciascun paziente porta la lesione in uno solo dei diversi geni causativi (**monogenica**: dovuta a mutazione in un solo gene).

Nel 2004 è stato identificato da un gruppo americano e da un gruppo inglese il primo gene responsabile: NIPBL. Mutazioni del gene NIPBL causano la CdLS in circa la metà degli individui CdLS.

Nel 2006 dal nostro gruppo è stato identificato il secondo gene responsabile: SMC1A, oggi sappiamo che le mutazioni in questo gene sono presenti in circa il 5-10% dei pazienti.

Nel 2007 è stato descritto un unico caso con mutazione in un altro gene, SMC3. Ad oggi non è stato descritto nessun altro caso

Il gene NIPBL è localizzato sul cromosoma 5, SMC1A sul cromosoma X e SMC3 sul cromosoma 10.

Circa la metà dei pazienti con CdLS presenta in una dei due alleli del gene NIPBL una mutazione.

La trasmissione si dice **autosomico-dominante**: autosomico perché il gene è su un cromosoma che fa parte delle 22 coppie di autosomi, dominante perché è sufficiente che ci sia una mutazione su una delle due copie (anche se l'altra copia non ha alterazioni) perché si manifesti la CdLS.

Uno dei due cromosomi 5 di ciascun genitore viene trasmesso al figlio attraverso il proprio gamete (cioè lo spermatozoo del padre o la cellula uovo della madre).

La situazione più frequente si ha quando si verifica per caso una mutazione del gene NIPBL (la mutazione è un errore e come tale un evento raro che si può verificare in tutte le cellule) a livello o del gamete paterno (lo spermatozoo) o materno (la cellula uovo).

Il gene SMC1A è localizzato su uno dei due cromosomi sessuali, il cromosoma X, che nel maschio è presente in singola copia e nella femmina invece è in duplice copia. Quindi i maschi con la CdLS che hanno mutazione nel gene SMC1A hanno la mutazione nell'unico allele del gene che hanno, mentre le femmine (esattamente come nel caso di NIPBL) hanno la mutazione in uno dei due alleli del gene SMC1A su uno dei due cromosomi X.

La modalità di trasmissione si dice **X-linked** (legata al cromosoma X).

Anche in questo caso è possibile che la mutazione avvenga a livello dei gameti (spermatozoo o cellula uovo) di uno dei cromosomi X trasmesso dalla madre (o dal padre se la figlia è femmina). La manifestazione della CdLS, cioè lo spettro dei segni clinici della malattia è molto variabile nelle femmine con la CdLS che hanno una mutazione in SMC1A, quindi in questo caso è anche possibile che vi siano donne con CdLS, di solito pauci-sintomatiche, che possono avere dei figli (con possibilità che siano anch'essi con CdLS). In questo caso c'è quindi la possibilità che vi siano anche dei rari casi familiari con genitori e figli con CdLS nei quali la consulenza genetica è oltremodo importante.

Perché mutazioni in geni diversi causano sempre la stessa malattia? I 3 geni responsabili ad oggi noti codificano per proteine che "collaborano" tra loro per una medesima funzione. Una prima funzione è strutturale cioè rendere coese le due parti del cromosoma, da qui il nome **coesine** e **coesinopatia**, cioè la malattia della coesine (**Figura 1**).

Probabilmente la funzione più importante che viene lesa dalle mutazioni e che quindi causa la CdLS è quella di regolare altri geni che sono coinvolti nello sviluppo scheletrico e del sistema nervoso centrale, i due sistemi maggiormente compromessi nella CdLS: non sappiamo però oggi quali siano questi geni e la loro identificazione è un obiettivo fondamentale della ricerca.

La nostra esperienza di laboratorio

All'arrivo in laboratorio dei campioni per l'analisi genetica si inizia un percorso con l'obiettivo di identificare la mutazione in uno dei geni responsabile: si analizzano in sequenza il gene NIPBL e SMC1A, due geni estesi che necessitano di un'analisi lunga e laboriosa. Le diverse mutazioni riscontrate nei nostri laboratori e nel mondo sono raccolte in database dedicati.

L'identificazione della mutazione ha lo scopo in primis di confermare e coadiuvare la diagnosi clinica, di capire il meccanismo molecolare alla base della CdLS e di cercare di capire se il tipo diverso di mutazione può essere d'aiuto per la prognosi, favorendo un ritorno dal laboratorio alla clinica e viceversa. Lo studio da noi effettuato nel 2007 ha ad esempio raggruppato i pazienti con e senza mutazione nel gene NIPBL: si è notato che il gruppo senza la mutazione è in genere con segni clinici più lievi, ad indicare che il ruolo di NIPBL è importante e che un suo danneggiamento è particolarmente critico.

Il numero delle persone CdLS con mutazione in SMC1A invece è abbastanza limitato e ridotto rispetto al precedente, e in questo caso le femmine sono più numerose dei maschi e possono essere più frequenti i casi familiari.

Conoscere la mutazione causativa può inoltre supportare le famiglie in ambito di **consulenza familiare**: benché siano rarissimi i casi di ricorrenza all'interno di una stessa famiglia, solo conoscendo la mutazione presente in un precedente figlio CdLS è possibile offrire la possibilità della diagnosi prenatale mirata per successive gravidanze.

Oggi è quindi noto che circa il 50% della popolazione CdLS ha mutazioni in una copia del gene NIPBL, circa il 5-10% in SMC1A, mentre un solo individuo ha presentato una mutazione di SMC3. Rimangono moltissime persone con CdLS senza causa genetica nota... (**Figura 2**)

Gli aggiornamenti

...la ricerca scientifica ha tra gli obiettivi quello di identificare i nuovi geni responsabili che sono mutati in queste persone che non hanno mutazioni né nel gene NIPBL né nel gene SMC1A.

La prima strategia è stata quella di rivalutare i geni noti, utilizzando metodiche via via più avanzate che potrebbero evidenziare mutazioni in questi due geni altrimenti non identificabili per limiti tecnici.

-Una causa di mutazioni non identificabili è il **mosaicismo** che consiste nella presenza nel proprio organismo di cellule con la mutazione e cellule senza la mutazione in proporzioni variabili. Ciò è possibile se avviene una mutazione (del gene NIPBL) a livello di una delle cellule durante la formazione embrionale/fetale. Quindi tutte le nuove cellule che si origineranno da quella cellula avranno anch'esse la mutazione, tutte le altre no. (**Figura 3**). Il nostro laboratorio utilizzando la metodica DHPLC (più sensibile del sequenziamento diretto) ha evidenziato la prima mutazione a mosaico del gene NIPBL responsabile di CdLS

-La ricerca di nuovi geni responsabili oltre ai noti NIPBL e SMC1A è una strada che si sta percorrendo mediante l'utilizzo di tecniche già consolidate (array-CGH) o con le nuove tecniche di sequenziamento di "nuova generazione".

-Altro obiettivi della ricerca è migliorare gli strumenti diagnostici utilizzabili. Nel 2004 è stato proposto un nuovo metodo di diagnosi molecolare basato su un segno citologico, cioè sull'osservazione della tendenza dei cromosomi a separare precocemente i cromatidi fratelli nel corso della divisione cellulare (chiamato PCS, separazione prematura dei cromatidi). E' stato intrapreso anche nel nostro laboratorio uno studio per indagare se questo segno citologico fosse un marker distintivo della Cornelia. Il nostro studio non ha confermato le aspettative iniziali e abbiamo escluso che l'analisi della PCS possa costituire un metodo diagnostico alternativo.

Quali le prospettive di ricerca?

Le strade percorse dalla ricerca oggi hanno i seguenti obiettivi:

-correlare una specifica mutazione e la presentazione clinica della CdLS: un aiuto alla diagnosi, alla prognosi?

-stabilire perché la presentazione nelle femmine con la mutazione in SMC1A è così variabile: ciò dipende dal peso di ciascuno dei due alleli del gene, quello "normale" e quello con la mutazione?

- capire quali sono i geni regolati dalle coesine e che sono quindi de-regolati se c'è una mutazione: perché la mutazione nei geni responsabili provoca quella cascata di eventi che determina la CdLS?

- capire quali sono gli altri geni responsabili della CdLS

Conclusioni

Oggi in generale nello studio della genetica medica ci si orienta verso quella che è definita la **medicina personalizzata**. E' senz'altro utile raggruppare il "mondo CdLS" nelle varie sottopopolazioni di mutazione (gene NIPBL/gene SMC1A/...) o tipo di mutazione ma l'orientamento è di focalizzarsi sulla singolarità di ogni individuo CdLS con la propria specifica mutazione, le proprie caratteristiche cliniche, quindi la propria propensione a sviluppare certe complicanze ma anche con le proprie potenzialità.

Questa strada è percorribile solo con l'aiuto reciproco e la collaborazione di tutte le figure professionali coinvolte nel "mondo CdLS" che operano nel l'ambulatorio, nel laboratorio e tra i pediatri di base e le famiglie e l'Associazione che le rappresenta.

Il gruppo di laboratorio di Genetica Medica è composto da:

Prof.ssa Lidia Larizza (Università di Milano e Istituto Auxologico Italiano)

Dott.ssa Cristina Gervasini (Università di Milano)

Dott. Jacopo Azzollini (Università di Milano)

Prof.ssa Palma Finelli (Università di Milano e Istituto Auxologico Italiano)

Dott.ssa Silvia Russo (Istituto Auxologico Italiano)

Dott.ssa Maura Masciadri (Istituto Auxologico Italiano)