

Diagnostica malattie genetiche ed ereditarie

!) Malattie da espansione di sequenze ripetute:

Sindrome X Fragile

Malattia ereditaria, gene FMR1 (di 17 esoni), rottura del braccio lungo del cromosoma X (Xq27.3)

Incidenza di 1:2600 nati maschi

Patogenesi:

Espansione di triplette CGG ripetute in 5' del I° esone del gene FMR1 che trascrive per la **Fragile X Mental Retardation Protein**. Proteina legante l'RNA la cui trascrizione viene bloccata dalla mutilazione delle triplette espanse.

Sano: da 5 a 50 triplette

Portatore o Pre-mutazione: da 55 a 200 triplette

Malato: oltre 200 triplette.

Sintomatologia:

Alla nascita: Macrocefalia, allargamento della fontanella anteriore;

Adulto: Alta statura, macrocefalia, macro-orchidismo, dimorfismi faciali, ridotto Quoziente Intellettivo (IQ= 20-70) con progressivo ritardo in funzione dell'età..

Diagnosi di Laboratorio:

PCR per permutazioni e/o mutazioni a ridotta espansione;

Southern Blot per mutazioni complete ed espansione notevole delle triplette (con 2 enzimi di restrizione di cui uno riconosce le mutilazioni del DNA)

Entrambe le tecniche consentono di individuare i malati, le donne portatrici e di effettuare la diagnosi prenatale.

Tale tipo di approccio è utile in tutte le patologie da espansione di triplette (Distrofia Miotonia; Atassia Spinocerebellare, etc.)

2) Malattie da macromutazioni:

Distrofia muscolare di Duchenne-Becker (DMD)

Distrofia muscolare di Becker (BDM) (forma meno severa)

DMD : Miopatia degenerativa ereditaria legata al cromosoma X.

Incidenza di 1:3500 maschi nati. Donne portatrici

BMD; Forma meno severa. Insorge a 5-15 anni e oltre.

Incidenza 3:100.000 maschi

Sintomatologia:

a 2-3 anni ritardo mentale e debolezza muscolare simmetrica.

Entro i 12 anni si perde la capacità a camminare, pseudoipertrofia muscolare per accumulo di connettivo ed adipe.

Nel 20% dei casi, ritardo mentale (specialmente verbale). Morte entro i 20 anni.

Patogenesi:

Gene della DISTROFINA sul braccio corto del cromosoma X (Xp21).

DISTROFINA: 427kD, 4 domini principali - 1) per il legame all'actina, 2) ROD di 24 unità ripetute di 109 aa, 3) Dominio ricco di cisterne, 4) dominio carbossi terminale per il legame alle DAG (dystrophin-associated glycoproteins) - .

Proteina a ponte tra apparato contrattile e matrice cellulare (se alterata provoca frequenti rotture muscolari).

65% Macrodelezioni

5-10% Macroduplicazioni

25-30% Micromutazioni (puntiformi che portano a codoni stop. Tanto diffusi e variabili da rendere difficile la diagnosi)

IDENTIFICAZIONE MUTAZIONI GENICHE:

Necessaria per conferma diagnostica, per diagnosi prenatale e per identificare donne portatrici.

Southern Blot (per delezioni e duplicazioni; uso di 8 sonde)

Multiplex PCR: amplificazione di più esoni in una unica provetta.