

# Trasmissione materna mitocondriale

---

## **SCHEMA LEZIONE**

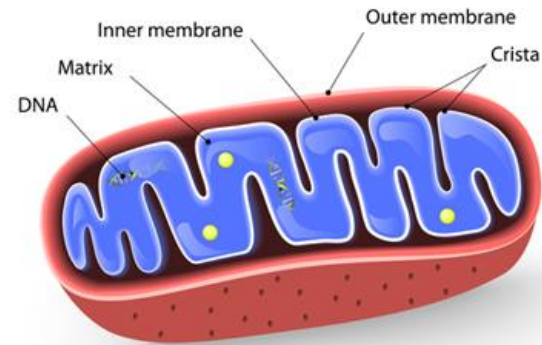
- Cosa sono i mitocondri
- Eredità matrilineare
- Eteroplasmia
  
- Malattie mitocondriali (in generale)
- Alberi genealogici
  
- Gestione pazienti

## **OBIETTIVI FORMATIVI**

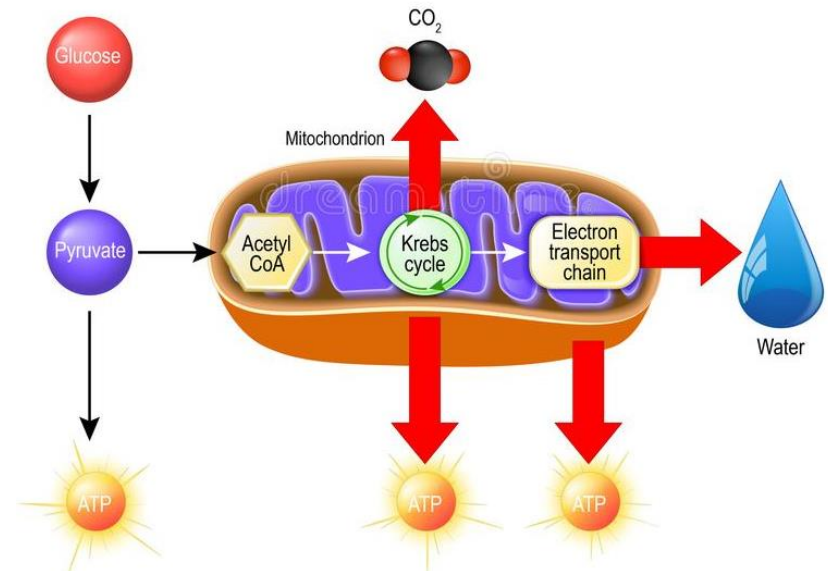
- Conoscenze
  - I mitocondri
  - Il DNA mitocondriale
  - Eredità materna
  - Eteroplasmia
  - Malattie mitocondriali
  
- Competenze
  - Riconoscere trasmissione mitocondriale da un albero genealogico

# Il mitocondrio

- Il **mitocondrio** è descritto come un organello cellulare di forma generalmente allungata
- I mitocondri sono addetti alla respirazione cellulare aerobica
- In una normale **cellula** sono visibili 1.000 - 2.000 **mitocondri**
- Tuttavia, il **numero** è variabile, essendo in relazione con il fabbisogno energetico



Credit: Design/Shutterstock.com



# La rete mitocondriale

- Diversamente da come sono generalmente rappresentati, piuttosto che numerosi discreti piccoli organelli, i mitocondri sono infatti una fitta rete di organelli tra loro interconnessi

Una proteina colorata di rosso ci permette di vedere il complesso reticolo costituito da mitocondri



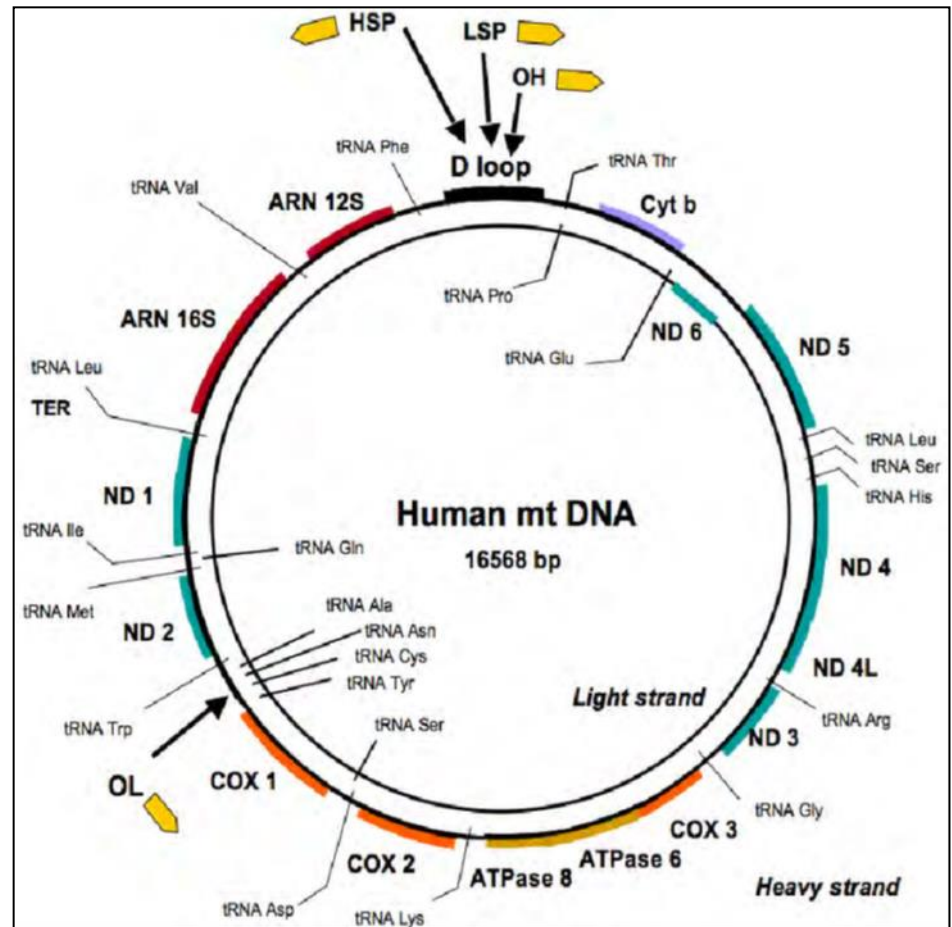
Credit: Glynn Nelson's Photostream  
Rosie Redfield (BCU university)



# Il DNA mitocondriale

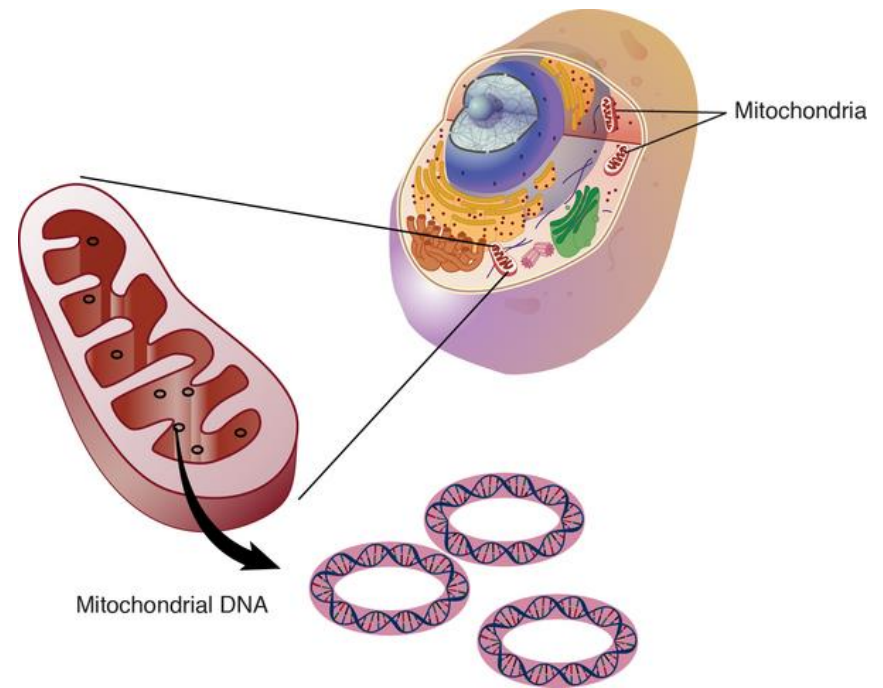
Il genoma mitocondriale umano presenta:

- Il D-loop da 1,1 kb (regione non codificante) è coinvolto nella regolazione della trascrizione e replicazione della molecola.
- Svariati geni codificanti per proteine coinvolte nel processo di fosforilazione ossidativa:
  - a. MT-ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, ND4L, codificano sette subunità del complesso I
  - b. Cyt b è l'unica subunità del complesso III codificata dal mtDNA.
  - c. MT-CO1, MT-CO2 e MT-CO3 codificano tre subunità del complesso IV (citocromo c ossidasi o COX).
  - d. MT-ATP6 e MT-ATP8 codificano per due subunità del complesso V
- 2 geni per RNA ribosomiali (MT-RNR1 e MT-RNR2, codificanti per rRNA 12S e 16S) e 22 geni per RNA transfer forniscono i componenti di RNA necessari per la sintesi proteica mitocondriale.



# La eredità mitocondriale

- Ogni cellula contiene migliaia di copie di DNA mitocondriale
- In particolare, le cellule che hanno un elevato fabbisogno energetico, come cervello e muscoli.
- I mitocondri, e quindi il loro DNA, sono ereditati quasi esclusivamente dalla madre attraverso l'oocita.



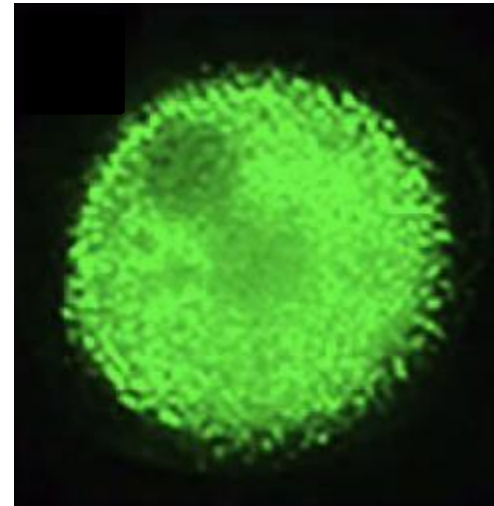
Credit: Darryl Leja, NHGRI



# Meccanica della eredità mitocondriale

- La cellula uovo contiene migliaia di mitocondri
- Alla fecondazione, lo zigote acquisisce la maggior parte dei mitocondri e del relativo DNA dalla cellula uovo

Spermatozoi hanno circa 700 molecole di mtDNA

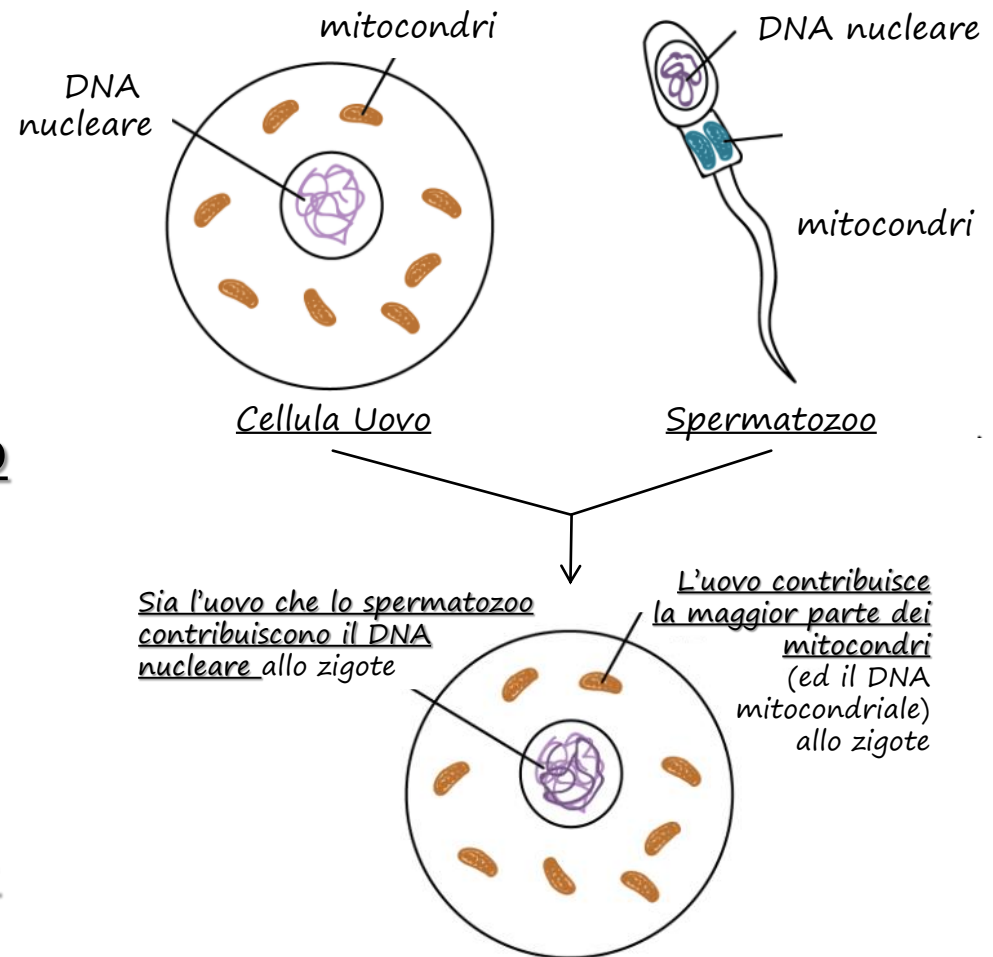


Oociti hanno circa 200.000 molecole di mtDNA (i punti verdi in questa immagine)



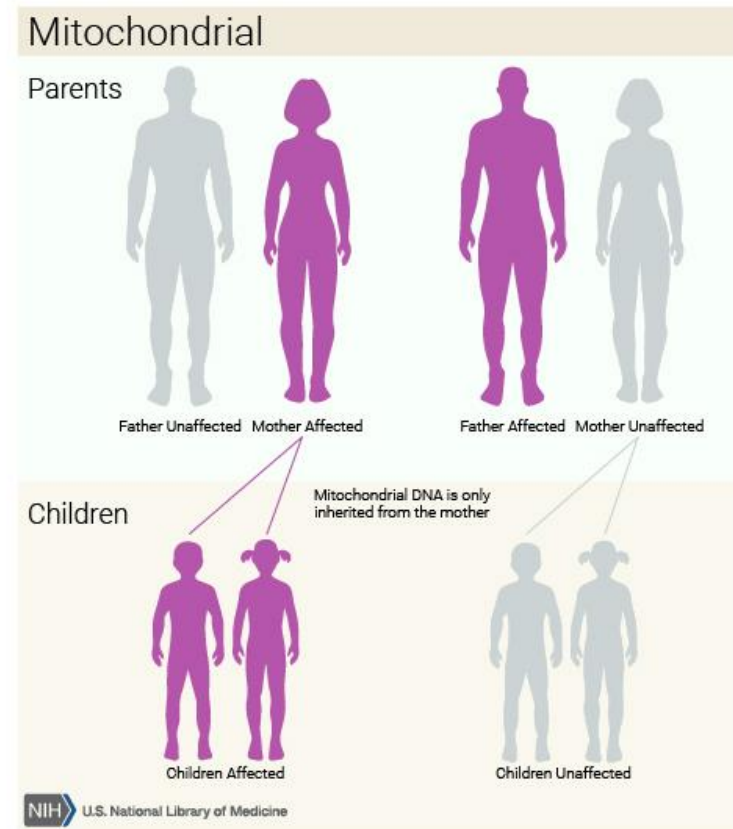
# Meccanica della eredità mitocondriale

- La cellula uovo contiene migliaia di mitocondri
- Alla fecondazione, lo zigote acquisisce la maggior parte dei mitocondri e del relativo DNA dalla cellula uovo
- I caratteri associati al DNA mitocondriale sono perciò trasmessi solo per via matrilineare



# Eredità mitocondriale

- Nell'uomo, l'eredità citoplasmatica o mitocondriale rappresenta un modello in grado di spiegare la trasmissione di alcuni rari disordini genetici che colpiscono sia i maschi che le femmine ma sono trasmessi solo attraverso le femmine, la cosiddetta eredità materna o matrilineare.



# Malattie mitocondriali

---

# DNA mitocondriale e metabolismo aerobico

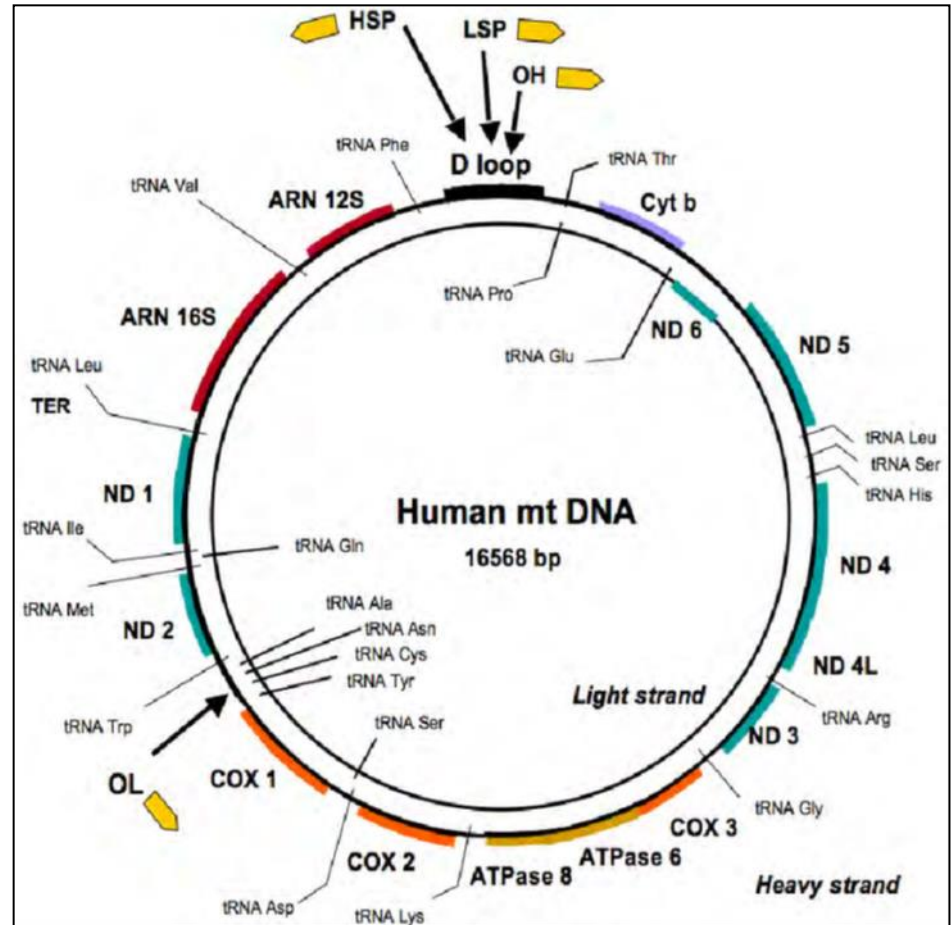
- Le malattie mitocondriali sono un gruppo clinicamente eterogeneo di patologie che insorgono a seguito di disfunzione della catena respiratoria mitocondriale.
- La catena respiratoria mitocondriale è la via comune finale essenziale per il metabolismo aerobico
- i tessuti e gli organi che dipendono fortemente dal metabolismo aerobico sono preferenzialmente coinvolti nei disordini mitocondriali

- Più di 1000 geni nucleari codificano per proteine del mitocondrio,
- Più di 70 diverse proteine interagiscono sulla membrana mitocondriale interna per formare la catena respiratoria.
- La stragrande maggioranza delle subunità proteiche sono codificate da geni nucleari e sintetizzate nel citoplasma, ma 13 subunità essenziali sono codificate dal DNA mitocondriale

# Il DNA mitocondriale

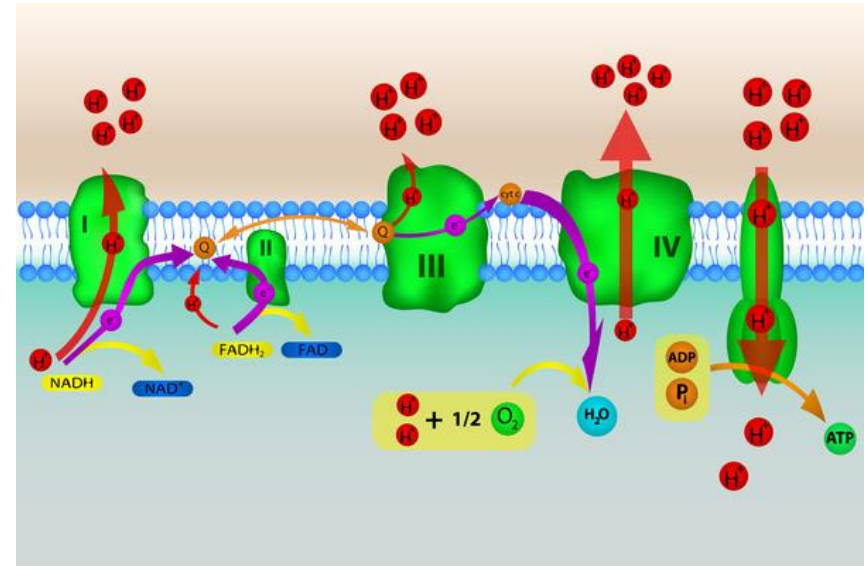
Il genoma mitocondriale umano presenta:

- Il D-loop da 1,1 kb (regione non codificante) è coinvolto nella regolazione della trascrizione e replicazione della molecola.
- Svariati geni codificanti per proteine coinvolte nel processo di fosforilazione ossidativa:
  - a. MT-ND1, ND2, ND3, ND4, ND5, ND6, ND4L, codificano sette subunità del complesso I
  - b. Cyt b è l'unica subunità del complesso III codificata dal mtDNA.
  - c. MT-CO1, MT-CO2 e MT-CO3 codificano tre subunità del complesso IV (citocromo c ossidasi o COX).
  - d. MT-ATP6 e MT-ATP8 codificano per due subunità del complesso V
- 2 geni per RNA ribosomiali (MT-RNR1 e MT-RNR2, codificanti per rRNA 12S e 16S) e 22 geni per RNA transfer forniscono i componenti di RNA necessari per la sintesi proteica mitocondriale.



# Complessi proteici coinvolti nella fosforilazione ossidativa

- Cinque complessi proteici, ciascuno composto da diverse proteine, sono coinvolti nella fosforilazione ossidativa.
- I complessi sono denominati
  - a. complesso I
  - b. complesso II
  - c. complesso III
  - d. complesso IV
  - e. complesso V
- Durante la fosforilazione ossidativa, i complessi proteici creano un gradiente elettronico che serve a generare l'energia necessaria per la produzione di adenosina trifosfato (ATP), la principale fonte di energia della cellula



Mutazioni che riducono o eliminano l'attività di uno o più di questi complessi possono portare a malattie mitocondriali







# Malattie mitocondriali: caratteristiche comuni

- Malattie mitocondriali presentano  
prominenti caratteristiche  
neurologiche e miopatiche.
- Caratteristiche cliniche comuni :
  - Per i muscoli: paralisi dei muscoli del bulbo oculare e della palpebra, intolleranza all'esercizio fisico, cardiomiopatia,
  - Nel sistema nervoso centrale si osservano spesso encefalopatia, convulsioni, demenza, emicrania, episodi simil-ictus, atassia
  - Si riscontrano anche sordità, atrofia ottica, retinopatia.
  - Diabete mellito

- Tuttavia, vi è spesso una notevole variabilità clinica e molti soggetti affetti non presentano la sintomatologia tipica di una particolare sindrome clinica.
- Notevole inoltre il fatto che sintomi legati a disordini mitocondriali possono presentarsi a qualsiasi età

# Malattie mitocondriali: sindromi multisistemiche

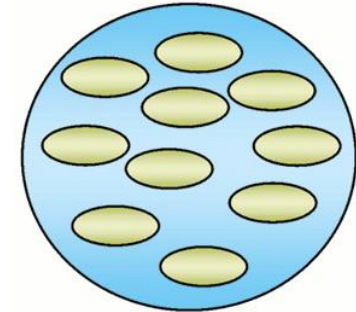
- Alcuni disordini mitocondriali colpiscono un singolo organo:
- **Occhio:** nella Leber hereditary optic neuropathy (LHON)
- **Orecchio:** nella nonsyndromic hearing loss

- La maggior parte dei disordini colpiscono diversi organi e tessuti e ricadono in sindromi discrete:
- *Kearns-Sayre syndrome (KSS),*
- *chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO)*
- *mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS)*
- *myoclonic epilepsy with ragged-red fibers (MERRF)*
- *neurogenic weakness with ataxia and retinitis pigmentosa (NARP) o Leigh syndrome (LS)*

# Omoplasma ed Eteroplasma

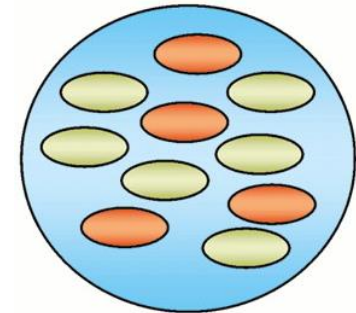
- Nella maggior parte delle persone, il DNA mitocondriale di diversi mitocondri è identico o mostra ciò che viene chiamato omoplasma.
- Se la madre è eterogenea per la presenza di mutazioni nel DNA mitocondriale: ci saranno due popolazioni di DNA mitocondriale, la cosiddetta eteroplasma.
- In questo caso, la proporzione di DNA mitocondriale con una mutazione può variare tra cellule e tessuti. Ciò spiega la gamma di gravità fenotipica osservata nelle persone affette da disturbi mitocondriali
- Omoplasma o basse proporzioni di eteroplasma sono ben tollerate. All'aumento progressivo di eteroplasma si associa un incremento nella gravità del fenotipo clinico.

OMOPLASMA

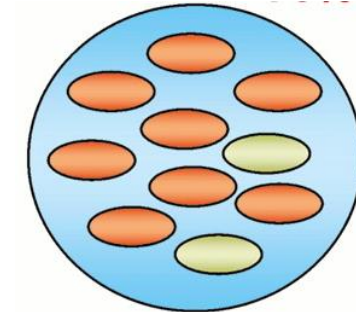


Mitocondrio normale

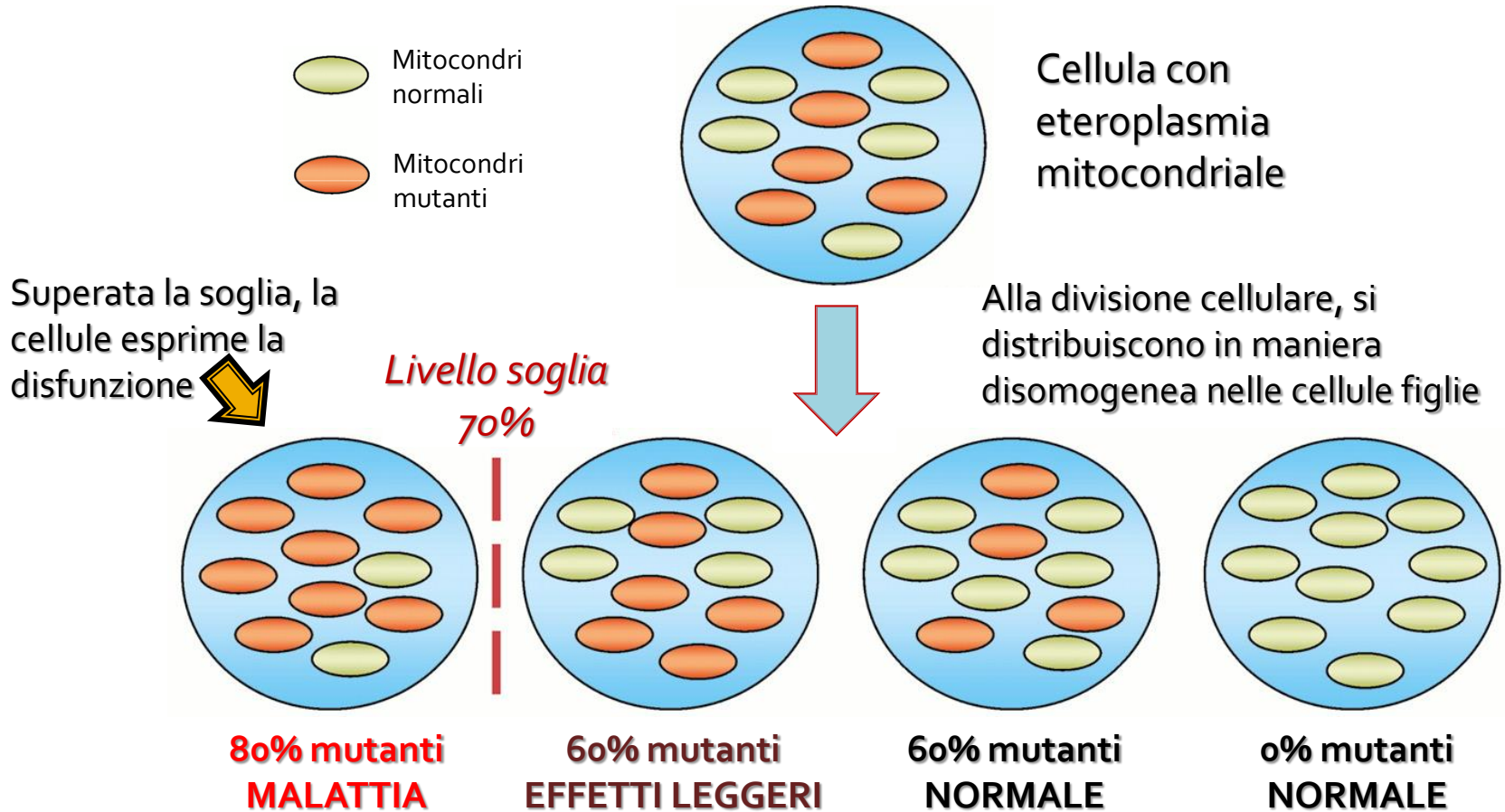
ETEROPLASMA



Mitocondrio mutante



# Eteroplasmia ed Eterogeneità fenotipica



La distribuzione disomogenea di eteroplasmia è anche causa di eterogeneità fenotipica, che perciò è dovuta a:  
(i) proporzione di eteroplasmia; (ii) tessuti in cui la disproporzione si presenta.

# Malattie mitocondriali: approccio alla diagnosi

- Una disfunzione mitocondriale dovrebbe essere considerata nella diagnosi differenziale di qualsiasi disordine clinico progressivo multisistemico.
- È giustificata nei bambini con un quadro neurologico complesso o con le caratteristiche cliniche sistemiche descritte in precedenza.

Andrebbe perciò valutato

- il fenotipo clinico:
  - esame fisico,
  - indagini neurologiche (risonanza magnetica, elettroencefalogramma, elettromiografia);
  - Indagini cardiologiche (elettro- ed eco-cardiogramma)
  - Concentrazione di lattato / piruvato nel plasma
  - Livelli di glucosio nel sangue

# Malattie mitocondriali: approccio alla diagnosi

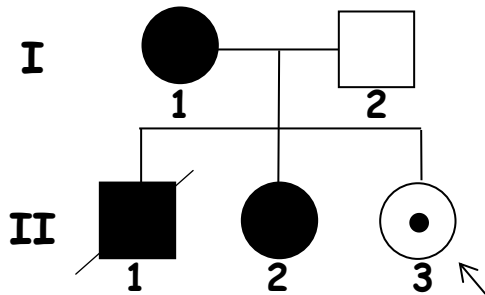
Se il fenotipo clinico lo giustifica, ulteriori indagini dovrebbero riguardare:

- la modalità di eredità: una storia familiare di tre generazioni può suggerire il tipo di eredità >>> matrilineare nelle sindromi mitocondriali.

Infine

- Il test genetico molecolare del DNA estratto da un campione di sangue è utilizzato per stabilire la diagnosi:
- saggi su singoli geni o su pannelli multigenici si basano sul fatto che esista un'ipotesi su quali geni siano specificamente da testare.
- In seconda battuta, è possibile considerare indagini *genome-wide*, tra cui *exome* o *genomic sequencing*

# Pedigree di famiglia con mutazione m.3243A>G (da Sallevelt et al Med Genet 50, 2013)



**II-3:** Consultando non affetto.

**I-1:** Madre affetta da diabete

**II-1:** Fratello morto a 32 anni.  
Affetto da disordini neurologici e cardiaci, con episodi di pseudo-ictus

**II-2:** Sorella affetta da episodi epilettici

- Il consultando **II-3** cerca di conoscere il proprio rischio di sviluppare i caratteri osservati nei parenti di primo grado e/o di trasmetterli ad una eventuale progenie

Malattia mitocondriale è suggerita da:

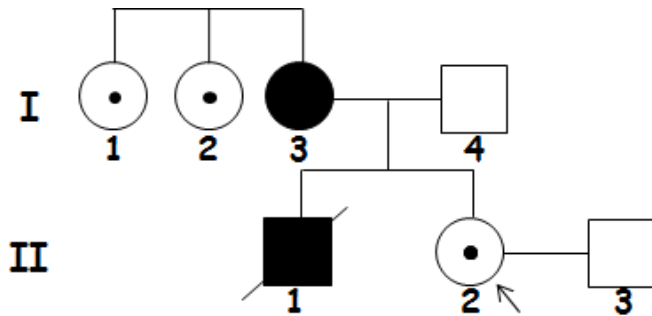
- fenotipo in cui gli affetti presentano disordini sistemici che colpiscono distretti neurologici, cardiaci e pancreatici (diabete in giovane età)
- trasmissione materna

- L'analisi molecolare rivela una mutazione **m.3243 A>G** trasmessa per via materna **I-1** a tutta la progenie

- Livelli di Eteroplasmia:
  - I-1**: 9% S; 8% Cp; 15% M
  - II-1**: 36% S; 40% Cp; 63% M
  - II-2**: 23% S; 9% Cp; 28% M
  - II-3**: 25% S; 10% Cp; 28% M

Il consultando ha livelli di eteroplasmia simili alla sorella affetta e perciò un'alta probabilità di sviluppare i sintomi; inoltre, ha la certezza che la mutazione sarà trasmessa alla eventuale progenie





**I-1:** Zia non affetta

**I-2:** Zia non affetta

**I-3:** Madre affetta da diabete e sordità

**I-4:** Padre non affetto

**II-1:** Fratello morto improvvisamente a 31 anni, affetto da sordità

**II-2:** Consultando non affetto.

**II-3:** Marito non affetto.

In questo pedigree, notiamo:

1. Madre (I-3) è affetta da sordità e diabete < un fenotipo caratteristico di malattia mitocondriale
2. Figlio deceduto improvvisamente a 31 anni, affetto da sordità
3. Madre (I-3) trasmette il carattere al figlio, ma non alla figlia < trasmissione X-linked recessiva o mitocondriale ?

- L'analisi molecolare rivela una mutazione **m.3243 A>G** trasmessa per via materna **I-1** a tutta la progenie

- Livelli di Eteroplasmia:

- **I-1** : 8% S
- **I-2** : 10% S
- **I-3** : 40% S
- **II-1** : 40% S
- **II-2** : 27% S; 29% Cp; 59% U

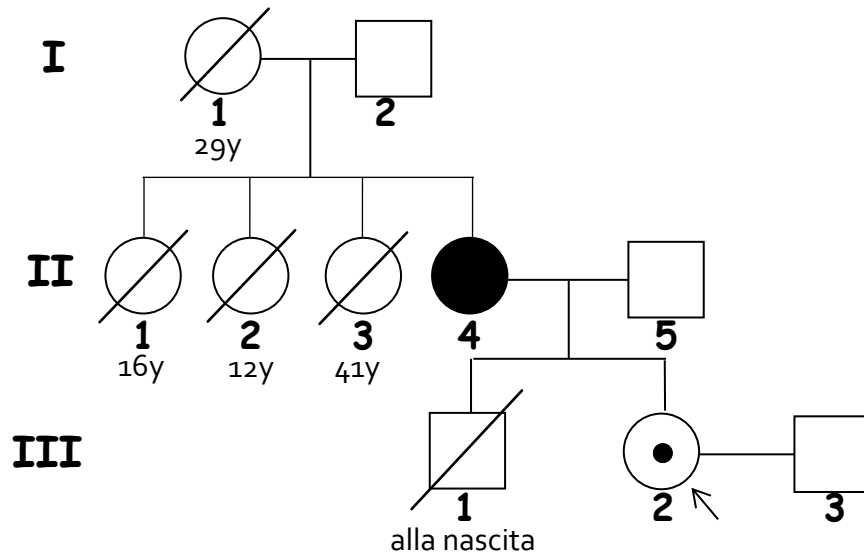


Il consultando ha livelli di intermedi eteroplasmia rispetto alle zie non affette ed alla madre o al fratello affetti .

Essa perciò presenta un rischio elevato di **sviluppare sintomi** ed ha la **certezza di trasmettere mutazione alla progenie**

# Pedigree di famiglia con mutazione

**m.3243A>G** (da Sallevelt et al Med Genet 50, 2013)



**II-4:** Regressione neurologica e cognitiva, sordità e aritmie cardiache

In riferimento a III-2, in questo pedigree, notiamo:

1. Nonna (I-2) deceduta giovane
  2. Tre zie (II-1, II-2, II-3) decedute giovani e la madre (II-4) affetta da sordità, diabete, cardiopatia e regressione neurologica < **fenotipo sistemico complesso da malattia mitocondriale?**
  3. Fratello (III-1) morto alla nascita
  4. Trasmissione **dominante o mitocondriale?**
  5. Madre (II-4) ha trasmesso il disordine a III-1, ma apparentemente non alla figlia III-2 < **trasmissione dominante o mitocondriale?**
- Presenza di mutazione **m.3243A>G**
  - **Eteroplasmia**
    - madre II-4: 6-8% nel sangue; **BASSA**, ma non nota negli altri tessuti !!!
    - **Consultando III-2:** Eteroplasmia al 13% nel sangue, al 26% nei capelli, al 55% nelle urine di non affetta < **a rischio di sviluppare sintomi e certezza di trasmissione alla progenie**

# Malattie mitocondriali: la consulenza genetica

La consulenza genetica è il processo che fornisce agli individui e alle famiglie informazioni sulla natura, l'eredità e le implicazioni dei disturbi genetici per aiutarli a prendere decisioni mediche e personali informate.

Nel caso di malattie mitocondriali, va indicato che:

- La progenie di maschi con una variante patogena del mtDNA non erediterà la variante.
- La progenie di femmine con una variante patogena del mtDNA invece erediterà la variante patogena >>> tuttavia, il livello di eteroplasmia può determinare una trasmissione di quantità variabile di mtDNA mutato, con conseguente significativa variabilità clinica anche tra fratelli dello stesso nucleo familiare
- Le indicazioni sopra descritte sono parametri da considerare per valutare il rischio genetico nei parenti e nella progenie
- Hanno anche un impatto negativo sulla possibilità di svolgere indagini prenatali

FINE