

La genetica è la scienza che studia le modalità di trasmissione dei caratteri ereditari. La genetica studia:

- la trasmissione dei geni da una generazione all'altra
- la variazione dei geni che determinano le caratteristiche fisiche ereditarie dell'uomo e di ogni essere vivente

GENI E CARATTERI EREDITARI

I caratteri ereditari corrispondono a precisi tratti di DNA, i geni, che contengono le informazioni per la sintesi delle proteine. Ciascun gene occupa nel cromosoma una determinata posizione detta locus (plurale loci); ne consegue che i vari geni sono disposti lungo i cromosomi secondo un ordine lineare ben preciso, caratteristico per ogni specie.

Geni e alleli

Nelle cellule diploidi, le istruzioni per ciascun carattere sono contenute in due geni, uno di origine paterna e uno di origine materna. Essi formano una coppia genica. I due geni di ogni coppia genica sono detti alleli: ogni individuo è dunque sempre dotato per lo stesso carattere di due alleli, che possono essere uguali o diversi.

Alleli dominanti e alleli recessivi

Spesso, fra i due alleli che si riferiscono alla stessa caratteristica somatica, uno risulta dominante e i suoi effetti nascondono i possibili effetti dell'altro allele, che viene pertanto chiamato recessivo.

Analogamente i caratteri che corrispondono ai due alleli si dicono rispettivamente carattere dominante e carattere recessivo: per esempio, nell'uomo gli occhi scuri sono un carattere dominante rispetto agli occhi chiari, il colore scuro della pelle è dominante rispetto al colore chiaro, come il carattere "capelli ricci" è dominante sul carattere capelli lisci.

Per convenzione, un allele dominante è indicato con la lettera maiuscola (A, B, C, ecc.), mentre il corrispondente allele recessivo è identificato dalla stessa lettera minuscola (a, b, c, ecc.).

Ricorrendo a questo tipo di annotazione e indicando con una lettera un qualsiasi gene, per ogni coppia genica sono possibili tre combinazioni:

- AA: l'individuo viene detto omozigote dominante per quel dato carattere.
- aa: l'individuo viene detto omozigote recessivo per quel carattere.
- Aa: l'individuo viene detto eterozigote per

quel carattere.

GENOTIPO E FENOTIPO

Il genotipo è il corredo genetico di un individuo, cioè l'insieme dei geni (unità funzionali) contenuti nel DNA e custoditi nel nucleo delle cellule. Ogni organismo eredita dai genitori il corredo genetico e possiede una specifica combinazione di geni, che in parte sono alla base della sua unicità. Ogni gene contribuisce in maniera diversa allo sviluppo e alla fisiologia dell'organismo e l'interazione dei prodotti genici è responsabile della formazione dell'intero organismo e di tutte le sue caratteristiche.

Negli organismi diploidi (dotati cioè di due coppie di ogni cromosoma), tra i quali è compreso l'uomo, se si considera un singolo carattere, il genotipo è la combinazione di alleli di quel gene. Se i due geni hanno lo stesso allele, l'individuo è omozigote; se invece i due geni portano diversi alleli l'individuo è eterozigote.

Il fenotipo, invece, è l'insieme dei caratteri che l'individuo manifesta e che dall'apparenza si possono osservare in maniera più o meno evidente. Il fenotipo dipende dal genotipo, ma anche dalle interazioni fra geni ed ambiente.

Nel corso del XIX secolo Gregor Mendel studiò il fenotipo di alcune piante di piselli e risalì al loro genotipo (linee pure, ibridi), gettando le basi per la conoscenza dei complessi meccanismi dell'ereditarietà.

Riassumendo

Ogni carattere ereditario è controllato da una coppia di geni (uno materno e uno paterno).

Le differenti caratteristiche che può assumere lo stesso gene si chiamano alleli.

Un gene è un tratto di DNA che fornisce le istruzioni per formare una determinata proteina.

I geni contengono l'informazione per la sintesi delle proteine e determinano i caratteri ereditari.

Tutti gli individui possiedono una coppia di alleli per ogni carattere ereditario: quando la coppia responsabile di un carattere è formata da alleli identici l'individuo è detto "*geneticamente puro*" o omozigote.

Quando la coppia è formata da alleli diversi l'individuo è detto "*misto*" o eterozigote.

- In una coppia di alleli diversi (eterozigoti), l'azione di un allele può essere *dominante* o *recessiva*.

Definizioni generali

- **Gene** - un segmento di DNA che codifica per una proteina o per uno specifico RNA

- **Allele** - una forma alternativa di un gene ad uno specifico locus
- **Locus** - localizzazione su un cromosoma di un gene o di una specifica sequenza di DNA
- **Omozigote** - un individuo che possiede due alleli identici ad un determinato locus
- **Eterozigote** - un individuo che possiede due alleli diversi ad un determinato locus
- **Emizigote** - un individuo che possiede una sola copia di un gene o di una sequenza di DNA (maschi sono emizigoti per il cromosoma X)

LA GENETICA MENDELIANA

Le caratteristiche di un individuo che vengono trasmesse da una generazione all'altra sono chiamate **caratteristiche ereditarie**; queste caratteristiche sono sotto il controllo di tratti di DNA chiamati **geni**. La costituzione genetica di un individuo è chiamato **genotipo**, mentre la manifestazione fisica di una caratteristica genetica è chiamato **fenotipo**.

Gli esperimenti di Mendel

Incroci tra monoibridi

Nel tentativo di comprendere i criteri dell'ereditarietà Mendel cominciò ad incrociare piante di pisello (*Pisum Sativum*) che differivano per determinati caratteri.

La scelta di questa pianta era basata sul fatto che:

- è una pianta auto impollinante
- è facile da incrociare
- è facile da crescere e da maneggiare
- possiede un ciclo vitale piuttosto breve per cui è possibile ottenere un gran numero di generazioni entro un periodo di tempo relativamente corto
- da ogni incrocio è prodotto un gran numero di prole.

Mendel lasciò autofecondare per molte generazioni ciascuna varietà di piante in modo da ottenere delle **linee pure**, ovvero varietà nelle quali il carattere studiato rimaneva invariato dai genitori ai figli per molte generazioni.

Egli isolò diversi caratteri sui quali compiere gli esperimenti ed uno di questi fu il carattere seme liscio ed il carattere seme rugoso ed effettuò il seguente incrocio:

P Seme Liscio X Seme Rugoso

F1 Semi tutti lisci

Successivamente lasciò autofecondare le piante della generazione F1 ed ottenne:

Seme liscio X Seme liscio

F2 Rapporto **3:1** tra lisci e rugosi

Applicando lo stesso principio per tutti gli altri caratteri egli ottenne i medesimi risultati.

Le sue conclusioni furono che:

1. i caratteri alternativi (liscio e rugoso) erano controllati da fattori particolari che erano trasmessi alla progenie dai genitori attraverso i gameti.
2. ogni fattore esisteva in forme alternative che determinano i caratteri (che ora chiamiamo alleli).
3. dato che alla F1 solo un carattere era visibile, questo doveva in qualche modo "mascherare" l'altro carattere: uno era dominante (seme liscio), mentre l'altro era recessivo (seme rugoso).
4. individui appartenenti a linee pure che contengono un solo tipo di allele sono chiamati omozigoti, piante che possiedono due diversi alleli sono eterozigoti.

Il principio della segregazione

In base ai dati raccolti Mendel propose la sua prima legge, ovvero il principio della segregazione che stabilisce che i due membri di una coppia genica (alleli) si separano (segregano) l'uno dall'altro durante la formazione dei gameti.

L'uso dei reincroci

Per verificare quale sia il genotipo di un individuo viene usato il reincrocio o testcross. Si tratta di un incrocio tra un individuo di genotipo ignoto che generalmente manifesta il fenotipo dominante, ed un individuo omozigote recessivo.

Se tutta la progenie ottenuta da questo incrocio mostra il fenotipo dominante, allora il genotipo dell'individuo in esame è omozigote dominante; se la progenie presenta un rapporto approssimativo di 1:1 tra fenotipi dominanti e recessivi, l'individuo è eterozigote.

Incroci tra diibridi

Mendel effettuò una serie di incroci stavolta considerando due caratteri per volta ed in base ai risultati ottenuti enunciò la sua seconda legge sul principio dell'assortimento indipendente: i fattori (geni) che controllano caratteri diversi si distribuiscono in modo indipendente gli uni dagli altri.

Vediamo un incrocio di esempio:

P (semi lisci e gialli) SSYY x ssyy (semi rugosi e verdi)

F1 (semi lisci e gialli) SsYy x SsYy

F2 Rapporto 9:3:3:1 tra lisci-gialli; lisci-verdi; rugosi-gialli; rugosi-verdi;

Questo confermò il suo principio, se infatti questo non fosse stato vero (cioè se i geni che controllavano i caratteri venivano trasmessi insieme dai genitori alla progenie) si avrebbe avuto un rapporto di 3:1 liscio-giallo e rugoso-verde.

Gli esperimenti di Mendel stabilirono tre principi genetici di base:

1. Alcuni alleli sono dominanti, altri recessivi

I legge di Mendel o Legge della dominanza: *incrociando tra loro due individui di linea pura che differiscono per un solo carattere si ottengono nella prima generazione filiale (F1) individui che manifestano il carattere dominante mentre quello recessivo rimane nascosto.*

2. Durante la formazione dei gameti, gli alleli differenti segregano l'uno dall'altro

II legge di Mendel o Legge della segregazione dei caratteri: *incrociando tra loro due ibridi (eterozigoti) della F1, gli alleli che determinano il carattere si separano in gameti diversi.*

3. Geni indipendenti assortiscono indipendentemente

III legge o Legge dell'indipendenza dei caratteri: *le coppie di alleli di ciascun carattere si comportano indipendentemente le une dalle altre durante la formazione dei gameti.*

Le coppie di caratteri analizzati da Mendel si trovavano su diverse coppie di omologhi (caratteri indipendenti) e questo permette loro, durante la meiosi, di segregare l'una indipendentemente dall'altra.

Se però una coppia di caratteri è portata dalla medesima coppia di omologhi, i due alleli appartenenti a caratteri diversi, che si trovano sul medesimo omologo tendono ovviamente ad essere trasmessi insieme. In questo caso i caratteri si dicono associati e non forniscono in F2 la medesima distribuzione di frequenza (9:3:3:1) trovata da Mendel. Inoltre, quando i caratteri considerati sono multipli e si ha a che fare con il poli-ibridismo, le classe fenotipiche non sono più nove, ma molte di più ed i rapporti di frequenza più complicati.

Geni associati e geni indipendenti

Consideriamo due geni A e B. Questi due geni possono:

- essere localizzati su cromosomi diversi (geni indipendenti)
- essere localizzati sullo stesso cromosoma (geni associati o geni concatenati o geni linked).

Se due geni sono indipendenti, essi segregano in meiosi in modo indipendente e quindi per essi vale la III legge di Mendel.

Se invece due geni sono associati, essi non assortiscono in modo indipendente e quindi non si verificano le previsioni della III legge di Mendel.

Si definiscono **geni associati** i geni che appartengono allo stesso cromosoma e che non si assortiscono indipendentemente. Infatti poiché è il cromosoma (e non il gene) l'unità che si trasmette durante la meiosi, i geni associati non sono liberi di distribuirsi in modo indipendente gli uni dagli altri e si dice che mostrano associazione (linkage) negli incroci genetici.

Geni associati

Gli alleli di due geni differenti segregano in modo indipendente solo se i geni sono posti su coppie differenti di cromosomi omologhi. Se i due geni si trovano invece sulla stessa coppia di omologhi (in loci diversi) i loro alleli non possono segregare in modo indipendente ma tendono a rimanere insieme (contravvenendo così alla legge dell'indipendenza di Mendel).

Incrociando una linea pura di *Drosophila* (piccolo moscerino che vive sul mosto, frutta e verdura) a corpo grigio (dominante: G) ed ali normali (dominante: N) con una a corpo nero (recessivo: g) ed ali corte (recessivo: n), si ottengono, alla F1, eterozigoti (GgNn) a corpo grigio ed ali normali (perché il grigio è dominante sul colore nero e le ali normali sono dominanti sulle ali corte).

Se si incrocia un maschio di questi eterozigoti di prima generazione (GgNn) con una femmina omozigote recessiva a corpo nero ed ali atrofiche (ggnn) si dovrebbero ottenere (se i geni fossero dislocati su 2 coppie diverse di cromosomi), secondo la legge della indipendenza dei caratteri, 4 classi fenotipiche, con un rapporto 1:1:1:1 (25%, 25%, 25%, 25%).

In realtà, dall'incrocio si ottengono solo 2 classe fenotipiche (grigi-ali normali e neri-ali corte), in rapporto 1:1 (50%, 50%).

Questo si verifica perché il maschio eterozigote (GgNn) forma solo 2 classi di gameti (e non 4), in quanto i geni che determinano il colore del corpo e la forma delle ali sono associati (linked) su uno stesso cromosoma. Tutti i geni che si trovano su uno stesso cromosoma costituiscono un gruppo di associazione e si trasmettono sempre uniti durante la meiosi; cioè, si comportano come se fosse un gene solo. Pertanto, il numero di gruppi di associazione corrisponde al numero delle coppie di cromosomi (23 nell'uomo).

Due geni associati sullo stesso cromosoma possono mostrare:

- **associazione completa**, quando tra di essi non si osserva crossing-over
- **associazione parziale**, quando tra i due geni si verifica crossing-over.

L'associazione dei geni si studia con il reinkrocio a due punti, che consiste nell'incrocio tra l'individuo eterozigote per i due geni, di cui si vuole studiare l'associazione, con l'individuo omozigote recessivo (l'incrocio è $BbVv \times bbvv$). Analizzando la proporzione di fenotipi nella progenie, si può stabilire se due geni sono associati o indipendenti.

Crossing over

Il crossing over è lo scambio di porzioni di cromatidi provenienti da cromosomi omologhi.

Il crossing over avviene nella profase della meiosi I. Quando i cromosomi sono duplicati e quindi costituiti da due cromatidi ciascuno, ogni cromosoma si appaia al suo omologo. Si origina così la tetrad, una struttura formata da quattro cromatidi (tetra- in greco significa quattro). È possibile a questo punto che due cromatidi, appartenenti ciascuno a uno dei due cromosomi omologhi, si sovrappongano e, nel punto in cui avviene la sovrapposizione, si stacchino pezzi di un cromatidio si riattacchino scambiando le loro posizioni. La conseguenza di questo fenomeno è che uno dei due cromosomi che si forma alla fine della meiosi I non è più formato da due cromatidi perfettamente uguali. La meiosi II produrrà perciò, quattro tipi di gameti diversi.

In questo modo anche se le due coppie di geni si trovano sulla stessa coppia di cromosomi avviene la ricombinazione dei caratteri.

Esempio: nel caso specifico della *Drosophila*, incrociando una femmina eterozigote (Grigio-ali normali) di F1 (Gg Nn) con un maschio omozigote (nero-ali corte) recessivo (gg nn) i risultati attesi dovrebbero comprendere solo due fenotipi, in quanto i geni per il colore e quelli per le ali sono associati (vedi figura sopra "Drosophila: risultati reali). Invece, i risultati ottenuti sono diversi.

In particolare, in F2 ritroviamo 4 forme fenotipiche (Gg Nn, gg nn, Gg nn, gg Nn), le stesse che si sarebbero ottenute se i geni del colore e quelli delle ali fossero stati indipendenti (e non associati). Ma, diversamente da questa condizione (geni indipendenti), le percentuali dei vari fenotipi non sono 25%, 25%, 25% e 25% bensì le seguenti: 41.5%, 40.5%, 9.2%, 8.8%.

La causa di tutto ciò è da imputare al fatto che, benché i due caratteri siano associati, durante la meiosi avviene uno scambio fisico di materiale genetico tra le coppie di cromosomi omologhi (crossing-over), per cui, si vengono a formare 4 tipi di gameti (GgNn, ggnn, Gggn, ggNn) e la più bassa percentuale dei fenotipi Gggn (9.2%) e ggNn (8.8%) è dovuta al fatto che non tutti gli esemplari subiscono il crossover, ma solo una piccola parte di essi. Se tutti gli esemplari subissero il crossover, le percentuali dovrebbero essere 25%, 25%, 25% e 25%. Nel caso della *Drosophila*, poi, per cause sconosciute, il cross-over si verifica solo nelle femmine e non nei maschi (dove non si formano neanche i chiasmi durante la meiosi).

Il crossing-over rappresenta un fattore di plasticità in quanto produce nuove combinazioni genetiche e quindi nuove classi di gameti, offrendo alle varie specie di individui la possibilità di adattarsi alle variazioni ambientali.

Mappe cromosomiche

In virtù del fatto che il crossing-over è un evento casuale (e non costante) ne deriva che più i geni sono lontani sul cromosoma, maggiore è la probabilità il crossover interessi il tratto di cromosoma che li separa (e, di conseguenza, i gameti ricombinanti saranno frequenti), mentre se i geni sono più vicini è meno probabile che il crossing-over interessi il breve tratto di cromosoma che li separa (ed i gameti ricombinanti saranno rari).

Dalla frequenza di ricombinazione tra due o più geni diversi, misurata in esperimenti di incrocio opportunamente progettati, è possibile dedurre quindi la distanza che intercorre tra loro su ciascun cromosoma e costruire così delle mappe cromosomiche o mappe genetiche. La distanza tra due geni associati si misura in unità di mappa o centimorgan (cM). Per definizione due geni associati distano 1 cM, quando si genera 1 gamete ricombinante ogni 100 gameti (1 ogni 25 meiosi). Normalmente si usa far coincidere la distanza in centimorgan con la percentuale di ricombinazione (1 cM = 1% di ricombinazione). La distanza di mappa è quindi uguale alla frequenza di ricombinazione scritta come percentuale.

Le percentuali di ricombinazione possono essere utilizzate per individuare le posizioni relative dei geni all'interno dei cromosomi. Così se il gene A e B presentano una frequenza di ricombinazione del 5% (5 unità di mappa), il gene B e C del 3% (3 unità di mappa) ed il gene A e C dell'8% (8 unità di mappa), è evidente che il gene B si trova tra A e C. Sulla base di questo concetto, calcolando la frequenza di scambio fra i vari geni, si può approssimativamente stabilire la posizione (locus) di un gene nel cromosoma. Questa tecnica, però, consente di stabilire la sequenza dei vari geni ma non la loro posizione assoluta nel cromosoma.

CODOMINANZA

Gruppi sanguigni

Il gruppo sanguigno AB0 dell'uomo è una caratteristica di cui occorre tenere conto in caso di trasfusioni di sangue, perché non tutti i gruppi sanguigni sono compatibili tra loro (figura 1). Il carattere è ereditario ed è controllato da un gene ad allelia multipla che determina quattro fenotipi: gruppo A, gruppo B, gruppo AB e gruppo 0. Questa condizione deriva dal fatto che gli alleli possibili sono tre, indicati con i simboli IA, IB, i, e che ogni individuo ne possiede due, uno ricevuto da un genitore, l'altro dall'altro.

I fenotipi del gruppo sanguigno AB0, così come quelli del sistema Rh, corrispondono alla presenza di particolari proteine sulla superficie dei globuli rossi del sangue. L'allele IA determina la presenza di proteine di tipo A. L'allele IB determina la presenza di proteine di tipo B. L'allele i determina l'assenza di proteine di entrambi i tipi.

I due alleli IA e IB sono tra loro codominanti ed entrambi sono dominanti su i. Quest'ultimo allele si manifesta solo nella condizione omozigote, mentre gli altri due si manifestano sia nella condizione omozigote sia in quella eterozigote. Il genotipo IAIB corrisponde al fenotipo codominante.

Le possibili combinazioni di genotipi per il gruppo sanguigno AB0 sono 6 (IAIA; IAi; IBIB; IBi; IAIB; ii), a cui corrispondono i 4 fenotipi A, B, AB e 0 (tabella 1).

Genotipo		Fenotipo
IA	IA	A
IA	i	A
IB	IB	B
IB	i	B
i	i	0
IA	IB	AB

Gli alleli relativi al carattere del gruppo sanguigno AB0 nell'uomo mostrano rapporti sia di codominanza che di dominanza semplice. Gli alleli IA e IB sono infatti codominanti tra loro ed entrambi sono dominanti su i. Queste relazioni determinano quattro possibili fenotipi a partire da sei genotipi possibili.

Fattore Rh

Il fattore Rh, o fattore Rhesus, si riferisce alla presenza di un antigene, in questo caso di una proteina, sulla superficie dei globuli rossi o eritrociti. Dei tre determinanti antigenici, C, D ed E che possono essere presenti, il D ha importanza clinica.

Si trova sulla superficie dei globuli rossi ed è presente nell'85% della popolazione umana. È un carattere ereditario e si trasmette come autosomico dominante. Se una persona possiede questo fattore si dice che il suo gruppo è Rh positivo (Rh+), se invece i suoi globuli rossi non lo presentano, il suo gruppo sanguigno è definito Rh negativo (Rh-)[1].

Il fattore Rh negativo è recessivo e quindi si esprime come tale solo in individui omozigoti per quel carattere, quindi solo in individui figli di genitori entrambi Rh negativi. Nel caso di genitori eterozigoti l'eredità è di tipo mendeliano, quindi il 25 % dei figli saranno omozigoti Rh negativi.

Il sistema Rh è importante per la compatibilità delle trasfusioni sanguigne, anche se (a differenza degli antigeni del sistema AB0) gli anticorpi anti-Rh sono prodotti dopo una prima trasfusione con sangue Rh+, in quanto l'antigene non è presente nell'ambiente. Un individuo omozigote per il fattore Rh negativo può ricevere trasfusioni di sangue solo da un altro omozigote Rh negativo, ma può essere donatore anche per omozigoti ed eterozigoti Rh positivi.

Il fattore Rh e la gravidanza negli esseri umani

Malattia Emolitica del Neonato (MEN)

Il fattore Rh è la causa di una patologia che in passato era molto comune nei neonati. Durante l'ultimo mese di gravidanza vi è un passaggio di anticorpi, utili per il nascituro, dal sangue della madre a quello del feto, ma gli anticorpi prodotti contro il fattore Rh possono essere dannosi. Il fattore Rh è un antigene geneticamente determinato. Se una donna Rh negativa (Rh-) alla prima gravidanza partorisce un bambino Rh positivo (Rh+) è probabile che i globuli rossi del feto con l'antigene Rh entrino nel circolo sanguigno materno; il corpo della madre reagisce producendo anticorpi contro l'antigene estraneo che rimarranno presenti nel suo sangue. Questa reazione rientra nella tipologia delle reazioni di ipersensibilità.

In caso di una seconda gravidanza, gli anticorpi prodotti possono essere trasferiti nel sangue del feto, e nel caso esso sia Rh+ tali anticorpi attaccheranno i globuli rossi fetali distruggendoli. Tale reazione può essere mortale prima o dopo la nascita o portare gravi problemi al sistema nervoso del nascituro. Oggi, i pericoli che corre un eventuale secondo figlio sono arginati iniettando alla madre

Rh-, entro 72 ore dal primo parto, anticorpi specifici che riconoscono e bloccano l'antigene Rh che dal feto passa alla madre, il quale andrebbe a scatenare una potente reazione immunitaria che porterebbe il feto al decesso. Questo processo deve essere ripetuto con ogni gravidanza successiva alla prima esposizione della madre all'antigene Rh.

Sistema HLA

Sulle cellule di tutti i tessuti è presente un sistema di molecole o antigeni di istocompatibilità, codificati da un gruppo di geni strettamente uniti e polimorfi, detti Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC). Nell'uomo il complesso MHC è definito HLA (Antigeni Leucocitari Umani) e riveste un ruolo fondamentale:

1. nella risposta immunitaria,
2. nei trapianti d'organo
3. nella predisposizione a malattie autoimmuni.

Sulle base di caratteristiche molecolari e funzionali dei loro prodotti, i loci HLA sono stati suddivisi in tre gruppi: loci di classe I, di classe II e di classe III.

Le molecole HLA di classe I sono codificate da tre loci HLA vicini ma distinti:

HLA-A,

HLA-B,

HLA-C.

Le molecole HLA di classe I (A,B,C) hanno un ruolo importante nella risposta immunologica contro antigeni "endogeni".

Le molecole HLA di classe II sono codificate da:

HLA-DR,

HLA-DQ,

HLA-DP.

Le molecole HLA di classe III sono componenti del Complemento: C2, C4 e TNF.

La tipizzazione HLA risulta indispensabile nel caso di trapianti di organo o di midollo osseo e per la diagnosi delle patologie HLA correlate.

Esiste una correlazione significativa, ampiamente descritta, tra alcuni antigeni HLA e molte malattie autoimmuni.

Pressochè tutte le malattie associate con la presenza di antigeni HLA di classe II sono malattie autoimmuni. Si tratta di malattie multifattoriali ed ereditarie, in cui la componente ereditaria è poligenica: cioè più geni indipendenti contribuiscono a determinarla.

Esempi di malattie associate con alleli HLA:

Diabete mellito tipo I

Uno degli esempi più noti di malattie autoimmuni associate ad HLA.

Studi sull' associazione fra diabete mellito ed antigeni HLA nella popolazione, ed anche sulla segregazione degli alleli HLA nelle famiglie con individui affetti, hanno messo in luce una significativa correlazione con gli alleli HLA di classe II DR3 e DR4.

Malattia Celiaca

Rappresenta un' intolleranza alimentare permanente al glutine caratterizzata da una risposta immunitaria inappropriata in soggetti geneticamente predisposti. E' la forma più comune di intolleranza alimentare nei paesi occidentali e colpisce circa 1 individuo su 100.

Si tratta di un complesso disordine genetico che coinvolge più regioni cromosomiche, di conseguenza quindi, più loci sembrano entrare a far parte nella suscettibilità alla malattia.

Da diversi anni ormai è stata riportata un' associazione con l' antigene HLA-DQ8 (DQA1 0301/DQB1 0302), successivamente è stata osservata un' associazione, più stretta della precedente, con gli antigeni HLA-DR3 e DR7; in ultimo è stata ampiamente descritta un' associazione con HLA-DQ 2 (DQA1 0501/DQB1 0201). L' antigene DQ2 è presente infatti in più del 90% dei pazienti: per questo motivo è stato per molto tempo considerato la molecola direttamente responsabile della suscettibilità alla malattia.

La tipizzazione HLA è utile come test genetico di suscettibilità che valuta la maggiore o minore predisposizione di un individuo a sviluppare la malattia celiaca.

Malattie reumatologiche: Artrite Reumatoide e Spondiloartropatie

L' Artrite Reumatoide è una malattia cronica sistemica , caratterizzata da poliartrite infiammatoria.

La suscettibilità a sviluppare AR è data in circa il 30% dei casi dall' associazione con aplotipi HLA di classe II. Variazioni alleliche di DRB1 determinano un più alto rischio, con eterogeneità allelica secondo la popolazione in esame.

Le Spondiloartropatie, tra cui la Spondilite Anchilosante, sono malattie reumatologiche croniche con interessamento assiale. L' associazione con l' HLA-B27 è molto noto, mentre ancora sconosciute sono le basi molecolari che la determinano. In circa il 60-90% di casi di Spondiloartropatie ad esordio giovanile è presente l' HLA-B27, l' allele più frequentemente identificato è il B27*05.

Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali

Le Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali comprendono:

Malattia di Crohn, Rettocolite Ulcerosa e Colite Indeterminata. Rappresentano disordini cronici di natura multifattoriale, in cui fattori ambientali e fattori genetici contribuiscono all'insorgenza della malattia, determinando una disregolazione immunitaria in senso pro-infiammatorio del tratto gastrointestinale. Studi di associazione hanno permesso di identificare l'associazione tra Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali e HLA, con una stretta correlazione genotipo/fenotipo.

La Rettocolite Ulcerosa presenta un grado di suscettibilità genetica maggiore della Malattia di Crohn (60-100% vs 10%). Sono stati identificati in particolare 2 alleli HLA di classe II: DRB1*1502 e DRB1*0103, entrambi a bassa prevalenza nella popolazione europea.

Per la Malattia di Crohn sono stati identificati invece 4 loci di suscettibilità alla malattia e che correlano con la localizzazione di malattia: DRB1*07 con malattia ileale, DRB1*0103 con malattia colica, DRB1*04 e DRB3*0301 con malattia ileo-colica.

Numerosi studi sono tuttavia ancora necessari prima che l'HLA possa essere considerato un marcatore diagnostico e prognostico applicabile nella pratica clinica. La tipizzazione HLA è indicata inoltre nel caso di:

- 1. Abortività Ripetuta:** una fine interpretazione immunologica del fenomeno abortivo è necessaria per valutare il grado di condivisione degli aplotipi HLA nelle coppie di partners a rischio;
- 2. Sterilità ed Infertilità di coppia** che non siano riconducibili ad alcuna causa, per determinare eventuale incompatibilità genetica tra partners o tra madre e prodotto del concepimento.

Mutazioni

Una mutazione è un qualsiasi cambiamento identificabile ed ereditabile nel materiale genetico che non sia dovuto a fenomeni di crossing-over. Una mutazione può essere **somatica** se la cellula mutata da origine solo a cellule somatiche creando una zona od un settore mutato; oppure, può essere **della linea germinale** ed in tal caso l'individuo è mutato sia nelle sue cellule somatiche sia nelle cellule della linea germinale, e negli organismi che si riproducono per via sessuale, la mutazione viene trasmessa alla progenie.

Tipi di mutazioni

Le mutazioni vengono classificate in molti modi, per la "**quantità**" di materiale genetico colpito:

□□□ *Mutazione cromosomica*

□□□ *Mutazione genomica*

□□□ *Mutazione genica o puntiforme*: è una mutazione che altera un singolo o pochi nucleotidi.

Le mutazioni possono poi essere:

□□□ **Mutazioni indotte** si verificano in seguito a un cambiamento permanente del DNA provocato da un fattore esterno alla cellula, detto *agente mutageno*. Le mutazioni indotte da agenti mutageni presentano vari meccanismi di alterazione del DNA; per esempio, alcune sostanze chimiche sono in grado di modificare le basi nucleotidiche, convertendo una base in un'altra. Altre sostanze, come quelle contenute nel fumo di sigaretta, danneggiano le basi, che vengono così eliminate e sostituite dalla DNA polimerasi con una base a caso. Le radiazioni (come i raggi X o i raggi UV) possono danneggiare il DNA, alterando la struttura delle basi o addirittura causando la rottura della molecola.

□□□ **Mutazioni spontanee** sono cambiamenti permanenti del materiale genetico che si verificano senza l'intervento di una causa esterna. In altre parole, sono una conseguenza dell'imperfezione dei dispositivi cellulari (es: errori nella replicazione del DNA). I meccanismi che producono una mutazione spontanea sono svariati:

Le quattro basi nucleotidiche del DNA sono parzialmente instabili.

Per ogni base possono esistere due forme diverse, una frequente e una rara. Una base che abbia temporaneamente assunto la sua forma rara può appaiarsi alla base sbagliata. Per esempio, normalmente C si appaia con G ma, se al momento della duplicazione del DNA si trova nella forma rara, si accoppia con A (e la *DNA polimerasi* inserirà la base A). Il risultato è una mutazione puntiforme da G ad A.

Le basi possono cambiare in seguito a una reazione chimica.

Per esempio, la perdita di un *gruppo amminico* (una reazione chiamata *deamminazione*) trasforma la citosina in uracile. Alla duplicazione del DNA, di fronte a quella che era una C, la DNA polimerasi inserirà una A (per complementarietà con U), anziché una G.

La DNA polimerasi può compiere errori di duplicazione.

Per esempio, può inserire una T di fronte a una G; generalmente questi errori vengono riparati dal complesso di duplicazione in fase di correzione di bozze, ma alcuni sfuggono a questa funzione e diventano permanenti.

Il meccanismo della meiosi non è perfetto.

Si può verificare una non-disgiunzione (la mancata separazione degli omologhi durante la meiosi), che porta all'aneuploidia (uno o più cromosomi in più o in meno). Eventi casuali di rottura e successiva ricongiunzione dei cromosomi producono delezioni, duplicazioni e inversioni o traslocazioni.

Le mutazioni cromosomiche

Le mutazioni cromosomiche possono essere classificate in due gruppi principali: **numeriche** (poliploidia e aneuploidia): cambiamenti nel numero di interi assetti cromosomici oppure modificazioni nel numero di singoli cromosomi; **strutturali** (aberrazioni cromosomiche): modificazioni nella sequenza del DNA lungo l'asse del cromosoma in seguito ad eventi di rottura del cromosoma stesso. Quando questi eventi di rottura sono seguiti da riunioni e quindi una riorganizzazione strutturale del cromosoma, si parla di riarrangiamenti strutturali, altrimenti si definiscono delezioni

Le mutazioni cromosomiche NUMERICHE

Si distinguono in:

1. *Poliploidia*: cambiamento di interi assetti cromosomici cioè il numero dei cromosomi di un organismo è un multiplo del numero aploide di quella specie.
2. *Aneuploidia*: modificazione del numero di singoli cromosomi che determinano un ineguale numero a carico della coppia cromosomica

Le anomalie che interessano gli autosomi sono spesso letali (aborti precoci o morte perinatale) oppure si accompagnano a fenotipi anormali facilmente rilevabili. Le anomalie che interessano i

cromosomi sessuali sono compatibili con la vita ma si associano a gravi problemi di fertilità o in taluni casi a sterilità.

Le mutazioni cromosomiche numeriche dei cromosomi sessuali

1. *la sindrome di Turner* o monosomia X (X0): soggetti con genitali esterni femminili ma con gonadi assenti o atrofiche;
2. *la sindrome di Klinefelter* (XXY): soggetti fenotipicamente maschili ma con atrofia testicolare e ginecomastia;
3. *la sindrome del triplo X* (XXX): soggetti fenotipicamente femminili a volte normali ma sterili, in altri casi presentano mancato sviluppo somatico.

Le principali trisomie autosomiche che non determinano la morte dell'individuo prima della nascita sono:

- **la trisomia 21 o sindrome di Down**, con sintomi di gravità variabile. Il fattore che maggiormente influenza l'incidenza della sindrome di Down è l'età materna. Come si nota dal grafico a destra, quando una donna supera i circa 35 anni di età la probabilità di concepire un figlio affetto da tale condizione aumenta considerevolmente. Tuttavia non si deve ritenere che i bambini che presentano la sindrome abbiano per la maggior parte madri anziane; infatti solo circa 1 su cinque ha una madre di età superiore ai 35 anni, questo perché la maggior parte delle donne concepisce la propria prole in età inferiore. La trisomia 21 (conosciuta anche come cariotipo 47, XX,+21 per le femmine e 47,XY,+21 per i maschi), responsabile per circa il 95% dei casi di sindrome di Down, è causata da un evento meiotico non-disgiunzionale che si verifica in un gamete (uno spermatozoo o una cellula uovo) nel corso della meiosi, quando non si ha la separazione dei cromosomi omologhi in anafase I, o se non si verifica nel corso della meiosi II la separazione dei cromatidi fratelli. Come conseguenza, il gamete presenterà una copia extra del cromosoma 21, con un totale di 24 cromosomi. Se combinato con una cellula normale dall'altro genitore, l'embrione avrà quindi 47 cromosomi, con tre copie del cromosoma 21. Circa l'88% dei casi di trisomia 21 sono il risultato dalla non-disgiunzione nel gamete materno e l'8% da quello del gamete paterno, mentre nel 3% essa si verifica dopo che l'ovulo è stato fecondato dallo spermatozoo.

La sindrome di Down può essere dovuta anche a una traslocazione robertsoniana nel cariotipo di uno dei genitori. In questo caso, il braccio lungo del cromosoma 21 si fonde a un altro cromosoma acrocentrico (cioè caratterizzato da un centromero posto all'estremità),

spesso il cromosoma 14 [45,XX o XY,t(14;21)(q10;q10)]. Una persona con una traslocazione è fenotipicamente normale. Durante la riproduzione, si ha un'alta probabilità di creare un gamete con un cromosoma 21 soprannumerario e quindi la nascita di un bambino con sindrome di Down. La condizione dovuta alla traslocazione è spesso definita come sindrome di Down familiare, è indipendente dall'età della madre ed è la causa del circa 4% dei casi osservati

- **la trisomia 13 o sindrome di Patau** e con un'incidenza di 1/5000. Il fenotipo clinico associato è caratterizzato da grave ritardo mentale, testa piccola e malformata, piede a piccozza e labbro leporino. L'aspettativa di vita è di circa 130 giorni dalla nascita. Le anomalie fenotipiche sono numerose: labioschisi e palatoschisi, polidattilia (dita delle mani e dei piedi in soprannumero), occhi piccoli, ritardo psicomotorio, cardiopatia, encefalopatia, anoftalmia, criptoftalmia o ciclopia. La maggior parte degli individui muore entro i primi tre mesi di vita
- **la trisomia 18 o sindrome di Edwards**, con pochissime possibilità di sopravvivenza e anomalie gravissime. La sindrome si manifesta con malformazioni congenite multiple in quasi tutti gli organi, ciclopia, malformazioni renali, difetti cardiaci strutturali (cioè, difetto del setto ventricolare, difetto interatriale, pervietà del dotto di Botallo), intestino sporgente al di fuori del corpo (onfalocele), atresia esofagea, ritardo mentale, ritardo nello sviluppo, deficit di crescita, difficoltà di alimentazione, difficoltà di respirazione, e artrogriposi (una patologia muscolare che provoca contratture articolari multiple). Alcune malformazioni fisiche associate alla sindrome di Edwards includono testa piccola (microcefalia), orecchie malformate; mandibola anormalmente piccola (micrognazia), palatoschisi, naso all'insù; stretto pieghe delle palpebre, occhi ampiamente distanziati (ipertelorismo oculare), abbassamento delle palpebre superiori (ptosi), sterno corto, mani serrate, cisti dei plessi corioidei, pugno chiuso con indice sovrapposto al medio (a uncino), piede equino e nei maschi ritenzione dei testicoli.

Il meccanismo che più comunemente causa una trisomia è la non disgiunzione dei cromosomi durante la divisione cellulare che porta alla formazione di ovociti e spermatozoi: anziché separarsi l'uno dall'altro nelle 2 cellule figlie, i 2 cromosomi di una coppia vanno entrambi nella stessa cellula figlia. La causa della non disgiunzione non è ancora nota, anche se è stato dimostrato che all'aumentare dell'età materna tale evento si verifica più frequentemente.

Patologia	Anomalia cromosomica	Frequenza alla nascita
Sindrome di Down	47,XX(oppure XY),+ 21	1 :700
Sindrome di Edwards	47,XX(oppure XY),+ 18	1: 6.000- 8.000
Sindrome di Patau	47,XX(oppure XY),+ 13	1: 10.000
Sindrome di Turner	45,X	1: 5.000 femmine
Sindrome di Klinefelter	47,XXY	1: 1.000 maschi

Le mutazioni cromosomiche STRUTTURALI

Le mutazioni cromosomiche strutturali possono essere:

- **Delezioni** che consistono nella perdita di un frammento di cromosoma le cui dimensioni possono essere molto diverse. Le delezioni si possono evidenziare in un cariotipo attraverso l'assenza di una o più bande cromosomiche, o addirittura di un intero braccio. L'effetto di una delezione dipende dalla grandezza della porzione mancante e dal tipo di informazione genetica in essa contenuta.
- **Microdelezioni**, rispetto alle delezioni, consistono nella perdita di frammenti cromosomici più piccoli e non sono evidenziabili attraverso un normale cariotipo.
- **Duplicazioni e microduplicazioni** consistono nella presenza in due copie di uno stesso frammento di cromosoma.
- **Inversioni** che consistono nel distacco di un frammento che successivamente si riposiziona sul cromosoma, dopo una rotazione di 180°.
- **Traslocazioni** che consistono nel trasferimento di materiale tra due o più cromosomi diversi. Le traslocazioni bilanciate sono il caso più fortunato: consistono infatti nello "scambio alla pari" di frammenti fra cromosomi diversi. Questo tipo di traslocazione non comporta la perdita di materiale genetico e perciò i portatori di una traslocazione bilanciata non manifestano in genere alcun segno clinico. Nel caso di una traslocazione non bilanciata, uno o più cromosomi in seguito alla traslocazione hanno subito la perdita di materiale genetico, mentre altri ne hanno in sovrappiù. Chi è portatore di una traslocazione non bilanciata, pur non manifestando alcun sintomo, rischia di avere figli portatori di traslocazioni patologiche (non bilanciate).

Come si evidenzia un'anomalia cromosomica?

L'assetto cromosomico di un individuo, cioè il numero di cromosomi, il tipo di cromosomi sessuali ed eventuali anomalie (numeriche o strutturali) è anche definito cariotipo.

Il cariotipo normale di un individuo è formato da 46 cromosomi, tra cui:

- 2 cromosomi sessuali: il cromosoma X e il cromosoma Y.
- 44 cromosomi “non sessuali” (autosomi) uguali due a due.

Per esaminare il cariotipo di un individuo adulto si utilizzano generalmente i globuli anchi ottenuti da un semplice prelievo di sangue. In seguito ad opportune procedure e colorazioni, è possibile rendere visibili al microscopio i cromosomi presenti nel nucleo di queste cellule.

Si possono studiare i cromosomi anche da cellule del midollo osseo, della placenta, del liquido amniotico e da alcuni tessuti in cui sono presenti cellule in fase di crescita. Il cariotipo di un feto, ad esempio, può essere analizzato da cellule fetali presenti nel liquido amniotico, nei villi coriali o nel sangue fetale. Il settore della genetica che si occupa dello studio dei cromosomi è detto citogenetica e quindi l'analisi cromosomica è spesso indicata come analisi citogenetica.

Come si distinguono i cromosomi?

E' possibile distinguere i cromosomi in base alla loro dimensione ed alla loro forma. I cromosomi sono numerati progressivamente in base alle loro dimensioni: il cromosoma 1 è il più grande di tutti mentre il cromosoma 22 è il più piccolo. In ogni cromosoma si distinguono un braccio corto, indicato come “p”, un braccio lungo, indicato come “q” ed una costrizione centrale detta “centromero”.

Le mutazioni possono essere classificate in:

□□□ *Mutazione per sostituzione di una coppia di basi*: è una mutazione puntiforme dove una coppia di basi viene rimpiazzata da un'altra.

□□□ *Mutazione per transizione*: quando si passa da una coppia di basi purina-pirimidina, ad un'altra coppia purina-pirimidina.

□□□ *Mutazione per transversione*: si ha quando si passa da una coppia purina-pirimidina ad una coppia pirimidina-purina.

□□□ *Mutazione missenso*: è una mutazione che provoca l'inserimento nel peptide di un aminoacido diverso da quello codificato dall'allele selvatico.

□□□ *Mutazione nonsense*: è una mutazione che determina la formazione di uno dei tre codoni nonsense (TAG, TGA, TAA), dato che questi tre codoni determinano il distacco dell'mRNA polimerasi dal DNA, si crea un peptide incompleto e non funzionale.

□□□ *Mutazione neutra*: questo tipo di mutazioni porta alla sostituzione dell'aminoacido previsto dal codone "selvatico", con un altro aminoacido con caratteristiche chimiche tanto simili a quelle del primo aminoacido, da non provocare malfunzionamenti nella proteina.

□□□ *Mutazione silente*: è un caso particolare di mutazione neutra; dato che per tutti gli aminoacidi vi è più di un codone che codifica per lo stesso (per la degenerazione del codice), una mutazione che trasformi un codone che codifica per un aminoacido in un altro codone che codifica per lo stesso, evidentemente non porterà ad alcun malfunzionamento della proteina.

□□□ *Mutazione frameshift (scivolamento di fase)*: è il risultato di una inserzione o di una delezione di una coppia di basi in un gene che provoca l'aggiunta di aminoacidi non corretti dal punto della mutazione in poi.