

GENETICA DELLE CONNETTIVOPATIE

**COLLAGENOPATIE
ACONDROPLASIE
SINDROME DI MARFAN
SINDROME DI ALPORT**

Parenchima e tessuti connettivi

Un organismo è composto da due tipi principali di componenti:

parenchima e tessuti connettivi.

Il parenchima consiste generalmente di tessuti con cellule adiacenti una all'altra, questo è il caso degli epitelii che formano delle superfici come l'epidermide o le cellule che rivestono il tratto gastro-intestinale. Gli epitelii formano pure ghiandole endocrine ed esocrine, gli endoteli rivestono invece capillari ed altri vasi sanguigni oltre che il sistema nervoso. I muscoli (striati, lisci e cardiaci) fanno pure parte del parenchima.

I tessuti connettivi sono composti da cellule distribuite tra fibre di vario tipo: essi includono ossa, cartilagini nonché cellule mieloidi e linfoidi.

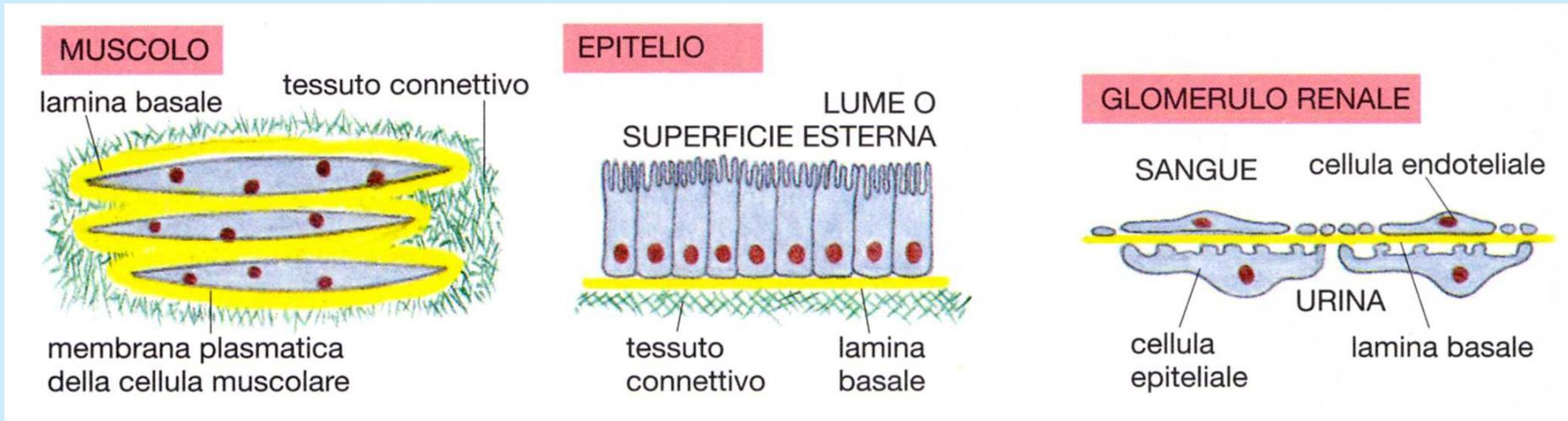
La matrice extracellulare

I tessuti biologici non sono costituiti solo da cellule. Una parte importante del volume del tessuto è costituito da uno spazio extracellulare riempito da un “network” intricato di macromolecole che costituiscono la “matrice extracellulare”.

La matrice comprende polisaccaridi e proteine ben organizzate secrete localmente ed assemblate in un “network”.

Il tessuto connettivo è particolarmente ricco di matrice extracellulare.

Matrice e lamina basale



Le lamine basali stanno sotto gli epitelii e sono interposte fra due fogli di cellule come nel glomerulo del rene. Si noti che nel glomerulo entrambi i fogli hanno interruzioni, così che la lamina basale serve da barriera di permeabilità che determina quali molecole passeranno dal sangue all'urina.

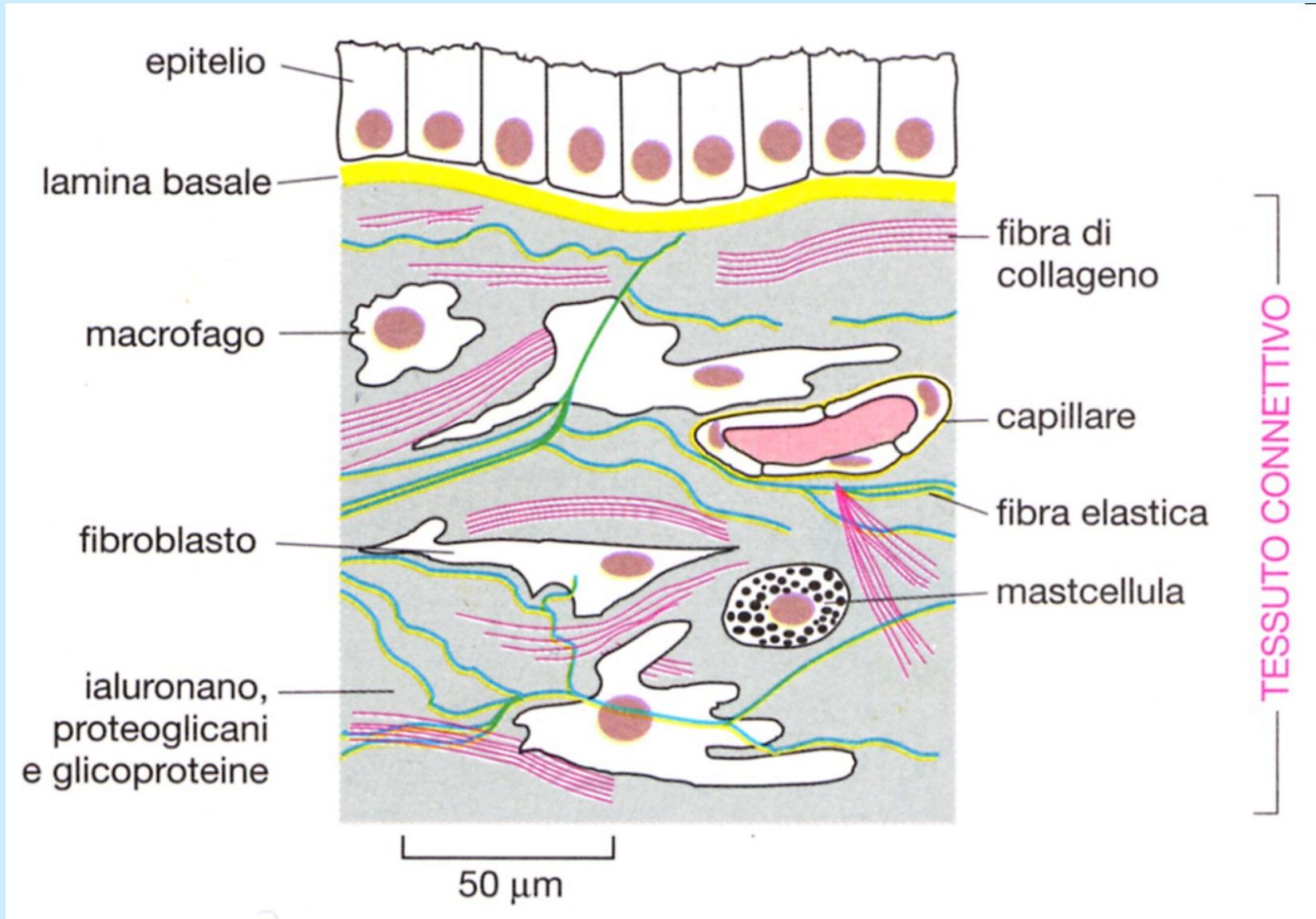
Macromolecole e “matrice extracellulare”

Le macromolecole della matrice sono secrete dalle cellule presenti nella matrice.

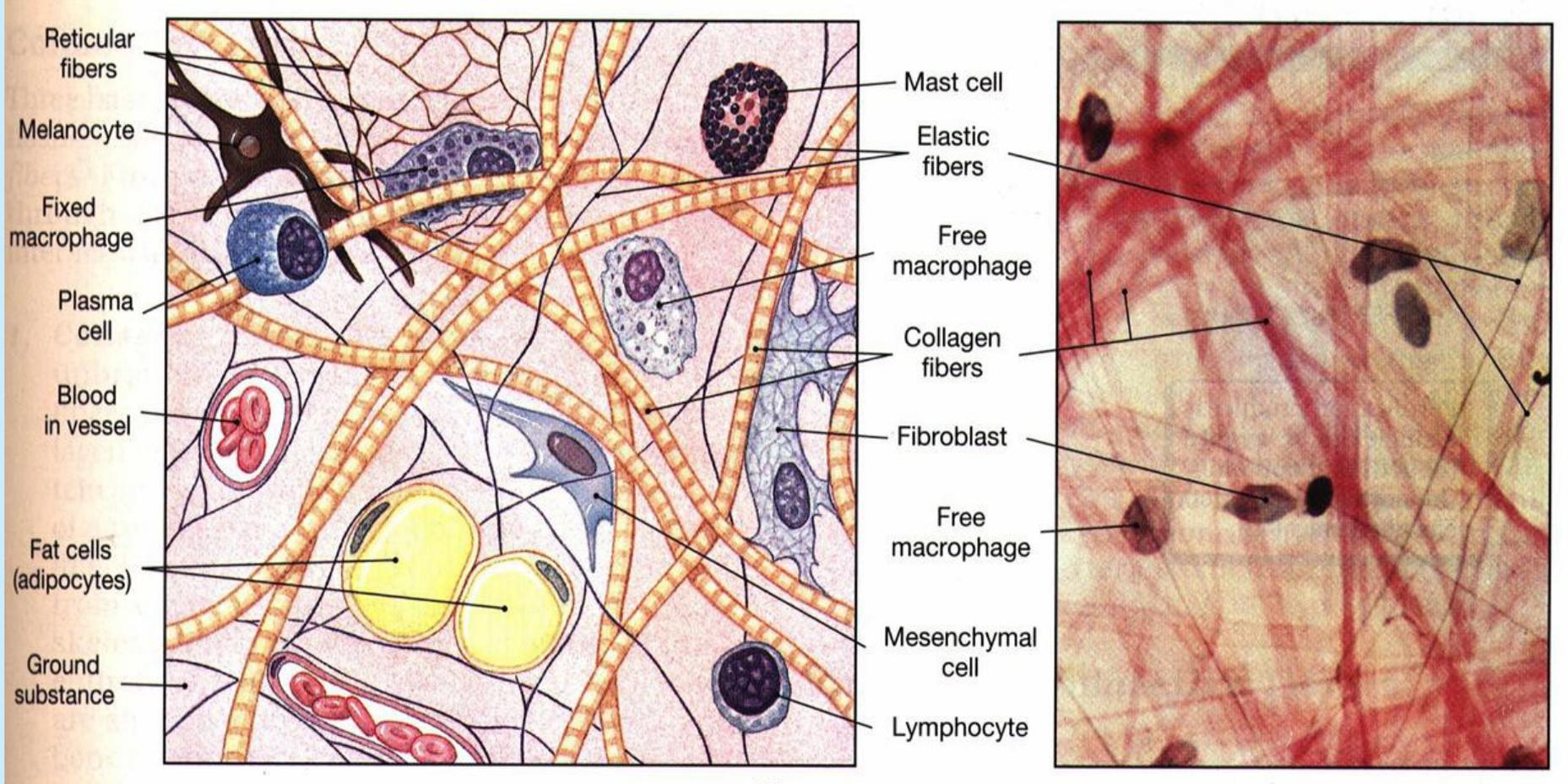
Nella maggioranza dei tessuti connettivi le macromolecole sono secrete dai fibroblasti.

In alcuni tessuti connettivi come cartilagini ed ossa le macromolecole sono secrete da cellule che appartengono alla famiglia dei fibroblasti come ad esempio i **condroblasti** delle cartilagini o gli **osteoblasti** delle ossa.

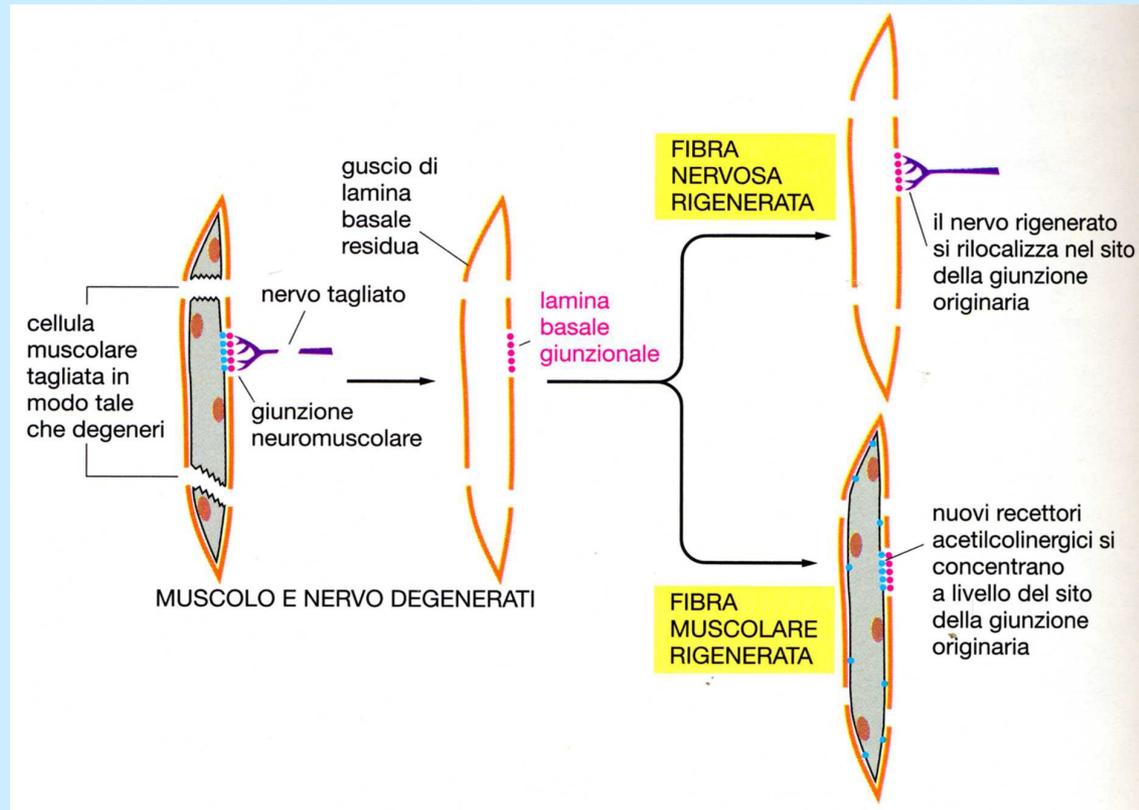
Schema di tessuto cutaneo



TESSUTO CONNETTIVO

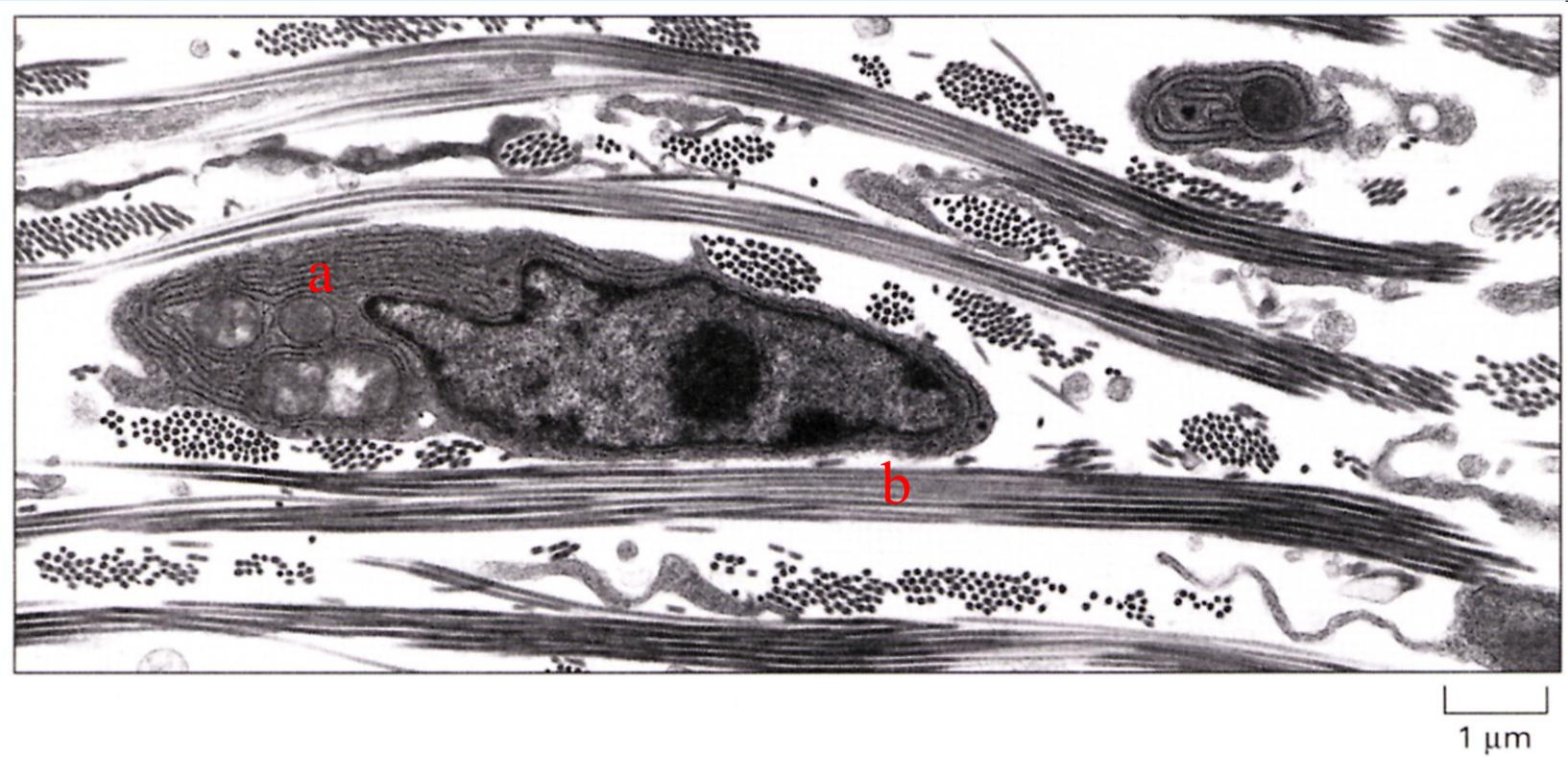


Lamina e rigenerazione



Quando il nervo viene lasciato rigenerare dopo che sia nervo che muscolo sono stati danneggiati, la lamina basale giunzionale dirige il nervo rigenerante verso il sito sinaptico originale. Quando il muscolo viene lasciato rigenerare, la lamina basale giunzionale provoca l'accumulo di recettori dell'acetilcolina appena formati (blu) al sito originale della sinapsi. Il muscolo rigenera da cellule satelliti poste fra la lamina basale e le cellule muscolari originali.

Fibroblasti e collagene



Sezione di derma al microscopio elettronico in cui sono presenti:

a) Fibroblasto

b) Fibre di collagene

I collageni

- Circa un quarto di tutte le proteine nel nostro corpo è collagene.
- Il collagene forma cavi molecolari che rinforzano i tendini e tutte le strutture (lamine basali) che sostengono la pelle e gli organi interni.
- Le ossa, i denti sono principalmente costituiti da sali minerali (fosfato di calcio) e collagene.
- Il collagene dà una struttura al nostro corpo, proteggendo e sostenendo i tessuti più molli e connettendoli con lo scheletro.
- La resistenza di una fibra di collagene alla trazione è stupefacente: sono necessari 10 Kg per rompere una fibra di 1 mm di diametro.

FAMIGLIA dei COLLAGENI

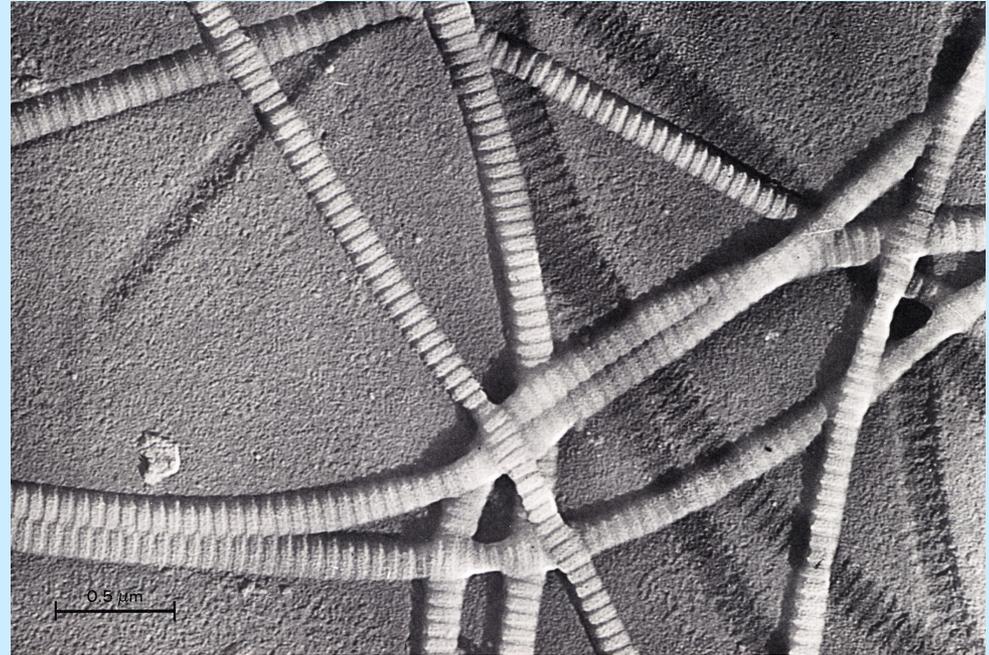
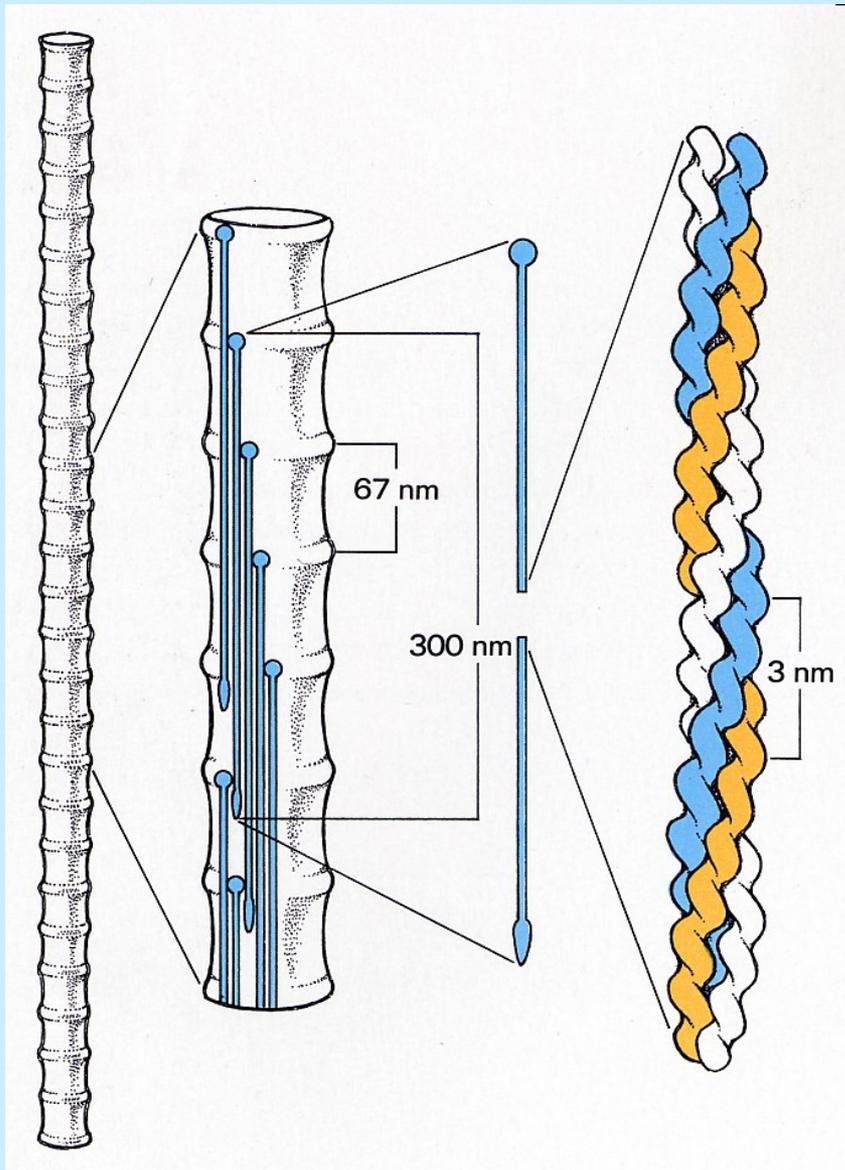
Sono le proteine del connettivo
piu' abbondanti del nostro corpo
(~ 20 tipi diversi).

Struttura tipica: dominio a tripla elica:

“non interrotta” (collageni fibrillari)

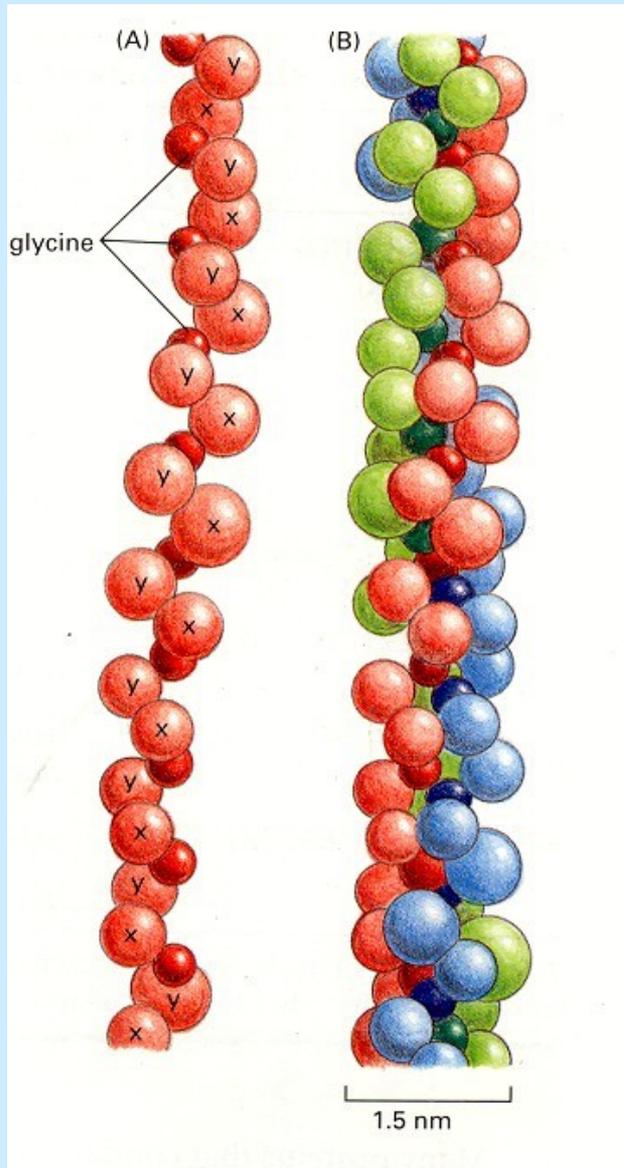
“interrotta” (collageni non fibrillari)

Struttura dei collageni



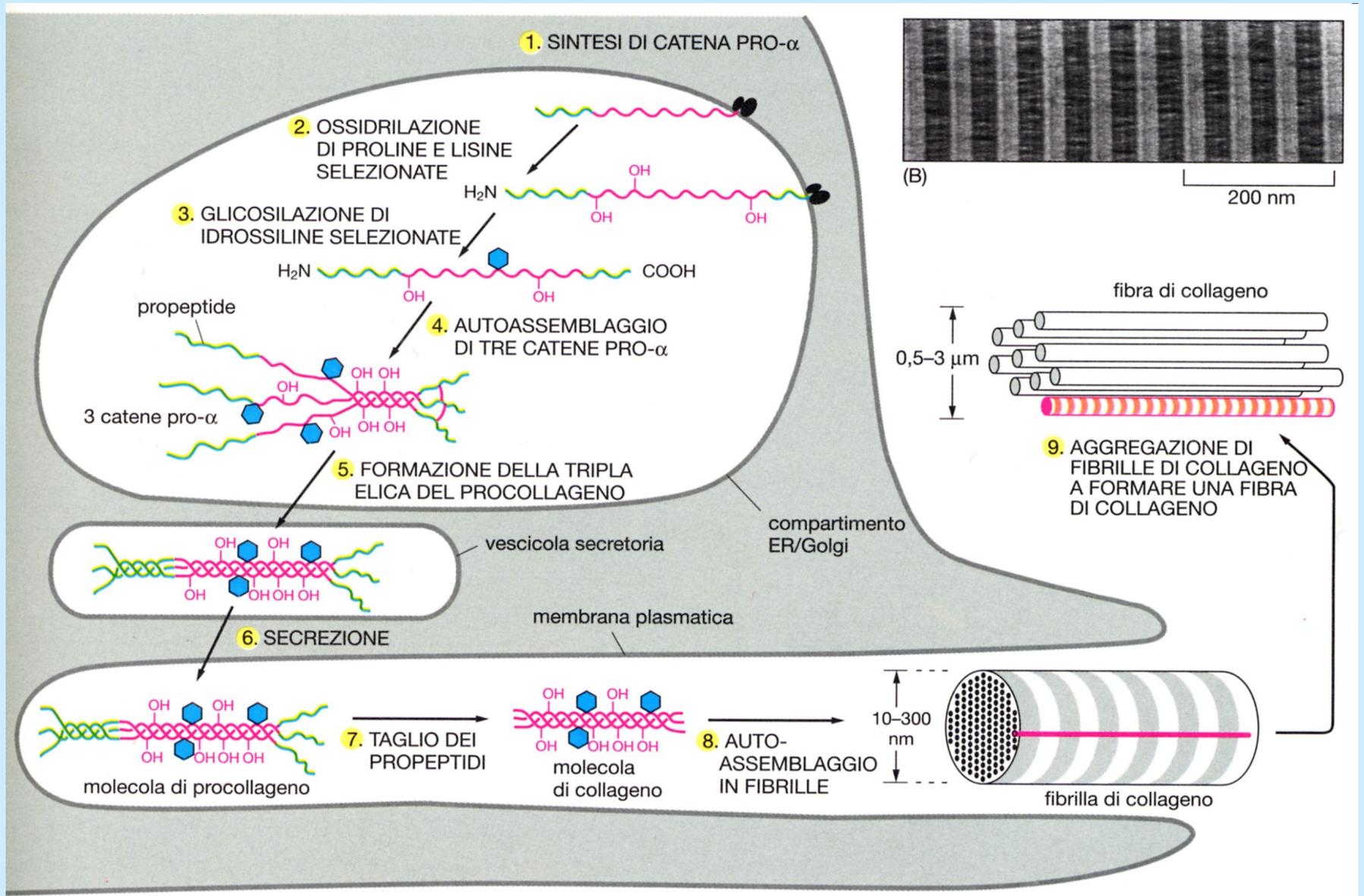
I collageni fibrillari sono caratterizzati dall'associazione di tre filamenti destrorsi. La loro struttura molecolare deriva dalla presenza dell'aminoacido glicina ripetuto ogni tre aminoacidi e per la presenza abbondante di proline. Ogni filamento consta di circa 1400 a.a.

Motivo a tripla elica

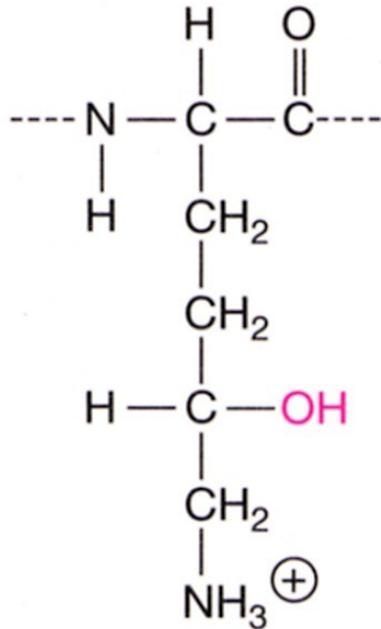


13
- Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Ser-Gly-Pro-Arg-
22
- Gly-Leu-Hyp-Gly-Pro-Hyp-Gly-Ala-Hyp-
31
- Gly-Pro-Gln-Gly-Phe-Gln-Gly-Pro-Hyp-
40
- Gly-Glu-Hyp-Gly-Glu-Hyp-Gly-Ala-Ser-
49
- Gly-Pro-Met-Gly-Pro-Arg-Gly-Pro-Hyp-
58
- Gly-Pro-Hyp-Gly-Lys-Asn-Gly-Asp-Asp-

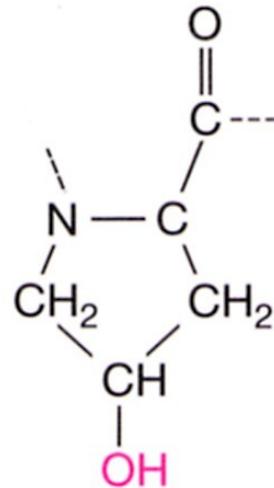
Biosintesi del collagene



Idrossiprolina e idrossilisina



idrossilisina
in una proteina

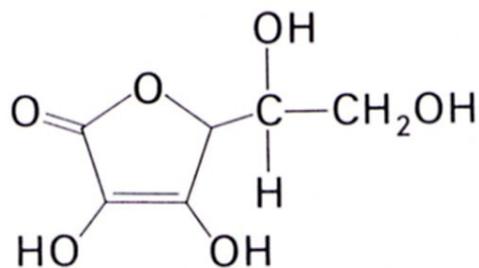


idrossiprolina
in una proteina

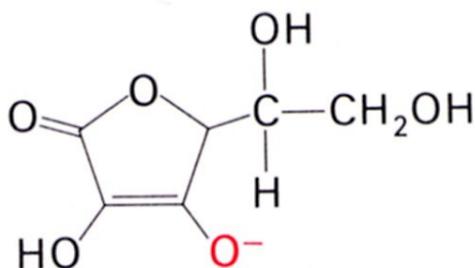
Idrossiprolina ed idrossilisina vengono prodotte per azione su prolina e lisina di una idrossilasi che richiede Fe^{2+} .

L'acido ascorbico garantisce lo stato di ossidazione II del Fe delle idrossilasi.

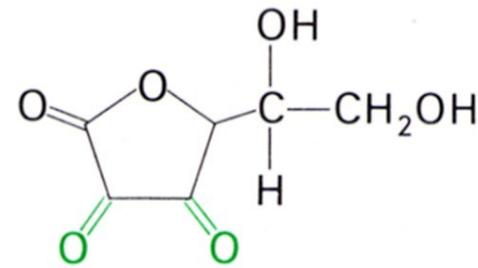
Jacques Cartier, diari, “1536”



Ascorbic acid



Ascorbate

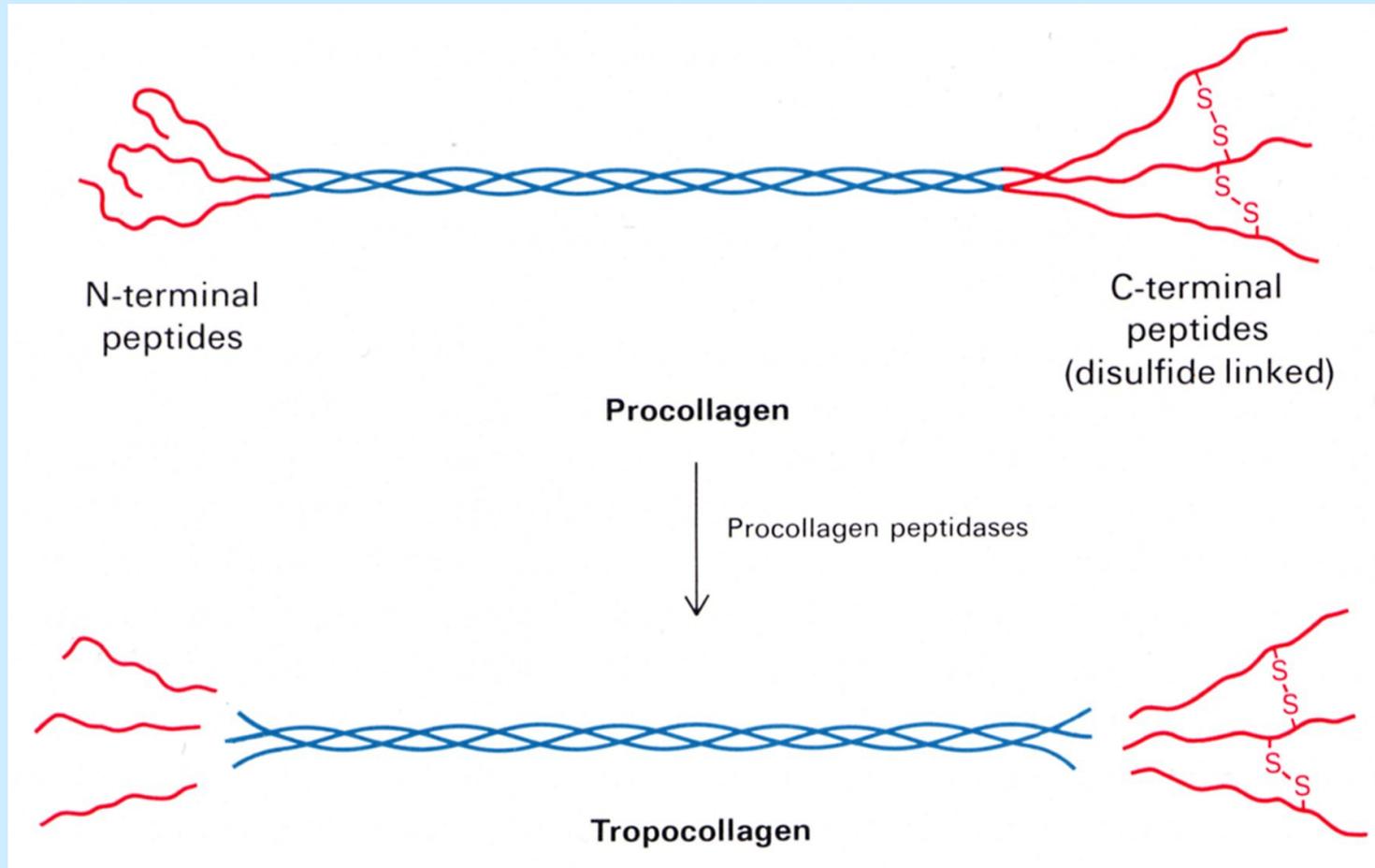


Dehydroascorbic acid

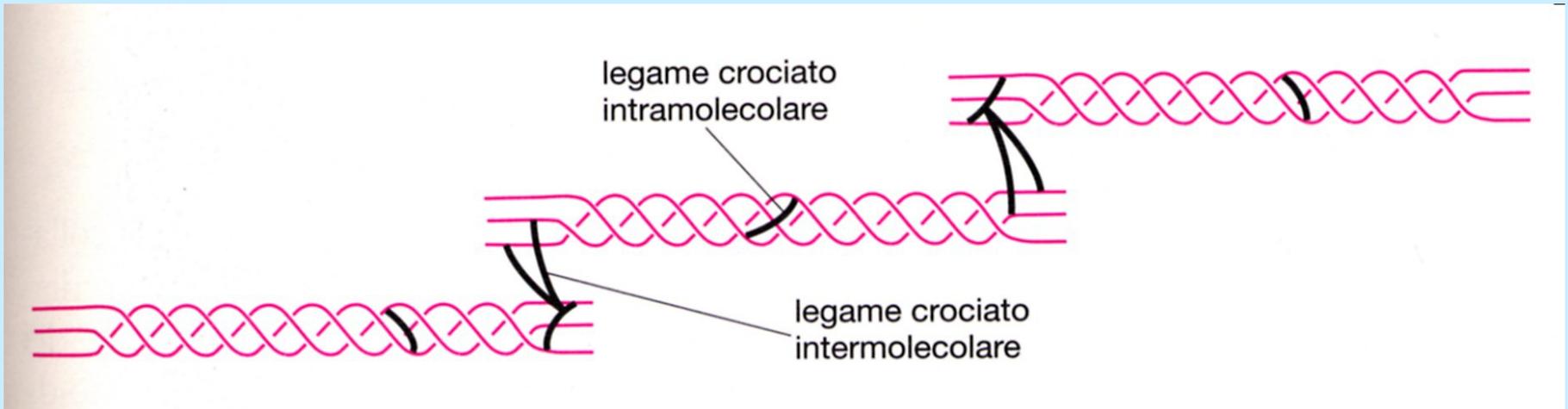
Lo scorbuto: carenza di vitamina C

Some did lose all their strength, and could not stand on their feet. . . . Others also had all their skins spotted with spots of blood of a purple colour: then did it ascend up to their ankles, knees, thighs, shoulders, arms, and necks. Their mouths became stinking, their gums so rotten, that all the flesh did fall off, even to the roots of the teeth, which did also almost all fall out.

Rimozione dei telopeptidi

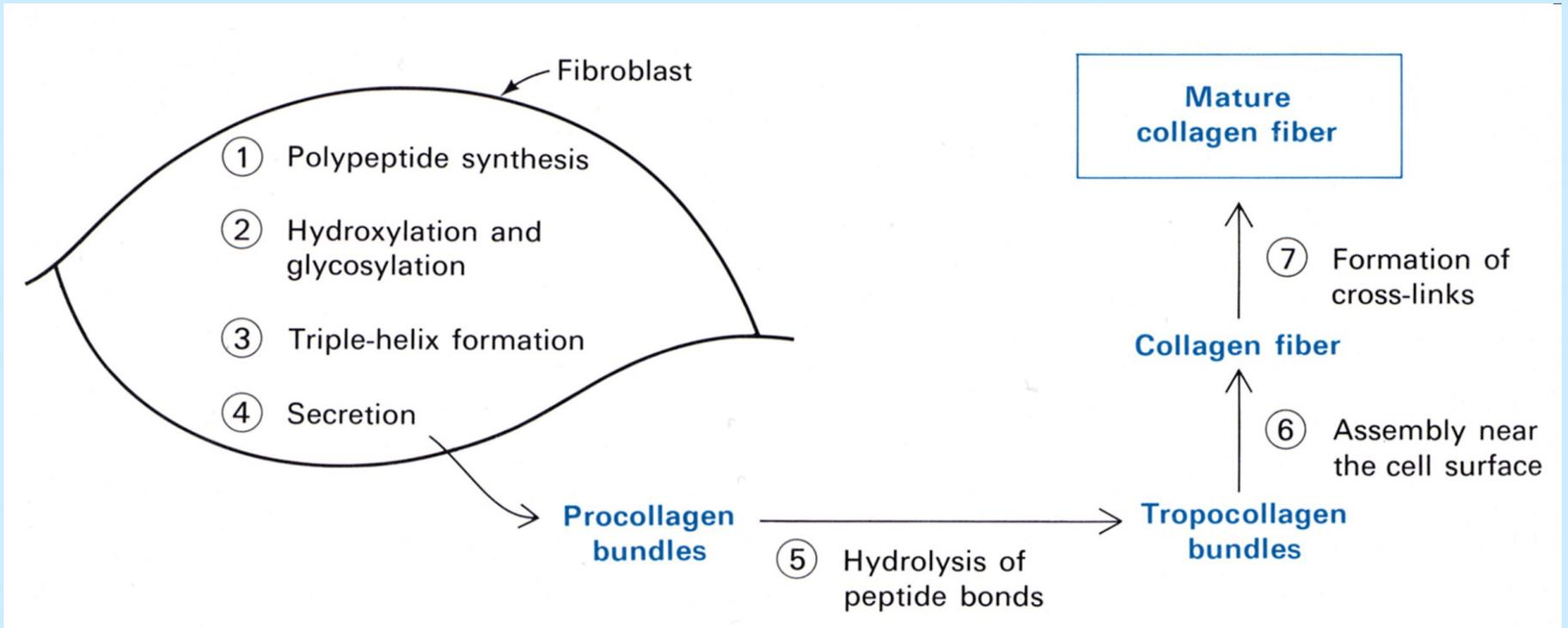


Crosslinks tra molecole di collagene

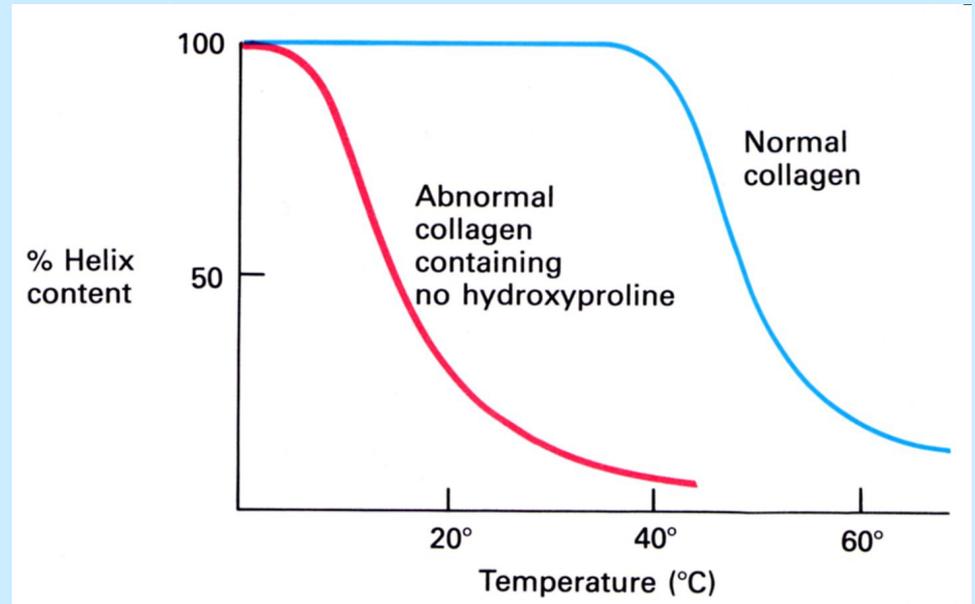
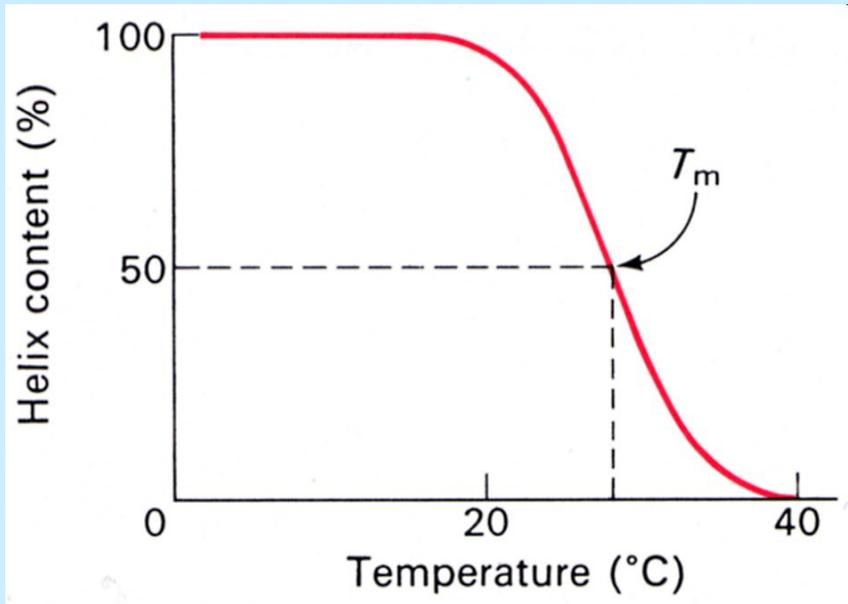


Le molecole di collagene (a triplo filamento), per associarsi in fibrille devono instaurare attraverso i residui di idrossiprolina e idrossilisina legami sia intramolecolari che intermolecolari.

Schema di maturazione



Denaturazione dei collagени



Come per il DNA, esiste una temperatura per cui il triplo filamento di collageno denatura (T_m).
La carenza di idrossiprolina abbassa la temperatura di solubilizzazione (denaturazione).

Stabilità dei collageni

<i>Source</i>	<i>Proline plus hydroxyproline (per 1000 residues)</i>	<i>Thermal stability (°C)</i>		<i>Body temperature (°C)</i>
		T_s	T_m	
Calf skin	232	65	39	37
Shark skin	191	53	29	24–28
Cod skin	155	40	16	10–14

La stabilità dei collageni deriva dal contenuto di idrossiprolina nelle fibre.

Tipi di collageni

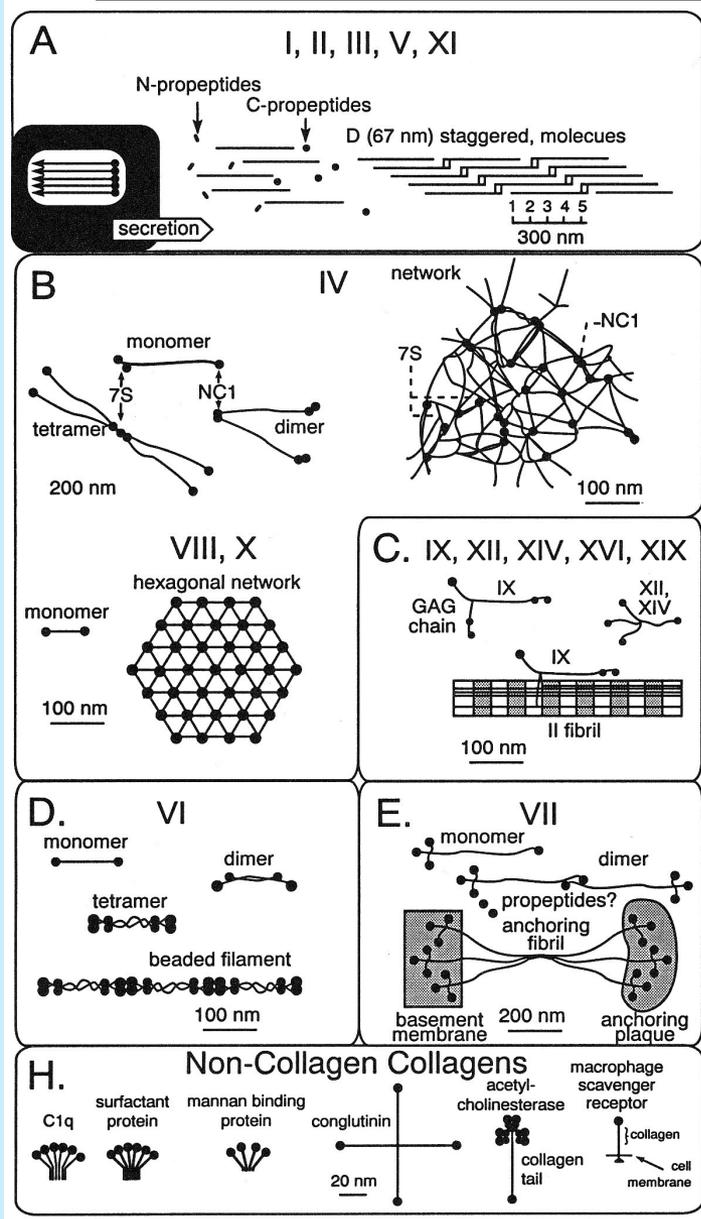


Table 1 Collagen types and the location of their genes on human chromosomes^a

Type	Gene	Chromosome	Expression
I	COL1A1	17q21.3-q22	Most connective tissues
	COL1A2	7q21.3-q22	
II	COL2A1	12q13-q14	Cartilage, vitreous humor
III	COL3A1	2q24.3-q31	Extensible connective tissues, e.g. skin, lung, vascular system
IV	COL4A1	13q34	Basement membranes
	COL4A2	13q34	
	COL4A3	2q35-q37	
	COL4A4	2q35-q37	
	COL4A5	Xq22	
	COL4A6	Xq22	
V	COL5A1	9q34.2-q34.3	Tissues containing collagen I, quantitatively minor component
	COL5A2	2q24.3-q31	
	COL5A3		
VI	COL6A1	21q22.3	Most connective tissues
	COL6A2	21q22.3	
	COL6A3	2q37	
VII	COL7A1	3p21	Anchoring fibrils
VIII	COL8A1	3q12-q13.1	Many tissues, especially endothelium
	COL8A2	1p32.3-p34.3	
IX	COL9A1	6q12-q14	Tissues containing collagen II
	COL9A2	1p32	
	COL9A3		
X	COL10A1	6q21-q22	Hypertrophic cartilage
XI	COL11A1	1p21	Tissues containing collagen II
	COL11A2	6p21.2	
	COL2A1 ^b	12q13-q14	
XII	COL12A1	6	Tissues containing collagen I
XIII	COL13A1	10q22	Many tissues
XIV	COL14A1		Tissues containing collagen I
XV	COL15A1	9q21-22	Many tissues
XVI	COL16A1	1p34-35	Many tissues
XVII	COL17A1	10q24.3	Skin hemidesmosomes
XVIII	COL18A1	21q22.3	Many tissues, especially liver and kidney
XIX	COL19A1	6q12-q14	Rhabdomyosarcoma cells

^aFor chromosome locations see References 21, 44, 75, 102, 214.

^bThe $\alpha 3(XI)$ chain of type XI collagen is encoded by the same gene as the $\alpha 1(II)$ chain of type II.

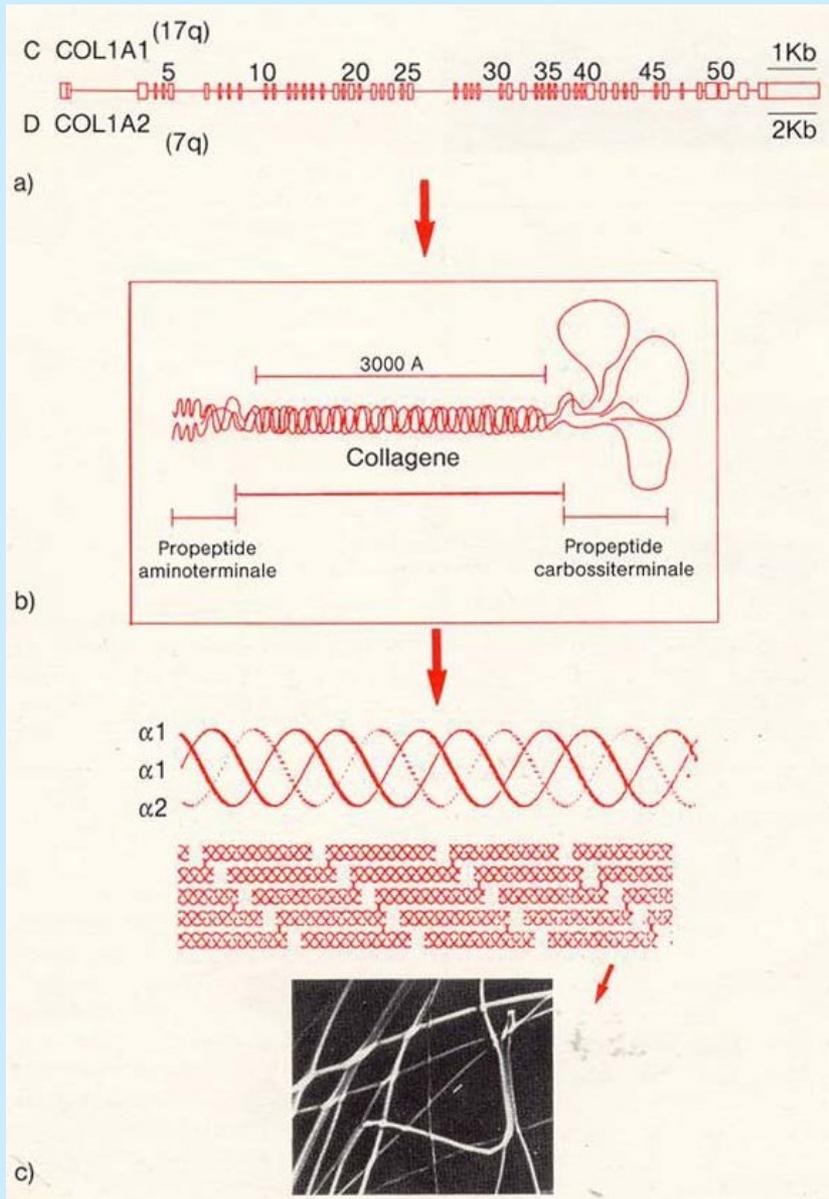
Collageni e proprietà

Tabella 19.5 Alcuni tipi di collagene e le loro proprietà

	Tipo	Formula molecolare	Forma polimerizzata	Distribuzione tissutale
Che formano fibrille (fibrillari)	I	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	fibrilla	osso, pelle, tendini, legamenti, cornea, organi interni (costituisce il 90% del collagene del corpo)
	II	$[\alpha 1(II)]_3$	fibrilla	cartilagine, dischi intervertebrali, notocorda, umor vitreo dell'occhio
	III	$[\alpha 1(III)]_3$	fibrilla	pelle, vasi sanguigni, organi interni
	V	$[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$ e $\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$	fibrilla (con tipo I)	come per il tipo I
	XI	$\alpha 1(XI)\alpha 2(IX)\alpha 3(XI)$	fibrilla (con tipo II)	come per il tipo II
Associati a fibrille	IX	$\alpha 1(IX)\alpha 2(IX)\alpha 3(IX)$	associazione laterale con fibrille di tipo II	cartilagine
	XII	$[\alpha 1(XII)]_3$	associazione laterale con fibrille di tipo I	tendini, legamenti, alcuni altri tessuti
Che formano reticoli	IV	$[\alpha 1(IV)]_2\alpha 2(IV)$	reticolo a foglietto	lamina basale
	VII	$[\alpha 1(VII)]_3$	fibrille di ancoraggio	sotto epiteli squamosi stratificati
Transmembrana	XVII	$[\alpha 1(XVII)]_3$	sconosciuta	emidesmosomi
Altri	XVIII	$[\alpha 1(XVIII)]_3$	sconosciuta	lamina basale intorno ai vasi sanguigni

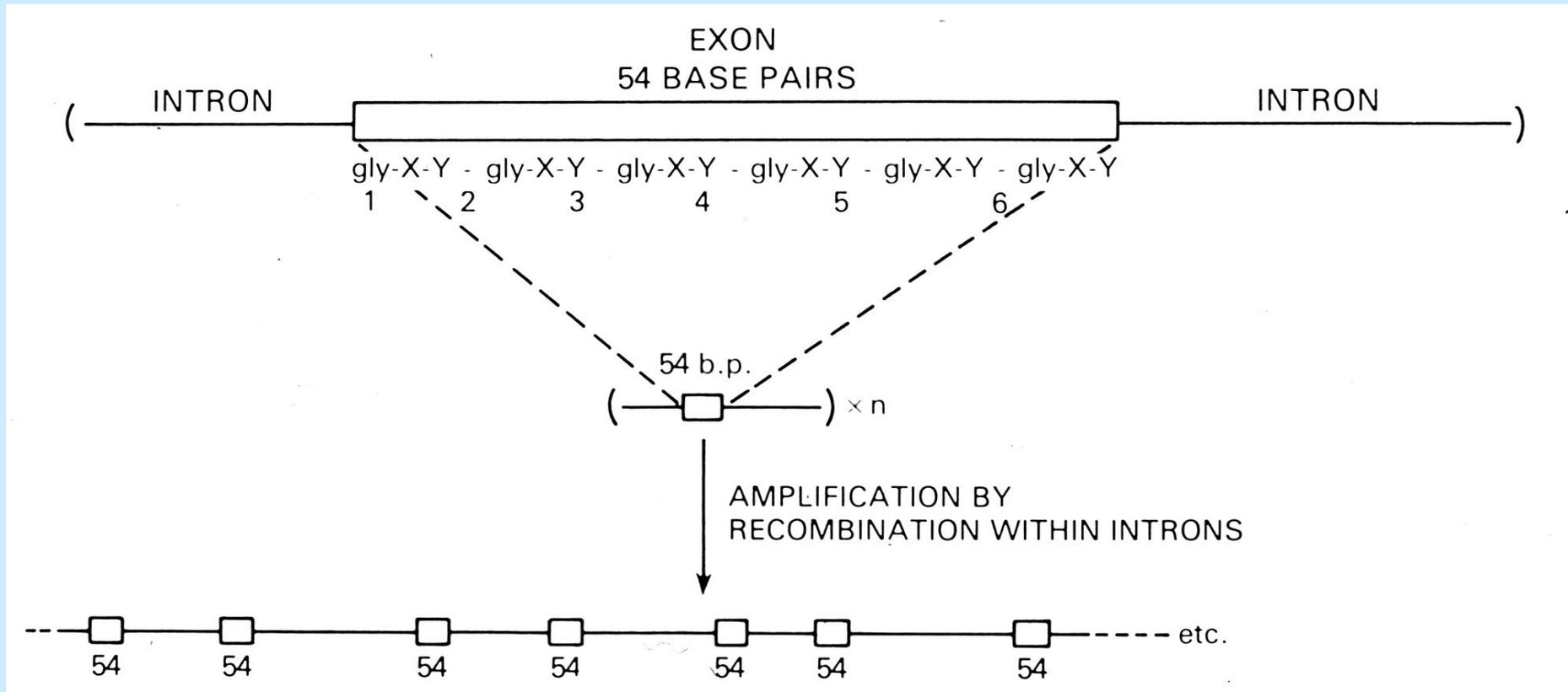
Si noti che i tipi I, IV, V, IX e XI sono composti da due o tre tipi di catene, mentre i tipi II, III, VII, XII, XVII e XVIII sono composti da un solo tipo di catena α . Sono mostrati soltanto 11 tipi di collagene, ma fino a ora sono stati identificati circa 20 tipi di collagene e circa 25 tipi di catene α .

I geni del collagene di tipo I°



I geni del collagene di tipo I sono costituiti da 52 esoni di piccole dimensioni standard (~ 45, 54, 99, 108 bp)

Origine dei geni dei collagени



Il gene originerebbe per amplificazione durante l'evoluzione di un blocco primordiale di 54 paia di basi

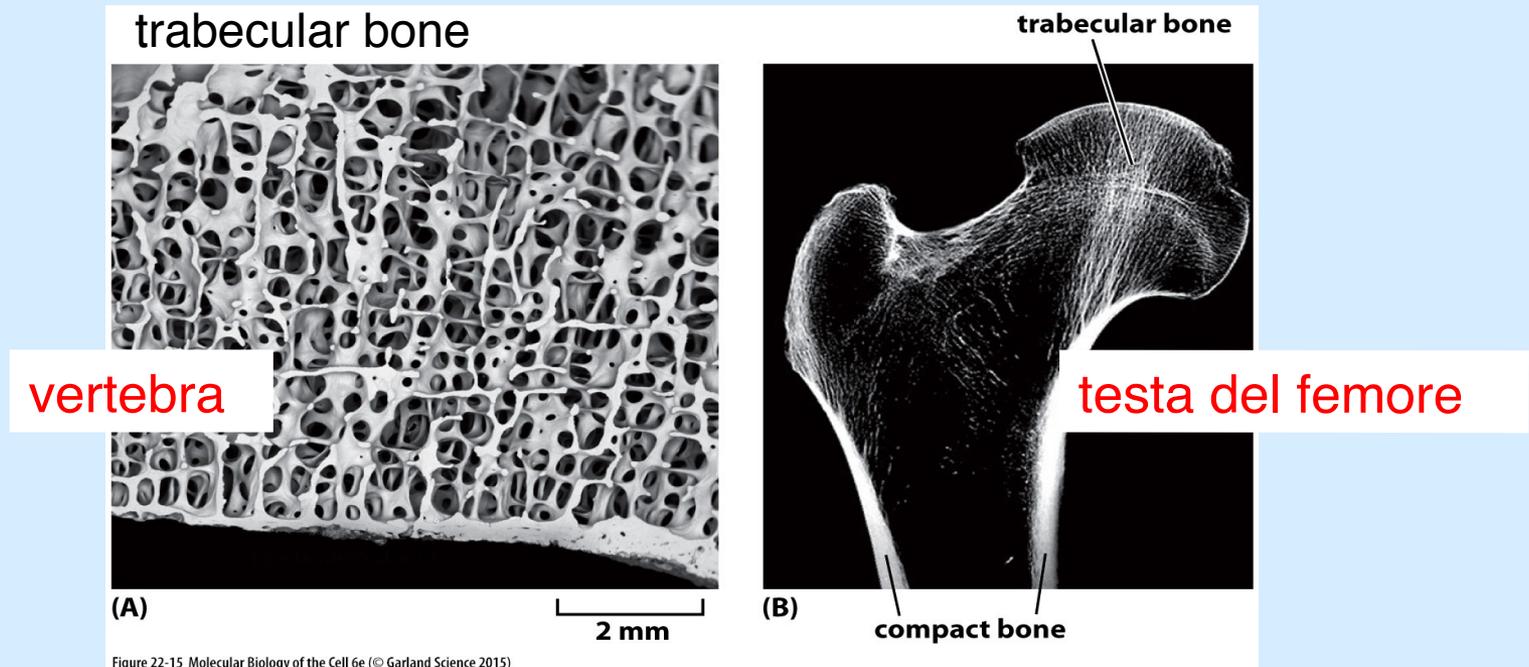
Tipi di tessuto osseo

Esistono due tipi di tessuto osseo:

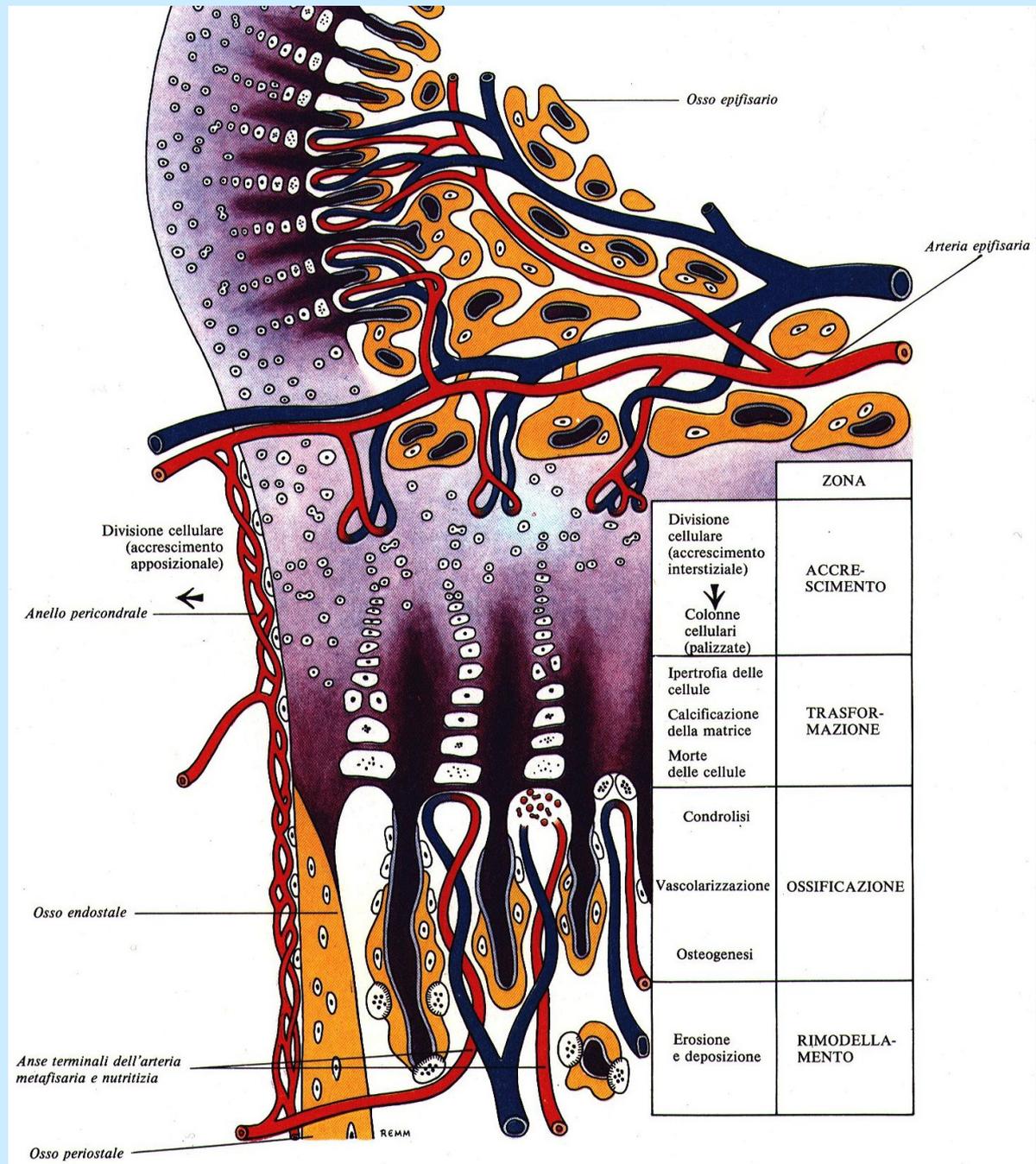
Compatto e Trabecolare, quello compatto forma la parte esterna molto dura dell'osso, mentre quello trabecolare riempie la cavità interna.

I tessuti sono biologicamente identici, la differenza sta nell'arrangiamento della microstruttura;

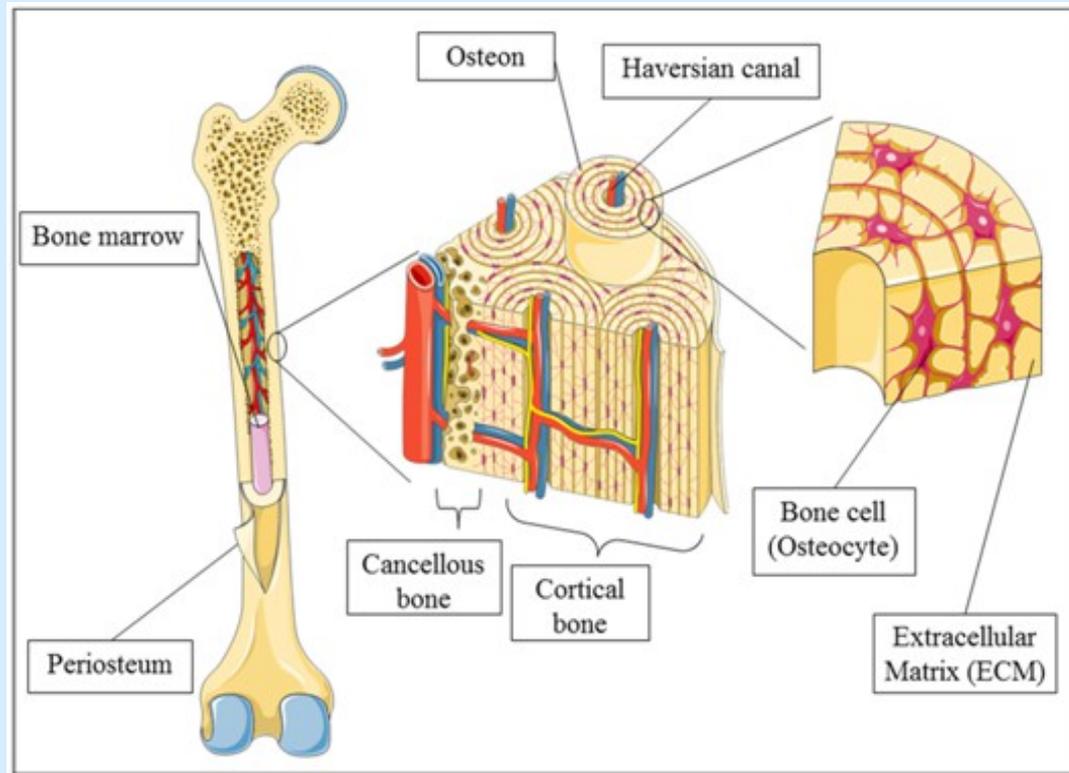
▪



Crescita della cartilagine

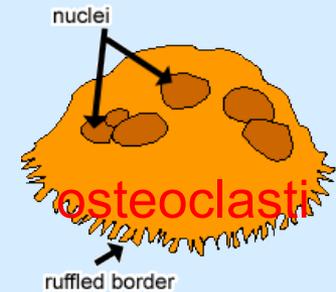


Composizione dell'osso



L'osso è composto da matrice extracellulare e da quattro tipi di cellule

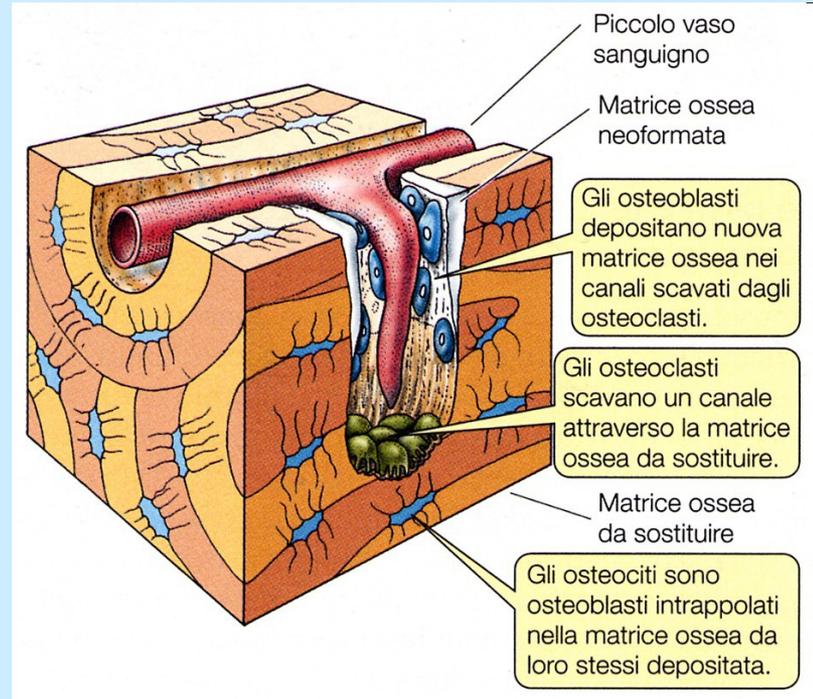
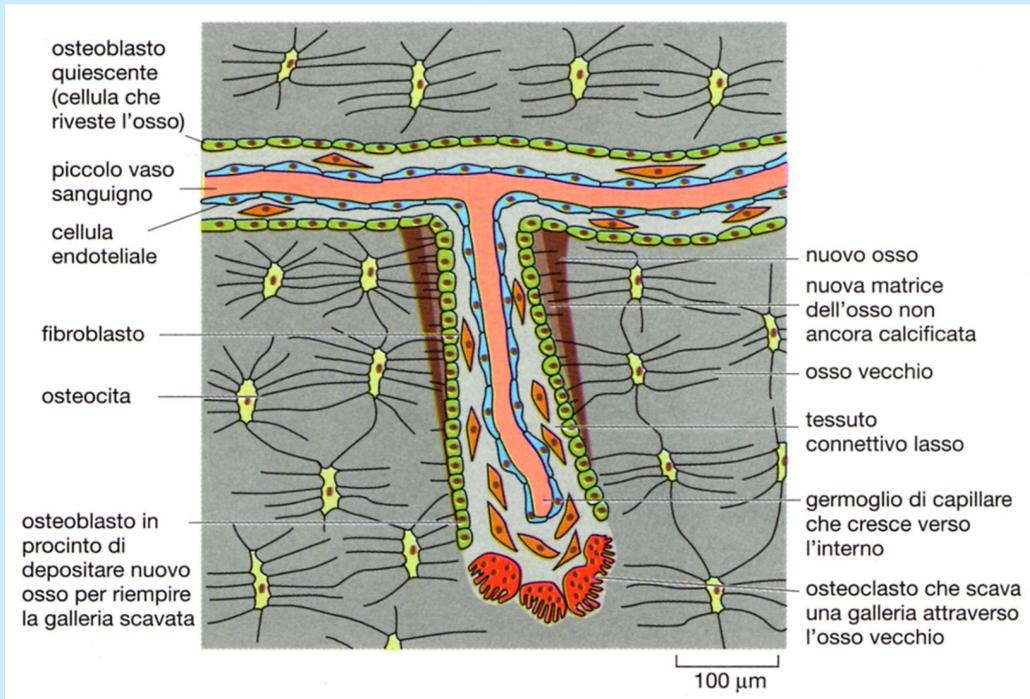
Cellule dell'osso



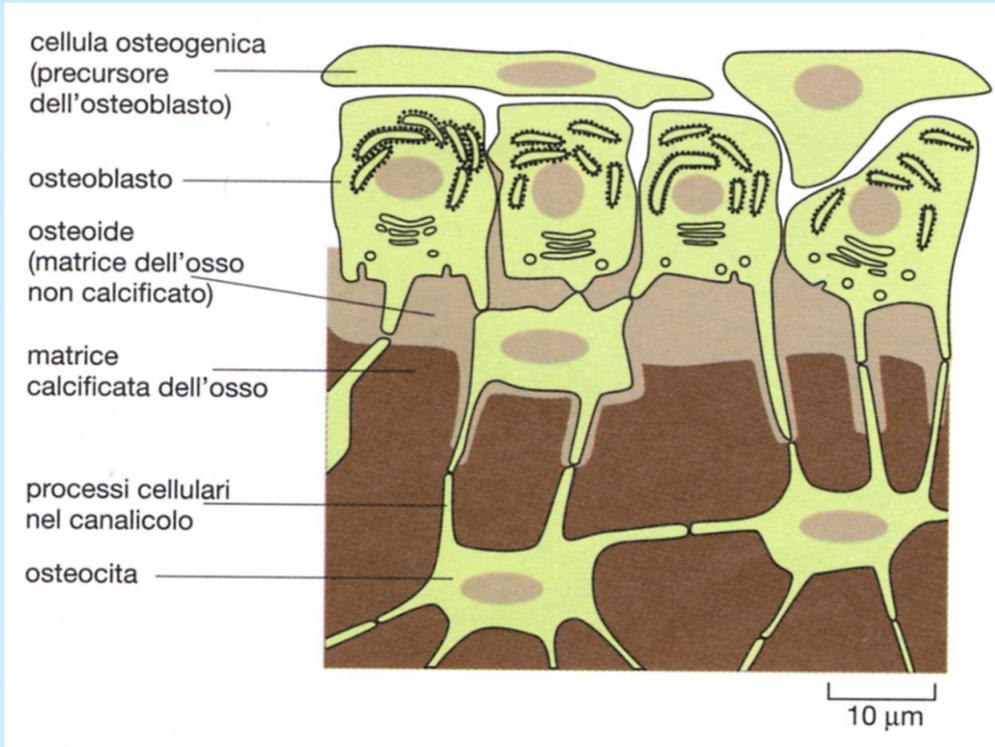
L'osso è composto da matrice extracellulare e da 4 di cellule:

- **Cellule staminali mesenchimali-** Osteoprogenitori che risiedono nei canali ossei, endoste, perioste, midollo.
- **Osteoblasti-** Cellule che fabbricano l'osso. Esse sono intimamente impaccate sulla superficie dell'osso, (4-6% delle cellule dell'osso)
- **Osteociti-** Cellule meccanosensori derivati dagli osteoblasti (90% delle cellule dell'osso)
- **Osteoclasti-** Cellule che riassorbono l'osso e originano dalle cellule staminali emopoietiche (HSC)

Le ossa: rimodellamento 1°



Rimodellamento 2°

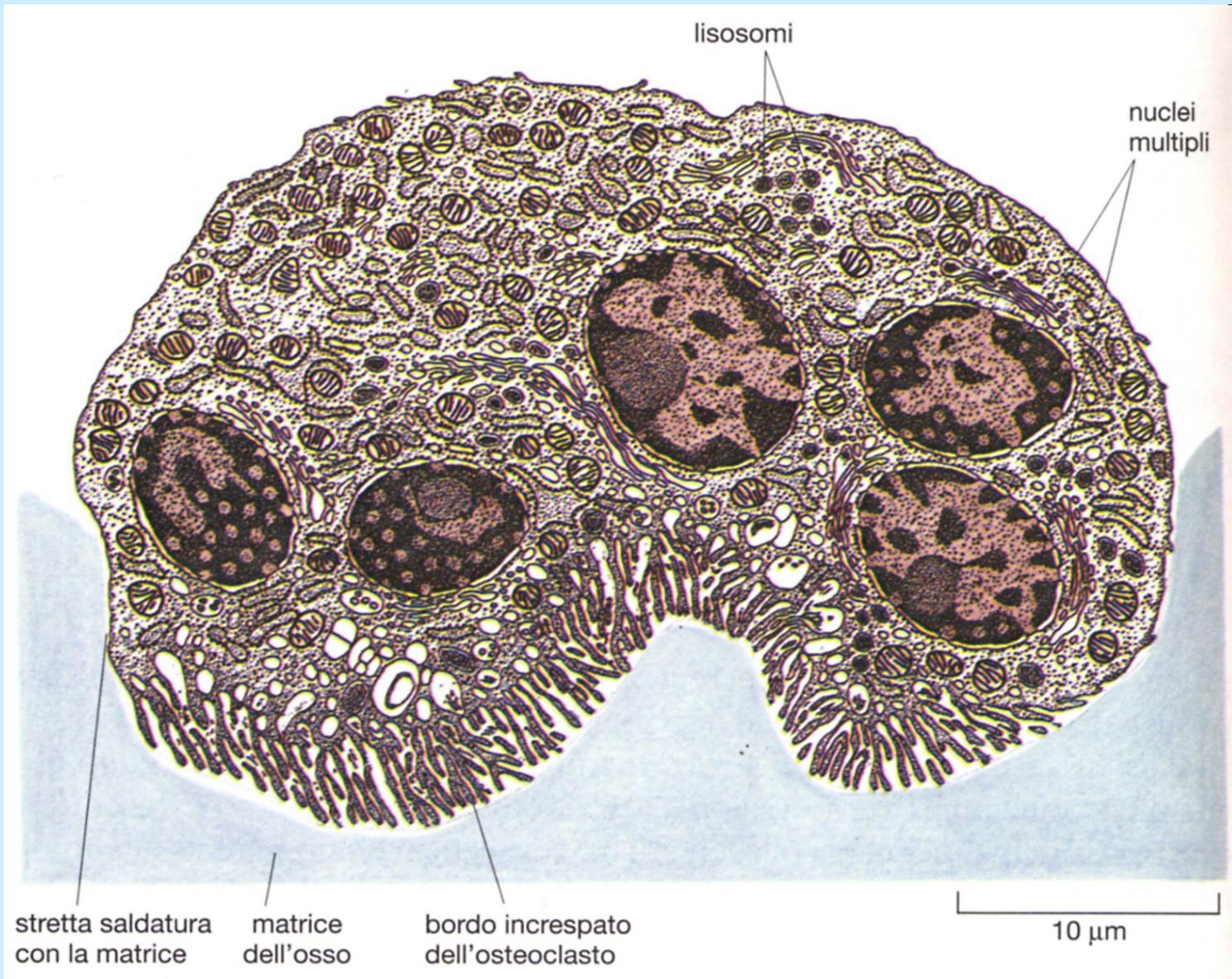


L'osso consiste di una parte organica, a base di collagene e di una parte inorganica di idrossiapatite a formula

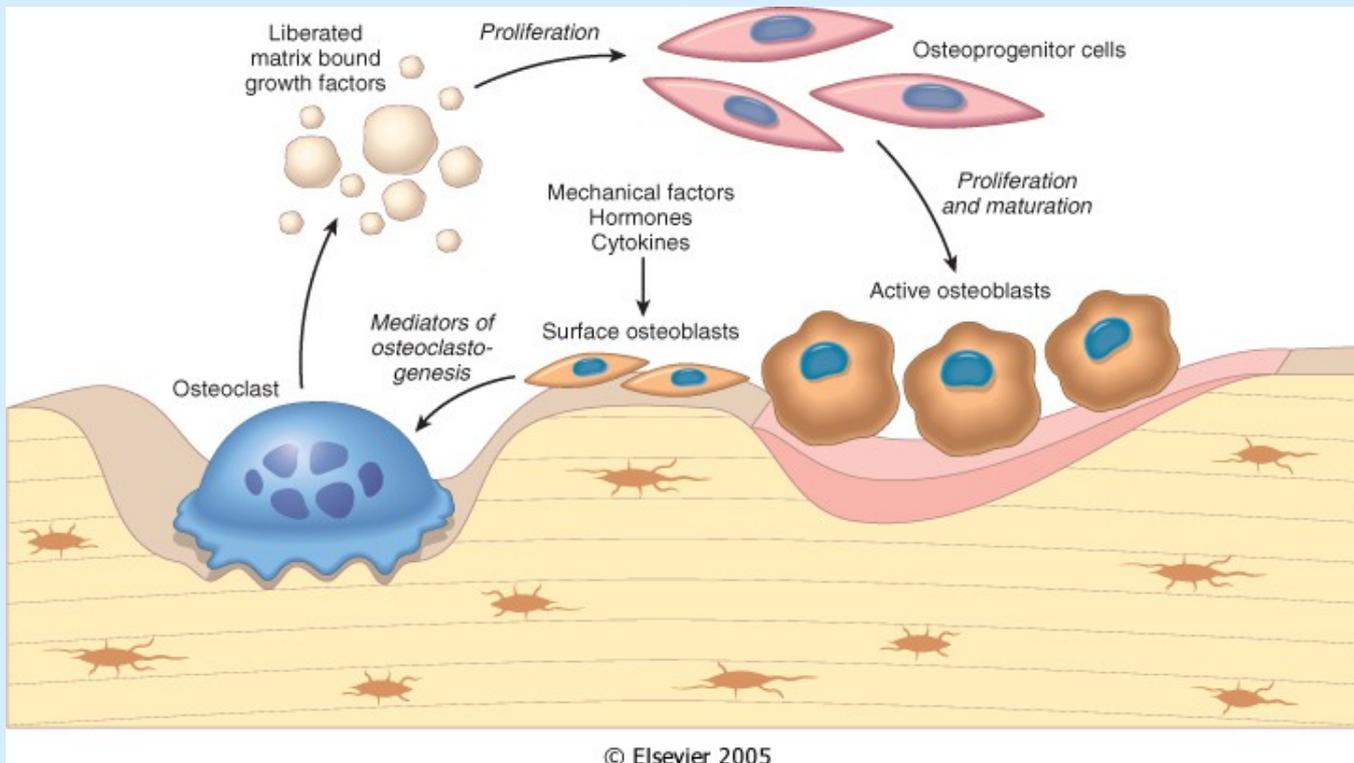
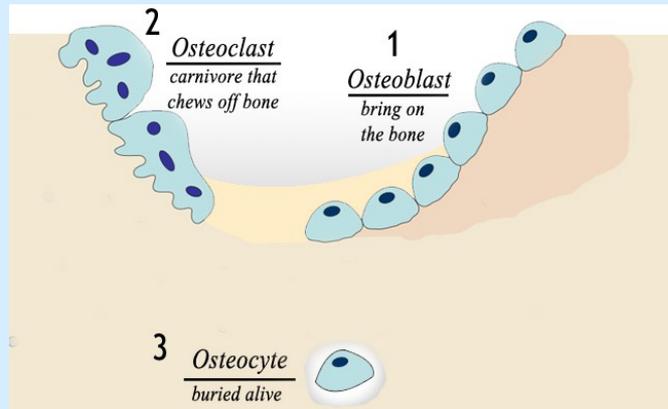


Il collagene è indispensabile per la deposizione dei cristalli di idrossiapatite nell'osso.

Gli osteoclasti

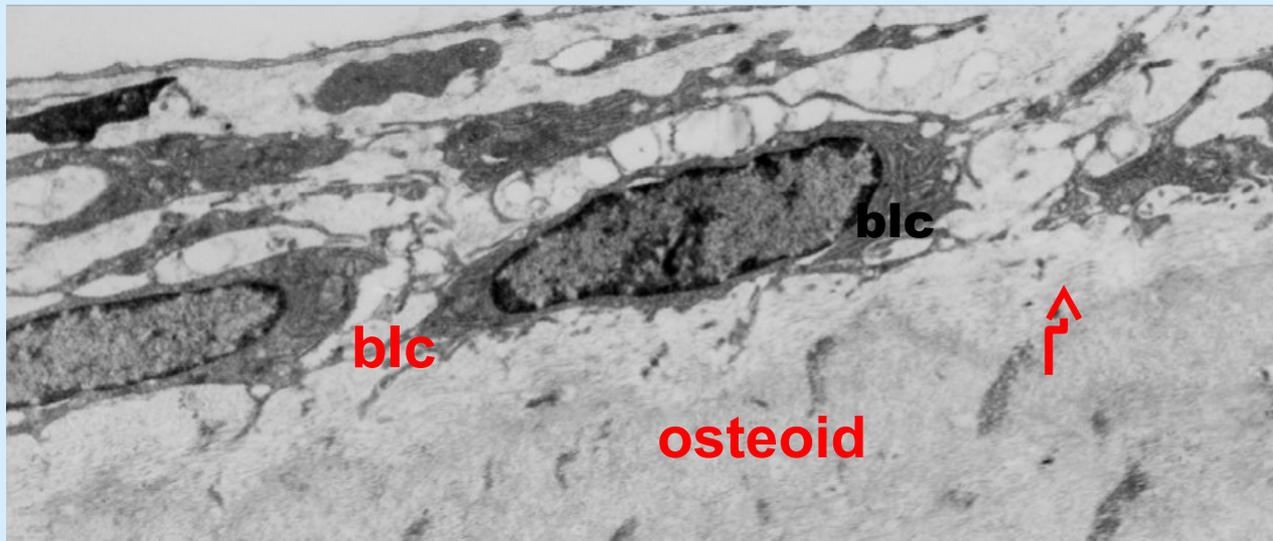


Rimodellamento dell'osso



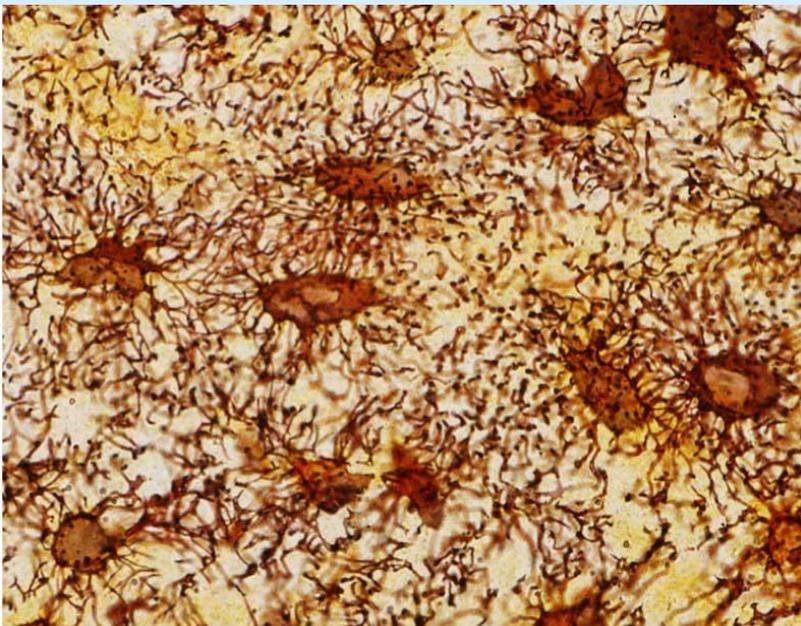
Bone lining cells (blc)

Sulla superficie dell'osso si possono osservare cellule BLC (Bone Lining Cells). Esse sono quiescenti, Osteoblasti appiattiti che possono riacquistare la loro attività secretoria (i.e. collagene), aumentare di volume e assumendo un aspetto cuboidale.



OSTEOCITI (Ot)

Sono le più abbondanti e durature cellule dell'osso (≤ 25 anni). Essi derivano dagli osteoblasti che vengono inglobati nella matrice mineralizzata dell'osso, localizzata nelle lacune. Essi presentano una morfologia dendritica, estrusioni citoplasmatiche (filopodi ≤ 50 /cell) che si estendono in canalicoli comunicanti con le altre cellule (Ot-Ot, Ot-Ob, Ot-Oc, Ot-Blc)



Osteoclasto: il frantumatore dell'osso

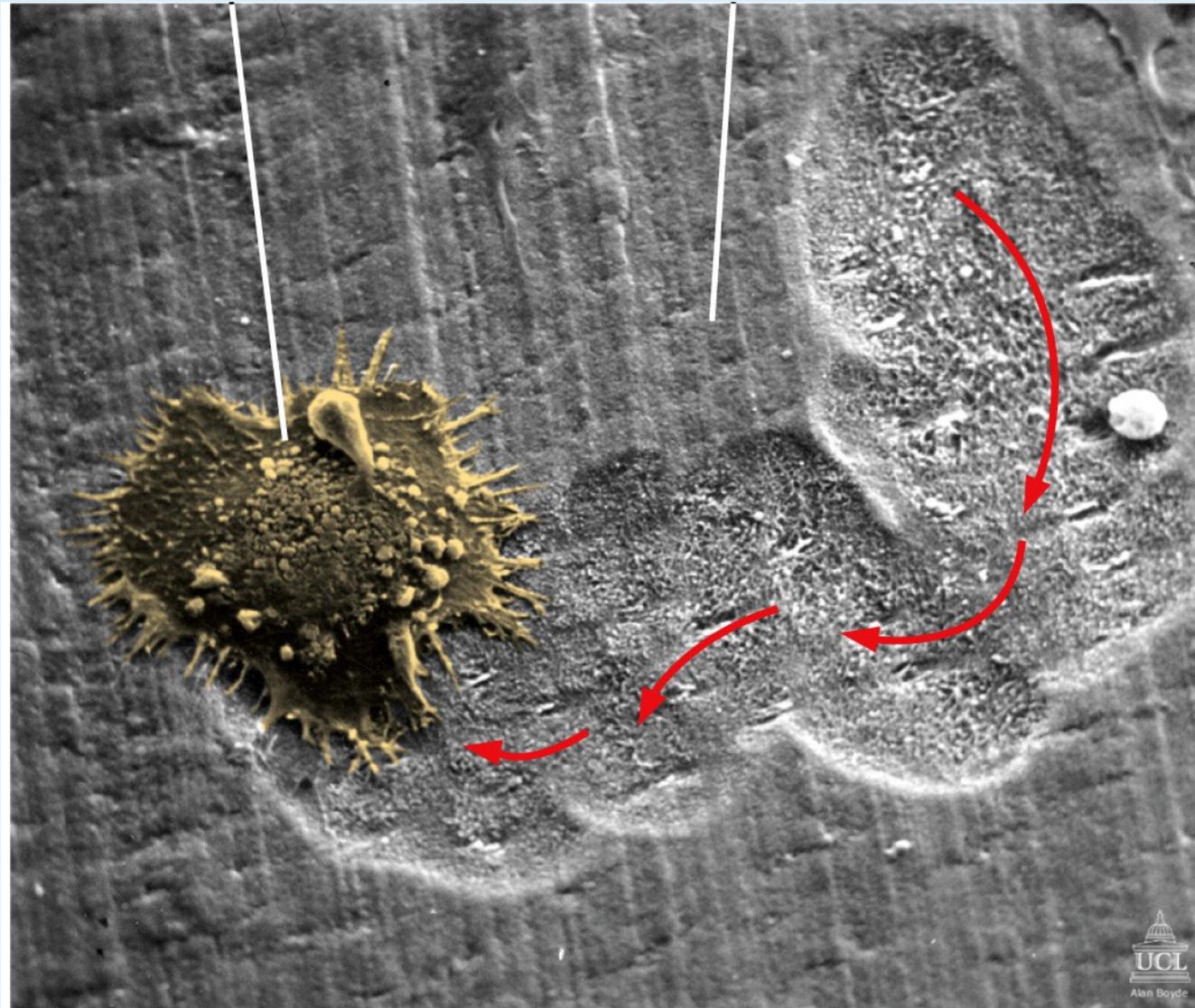
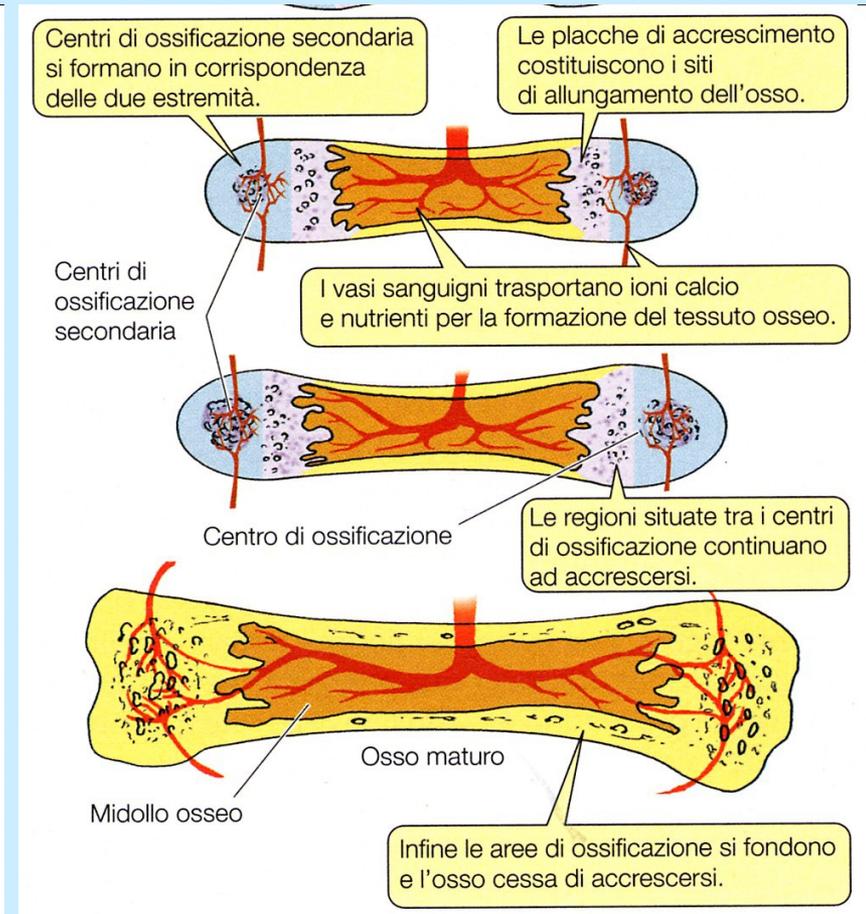
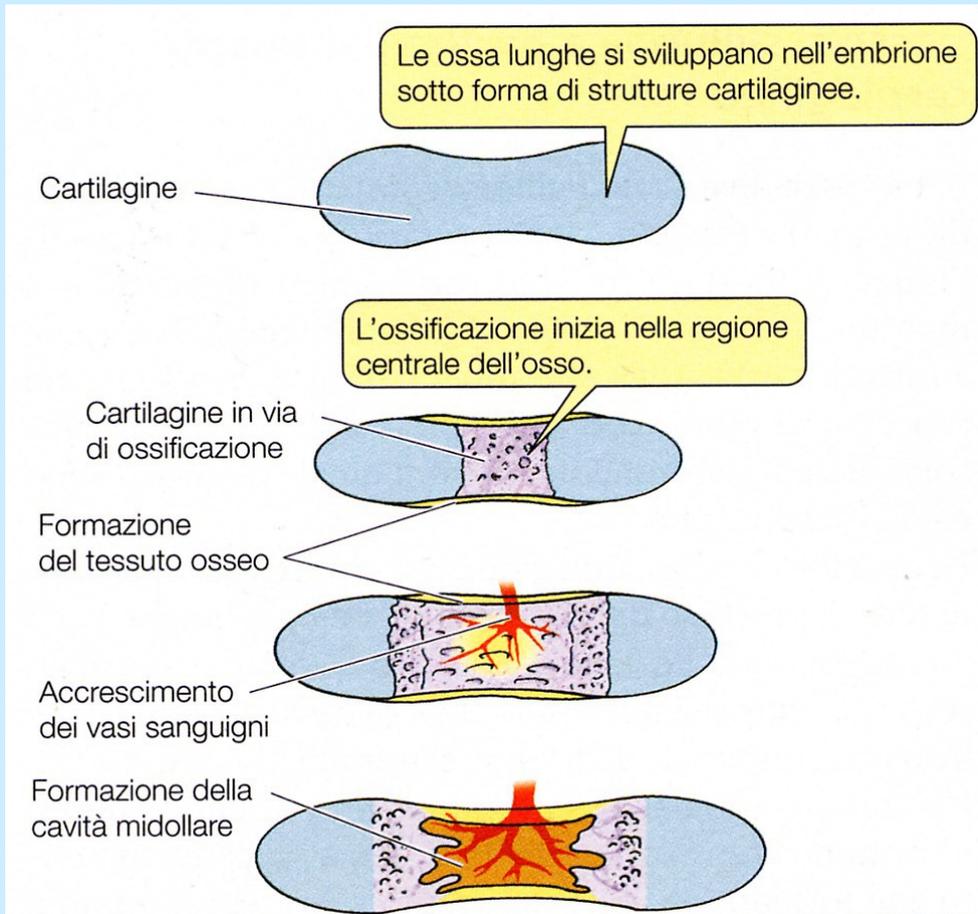


Figure 22-16b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Crescita dell'osso 1°



Tessuto osseo

Le porzioni terminali dell'osso lungo sono costituite da osso spugnoso.



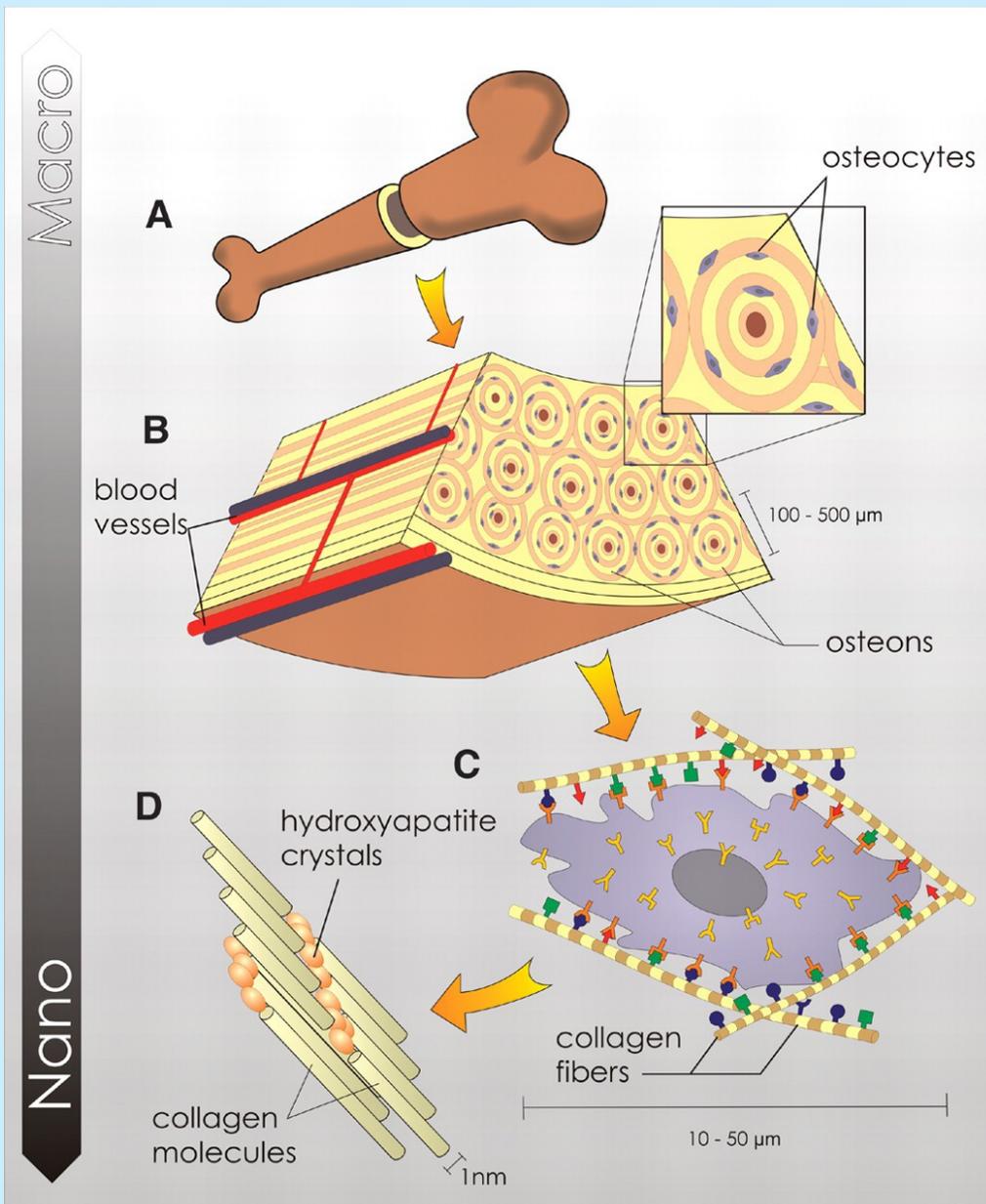
La struttura allungata è formata da osso compatto.

Gli osteoblasti depositano la matrice ossea in strati. Nelle ossa lunghe questi strati formano cilindri concentrici disposti parallelamente all'asse longitudinale dell'osso.

Al centro di ciascun cilindro si trova un canale che accoglie i vasi sanguigni e i nervi.

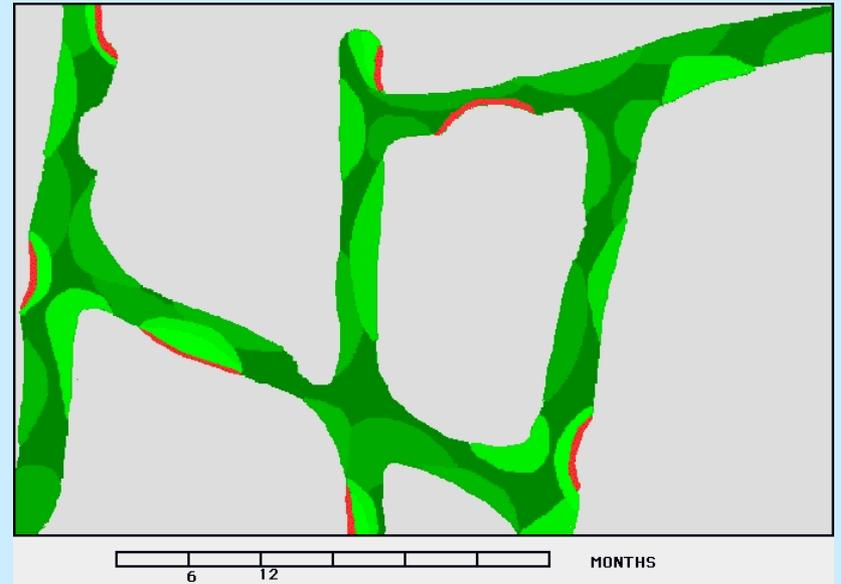


Struttura dell'osso

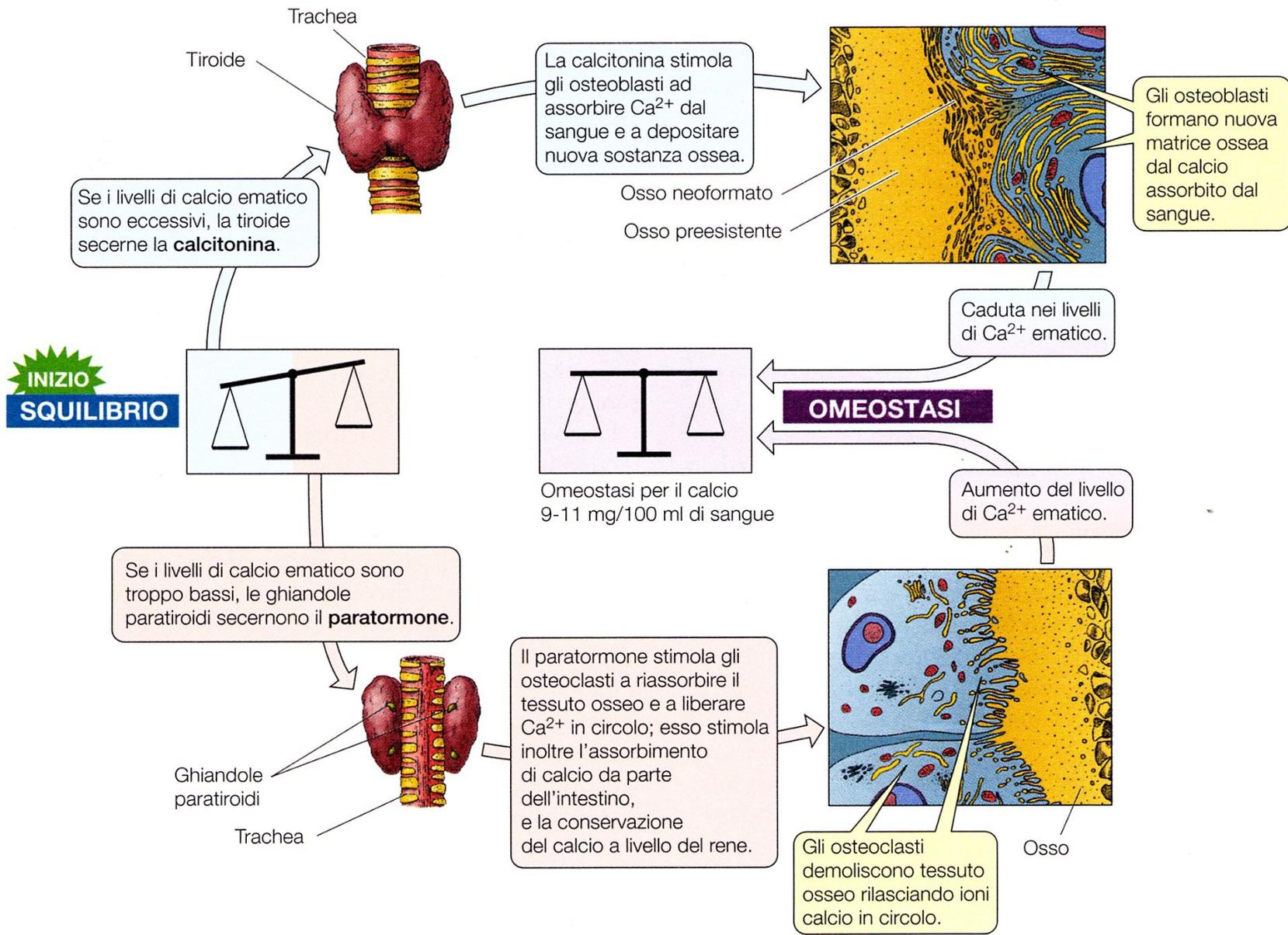


L'organizzazione gerarchica dell'osso contempla uno strato esterno compatto e fortemente calcificato (**A**), formato da molti osteoni cilindrici (**B**). Le cellule dell'osso sono ricoperte da una miriade di recettori di membrana che rispondono a specifici ligandi (**C**) e sono circondate dalla matrice extracellulare (**D**).

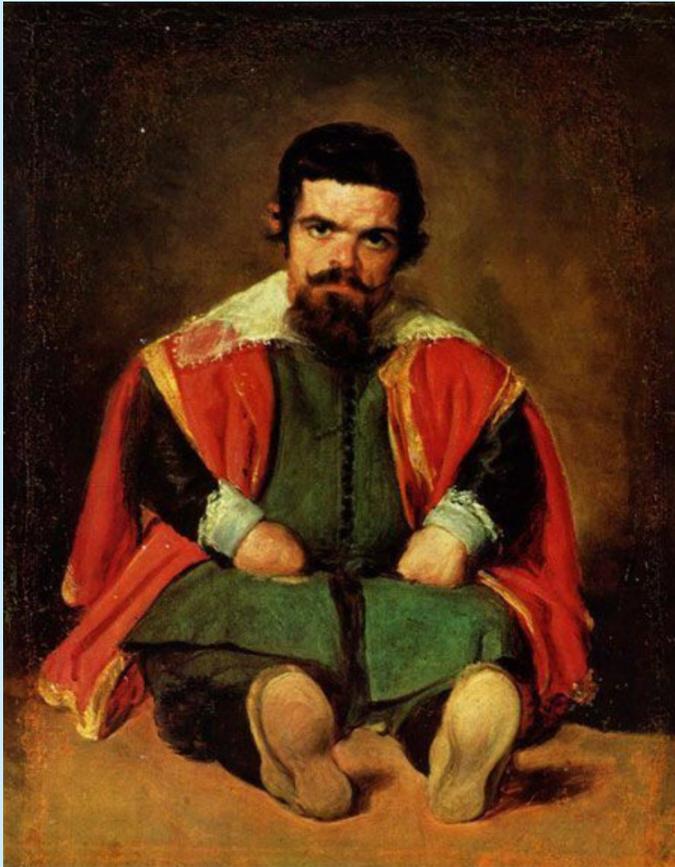
Rimodellamento dell'osso



Osso ed omeostasi del Ca^{2+}



Patologie del connettivo: Acondroplasia “classica”



VELASQUEZ

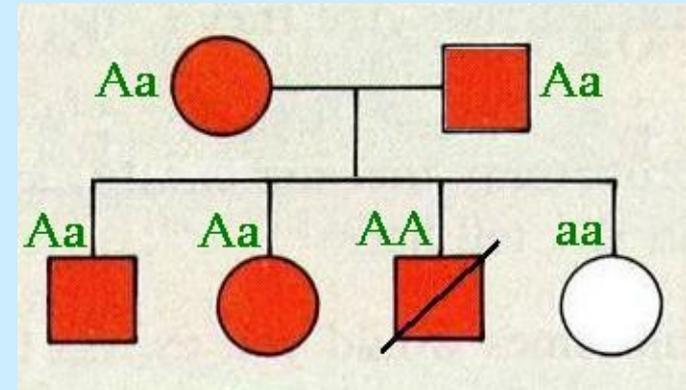
Ritratto di Sebastian Morra



IGNACIO ZULOAGA (1899)

“la naine Dona Mercedes”

Nanismo Acondroplastico: carattere autosomico e dominante



La condizione
di omozigosi
(AA)
è letale

Basi molecolari della acondroplasia

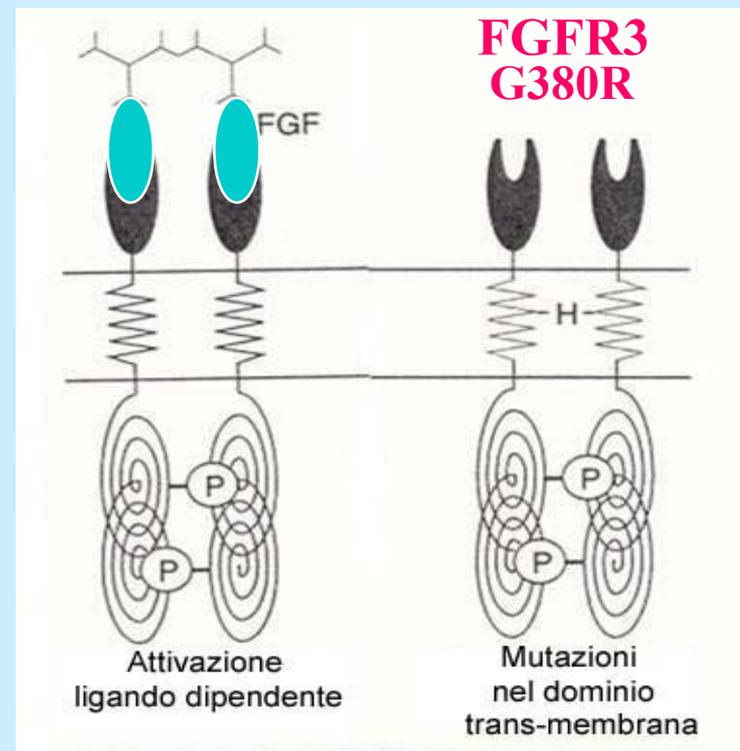
E' causata da mutazioni sul Chr. 4 nel recettore transmembrana **FGFR3** del **Fattore di Crescita del Fibroblasto (Recettore tipo 3)**, e.g. nella tripletta 380 (nucleotide 1138) del dominio idrofobico (da GGG a AGG).

FGFR3 è un regolatore negativo del processo di ossificazione endocondrale.

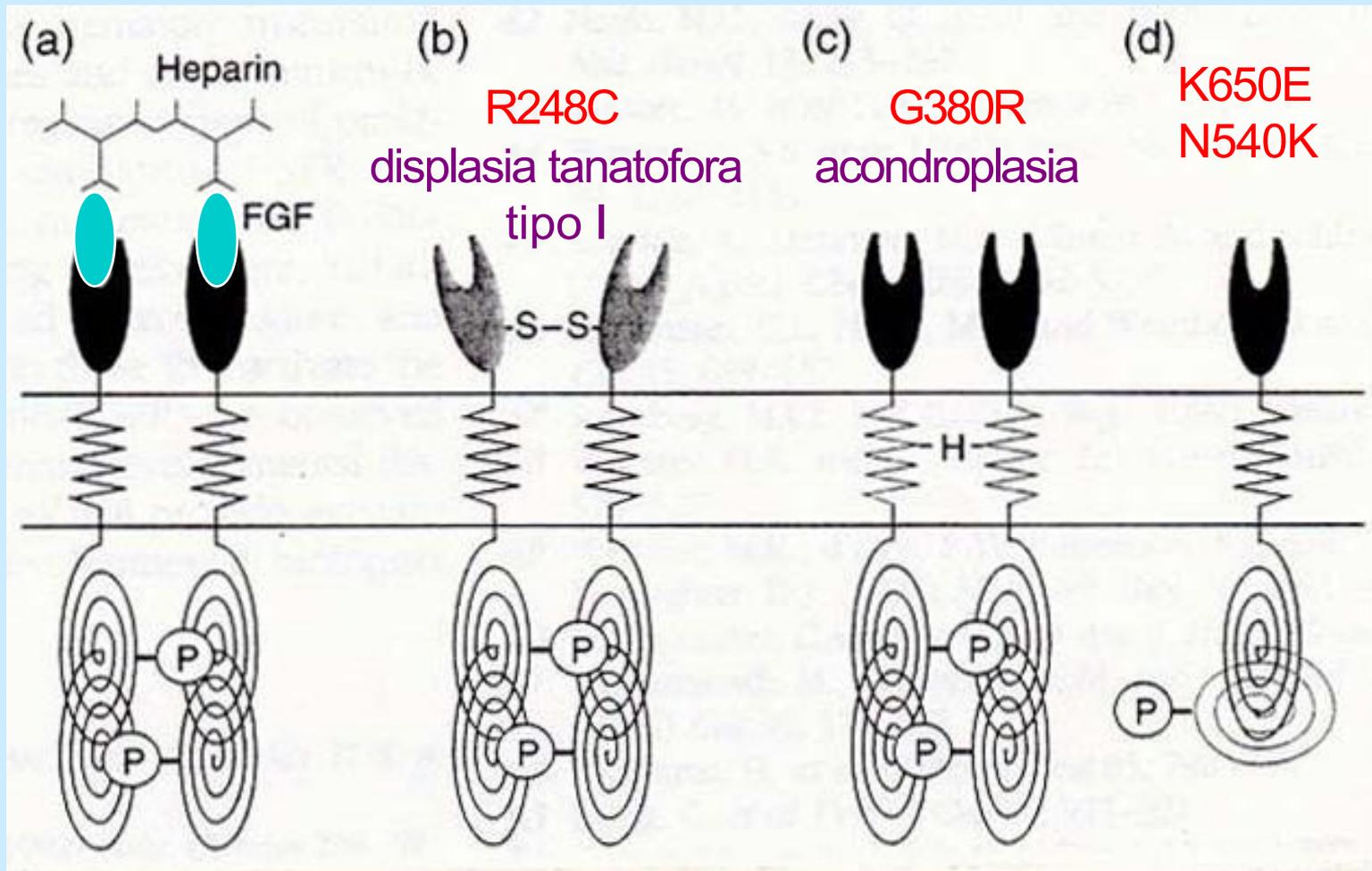
Eredità: **autosomica dominante**

Frequenza: **1/70.000**

	XXXGGG	Transversion	} Nucleotide 1138	
	XXXAGG	Transition		
TAC	GGG	GTG	Sense	} DNA strands
ATG	CCC	CAC	Antisense	
Tyr	Gly	Val	Normal	} Amino acids
Tyr	Arg	Val	With mutation	



Mutazioni nel FGFR3



attivazione
ligando-dipendente

mutazioni
dominio
extracellulare

mutazioni
dominio
transmembrana

mutazioni
dominio target
tirosina-cinasi 1

K650E - displasia tanatofora tipo II

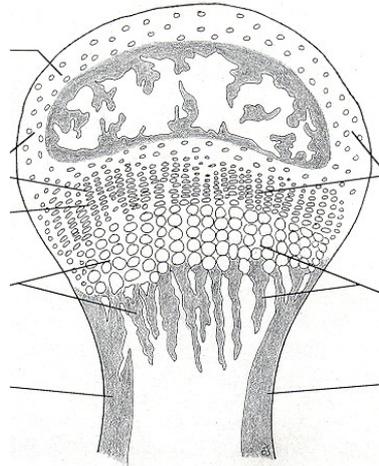
N540K - ipocondroplasia

Geni e connettivopatie

GENI REGOLATORI

FGFR3 (ACH)
DTDST (Acondrogenesi)
CDMP (Displasia
Acromesomelica)
CBFA1 (Displasia
Cleidocranica)

CA2, TC1RG1
(Osteopetrosi)



GENI STRUTTURALI

COL2A1, COL9A1, COL9A2,
COL11A1, COL11A2 (Stickler,
SEDC, Acondrogenesi II,
Ipocondrogenesi, SEMD, Kniest)

COL10A1 (MCDS)

COL1A1, COL1A2 (O.I.)

Collageni e patologie

Gene or enzyme	Disease
COL1A1; COL1A2	Osteogenesis imperfecta Osteoporosis ^a
COL2A1	Ehlers-Danlos syndrome type VIIA, VIIB Several chondrodysplasias Osteoarthritis ^a
COL3A1	Ehlers-Danlos syndrome type IV Aortic aneurysms ^a
COL4A3; COL4A4	Alport syndrome, autosomally inherited forms
COL4A5	Alport syndrome, X-linked form
COL4A5 and COL4A6	Alport syndrome with diffuse esophageal leiomyomatosis, X-linked
COL7A1	Epidermolysis bullosa, dystrophic forms
COL9A1	Osteoarthritis ^b
COL9A2	Multiple epiphyseal dysplasia ^c
COL10A1	Schmid metaphyseal chondrodysplasia
COL11A2	Stickler syndrome, nonocular form ^c
Lysyl hydroxylase	Ehlers-Danlos syndrome type VI
Type I N-proteinase	Ehlers-Danlos syndrome type VIIC
Lysyl oxidase	Occipital horn syndrome ^d Menkes syndrome ^d

^aIn a subset of patients.

^bDemonstrated only in transgenic mice.

^cDemonstrated only by genetic linkage.

^dSecondary to an abnormality in copper metabolism.

Collageni fibrillari

Tipo	catene	gene	loci	struttura	distribuz.
I	$\alpha 1(I)$ $\alpha 2(I)$	COL1A1	17q21-22 7q21-22	$[\alpha 1(I)]_2\alpha 2(I)$	pelle, ossa, dentina, tendini
II	$\alpha 1(II)$	COL2A1	12q13-14	$[\alpha 1(II)]_3$	cartilagine, umor vitreo
III	$\alpha 1(III)$	COL3A1	2q31-32	$[\alpha 1(III)]_3$	pelle, arterie, utero
V	$\alpha 1(V)$ $\alpha 2(V)$ $\alpha 3(V)$	COL5A1 COL5A2 COL5A3	9q34.2-34.3 2q31.2 19p13	$[\alpha 1(V)]_3$ $[\alpha 1(V)]_2\alpha 2(V)$ $\alpha 1(V) \alpha 2(V) \alpha 3(V)$	pelle, vari connettivi
XI	$\alpha 1(XI)$ $\alpha 2(XI)$	COL11A1 COL11A2	1p21 6p21.3	$\alpha 1(XI) \alpha 2(XI) \alpha 1(II)$	Cartilagine, umor vitreo

Mutazioni dominanti nelle collagenopatie

GENE	COLLAGENE	MALATTIA
<i>COL1A1, COL1A2</i>	I	Osteogenesi Imperfetta
<i>COL2A1</i>	II	s. Stickler, Acondrogenesi, s. Knierst
<i>COL3A1</i>	III	s. Ehlers Danlos tipo vascolare
<i>COL4A1,A2,AQ3,A4,A5,A6</i>	IV	s. Alport
<i>COL5A1</i> <i>COL5A2</i> <i>COL5A3</i>	V	s. Ehlers Danlos tipo classico
<i>COL7A1</i>	VII	Epidermolisi
<i>COL11A1, COL11A2</i>	XI	s. Stickler

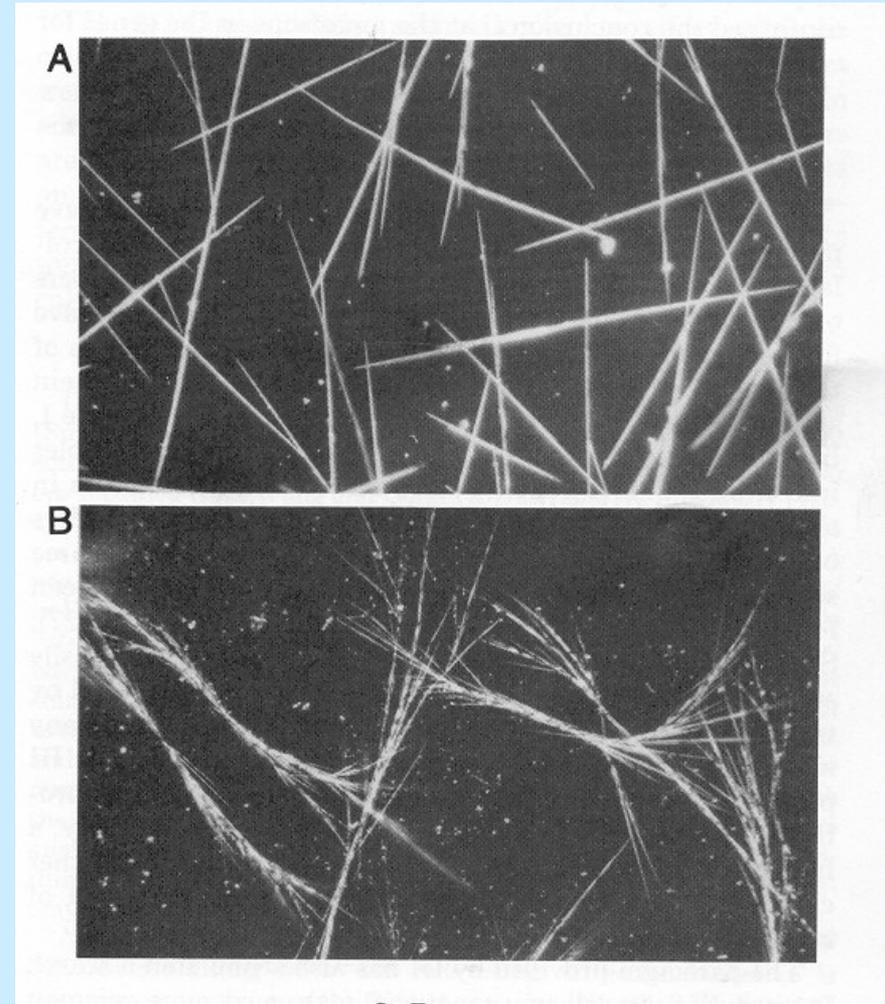
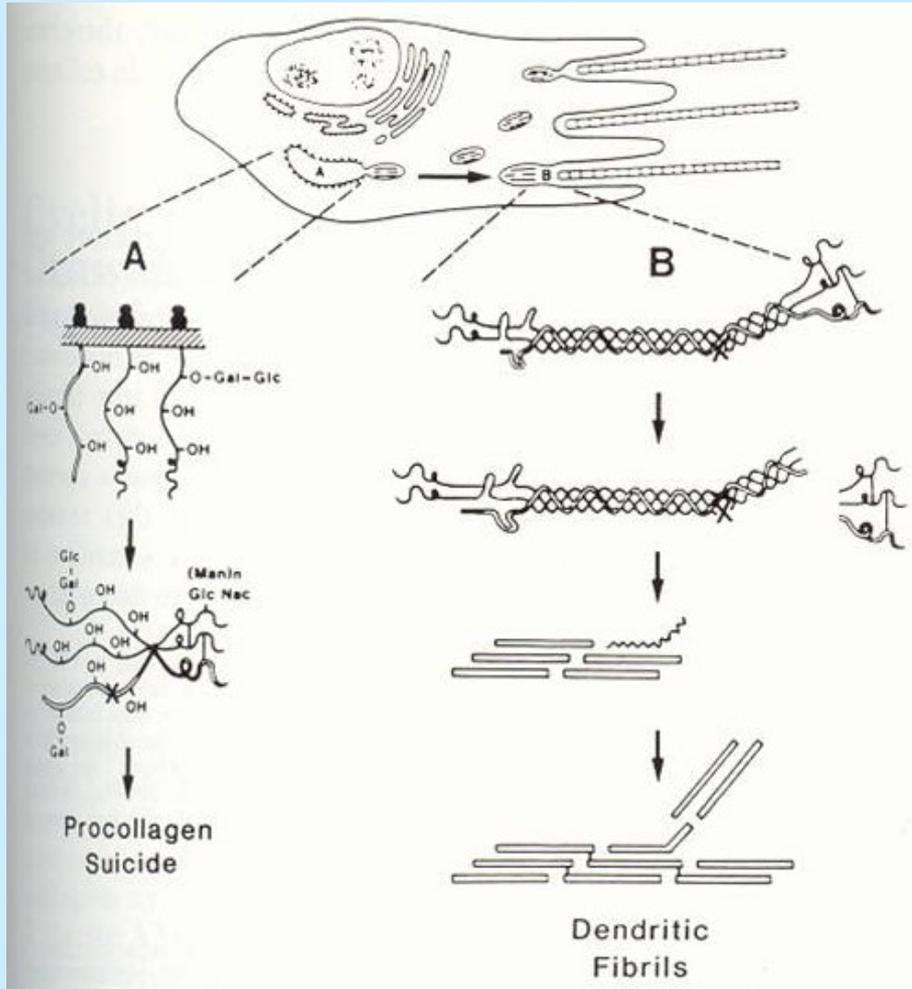
Mutazioni del collagene

	988											
Pro	Gly	Pro	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Asp	Ala			
CCT	GGT	CCT	CGC	GGT	CGC	ACT	GGT	GAT	GCT	3']	Normal
	↓											
CCT	TGT	CCT	CGC	GGT	CGC	ACT	GGT	GAT	GCT	3']	Mutant
Pro	Cys	Pro	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Asp	Ala			

La sostituzione per mutazione di una singola glicina in un aminoacido diverso, provoca una patologia che può essere molto grave conosciuta come

“OSTEOGENESI IMPERFETTA”

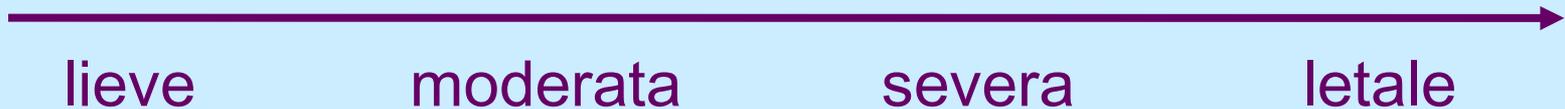
Mutazioni del “folding” della tripla elica



Osteogenesi Imperfetta

- malattia genetica riconducibile a difetti del collagene I
- frequenza: $\geq 1:10.000$ (forma lieve) $1:200.000$ (letale)
- tessuti coinvolti: OSSO, pelle, vasi sanguigni
- segni clinici: FRAGILITA' OSSEA, deformità scheletriche
- notevole variabilità fenotipica classificata secondo Sillence in 4 forme di gravità crescente:

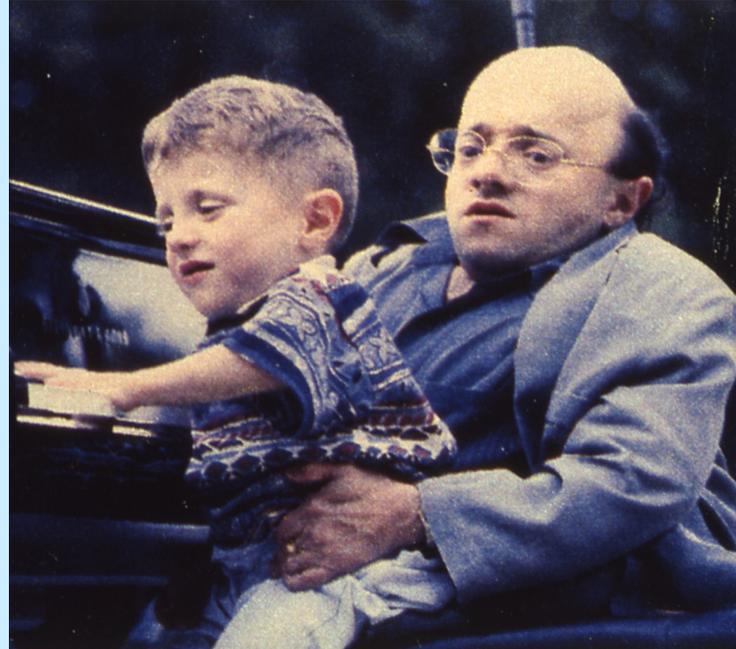
O.I. tipo I > O.I. tipo IV > O.I. tipo III > O.I. tipo II



Osteogenesi Imperfetta



OI I



OI IV



OI III

Altri aspetti fenotipici



a

a - dentinogenesi imperfetta

b e c - sclere azzurre

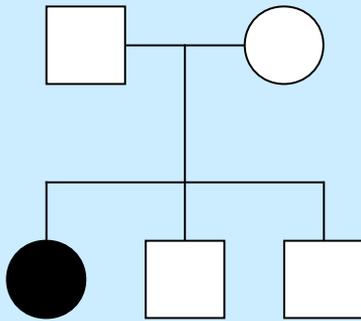


b

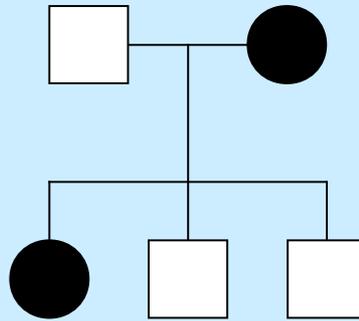


c

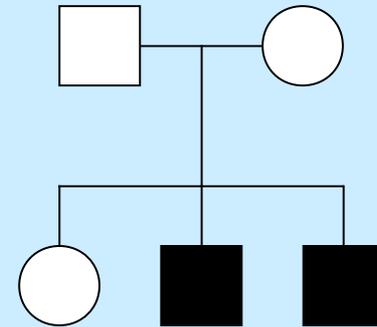
Ereditarietà dell'Osteogenesi Imperfetta



sporadica



famigliare
(DOMINANTE)



ricorrente
(RARA)
(mosaicismo germinale)

Tipi di Osteogenesi Imperfetta



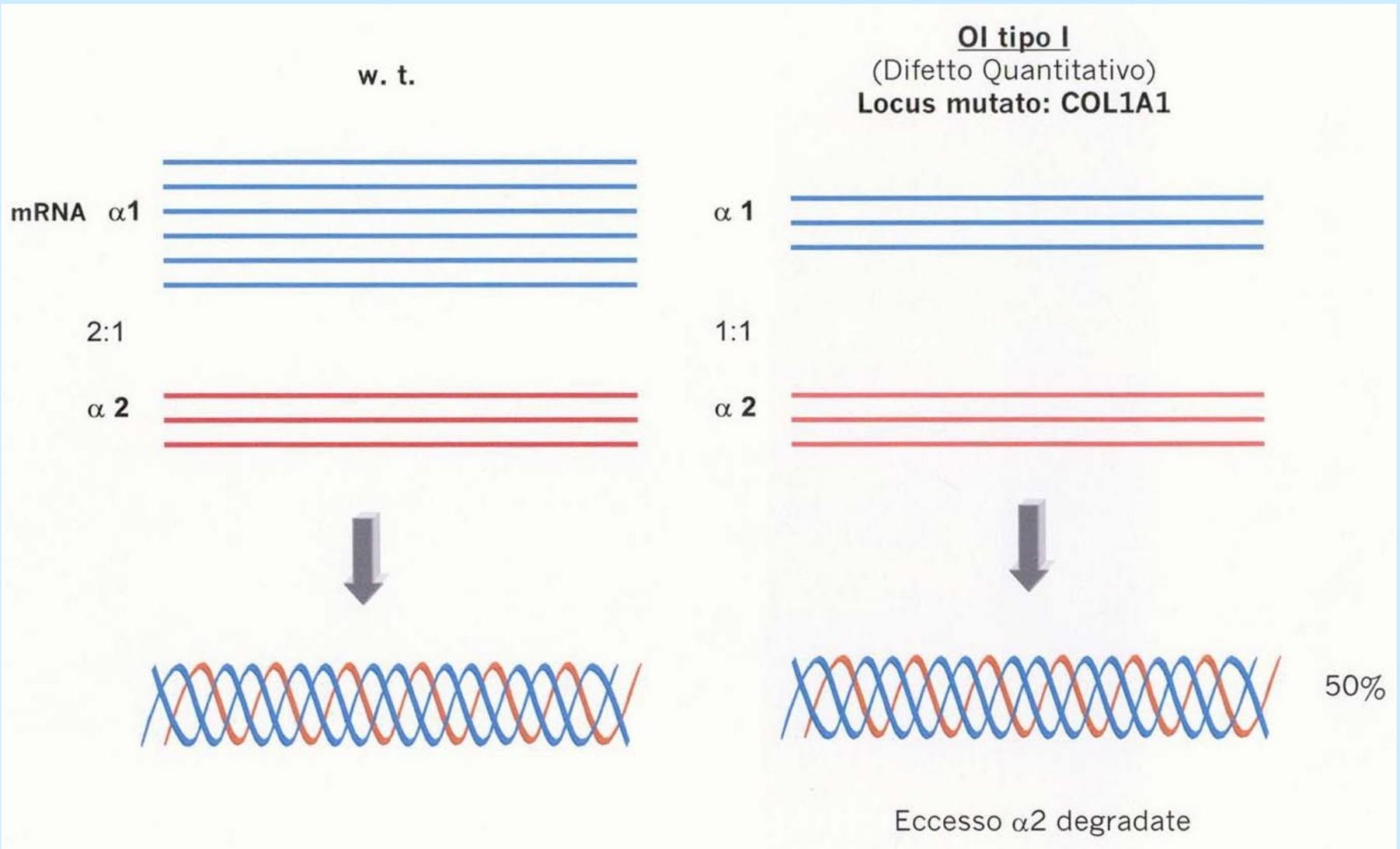
difetto quantitativo
(allele COL1A1 silente)

→ Ol tipo I
lieve

difetto qualitativo
(e.g. sostituzione gly,
in COL1A1 O COL1A2)

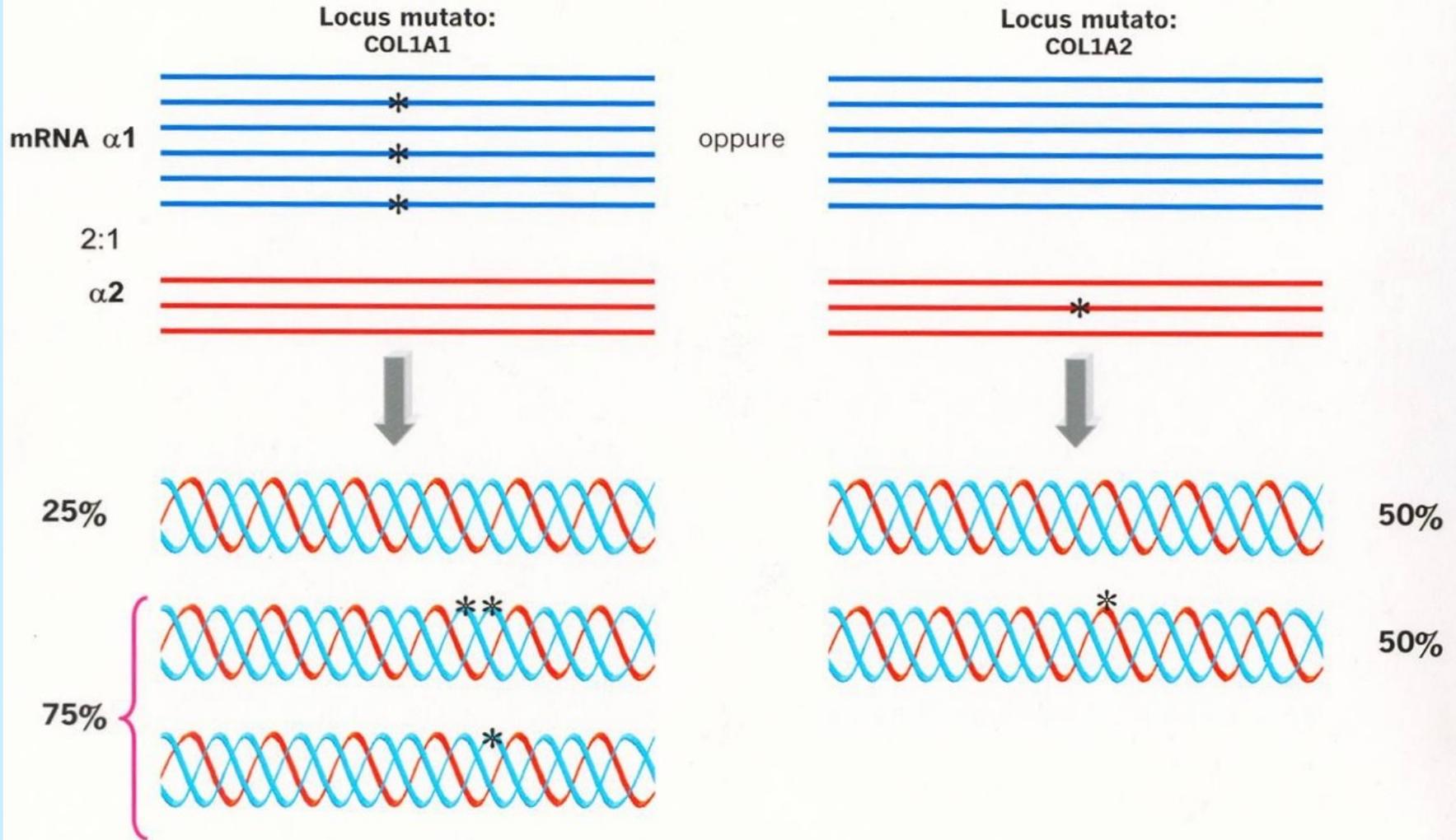
→ Ol tipo II, III, IV
letale sev. mod.

Difetti del collagene 1°

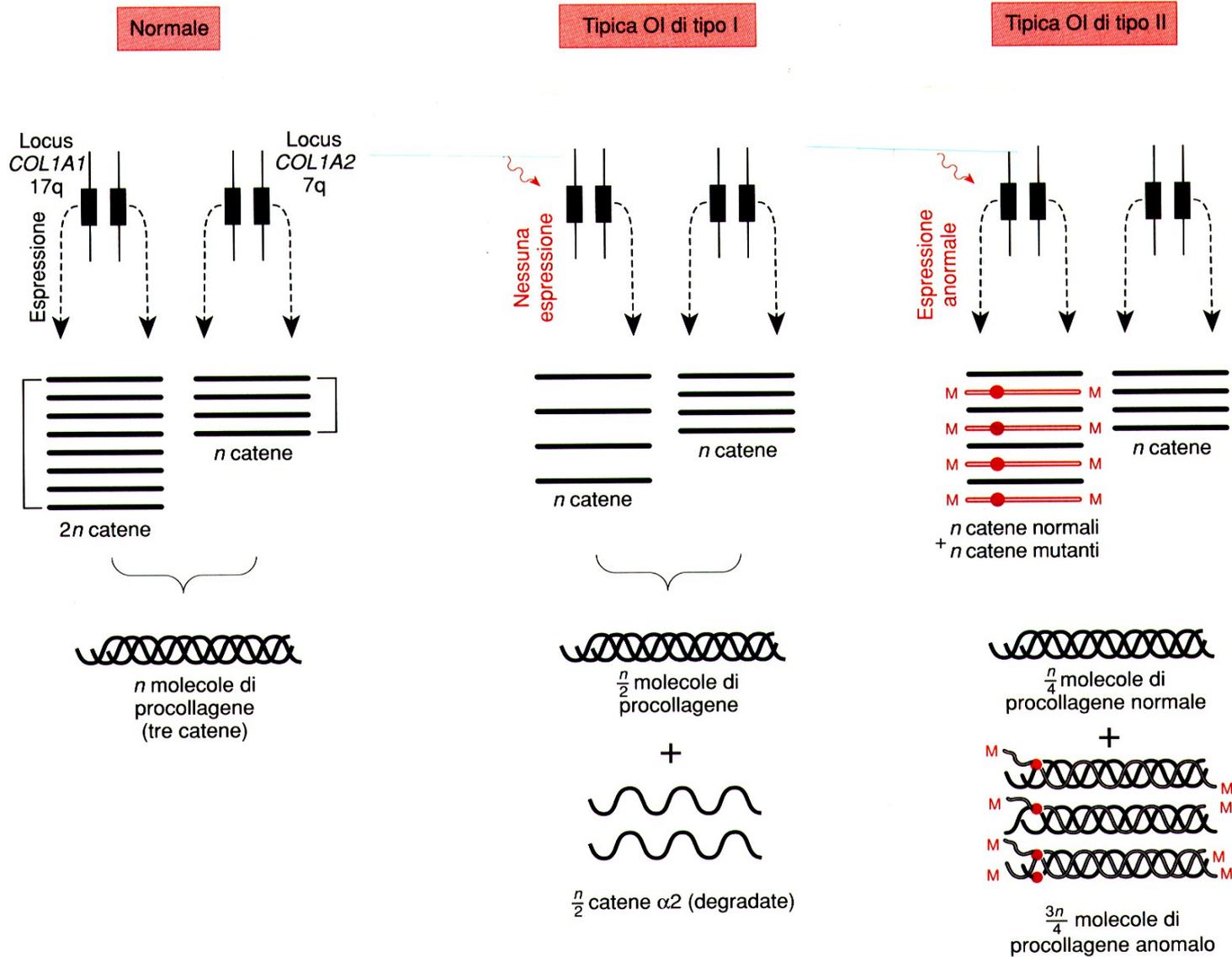


Difetti del collagene 2°

OI tipo II, III, IV
(Difetto Qualitativo)



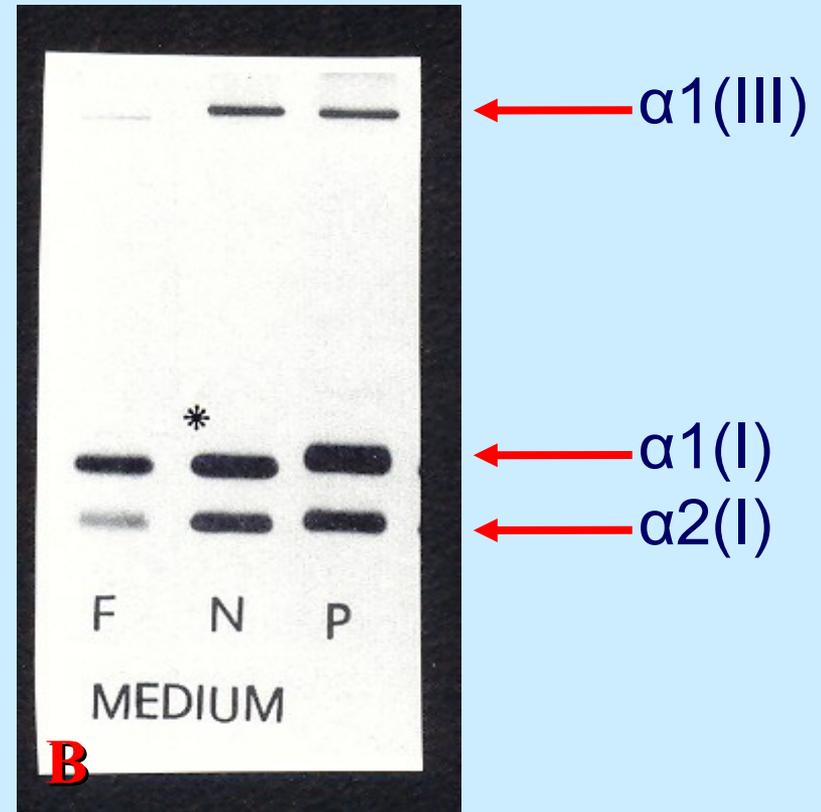
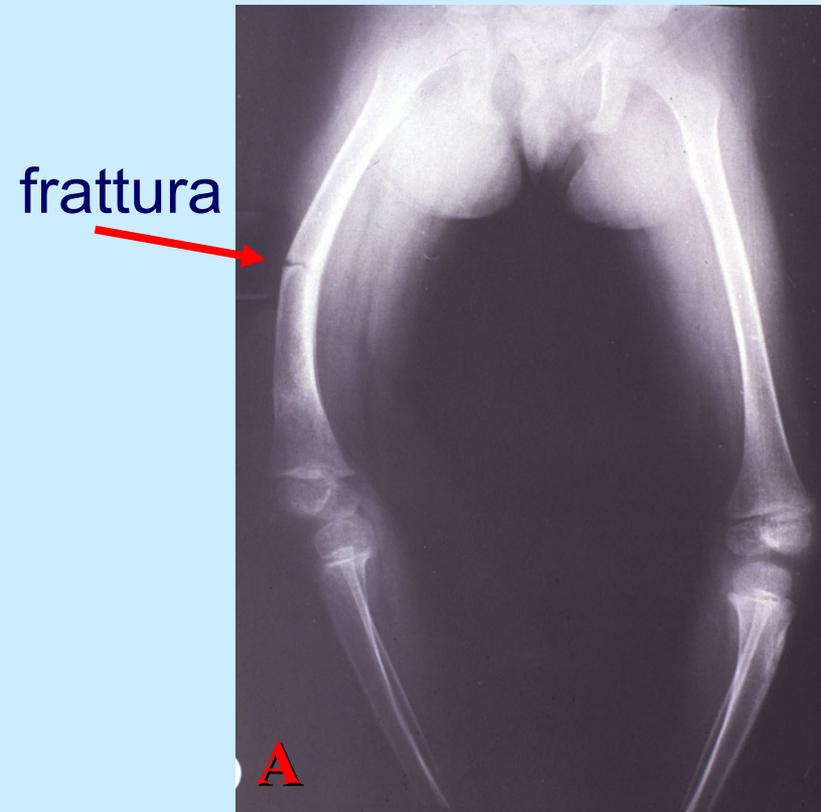
Difetti del collagene 3°



Approccio di studio

- Inquadramento clinico, biopsia cutanea
- Analisi biochimica del collagene da fibroblasti
- Analisi sequenze codificanti COL1A1 e COL1A2 per ricerca mutazione

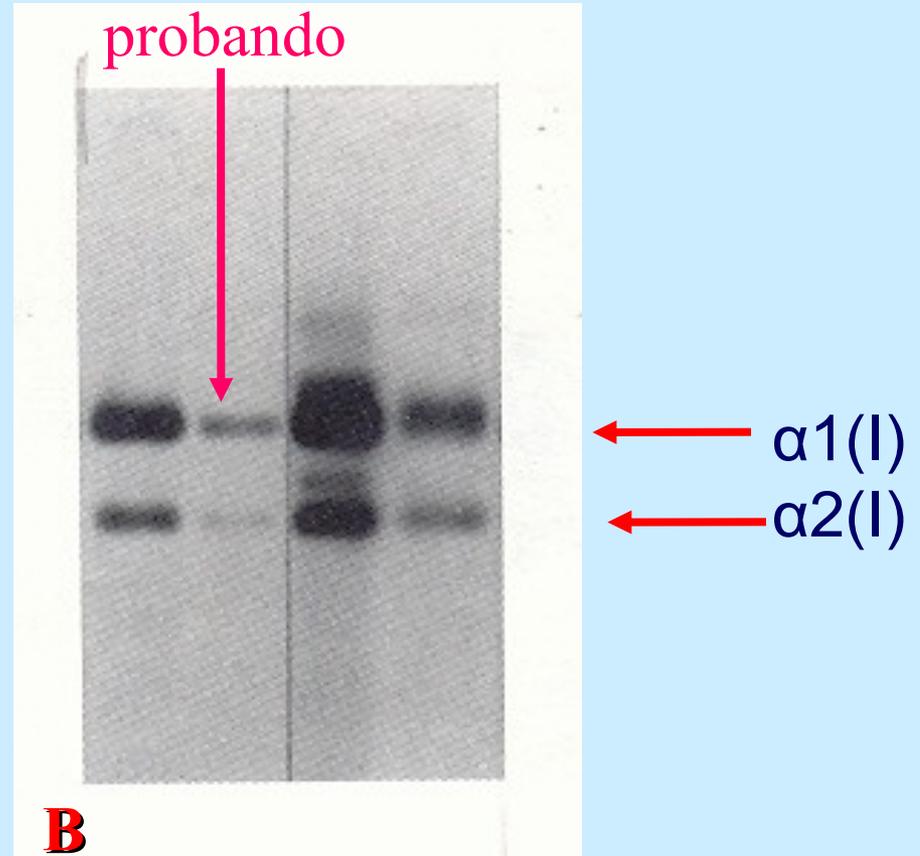
Esempio di O.I. tipo I



A - Arti inferiori con minimo incurvamento femorale e tibiale

B - SDS/PAGE di collagene digeriti con pepsina: N = probanda; F,P = controlli

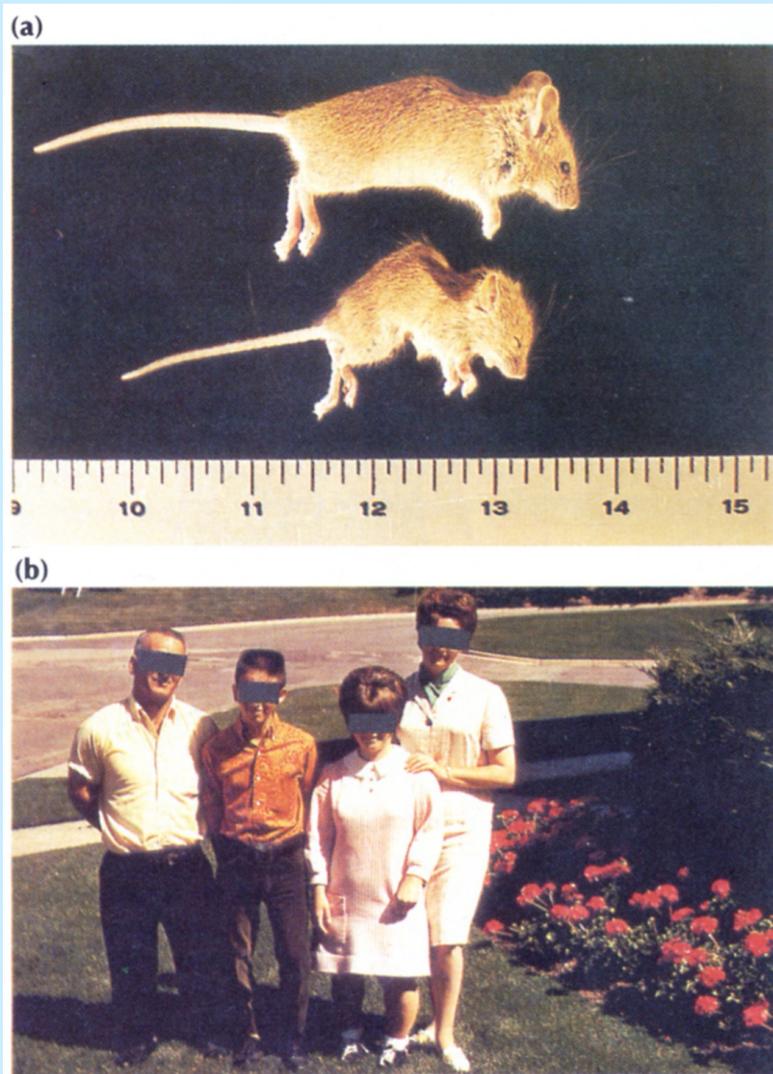
Esempio di O.I. tipo II (letale)



A - Rx

B - SDS/PAGE

MCDS: condrodisplasia metafisaria di Schmidt (collagene di tipo X)

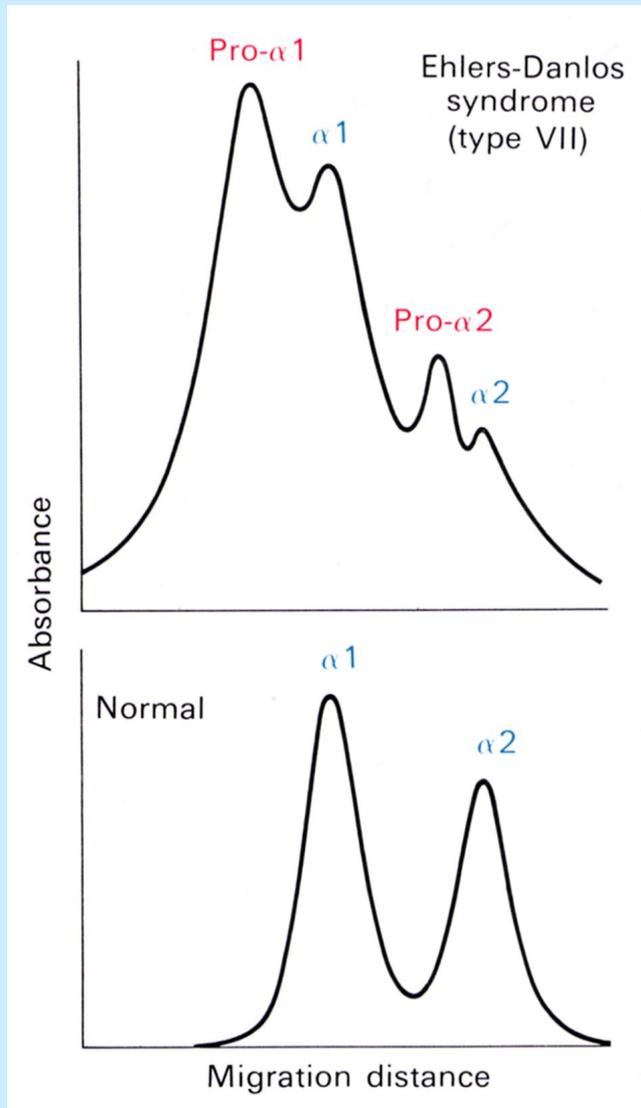


Le mutazioni nel collagene di tipo X sia nell'uomo che nel topo causano un difetto della genesi dell'osso a partire dalla cartilagine (condrociti **ipertrofici**) con eredità di tipo **autosomica e dominante**.

Il collagene di tipo X è costituito da tre identiche catene α , in cui il dominio a tripla elica è circa la metà della lunghezza dei collagene fibrillari.

Gli affetti presentano **bassa statura**, **ginocchio varo** (arcuato), deformità del collo del femore (**coxa vara**) e camminata a "papera".

Sindrome di Ehlers - Danlos 1°



Sindrome genetica a **carattere dominante**, caratterizzata da iperlassità cutanea e delle giunzioni (tipica dei contorsionisti), è dovuta al fatto che i telopeptidi del procollagene non vengono rimossi completamente.

Il collagene perde dunque le sue caratteristiche meccaniche alla trazione ed alla torsione.

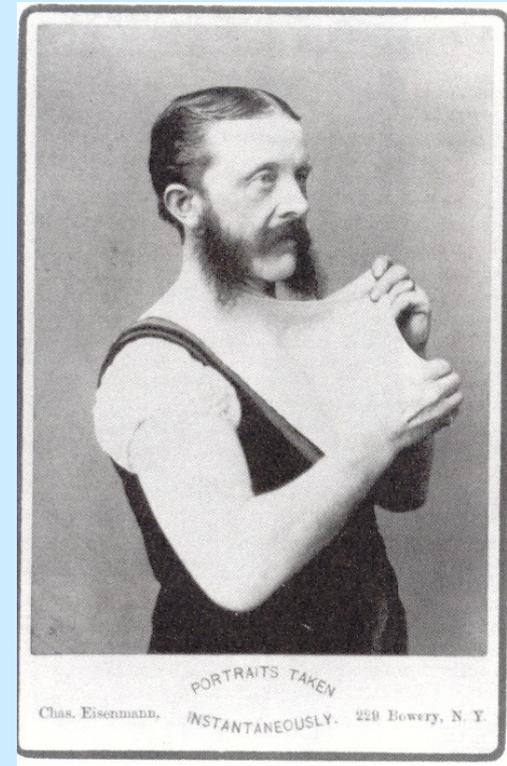
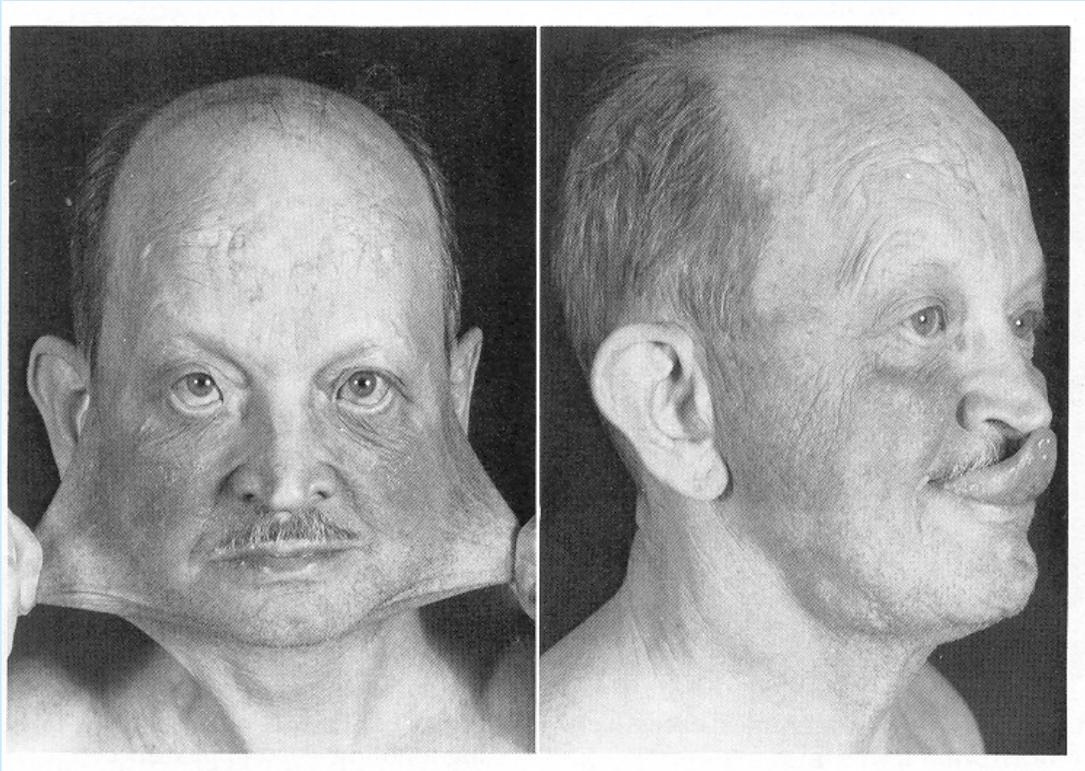
Frequenza 1-5/10000

Nella foto i profili elettroforetici di un collagene normale e di un collagene **Ehlers-Danlos**.

Sindrome di Ehlers - Danlos 2°

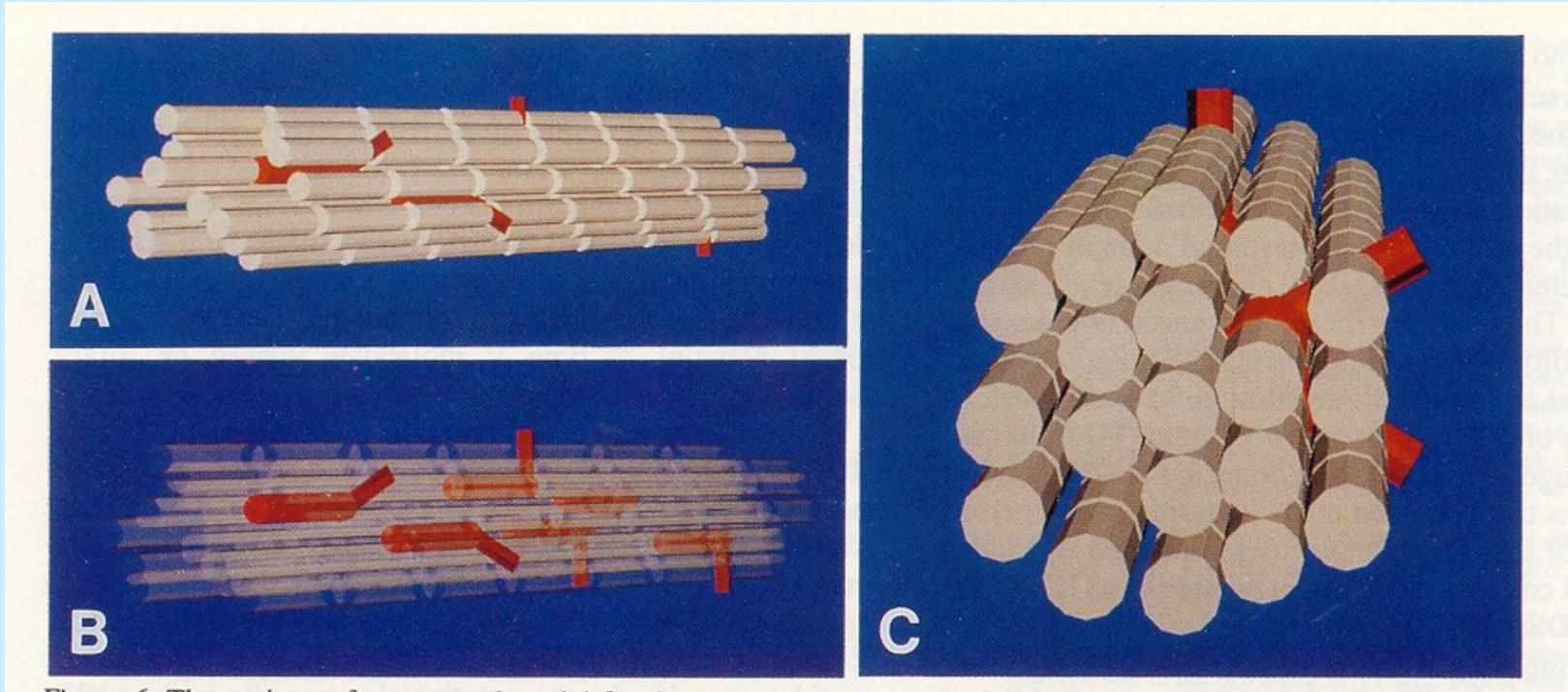
NOME	VECCHIA CLASSIF.	GENE MALATTIA	OMIM	EREDIT.
Classico	EDS I-II	COL5A1	130.000	AD
		COL5A2	130.010	
Vascolare ipermobile	EDS IV	COL3A1	130.050	AD
	EDS III		130.020	
Oculo-scoliotico	EDSVI	PLOD	225.400	AR
Artrocalasia	EDSVIIA/B	COL1A1	130.060	AD
		COL1A2		
Dermato-sparassi	EDSVIIC	ADAMTS2	225.410	AR

E.D.S. classico con sintomatologia cutanea



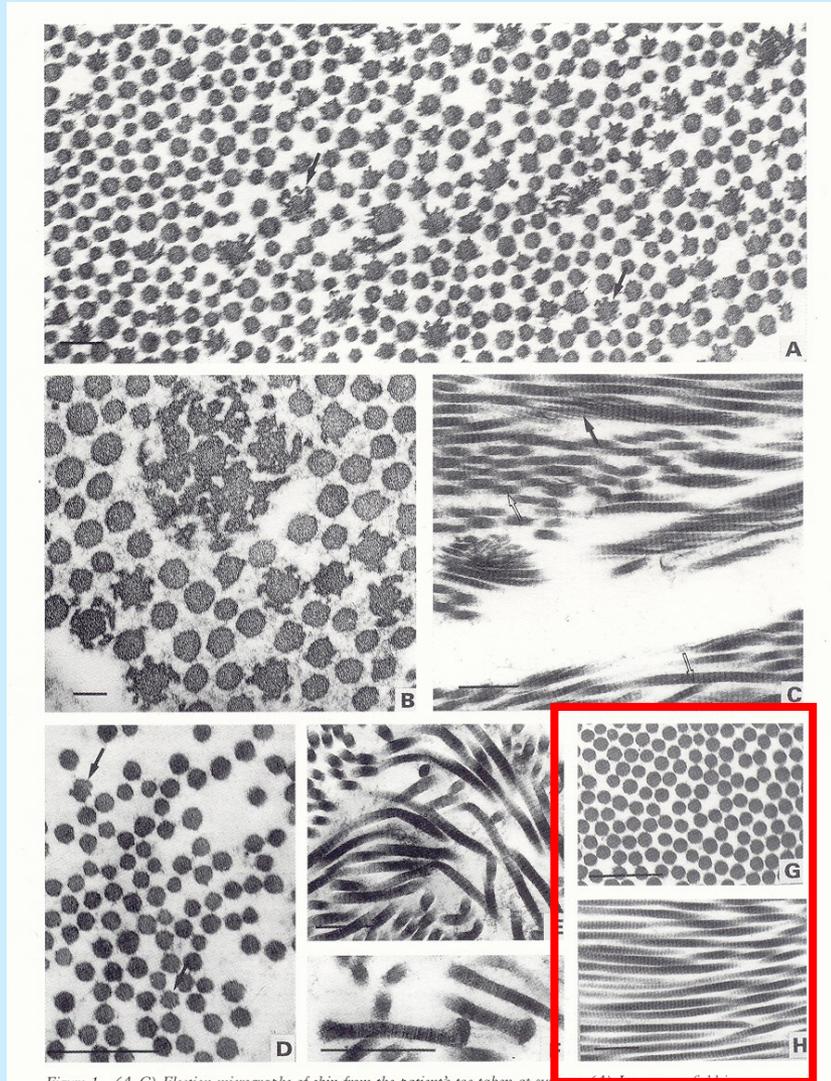
In questo tipo di EDS il difetto è a carico del collagene V

Fibrille eterotipiche



Fibrille formate da collagene di tipo I e di tipo V si ritrovano in vari tessuti quali cute, tendini e cornea, il tipo V determina morfologia e spessore

Fibrille eterotipiche in E.D.S.



Sezioni trasversali
e longitudinali
mostrano andamento
irregolare

Fibre regolari
nel riquadro

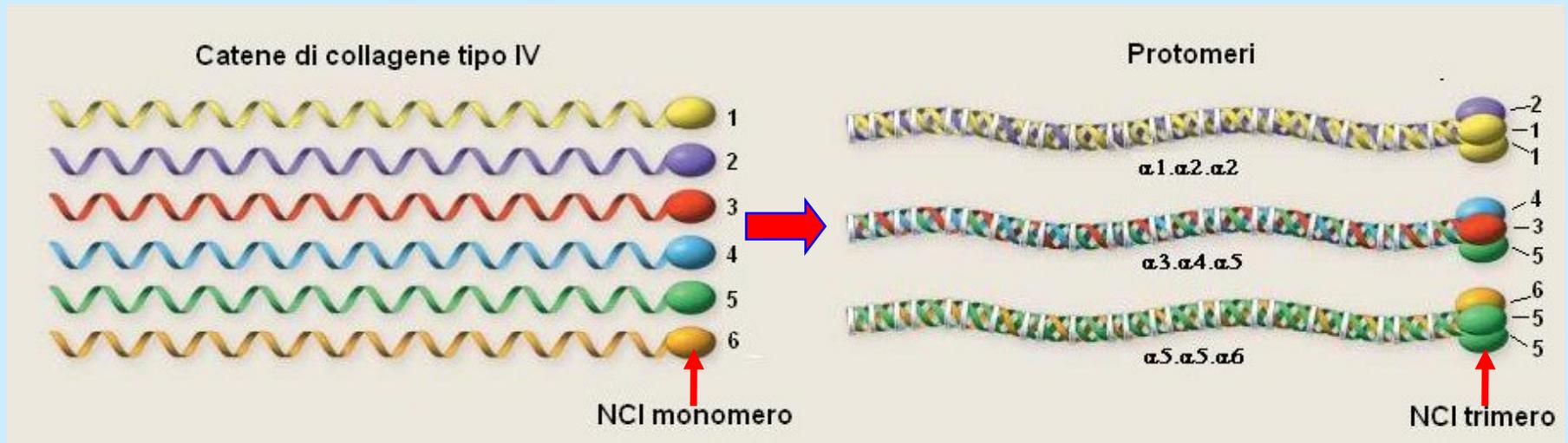
Lamine basali

Le lamine basali sono sottili tappeti flessibili (spessi 40 -120 nm) di matrice extracellulare specializzata, sottostante ai fogli e ai tubi di cellule epiteliali. Esse circondano anche singole cellule muscolari, cellule adipose e cellule di Schwann.

Sebbene la loro composizione vari da tessuto a tessuto ed anche da regione a regione nella stessa lamina, la maggior parte delle lamine basali contengono **collagene di tipo IV**, **eparan solfato**, **proteoglicano perlecano**, le **glicoproteine laminina** e **nidogeno**.

A volte come nell'epitelio squamoso multistrato che forma l'epidermide della pelle, la lamina basale è attaccata al tessuto connettivo sottostante da speciali fibrille di ancoraggio composte da molecole di **collagene di tipo VII**. In un tipo di malattia della pelle, queste connessioni sono distrutte e l'epidermide e la sua lamina basale si distaccano dal tessuto connettivo sottostante, provocando la formazione di vesciche (**epidermolisi**).

Collagene di tipo IV



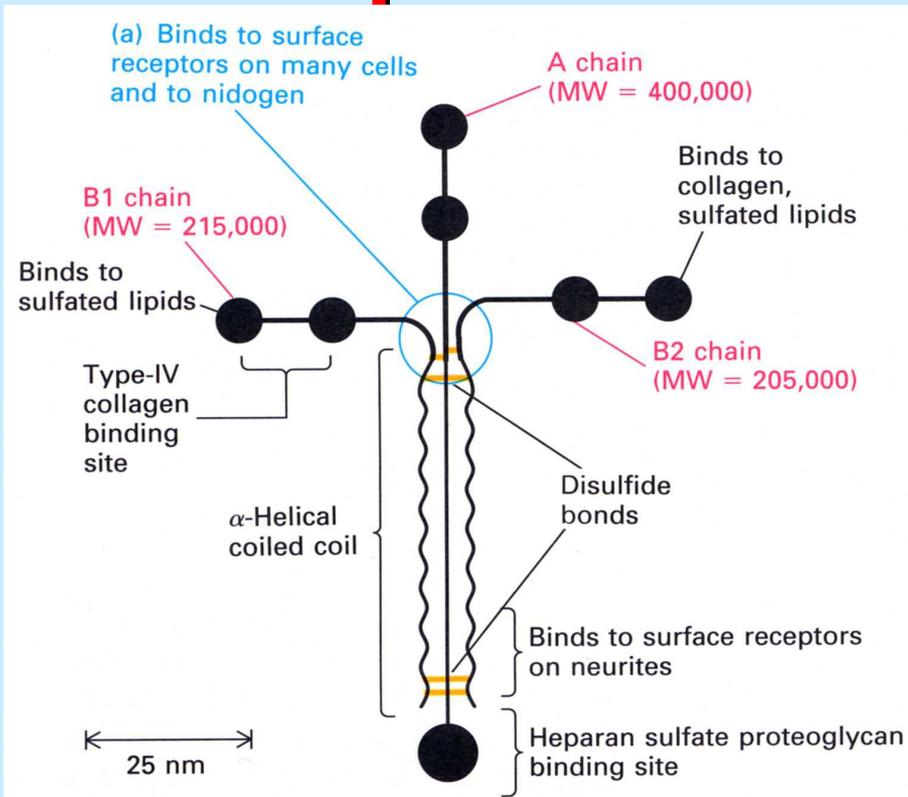
Il collagene di tipo IV è organizzato in triple eliche con terminali non collagenici (NCI) ipervariabili nella parte C-terminale. La selezione dei tipi di catena ! ! per l'assemblaggio nei protomeri trimerici è determinata da sequenze specifiche presenti sulla regione ipervariabile dei domini NCI.

Assemblaggio collagene tipo IV

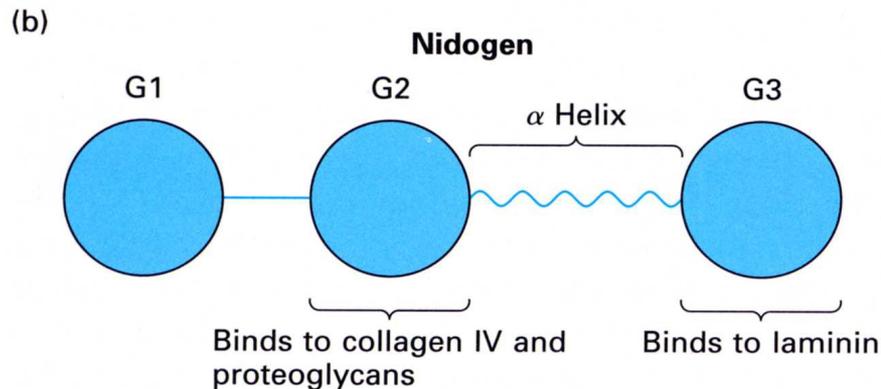


- A)** I protomeri si assemblano con altri protomeri per formare le membrane basali mediante l'unione di due trimeri NCI nella parte C-terminale ed associando quattro triple eliche nelle parti N-terminali (regione 7S).
- B)** Modello tridimensionale dell'esamero NCI indicato nel pannello A

Componenti della lamina basale

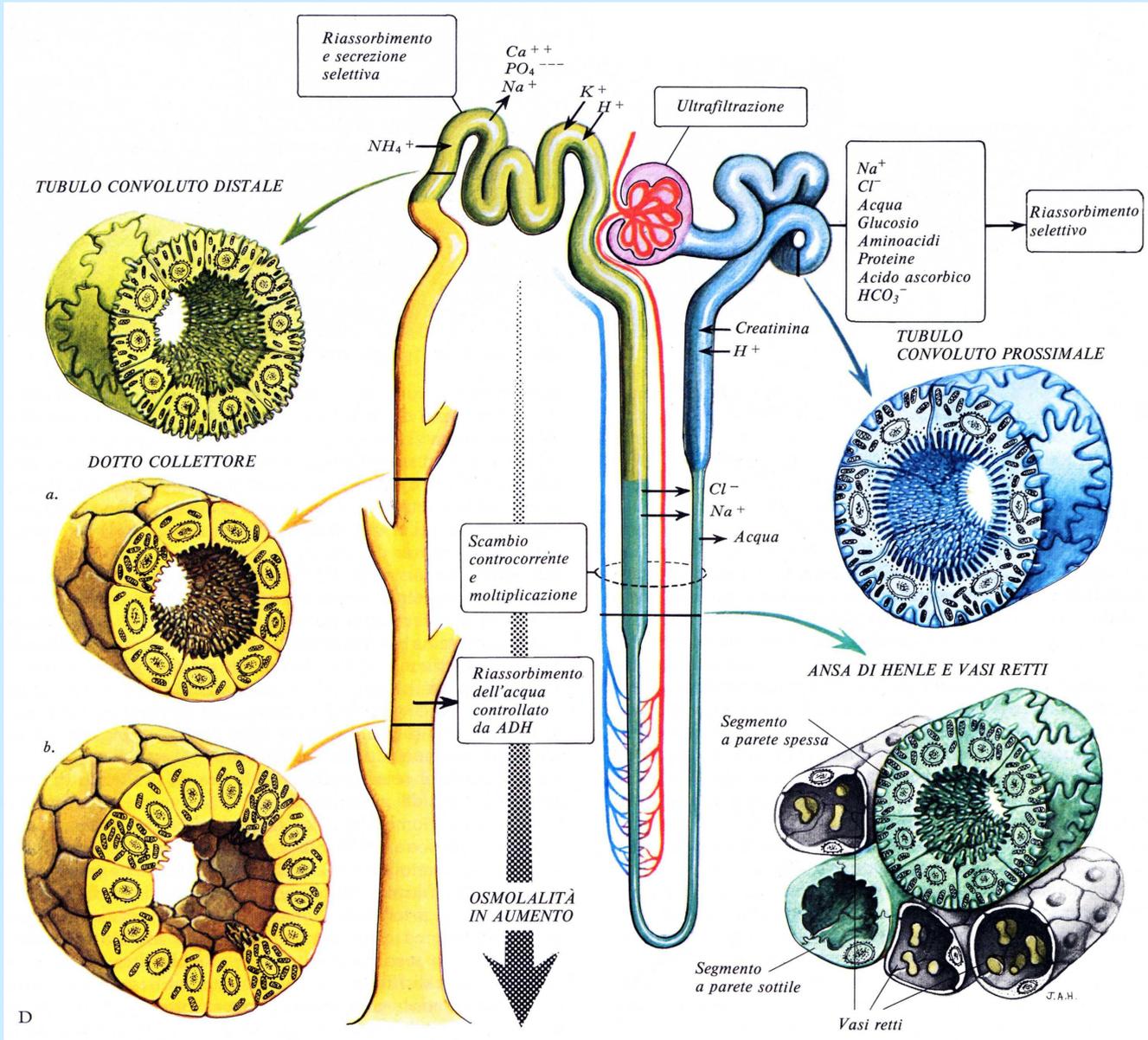


← **Struttura laminina**



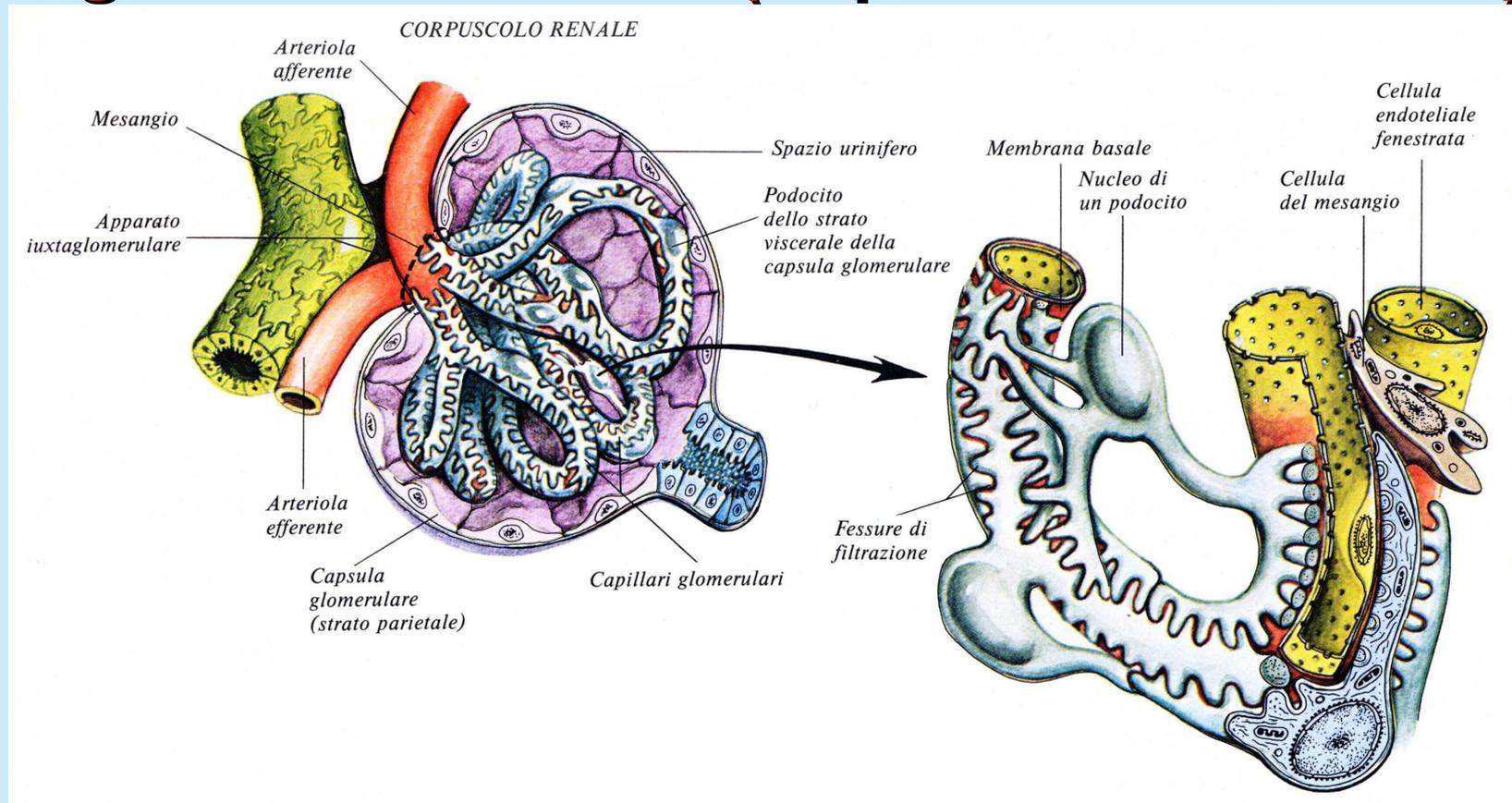
← **Struttura nidogeno**

La funzione renale



Il rene è composto da più di **10⁶ nefroni** o tubuli renali. I nefroni producono urina. Più nefroni convogliano urina nel medesimo dotto collettore. I dotti collettori inviano urina all'uretere. Ogni nefrone è costituito da un **glomerulo** in cui avviene la filtrazione del sangue supplied dalla arteriola efferente, dal tubulo convoluto prossimale, **dall'ansa di Henle**, dal tubulo convoluto distale e **dal dotto collettore**. Ad ogni settore del nefrone è associata una funzione specifica indicata in figura.

Il glomerulo renale (capsula di Bowman)



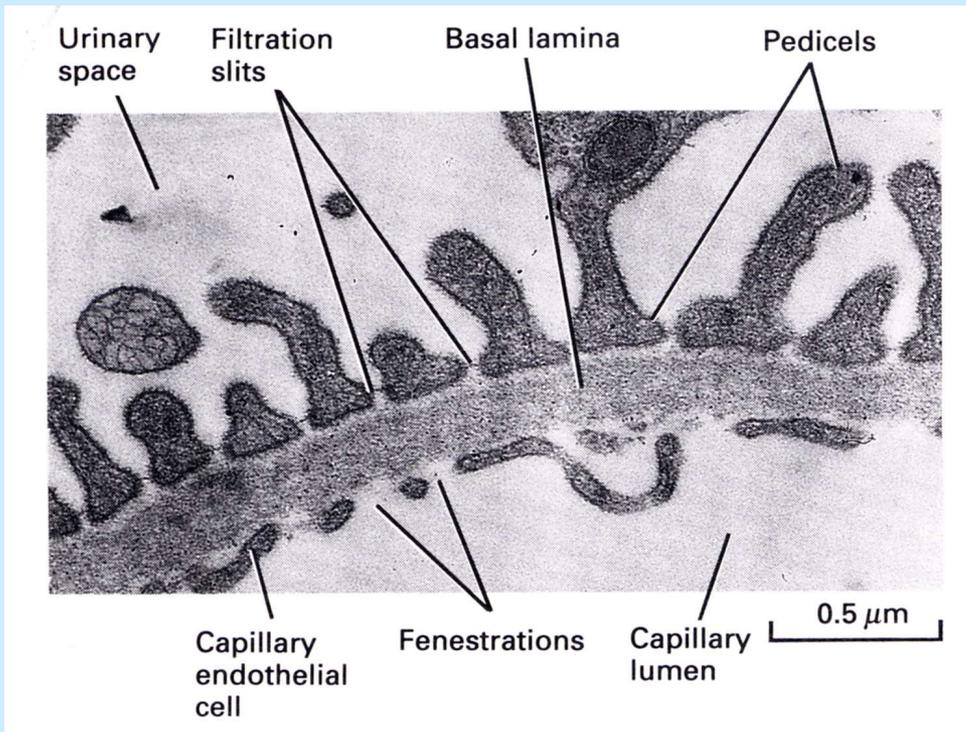
Nel glomerulo avviene la filtrazione del sangue. Attraverso la membrana basale passano oltre all'acqua, composti dell'azoto tossici (e.g. urea), sali sotto forma di ioni e sostanze nutritive (e.g. glucosio). Cellule e proteine seriche vengono invece trattenute nel sangue. Successivamente nel tubulo convoluto prossimale la maggior parte dell'acqua, dei sali e la totalità dei nutrienti viene riassorbita. Le sostanze azotate tossiche prodotte dal metabolismo, l'eccesso di sali, e parte dell'acqua confluiscono invece nell'uretere per essere poi eliminati. Alcune sostanze poi come idrogenioni, creatinina, o ad esempio antibiotici (penicillina) sono secreti dal sangue allo spazio urinifero del dotto convoluto distale mediante trasporto attivo.

La lamina del glomerulo renale

Micrografia al microscopio elettronico di una sezione di un glomerulo di rene di ratto. Si vede che la lamina basale funge da filtro nei capillari del sangue, formando un filtrato nello spazio urinifero che alla fine diventa urina.

Le cellule endoteliali che ricoprono internamente i capillari presentano siti di fenestrazione dove avviene il passaggio delle molecole dal sangue allo spazio urinifero, attraverso la lamina basale.

La lamina basale in questa regione è il prodotto di fusione di due lamine basali, una formata dalle cellule endoteliali e l'altra dalle cellule epiteliali ed è dunque di spessore doppio di molte altre lamine basali di altri tessuti.



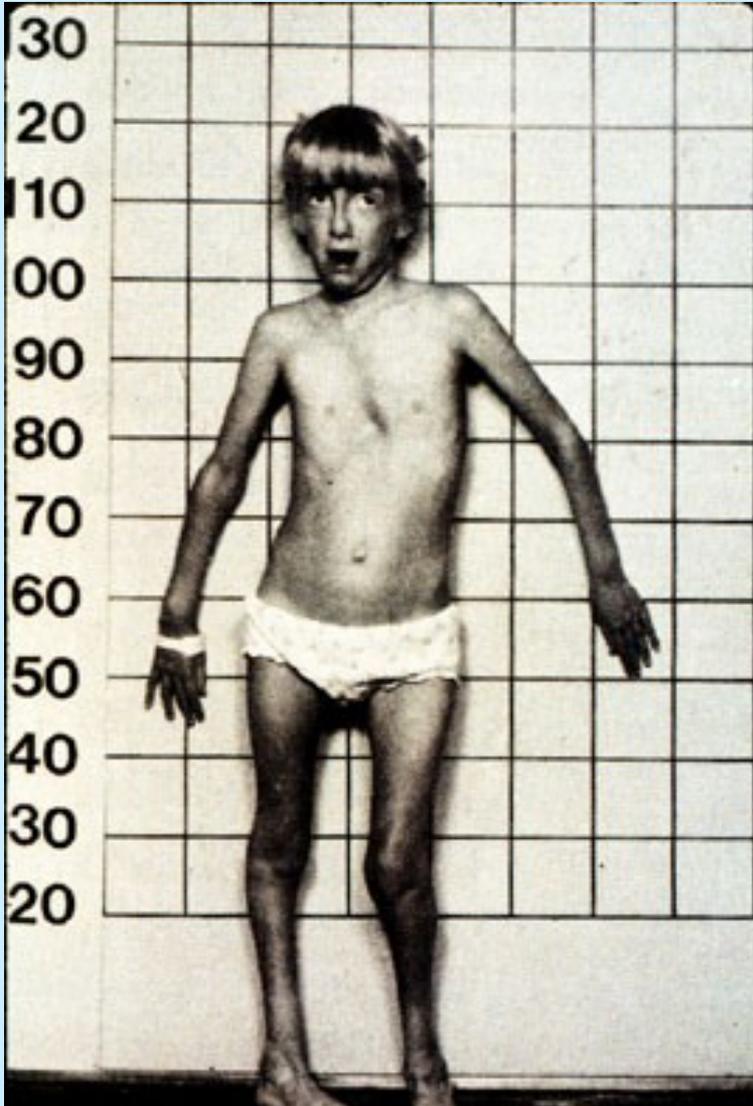
Funzioni del nefrone

Sostanza	Quantità filtrata (per giorno)	Quantità secreta (per giorno)	Quantità Riassorbita %
Acqua L	180	1.8	99.0
Sodio, g	630	3.2	99.5
Glucosio, g	180	0.0	100.0
Urea, g	54	30.0	44.0

Malattia di Alport

X-linked		
Adult	Some missense mutations or splice variants in the <i>COL4A5</i> gene, producing a reduction or distortion in $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) and $\alpha5.\alpha5.\alpha6$ (IV) networks	Delayed onset of renal failure (>30 yr of age), with mild deafness in men; less severe in female carriers
Juvenile	Deletions, nonsense mutations, or missense mutations in the <i>COL4A5</i> gene, producing a loss of $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) and $\alpha5.\alpha5.\alpha6$ (IV) networks	Early onset of renal failure (<30 yr of age) in men, with frank deafness and often lenticonus
Leiomyomatosis	Deletions from the <i>COL4A5</i> gene through to the second exon of the <i>COL4A6</i> gene, producing a loss of $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) and $\alpha5.\alpha5.\alpha6$ (IV) networks and smooth-muscle tumors	Early onset of renal failure, with esophageal dysfunction, genital leiomyomas, and occasional posterior cataract
Recessive	Homozygous or compound heterozygous nonsense mutations, missense mutations, frame shifts, small deletions, or splice variants in <i>COL4A3</i> or <i>COL4A4</i> gene, producing a loss of the $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) network	Early onset of renal failure (<30 yr of age) in both sexes
Dominant	Missense mutation in the <i>COL4A4</i> gene; splice variants or short in-frame deletions of the collagenous region; or shortened signal-peptide sequences in the <i>COL4A3</i> gene; defects produce aberrations in the $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) network	Renal failure of varying severity
Benign familial hematuria	Missense mutations in the <i>COL4A3</i> gene or splice variants, frame shifts, or missense mutations in the <i>COL4A4</i> gene, inherited in an autosomal dominant fashion, producing a subtle decrease in the $\alpha3.\alpha4.\alpha5$ (IV) network	Mild hematuria with thin basement membranes and rare hypertension or proteinuria that is nonprogressive; findings on kidney biopsy have been relatively normal
Nail-patella syndrome	Autosomal dominant mutation in the <i>LMX1B</i> transcription factor, which regulates the <i>COL4A3</i> or <i>COL4A4</i> gene as well as the genes encoding nephrin, podocin, and <i>CD2</i> -associated protein	Variable penetrance, but some children have nephrotic syndrome and skeletal and nail dysplasias

Sindrome di MARFAN (MFS)

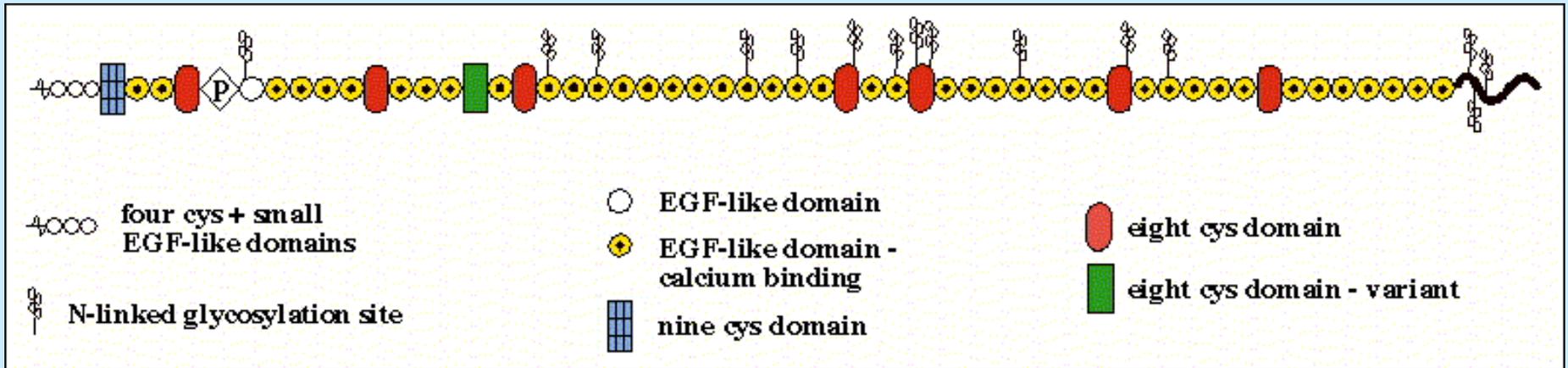


- ❑ Incidenza 1:10.000
- ❑ **Eredità AD** (almeno il 30% dei casi sono nuove mutazioni)
- ❑ Distretti colpiti:
 - Scheletrico** (sterno, colonna)
 - Cardiovascolare** (aorta, valvole cardiache)
 - Oculare** (miopia, ectopia del cristallino)

Distretti colpiti

Cardiovascular	Dilatation of the ascending aorta* Aortic dissection* Mitral regurgitation Calcification of mitral annulus Mitral valve prolapse Abdominal aortic aneurysm
Ophthalmological	Dysrhythmia Ectopia lentis* Flat cornea Elongated globe Retinal detachment Severe myopia
Neurological	Dural ectasia* Learning disability (verbal-performance discrepancy)
Respiratory skin/ integument	Pneumothorax Striae Hernia
Skeletal	Chest wall deformity Dolichostenomelia not resulting from scoliosis Arachnodactyly Vertebral column deformity Tall stature, especially compared to first degree relatives High, narrow arched palate Protrusio acetabulae Abnormal joint mobility

La “fibrillina”



La sindrome di Marfan classica (**MFS**) è dovuta a più di una mutazioni nel gene codificante per la fibrillina (**FBN1**), una proteina di 350 kd, costituente delle microfibrille elastiche

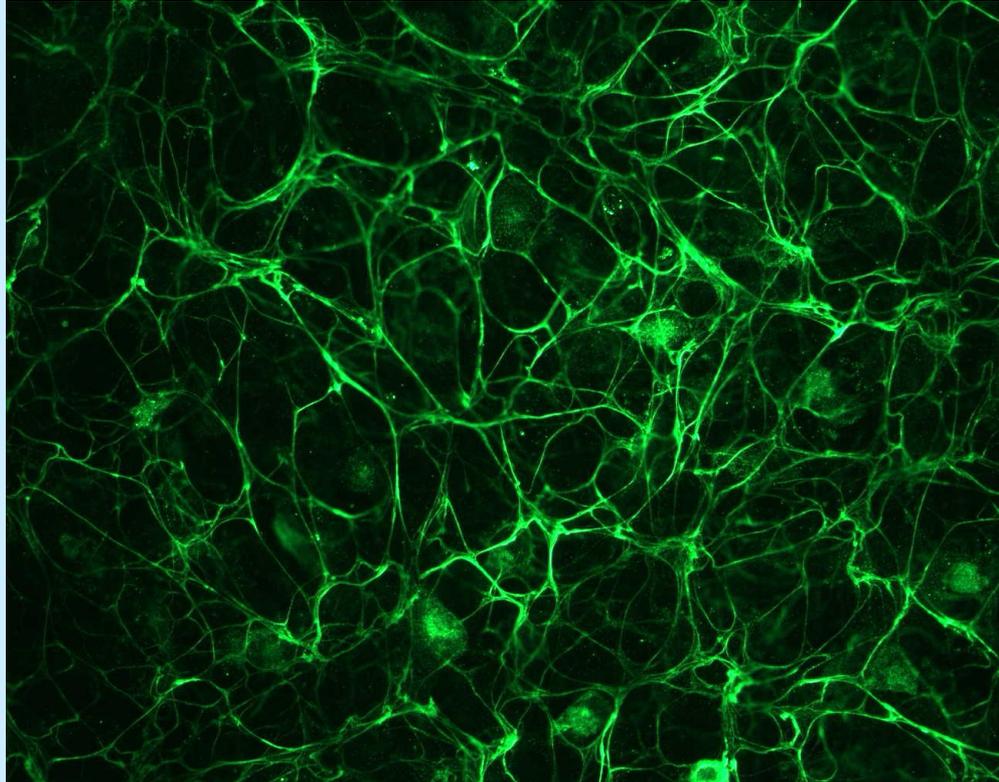
Il gene della “fibrillina”

**Fibrillin Exons in Which Mutations Causing
the Marfan Syndrome Have Been Documented**



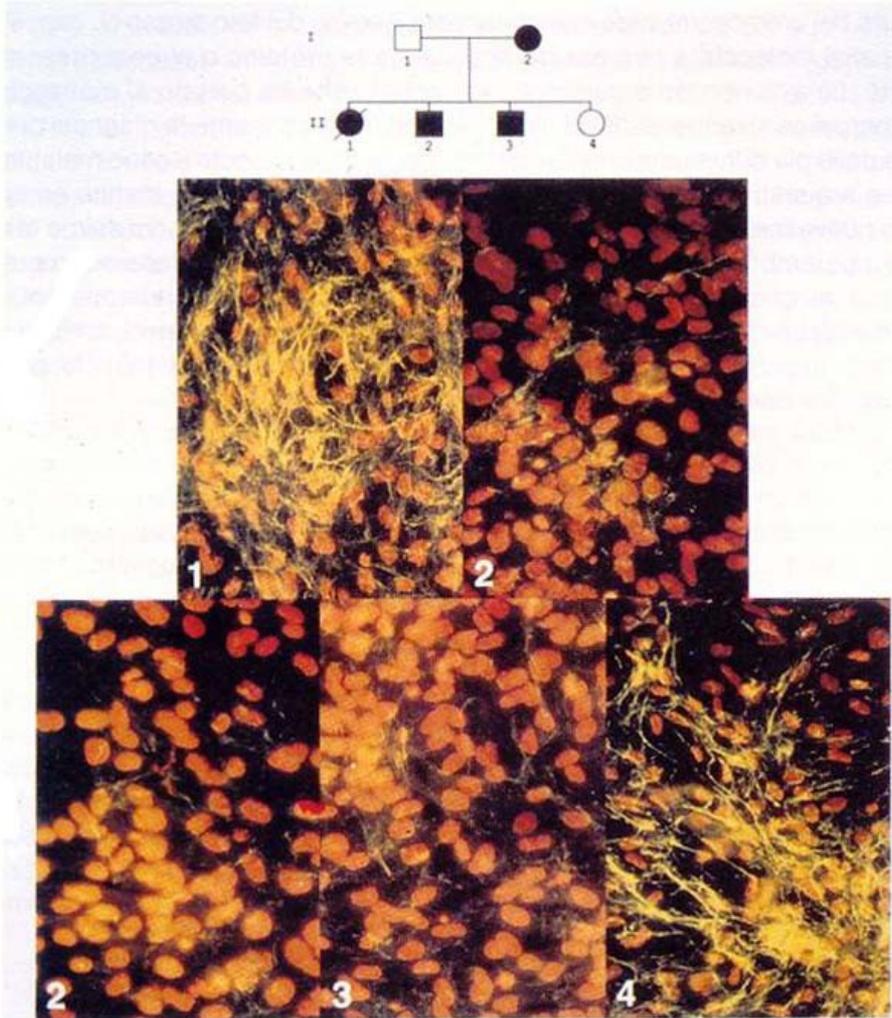
Il gene FBN1 (15q): 200 kb, 65 esoni, mRNA = 10 kb
Centinaia di mutazioni diverse sono state trovate in pazienti MFS

Immunocitochimica



Cellule di epitelio pigmentato colorate con anticorpi
anti fibrillina

Immunoistochimica di MFS

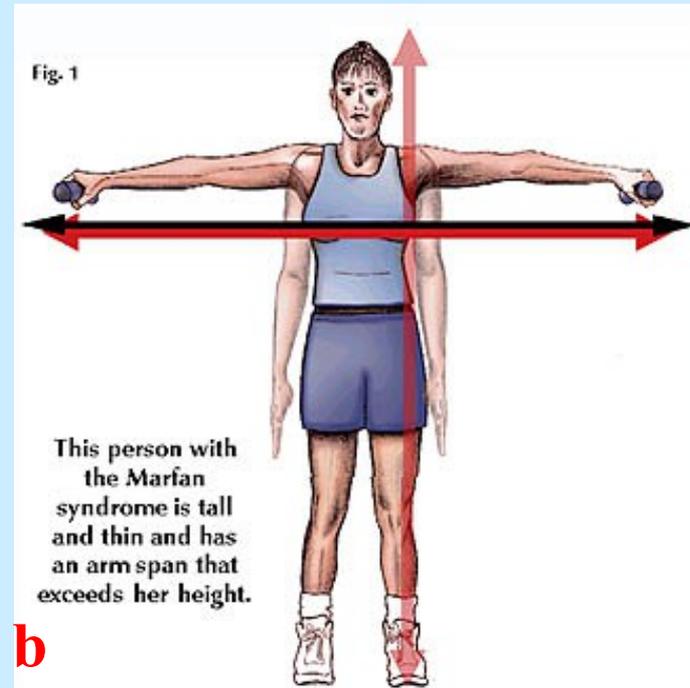
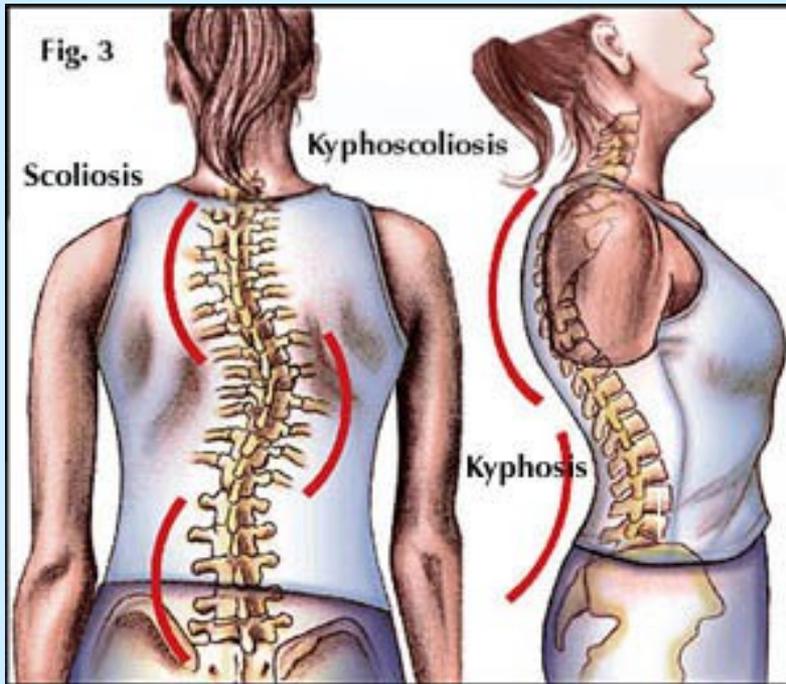


Indagine immunoistochimica su fibroblasti di individui sani (I-1 e II-4) e affetti da MFS (I-2, II-1, II-2, II-3).

Le microfibrille di **fibrillina** (gialle) sono visibili solo nei soggetti sani.

(I nuclei cellulari sono colorati in rosso con ioduro di propidio)

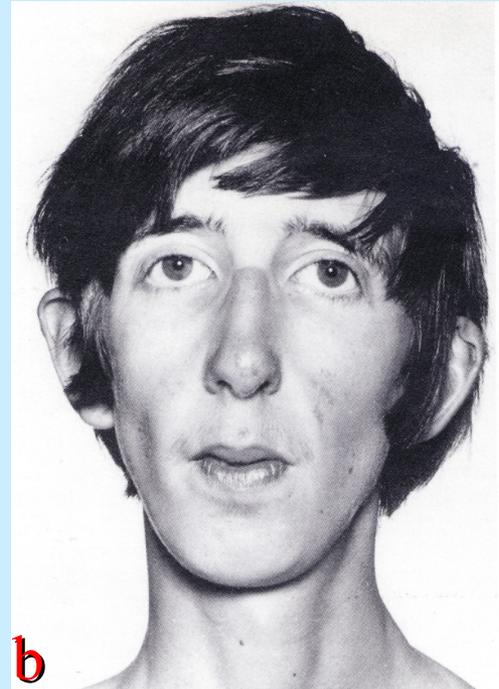
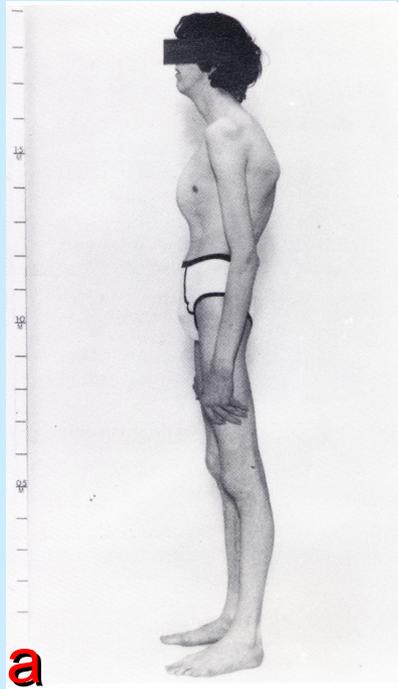
Segni clinici di MFS 1°



a) deformità della colonna

b) altezza e sproporzione rapporto arti/tronco (apertura delle braccia superiore alla statura)

Segni clinici di MFS 2°



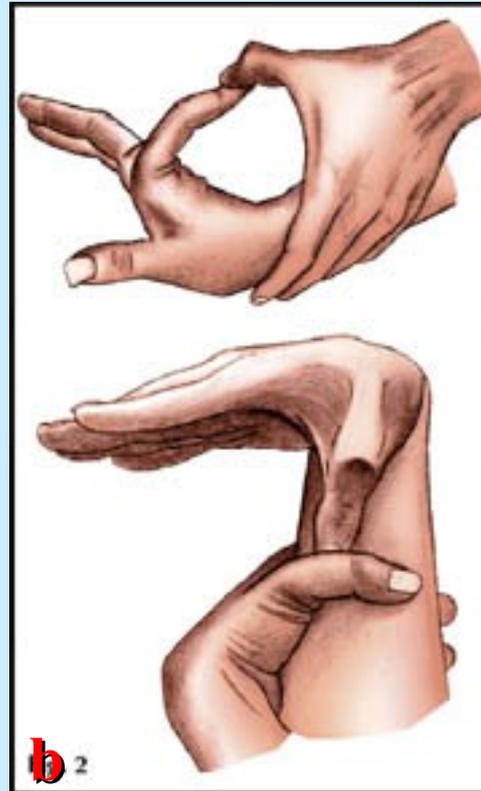
a) cifoscoliosi

b) dolicocefalia e ipoplasia degli zigomi

Segni clinici di MFS 2°



a



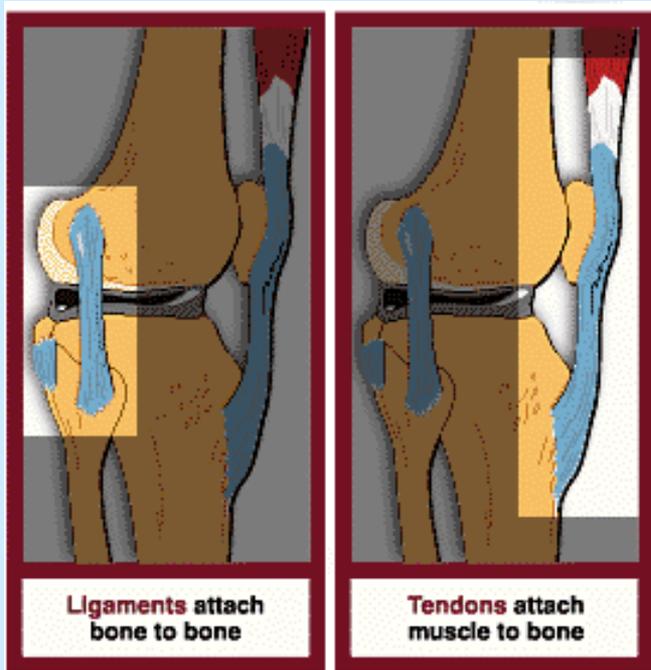
b



c

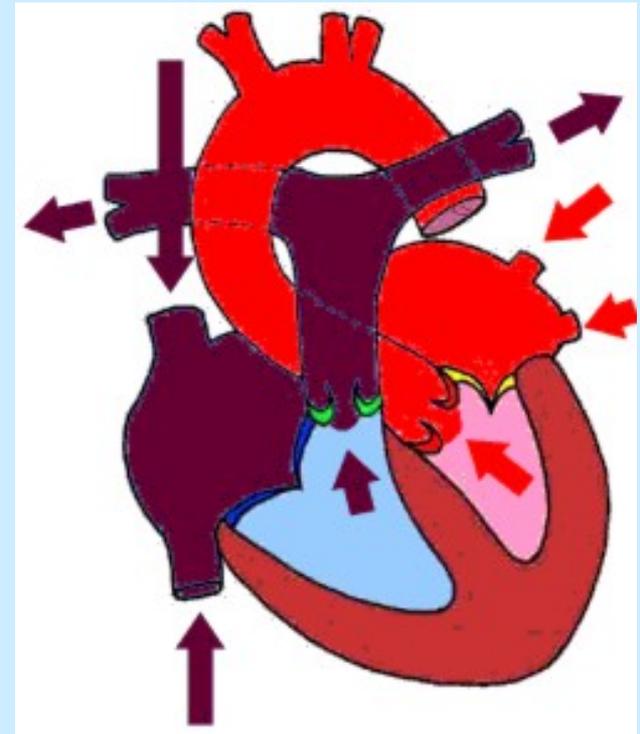
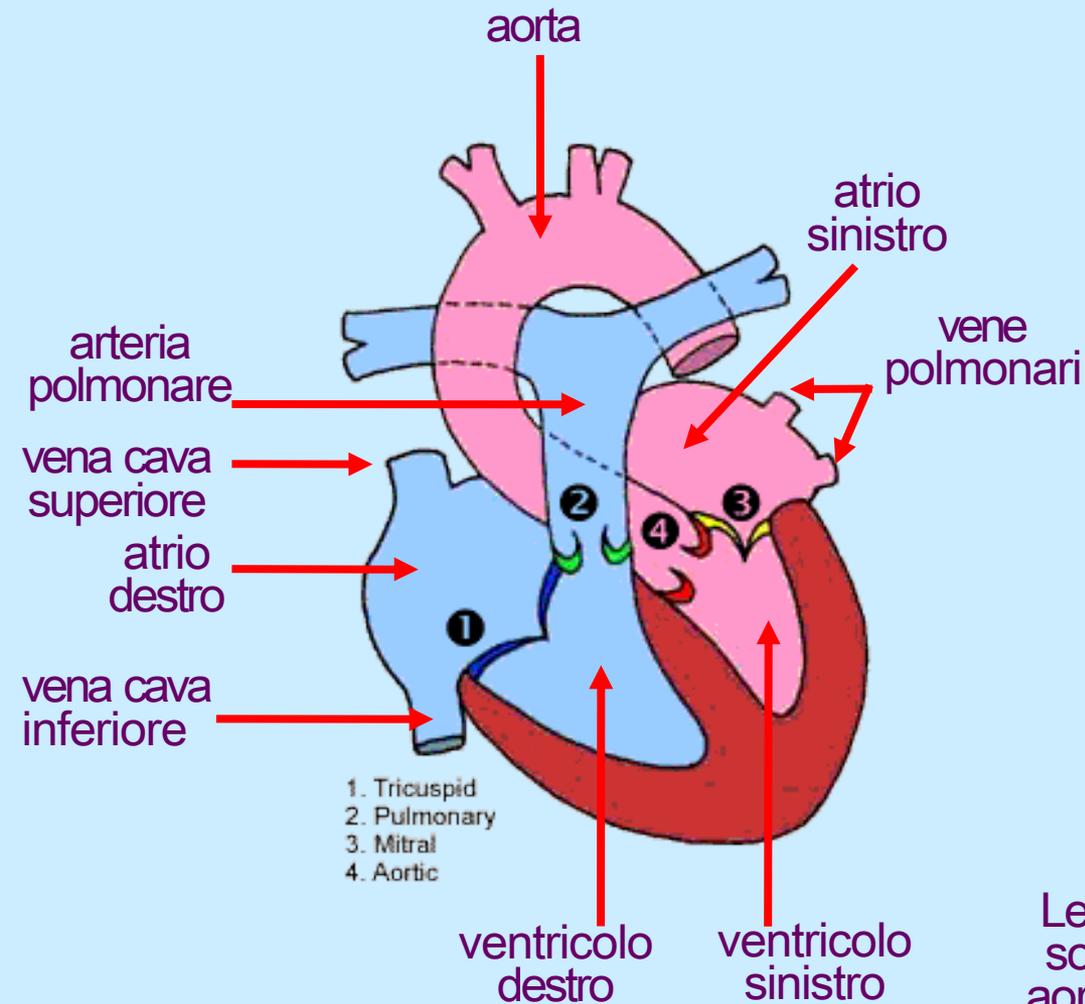
- a) dita lunghe ed affusolate**
- b) dita ipermobili**
- c) aracnodattilia**

Legamenti e tendini



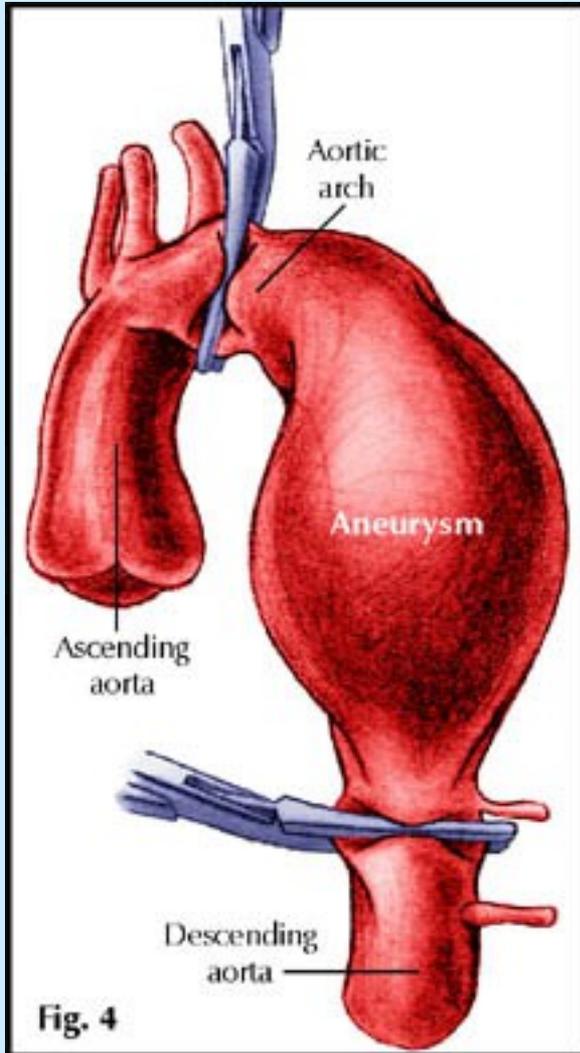
Tendini e legamenti sono costituiti da tessuto connettivo, e nella Sindrome di Marfan risultano indeboliti. Oltre a lassità legamentosa ed indebolimento muscolare, gli affetti presentano ossa allungate e tendenzialmente osteoporotiche.

Il cuore, le valvole e l'aorta



Le strutture soggette ad usura nella MF.S. sono principalmente le valvole mitrale ed aortica (soggette a prolasso) e l'aorta stessa (soggetta ad aneurisma)

Aneurisma dell'aorta



La mancanza di fibrillina (o la presenza di fibrillina anormale) compromette la capacità di tenuta della tunica media dell'aorta con

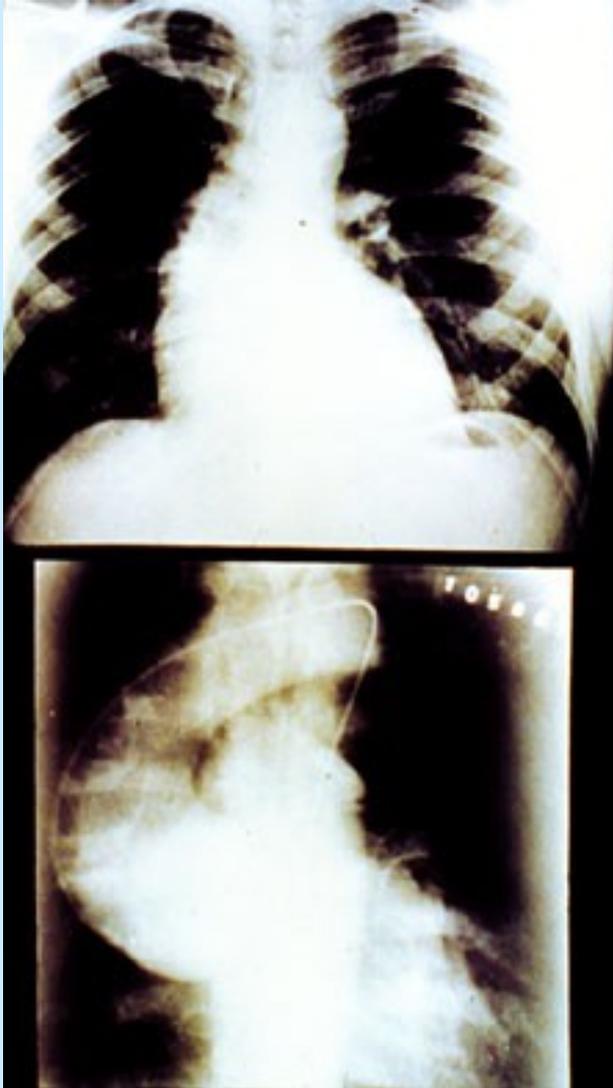
rischio di aneurisma o di

“aneurisma disseccante”

(principali cause di morte nei soggetti MFS)

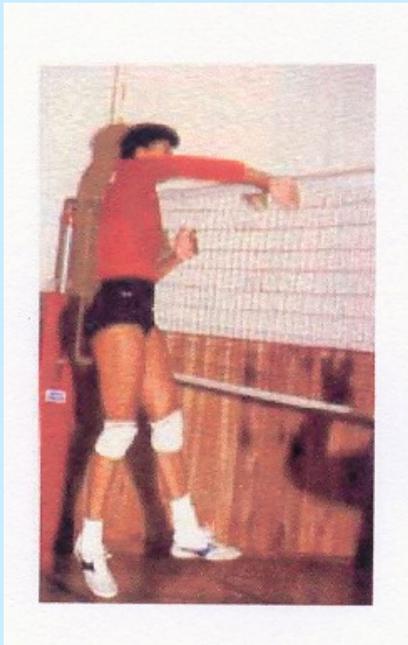
N.B. profilassi con β bloccanti

Aneurisma dell'aorta



Radiogramma di aneurisma
dell'aorta

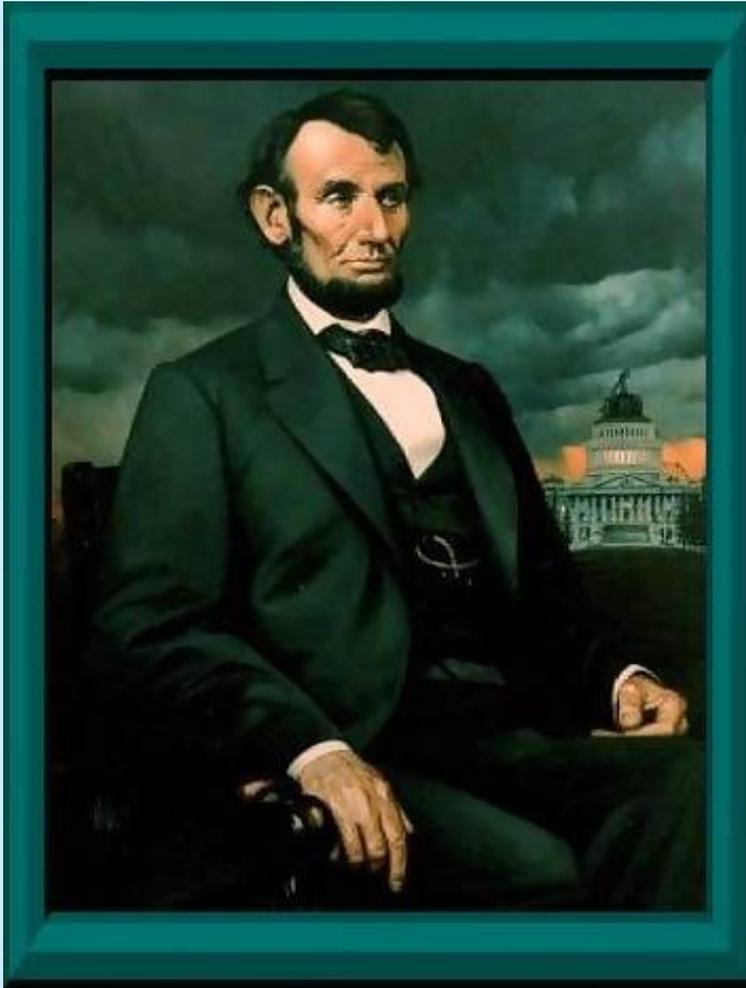
Vittime illustri



FLO HYMAN - mt. 1,98
(1954 -1986), leader della
squadra U.S.A. di volley,
morì in Giappone
durante una partita,
stroncata da aneurisma
dell'aorta.

Diagnosi "post mortem": MF.S

Abraham Lincoln



Il fenotipo “**MARFANOIDE**”
suggerirebbe che anche

Abraham Lincoln

(16° presidente USA)
fosse affetto da MFS

Aspettative di vita per MFS

