



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE

SINDROME DI WERNER: ESEMPIO DI UNA RARA MALATTIA GENETICA

WERNER SYNDROME: AN EXAMPLE OF A RARE GENETIC DISEASE

Candidato: Rebecca Fiore

Docente Referente: Marco Barucca

Anno accademico: 2020-2021

Le *sindromi progeroidi* sono un gruppo di rare malattie genetiche ereditarie che causano un rapido invecchiamento e una durata della vita ridotta.

Tali sindromi si possono distinguere in:

1. *Sindromi progeroidi unimodali*, come il morbo di Alzheimer e il morbo di Parkinson;
2. *Sindromi progeroidi segmentali*, come la sindrome di Werner (WS).

La *sindrome di Werner* è una rara malattia genetica autosomica recessiva, caratterizzata da invecchiamento precoce e predisposizione ai tumori.

I pazienti affetti da WS generalmente presentano un normale sviluppo fino all'età dell'adolescenza, per poi iniziare a manifestare fenotipicamente le caratteristiche tipiche della malattia dopo la pubertà (Figura 1).



Figura 1

Paziente affetta da sindrome di Werner con normale sviluppo fino ai 21 anni e con successiva manifestazione fenotipica della malattia.

(Werner Syndrome: Clinical Features, Pathogenesis and Potential Therapeutic Interventions.)

1. I *disturbi principali* dei pazienti affetti da sindrome di Werner sono:

Cataratta bilaterale
Incanutimento e/o assottigliamento prematuro dei capelli
Patologie dermatologiche caratteristiche (cute tesa, cute atrofica, alterazioni pigmentarie, ulcerazioni, ipercheratosi, atrofia regionale sottocutanea) e facies (facies ad "uccello")
Bassa statura

2. I *disturbi aggiuntivi* includono:

Diabete mellito di tipo 2
Ipogonadismo (sottosviluppo sessuale secondario, ridotta fertilità, atrofia testicolare o ovarica)
Osteoporosi
Osteosclerosi delle falangi distali
Calcificazione dei tessuti molli
Evidenza di aterosclerosi prematura (es. storia di infarto del miocardio)
Neoplasie mesenchimali, neoplasie rare o neoplasie multiple.
Cambiamenti di voce (voce acuta, stridula o rauca)
Piedi piatti

Le *cause di morte* più comuni nei pazienti affetti da WS sono il cancro e l'infarto miocardico, ad un'età media di 54 anni.

- La sindrome di Werner è particolarmente diffusa nelle popolazioni ad elevato tasso di consanguineità, quali il Giappone e la Sardegna (Figura 2).



Figura 2

Paesi a maggior tasso di consanguineità e conseguentemente con maggiore diffusione della WS.
(https://www.archweb.it/dwg/geografia_mappe_dwg/geografia_mappe_dwg.htm)

La sindrome di Werner è fenotipicamente osservabile negli:

- *Omozigoti*
- *Eterozigoti composti*

Essa è dovuta a mutazioni nulle a livello del gene WRN. Vengono definite mutazioni nulle quelle che possono causare la completa mancanza di produzione del prodotto genico associato o la formazione di un prodotto non funzionale.

- Il *gene WRN* è localizzato sul cromosoma 8p12 (Figura 3), presenta 34 esoni che coprono 140 kb e codifica per la proteina WRN.

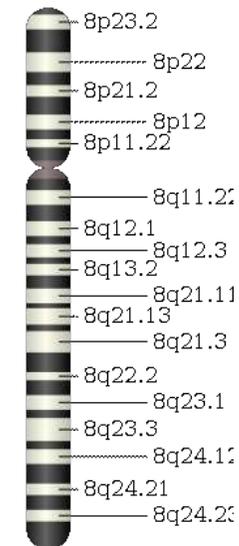


Figura 3
Cromosoma 8 nell'uomo.
(https://it.wikipedia.org/wiki/Cromosoma_8)

La **proteina WRN** è una proteina nucleare multifunzionale di 160 kDa e caratterizzata da 1.432 amminoacidi (Figura 4).

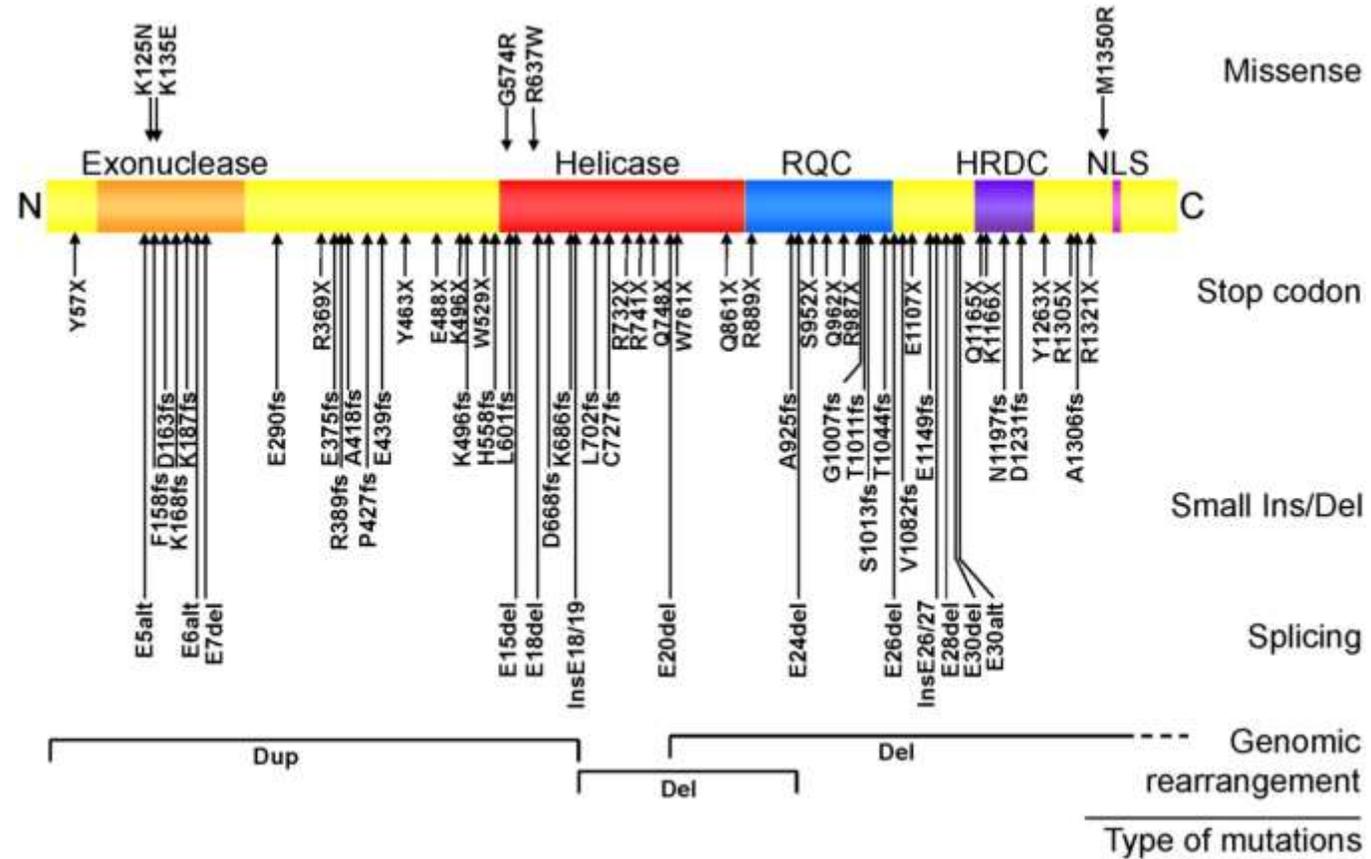


Figura 4

La casella rettangolare mostra la proteina WRN con i rispettivi domini funzionali.

Sono, inoltre, mostrate le mutazioni geniche che determinano o la produzione della proteina alterata o la mancata produzione della proteina stessa.

(Werner Syndrome: Clinical Features, Pathogenesis and Potential Therapeutic Interventions.)

- La proteina WRN, con i suoi domini funzionali (Tabella 1), permette il mantenimento e la riparazione del DNA.

<i>Dominio</i>	<i>Funzione</i>
Dominio esonucleasico 3' → 5' (Regione N-terminale)	Consente la rimozione dei nucleotidi, appaiati erroneamente, alle estremità della molecola di DNA.
Dominio elicastico, ATP-dipendente, 3' → 5' (Regione centrale)	Consente lo svolgimento e la separazione del doppio filamento della molecola di DNA (lo svolgimento è necessario ai fini della riparazione, replicazione e trascrizione).
Dominio RQC (Regione conservata dell'elicasi RecQ)	Consente il legame della proteina alla molecola di DNA per avviare lo svolgimento del doppio filamento di questa.
Dominio HRDC (Regione conservata dell'elicasi e RNasiD C-terminale)	Consente il legame della proteina alla molecola di DNA in seguito a rottura del doppio filamento di quest'ultima (DSB).
Segnale di localizzazione nucleare (NLS) (Regione C-terminale)	Consente l'importazione della proteina nel nucleo della cellula. Quando questa è localizzata nel nucleo diviene funzionale, interagendo con la molecola di DNA.

Tabella 1
Domini della proteina WRN
e le rispettive funzioni.

Dunque, la proteina WRN è coinvolta in diversi meccanismi associati alla riparazione, replicazione e trascrizione del DNA. Ne sono esempi l'interazione della proteina con fattori di *riparazione della rottura del doppio filamento* e il coinvolgimento della proteina nel *riavvio di un fork di replicazione in stallo*.

- La proteina WRN riveste un importante ruolo nel mantenimento dei telomeri (Figura 5).

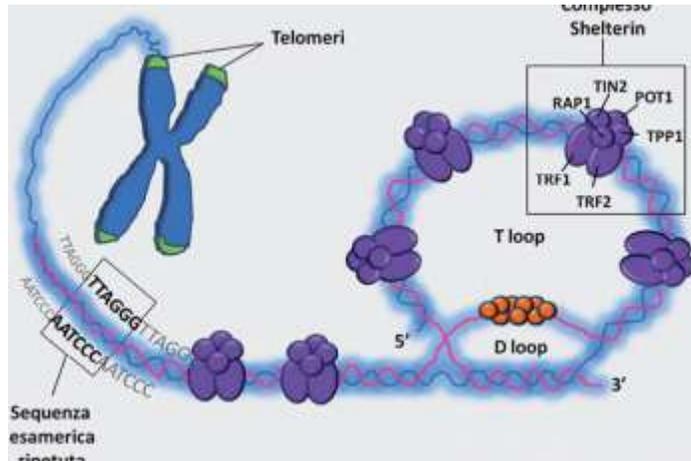


Figura 5

Struttura dei telomeri.

(<https://www.focus.it/scienza/scienze/che-cosa-sono-i-telomeri>)

Tale proteina *svolge strutture come i G-quadruplex*, formati in sequenze telomeriche ricche di G, in modo da rendere la regione accessibile alla DNA-polimerasi e alla telomerasi.

L'assenza di proteina WRN causa la presenza di forcelle di replicazione in stallo a livello delle strutture G-quadruplex, andando a determinare un ritardo nella sintesi del filamento telomerico e un accorciamento accelerato dei telomeri. Ciò è causa di una senescenza precoce.

I ruoli della proteina WRN a livello telomerico possono in parte spiegare lo spettro tumorale caratteristico dei pazienti con WS.

Lo sviluppo di neoplasie richiede un meccanismo di allungamento dei telomeri, attraverso:

- La riattivazione dell'espressione di hTERT;
- L'acquisizione del meccanismo di allungamento alternativo dei telomeri (ALT).

Più di settanta diverse mutazioni sono state identificate in pazienti con WS.

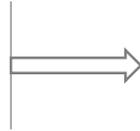
- *Mutazioni nonsense* (sostituzione di un amminoacido con un codone di stop)
- *Mutazioni frameshift* (inserzione o delezione di una o più coppie di basi che alterano la fase di lettura)
- *Mutazioni di splicing* (erroneo meccanismo di splicing)



Tali mutazioni determinano:

- La *produzione di una proteina tronca*, priva del segnale di localizzazione nucleare.
- Una *maggior degradazione dell'mRNA*.

- *Mutazioni missenso* (sostituzione di un amminoacido con un altro)



- *Riarrangiamenti genomici, quali duplicazioni e delezioni* (comportano un cambiamento nella quantità di DNA)

Tali mutazioni determinano:

- la *formazione di una proteina alterata e non funzionale*. In assenza della normale proteina Werner nel nucleo, le cellule non sono in grado di svolgere i normali compiti di replicazione, riparazione e trascrizione del DNA con conseguente accumulo di danni.

Ne sono esempi: due mutazioni di sostituzione dell'amminoacido all'interno del dominio dell'esonucleasi, *p.Lys125Asn* e *Lys135Glu* e due mutazioni di sostituzione dell'amminoacido all'interno del dominio dell'elicasi, *p.Gly574Arg* e *p.Arg637Trp*

L'insieme di queste *mutazioni* determinano: instabilità genomica e perdita della capacità replicativa (Figura 6).

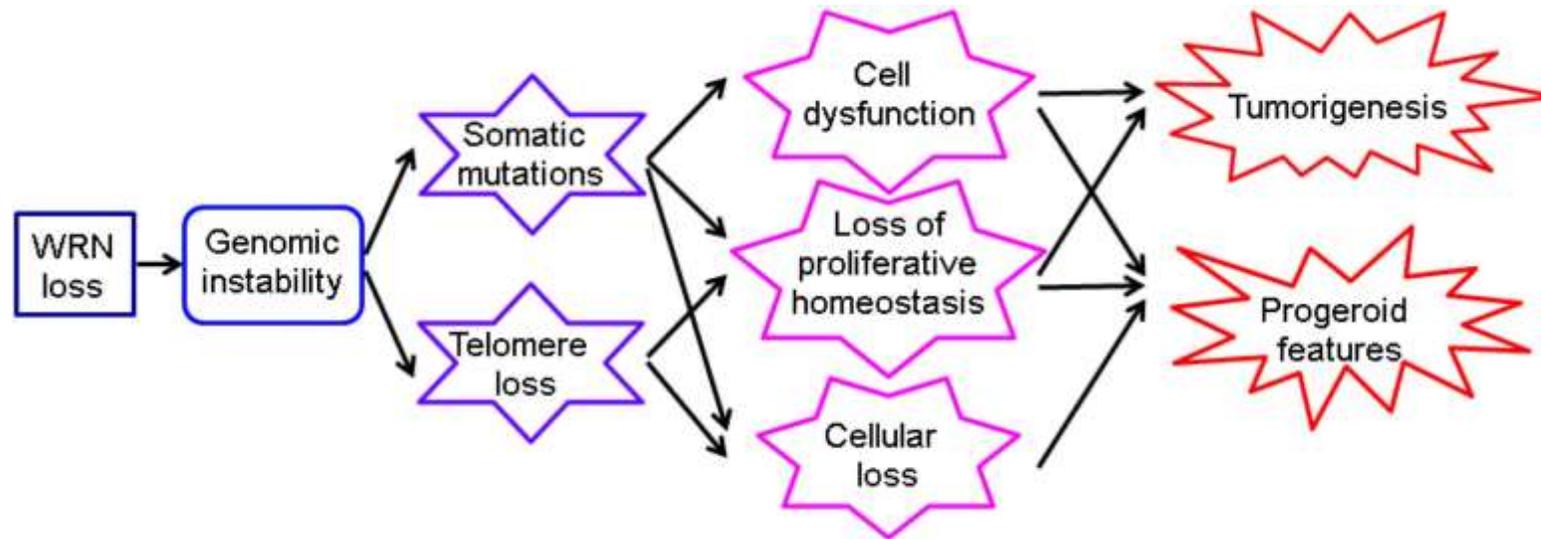


Figura 6

Mutazioni a livello del gene WRN portano alla produzione di una proteina non funzionale. Questo causa instabilità genomica, la quale determina mutazioni somatiche e perdita telomerica, che a loro volta determinano una non corretta funzionalità della cellula, una capacità replicativa molto bassa e morte cellulare. Ciò comporta lo sviluppo di tumori e di sindromi progeroidi.

(Werner Syndrome: Clinical Features, Pathogenesis and Potential Therapeutic Interventions.)

Ad oggi non è disponibile una cura per la sindrome di Werner, per questo motivo il trattamento dei pazienti è simile a quello della popolazione generale, ad eccezione delle neoplasie, dove l'uso di agenti chemioterapici potrebbe provocare ulteriori danni al DNA.

Sono in fase di studio diversi approcci terapeutici che potrebbero risultare efficaci contro la malattia, come ad esempio:

- Inibitori di mTOR
- Inibitori di p38
- iPSC

Riassumendo

La sindrome di Werner è una rara malattia genetica autosomica recessiva, che determina un invecchiamento precoce ed una maggiore predisposizione ai tumori. Tale sindrome è dovuta a mutazioni nulle a livello del gene WRN, il quale codifica per una proteina implicata nella normale attività cellulare. Mutazioni a livello di questo gene determinano instabilità genomica e perdita telomerica. La sindrome di Werner, a differenza delle altre sindromi progeroidi, si manifesta fenotipicamente con l'inizio della pubertà ed è caratterizzata da specifici sintomi. Ad oggi non vi è una vera e propria cura, ma sono diversi gli studi che si stanno portando avanti per migliorare la qualità e la durata di vita dei pazienti che ne sono affetti.

Bibliografia

Oshima J., Sidorova J.M., Monnat Jr R.J. (2017). Werner Syndrome: Clinical Features, Pathogenesis and Potential Therapeutic Interventions. *Ageing Res Rev.*, 33: 105–114. doi:10.1016/j.arr.2016.03.002.

Oshima J., Hisama F.M.(2014). Search and Insights into Novel Genetic Alterations Leading to Classical and Atypical Werner Syndrome. *Gerontology.*, 60(3): 239–246. doi:10.1159/000356030.

Shimamoto A., Yokote K., Tahara H. (2015). Werner Syndrome-specific induced pluripotent stem cells: recovery of telomere function by reprogramming. doi: 10.3389/fgene.2015.00010.

Sito Web: https://www.archweb.it/dwg/geografia_mappe_dwg/geografia_mappe_dwg.htm

Sito Web: https://it.wikipedia.org/wiki/Cromosoma_8

Sito Web: <https://www.focus.it/scienza/scienze/che-cosa-sono-i-telomeri>