



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea
Scienze biologiche

Tesi di Laurea

Sindrome di Patau: strategie molecolari e terapeutiche
Patau syndrome: molecular and therapeutic strategies

Tesi di Laurea di:
Perla Lucaboni

Docente Referente:
Maria Assunta Biscotti

Sessione straordinaria febbraio 2024
Anno Accademico: 2022/2023

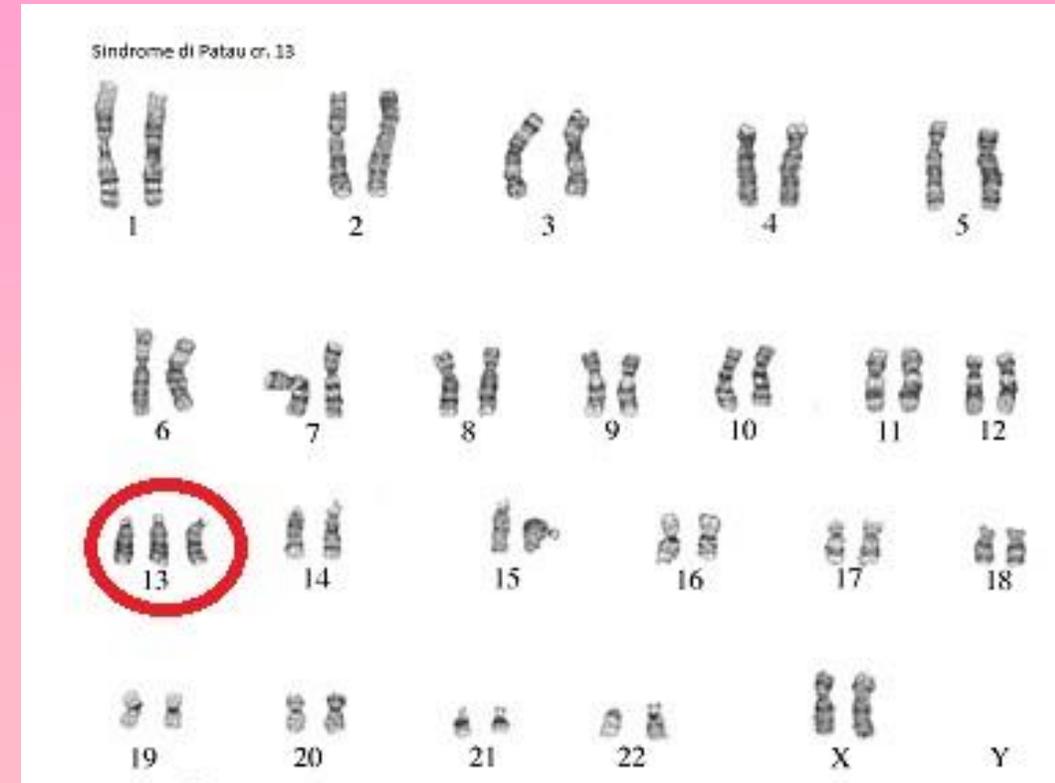
SINDROME DI PATAU O TRISOMIA 13

È una rara malattia genetica causata dalla presenza in tutte o in una parte delle cellule dell'individuo affetto di una copia aggiuntiva del cromosoma 13.

È causata da un'aberrazione genetica di non-disgiunzione che può aver luogo:

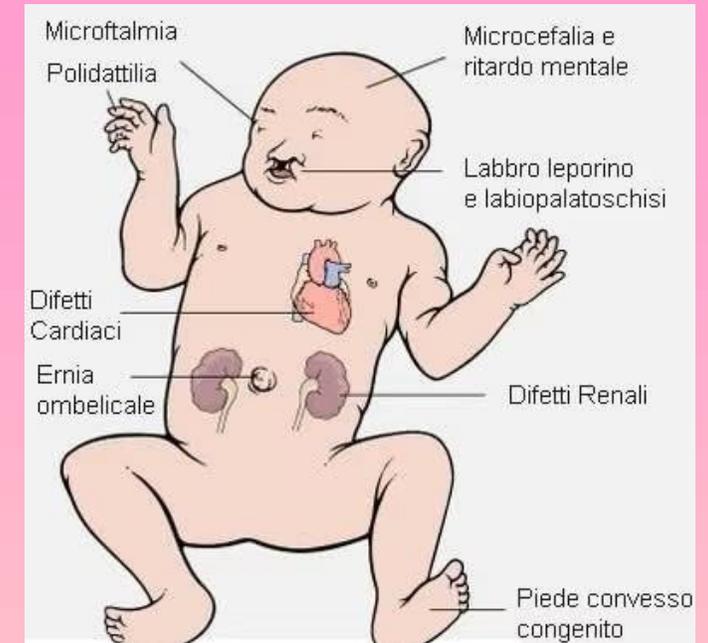
- o durante la fase di formazione di una delle cellule sessuali di uno dei due genitori (prima del concepimento) → gamete con un numero alterato di cromosomi. L'organismo che ne deriverà avrà tutte le sue cellule presentanti l'anomalia.

- o durante la fase di divisione dell'uovo fecondato (dopo il concepimento) → l'organismo sarà espressione di mosaicismo.



SINTOMATOLOGIA

- Anomalie a livello cranico:
 - Microcefalia
 - Oloprosencefalia
- Anomalie a livello della colonna vertebrale:
 - Mielomeningocele o spina bifida aperta
- I difetti facciali comprendono:
 - Fronte inclinata, naso largo, orecchie basse e dalla forma inusuale, alle quali si associano sordità e ricorrenti infezioni.
 - Difetti oculari di vario genere (microftalmia, anoftalmia, ciclopia), associati a ridotte o nulle capacità visive.
 - Labbro leporino e/o palatoschisi
- Anomalie degli organi:
 - Nei individui di sesso maschile, criptorchidismo e malformazioni di scroto e genitali; negli individui di sesso femminile, invece, utero bicorni e ipertrofia del clitoride
 - Difficoltà respiratorie
 - Difetti cardiaci
 - Cisti renali.
 - Anomalie a livello gastrointestinale, quali onfalocele ed ernia addominale



- Polidattilia e camptodattilia.
- Aplasia della cute

La ragione della scarsa aspettativa di vita risiede in genere nelle malformazioni cardiovascolari (difetti settali) e cerebrali (oloprosencefalia).

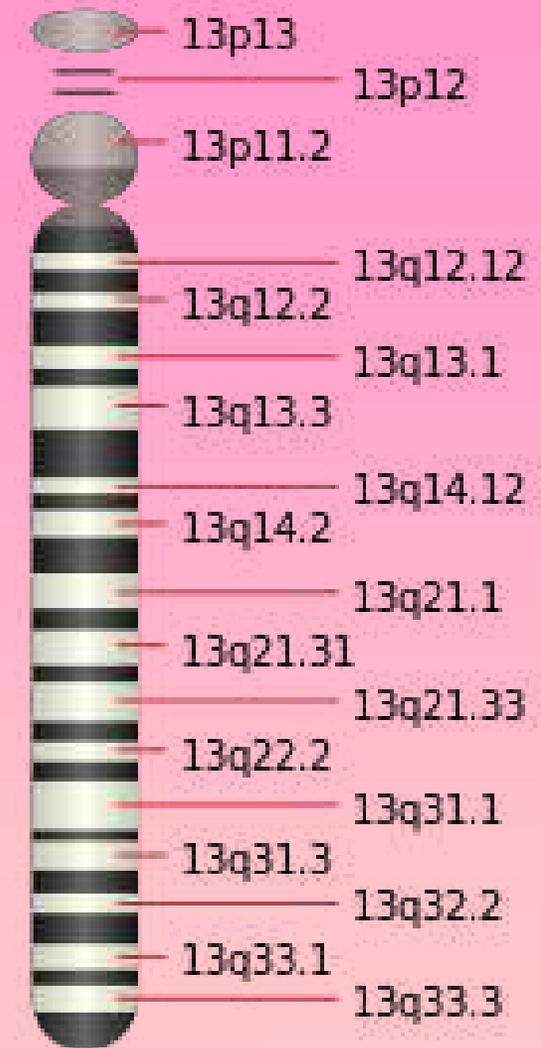
I difetti del setto sono un disturbo complesso che coinvolge centinaia di regolazioni geniche alterate e questi geni sono localizzati su più cromosomi, compreso il cromosoma 13.

Il cromosoma 13:

- è un cromosoma di tipo autosomico;
- rappresenta il 3,5-4% del DNA totale presente in ogni cellula umana;
- codifica 308 proteine;
- contiene alcuni geni tutti accumulati dal fatto di essere associati a disturbi cardiovascolari come previsto da tale sindrome.

Tra questi, **ZIC2**, localizzato in 13q32.3, è un gene che se mutato porta ad anomalie tipiche di tale sindrome, come oloprosencefalia (malformazione cerebrale nella maggior parte dei casi non compatibile con la vita), spina bifida e difetti settali nella formazione del cuore.

FOXO1 è un fattore di trascrizione che interagisce e regola numerosi altri geni su diversi cromosomi sempre associati a difetti settali nella sindrome, come GATA4, NKX2-5, TBX5.



GENE FORKHEAD BOX O1 (FOXO1)

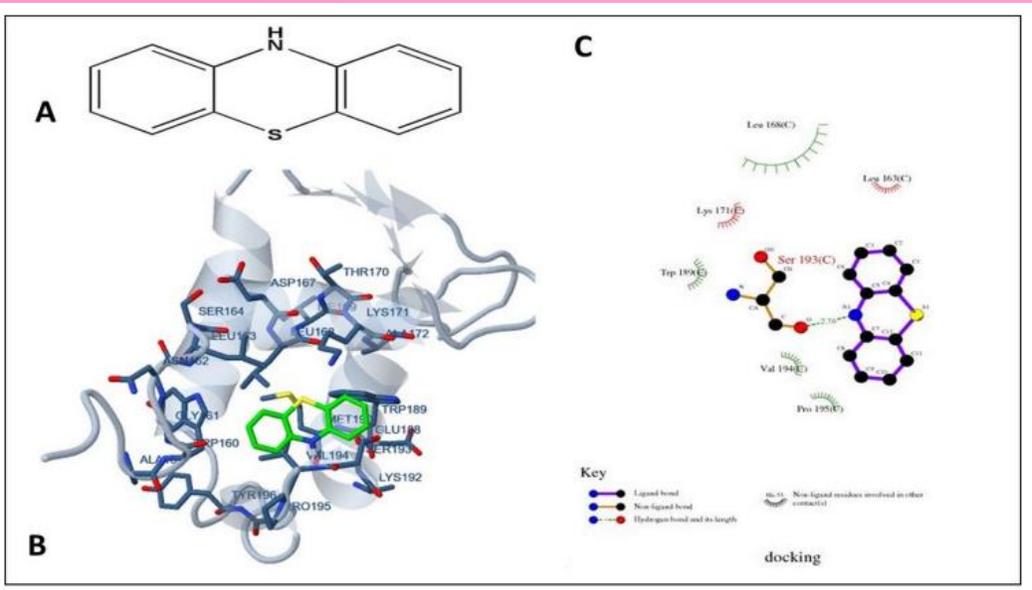
- E' localizzato in 13q14.11
- Codifica per la rispettiva proteina FOXO1 ritenuta un membro della famiglia di fattori di trascrizione forkhead box O.
- La proteina FOXO1 è costituita da quattro domini funzionali principali che ne influenzano l'attività:
 - un dominio forkhead (**FKH**) di 100 residui altamente conservato (chiamato anche dominio di legame del DNA, DBD);
 - dominio del segnale di localizzazione nucleare (**NLS**);
 - una sequenza di esportazione nucleare (**NES**) situata a valle del DBD;
 - un dominio di attivazione della trascrizione (**TAD**).
- La proteina FOXO1 esplica le sue funzioni di regolazione della trascrizione legandosi con il suo dominio FKH a livello di specifiche sequenze consenso della regione promotrice di geni a valle:
5'-GTAAA(T/C)AA-3'
5'-(C/A)(A/C)AAA(C/T)AA-3'
- Questo fattore di trascrizione ha un'espressione notevole nel sistema cardiovascolare, in particolare nelle cellule vascolari ed endoteliali.



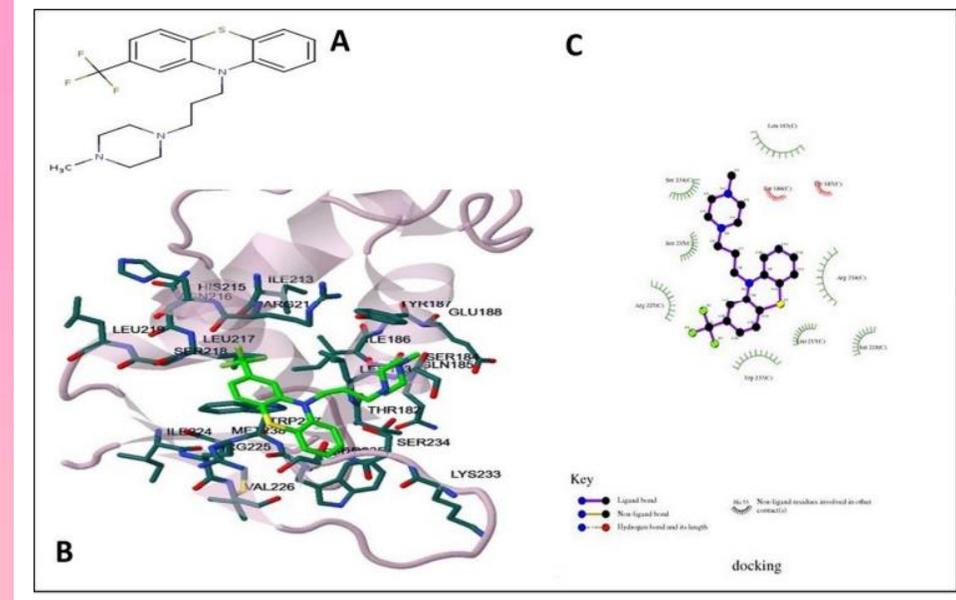
FOXO1 COME PARTNER DI INTERAZIONE DI GENI COME GATA4, NKX2-5 E TBX5

- **GATA4**
 - è espresso in 8p23.1 sia nei cardiomiociti embrionali che adulti
 - codifica per l'omonima proteina, un fattore di trascrizione essenziale per il corretto sviluppo cardiaco e per la sopravvivenza dell'embrione.
 - La sua espressione anomala, a causa dell'intervento di FOXO1, porta a una varietà di problemi cardiaci, tra cui cardiopatie congenite e difetti settali, nonché alla letalità dell'embrione.
- **NKX2-5**
 - è espresso in 5q35.1 nelle cellule cardiache precursori
 - codifica per l'omonima proteina, un fattore di trascrizione essenziale per lo sviluppo della settazione atriale, ventricolare, formazione della valvola atrioventricolare e il mantenimento della conduzione atrio-ventricolare.
 - La sua sovraespressione, a causa dell'intervento di FOXO1, porta alla cardiomiopatia ipertrofica.
- Dagli studi è anche emerso che GATA4 e NKX2-5 agiscono sinergicamente e regolano una miriade di geni cardiaci.
- Altri studi hanno dimostrato che anche **TBX5** è un partner di interazione di FOX1, GATA4 e NKX2-5 e codifica fattori di trascrizione coinvolti nella regolazione dello sviluppo degli arti anteriori e del cuore.

ALLA RICERCA DI FARMACI INIBITORI DELLA PROTEINA FOXO1



Docking molecolare della FENOTIAZINA con la proteina FOXO1
 (A) Rappresentazione della struttura molecolare della fenotiazina
 (B) Visualizzazione della struttura della proteina FOXO1 legata al ligando fenotiazina. Gli amminoacidi idrofobici interagenti con la PTZ sono: Leu163, Leu168, Val194 e Pro195.
 (C) Grafico 2D che mostra l'interazione ligando-proteina profilata dal software



Docking molecolare della TRIFLUOPERAZINA con la proteina FOXO1
 (A) Rappresentazione della struttura molecolare della trifluoperazina
 (B) Visualizzazione della struttura della proteina FOXO1 legata al ligando trifluoperazina. Gli amminoacidi idrofobici interagenti con la TFP sono: Ser184, Ser218, Ser234 e Ser235.
 (C) Grafico 2D che mostra l'interazione ligando-proteina profilata dal software

La PTZ ha un'energia di legame più negativa → inibitore più efficiente di FOXO1 → possibile candidata per un futuro farmaco

DIAGNOSI PRENATALE: TEST NON INVASIVI



La **translucenza nucale** è la manifestazione ecografica dell'accumulo sottocutaneo di fluido dietro il collo fetale nel primo trimestre di gravidanza. Un aumento dello spessore della translucenza nucale è indice di un elevato rischio di anomalie cromosomiche.

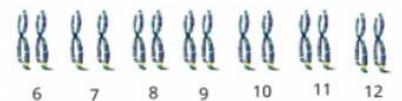
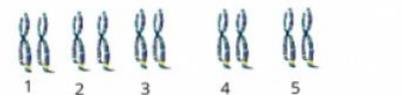
Il **bitest** o **duo test** consiste nel prelievo di sangue materno per analizzare i livelli di due proteine placentari:

- β hCG o gonadotropina corionica
- PAPP-A o proteina plasmatica A associata alla gravidanza

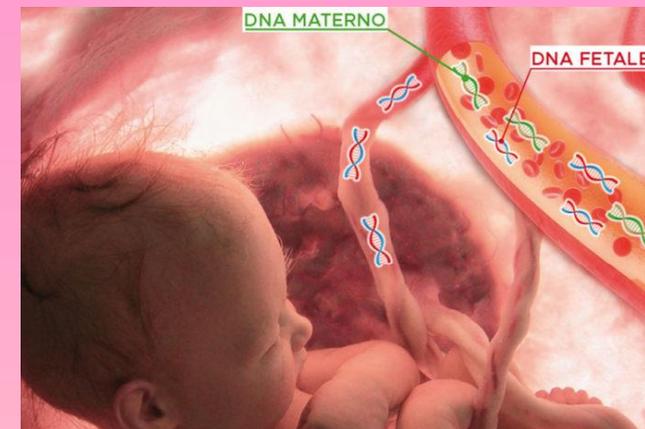
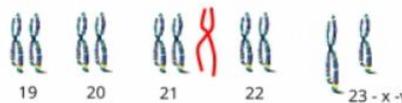
Duo test: rapporto tra valori ed anomalie cromosomiche.

Valori normali di riferimento (I TRIM): β HCG 0 e 150 ng/ml - PAPP-A (0,3 e 10 mUI/ml)

Se la **proteina β HCG** è più alta del normale e la **PAPP-A** più bassa del normale: rischio di anomalia cromosomica relativa alla trisomia 21 (**Sindrome di Down**).

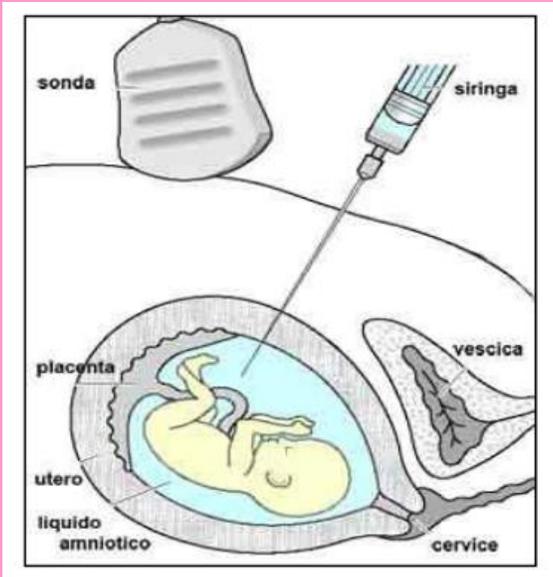


Se i livelli di **β HCG** e di **PAPP-A** sono inferiori alla norma l'anomalia sospettata, potrebbe essere una trisomia 18 o 13 (**Sindrome di Edwards - Sindrome di Patau**).



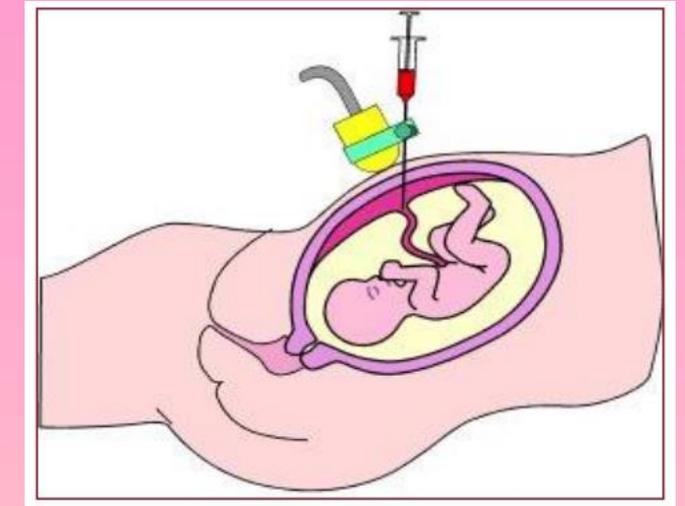
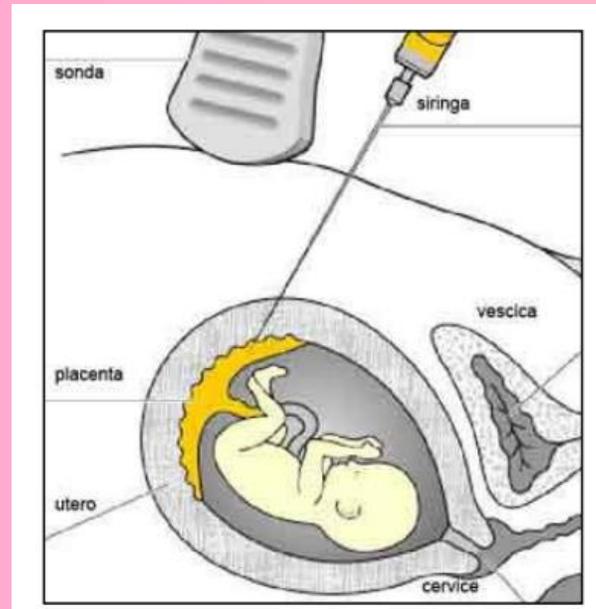
Lo **screening prenatale non invasivo** consiste in un semplice prelievo ematico della madre effettuabile a partire dalla decima settimana compiuta di gravidanza. In laboratorio si procede all'estrazione del DNA fetale libero e al suo sequenziamento.

DIAGNOSI PRENATALE: TEST INVASIVI



L'**amniocentesi** è una procedura che si fa sotto guida ecografica, con un ago legato ad una siringa sufficientemente lungo da poter attraversare la parete addominale fino ad arrivare, penetrando attraverso la parete dell'utero, in cavità amniotica per prelevare il liquido amniotico contenente cellule fetali.

La **villocentesi** consiste nel prelievo di una piccola porzione di villi coriali, piccole propaggini della placenta in formazione derivanti dall'ovulo fecondato e dotate dello stesso patrimonio genetico dell'embrione.



La **funicolocentesi** consiste nel prelievo di sangue fetale dal cordone ombelicale.

RIASSUNTO ESTESO

La sindrome di Patau, anche conosciuta come trisomia 13 è una rara malattia genetica caratterizzata dalla presenza in tutte o in una parte delle cellule dell'individuo affetto di una copia aggiuntiva del cromosoma 13 a causa di un'aberrazione genetica di non-disgiunzione.

Viene considerata una patologia letale, anche quando individuata in una fase precoce dello sviluppo fetale.

La maggior parte dei decessi è dovuta a disturbi cardiaci e cerebrali a causa di un'alterata regolazione di geni localizzati sia sul cromosoma 13 (ZIC2, FOXO1) che su altri.

FOXO1 merita una menzione speciale in quanto è un fattore di trascrizione che interagisce e regola numerosi altri geni su diversi cromosomi sempre associati a difetti settali nella sindrome, come GATA4, NKX2-5, TBX5.

Data l'ampia gamma delle sue funzioni, si pensava che avrebbe potuto svolgere un ruolo chiave nella sindrome e grazie ad uno studio di docking molecolare con alcuni farmaci è stata verificata la sua inibizione.

La tecnica ha alla fine indicato la fenotiazina come un efficiente inibitore di FOXO1 e come un ideale candidato per un futuro farmaco nei pazienti affetti da tale sindrome con difetti settali.

La diagnosi della sindrome di Patau inizia nel primo trimestre di gravidanza grazie allo screening del primo trimestre (translucenza nucale e valutazione biochimica del Bitest). A questi, su base volontaria e di eventuali necessità, si aggiunge lo screening prenatale non invasivo, un'analisi da poco entrata nella pratica clinica che sembra fornire dei risultati di estrema attendibilità.

Qualora si riscontrassero dei risultati anomali con i test non invasivi e ci fosse, pertanto, la necessità di approfondimenti diagnostici, è bene che la donna in gravidanza si sottoponga a dei test invasivi che forniranno quindi una diagnosi definitiva, come amniocentesi, villocentesi e funicolocentesi.

In caso di risultato positivo alla sindrome non esiste un trattamento specifico raccomandato, solitamente si opta per un trattamento volto a ridurre al minimo il dolore e le difficoltà incontrate dal bambino.

BIBLIOGRAFIA

- <https://healthy.thewom.it/salute/sindrome-di-patau>
- <https://www.medicina360.com/duo-test.html#quando-farlo>
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30423812/>
- <https://hmn.wiki/it/NKX2-5>
- <https://hmn.wiki/it/GATA4>
- <https://hmn.wiki/it/ZIC2>