

RELAZIONE DEL PROGETTO: **Studio del gene *EF-2* nei pazienti con sindrome di Shwachman ma negativi per le mutazioni nel gene *SBDS***

finanziato dalla Associazione Italiana Sindrome di Shwachman

Responsabile: Elena Nicolis

La Sindrome di Shwachman-Diamond (SDS) è una malattia ereditaria cronica rara; un bambino ogni 50.000-150.000 circa nasce con questa malattia. E' caratterizzata prevalentemente da insufficienza pancreatica e anomalie dei globuli bianchi.

La malattia si manifesta per lo più entro i primi anni di vita, anche se vi sono diagnosi in età più avanzata. Le caratteristiche più frequenti sono una difficile digestione per l'insufficienza pancreatica e una neutropenia. Possono essere presenti anche infezioni, anomalie della conformazione delle ossa, bassa statura. In una minoranza di affetti (5-25%) è possibile si sviluppino leucemie.

La SDS può esprimersi con maggiore o minore gravità in individui diversi e viene pertanto trattata con terapie che variano da soggetto a soggetto, costituite per lo più da estratti pancreatici, vitamine e antibiotici.

La SDS è determinata da alterazioni a livello di un gene chiamato *SBDS*. I geni sono sequenze di una struttura complessa chiamata DNA e vengono ereditati in coppie: una copia, detta allele, è ereditata dal padre; l'altro allele è ereditato dalla madre.

In un malato di SDS entrambi gli alleli sono difettosi. Viceversa, un portatore di SDS è un individuo sano che possiede un allele difettoso ed un allele normale. I portatori di SDS sono approssimativamente lo 0.75% della popolazione, cioè una persona ogni circa 150 è portatrice.

Circa il 90% dei pazienti SDS ha 2 mutazioni note, una sull'allele ereditato dalla madre e una sull'allele ereditato dal padre. Il restante 10%, pur avendo una clinica tipicamente SDS, non mostra alcuna mutazione. Questo progetto si propone di investigare su questo gruppo di pazienti, andando a studiare un gene, chiamato *EF-2*, che possiede delle caratteristiche molto simili al gene *SBDS* e che potrebbe, se mutato, dare la stessa patologia nota nei pazienti SDS.

E' convinzione unanime che la proteina SBDS sia essenziale nella biogenesi dei ribosomi, in stadi molto precoci, come dimostrato da esperimenti *in vivo* nel topo, nel quale l'assenza della proteina provoca l'arresto dello sviluppo embrionale e quindi morte prenatale.

Altre due malattie da deficit midollare sono dovute a mutazioni in geni coinvolti nella biogenesi dei

ribosomi: nella sindrome di Diamond-Blackfan le proteine Rps19 e Rps24, coinvolte nella via della maturazione della subunità 40S, sono mutate e nella discheratosi congenita, dove la proteina DKC1 è mutata, anch'essa coinvolta nella maturazione della subunità 60S.

I ribosomi sono presenti in tutte le cellule e assicurano la sintesi delle proteine assemblando gli aminoacidi in una sequenza predeterminata. Essi sono indispensabili per questi processi, dato che è solo nello spazio compreso tra le due subunità ribosomiali che le interazioni tra mRNA, tRNA e aminoacidi possono aver luogo, in modo da consentire la precisa disposizione spaziale degli aminoacidi nel formare la proteina, la cui sequenza è codificata a livello della sequenza nucleotidica dell'mRNA. La correttezza di queste interazioni sembra dipendere in larga misura dall'organizzazione molecolare del ribosoma.

La sintesi delle proteine richiede anche una serie di fattori: questi includono fattori di inizio che fanno cominciare la traduzione, fattori di rilascio che fanno terminare le catene proteiche e fattori di allungamento che assistono i molti passaggi tra l'inizio e la fine della sintesi.

Sono noti tre tipi di fattori di allungamento, chiamati EF-1A, EF-1B e EF-2.

EF-2 è quindi un fattore cruciale nella cascata di eventi che portano alla sintesi delle proteine.

Il gene per EF-2 si trova sul cromosoma 19 ed è composto da 15 esoni. Il professor Warren dell'Università di Cambridge (GB) in un suo importante lavoro sulla SDS, indicava EF-2 come un buon candidato per la ricerca di mutazioni in quel gruppo di pazienti SDS-like, circa il 10% del totale degli affetti, che, pur presentando una clinica del tutto SDS non hanno mutazioni nel gene SBDS.

Scopo del progetto finanziato dall'Associazione Italiana Sindrome di Shwachman è stato di selezionare un gruppo di pazienti con una clinica SDS ma privi di mutazioni nel gene SBDS. Nella realtà italiana la percentuale di pazienti con queste caratteristiche si aggira sul 5%, circa la metà di quanto segnalato dalla letteratura internazionale.

E' stato raccolto il sangue periferico di quattro pazienti con caratteristiche SDS-like (clinica SDS: ipoplasia midollare espressa come neutropenia; disfunzioni pancreatiche espresse come tripsinogeno e isoamilasi sierica bassi, grassi fecali anormali. Assenza di mutazioni nel gene SBDS). Dal sangue è stato estratto il DNA e si è proceduto con l'analisi del gene EF-2 mediante amplificazione dei 15 esoni e sequenziamento.

L'analisi non ha evidenziato alcuna variante nella sequenza del gene EF-2 causante alterazioni del fattore di trascrizione codificato. In un paziente è stato trovato un polimorfismo nell'introne 8, privo di caratteristiche deleterie.

Grazie al finanziamento dell'AISS è stato possibile affrontare l'analisi di un piccolo gruppo di

pazienti che non hanno ancora una diagnosi certa. La metodica messa a punto consentirà di analizzare in futuro altri pazienti con le medesime caratteristiche.

E' in preparazione una relazione del progetto, a carattere scientifico, che verrà sottoposta ad una rivista scientifica.