

Patologia generale - dott.ssa Rossetto

Malattie genetiche

Difetto in un gene che codifica:

- **Proteine specializzate** ⇒ emoglobinopatie (anemia falciforme, talassemie)
- **Canali ionici** ⇒ fibrosi cistica, ipertermia maligna
- **Proteine strutturali** ⇒ distrofie muscolari
- **Proteine coinvolte nella trasduzione del segnale** ⇒ neurofibromatosi, retinite pigmentosa

Malattie

- **Genetiche**
 - monogeniche o mendeliane
 - *autosomiche dominanti* (acondroplasia, neurofibromatosi) ⇒ penetranza incompleta, espressività variabile
 - *autosomiche recessive* (fibrosi cistica, anemia falciforme, talassemie) ⇒ penetranza completa, espressività più omogenea
 - *legate all'X dominanti* (rachitismo vit D-resistente) ⇒ rarissime
 - *legate all'X recessive* (emofilia, daltonismo, DMD)
 - citogenetiche
 - *anomalie numeriche*
 - trisomie degli autosomi
 - 21 ⇒ s. di Down
 - 13 ⇒ s. di Patau
 - 18 ⇒ s. di Edwards
 - alterazioni del numero dei cromosomi sessuali
 - trisomie (XXY, XXXY, XXXXY ⇒ s. di Klinefelter)
 - monosomie (X0 ⇒ s. di Turner)
 - triploidie (letali)
 - *anomalie strutturali*
 - traslocazioni
 - inversioni
 - delezioni
 - mitocondriali ⇒ interessano muscoli, cuore e SNC; sono trasmesse solo dalle madri; penetranza incompleta ed espressività variabile.
- **Ambientali**
- **Multifattoriali** (in parte genetiche, in parte ambientali) ⇒ sono causate da un insieme di geni e/o fattori ambientali che agiscono in maniera cumulativa. Es., epilessia, diabete mellito, schizofrenia, depressione, gotta, coronaropatie, malattie della tiroide, ecc.

Anomalie numeriche degli autosomi

Trisomia 21 (sindrome di Down)

- **Faccia caratteristica** (faccia piatta, fessure palpebrali acute, piega epicantica, bocca aperta)

- **Bassa statura**
- **Ritardo mentale**
- **Cardiopatie congenite**
- Malattia di Alzheimer ⇒ dopo i 40 anni

95% dei casi ⇒ reale trisomia (47 cromosomi)

4% dei casi ⇒ traslocazione 21;14 ⇒ mutazioni ex novo

1% dei casi ⇒ mosaici 46-47 cromosomi ⇒ mutazioni ex novo durante le prime fasi dell'embriogenesi

L'80% dei casi sopravvive oggi oltre i 30 anni.

L'età materna ha una forte influenza sull'insorgenza della sindrome di Down.

Anomalie numeriche dei cromosomi sessuali

Trisomia XXY (sindrome di Klinefelter)

Il fenotipo è maschile.

- **Alta statura** (braccia e gambe lunghe)
- **Ipogonadismo**
- **Ginecomastia**
- Peli del pube con profilo di distribuzione femminile
- Voce acuta

È dovuta alla presenza di un cromosoma Y e di due o più cromosomi X.

Monosomia XO (sindrome di Turner)

Il fenotipo è femminile.

- **Bassa statura**
- **Genitali infantili**
- Capezzoli molto distanti
- **Cute del collo sovrabbondante**
- **Amenorrea**
- Anomalie congenite ai reni e all'aorta

Mutazioni

- Delezioni parziali o complete del gene
- Mutazioni puntiformi
- Mutazioni frameshift

Le mutazioni sono più o meno gravi a seconda del sito di genoma colpito:

- Regioni codificanti
 - Senso ⇒ proteina alterata
 - Non senso ⇒ codone di stop ⇒ proteina tronca
- Regioni non codificanti
 - Promotore/enhancer ⇒ riduzione/blocco trascrizione
 - Introni ⇒ alterazioni sito di splicing, mancata maturazione dell'mRNA

Malattie genetiche da espansione di triplette

Nello stato patologico, determinate ripetizioni di triplette (ricche soprattutto di C e G) diventano instabili e sono espresse in molte più copie del normale (centinaia-migliaia contro decine).

Influenzano l'espressione genica, la stabilità del messaggero o la struttura proteica.

Non valgono le regole di eredità mendeliana: sono malattie monogeniche non mendeliane, che sono associate a un quadro neuro-degenerativo.

Sono dinamiche: oltre un certo numero di ripetizioni la stabilità dell'mRNA viene meno.

Fino a oggi ne sono note 12.

Esempi:

1. **sindrome dell'X fragile** (FMR-1) \Rightarrow triplette espanse a monte del gene
2. **distrofia miotonica** (miotonina chinasi) \Rightarrow triplette espanse a valle del gene
3. **atrofia spino-bulbare muscolare di Kennedy** (recettore degli androgeni) \Rightarrow triplette espanse nel gene
4. **corea di Huntington** (huntingtina) \Rightarrow triplette espanse nel gene

La patologia insorge quando il numero di copie supera una certa soglia, variabile da malattia a malattia: normale \Rightarrow premutazione \Rightarrow patologia.

Gli individui in premutazione sono normali o lievissimamente affetti.

Se le triplette ripetute sono presso il promotore \Rightarrow riduzione o blocco trascrizione/traduzione.

Se le triplette ripetute sono dentro la regione codificante \Rightarrow proteina con alterata funzione.

Sono caratterizzate da:

- penetranza incompleta \Rightarrow non tutte le generazioni sono affette
- espressività variabile \Rightarrow i sintomi possono essere di gravità variabile

Anticipazione \Rightarrow la malattia tende a manifestarsi sempre più precocemente e più gravemente nelle generazioni successive.

Le diverse malattie tendono a colpire preferenzialmente la linea germinale maschile o femminile. Es., la sindrome dell'X fragile è trasmessa prevalentemente dalle madri, la corea di Huntington dai padri.

Nei soggetti affetti è spesso evidente il mosaicismo \Rightarrow 2 possibili cause: evento post-zigotico, oppure contrazione e reversione in alcuni tessuti.

Sindrome dell'X fragile

Malattia legata all'X recessiva \Rightarrow colpisce prevalentemente i maschi ($\sim 1/1000$). È la seconda causa genetica di ritardo mentale, dopo la sindrome di Down.

È trasmessa prevalentemente dalle madri.

Mostra penetranza incompleta e anticipazione

Espansione CGG al 5' non tradotto di FMR-1 \Rightarrow metilazione inappropriata del promotore \Rightarrow soppressione trascrizione FMR-1

Normale \Rightarrow 6-55 ripetizioni

Premutazione \Rightarrow 55-200 ripetizioni

Patologia \Rightarrow > 200 ripetizioni

Sintomi:

- **ritardo mentale**
- **macro-orchidismo**

FMR-1 (cromosoma X) \Rightarrow ha omologia di sequenza con proteine che legano l'RNA. Probabilmente regola la traduzione di alcuni geni, soprattutto a livello di testicoli ed encefalo.

Distrofia miotonica

Malattia neuromuscolare autosomica dominante.

Presenta anticipazione.

Espansione CTG al 3' non tradotto della miotonina chinasi \Rightarrow alterazione emivita mRNA \Rightarrow diminuisce l'espressione nel muscolo, aumenta l'espressione nel SNC

Sindrome dell'X fragile \Rightarrow blocco della trascrizione

Distrofia miotonica \Rightarrow blocco della traduzione

Normale \Rightarrow 5-30 ripetizioni

Premutazione \Rightarrow 45-75 ripetizioni

Patologia \Rightarrow > 75 ripetizioni

C'è una correlazione tra numero di ripetizioni e gravità ed età di insorgenza.

Sintomi \Rightarrow quadro degenerativo neuro-muscolare:

- **distrofia muscolare** \Rightarrow degenerazione muscolo \Rightarrow paralisi
- **miotonia** (debolezza muscolare)
- **ritardo mentale**
- anomalie cardiache
- cataratta

DM-1 (cromosoma 19) \Rightarrow codifica per miotonina chinasi, molto espressa nel cuore, nel cervello e nei muscoli. Essa è un oligomero, quindi la mutazione di una sola subunità porta a perdita di funzione della proteina \Rightarrow trasmessa come malattia dominante.

Atrofia spino-bulbare muscolare di Kennedy

Malattia legata all'X recessiva. È rara.

Presenta anticipazione, ma la gravità della malattia non correla col numero di ripetizioni.

Espansione CAG nella regione codificante del recettore degli androgeni.

Normale \Rightarrow 13-28 ripetizioni

Premutazione \Rightarrow 28-39 ripetizioni

Patologia \Rightarrow 39-60 ripetizioni

Sintomi:

- degenerazione dei motoneuroni
- **ritardo mentale** \Rightarrow cause sconosciute
- **insensibilità agli androgeni**
- femminilizzazione

Corea di Huntington

Malattia autosomica dominante, a comparsa tardiva e progressiva.

È trasmessa prevalentemente dai padri.

Incidenza: 1/10.000

Presenta anticipazione; più sono le ripetizioni, più precoce è l'insorgenza e più gravi sono i sintomi \Rightarrow ad ogni generazione, la malattia insorge 8-10 anni prima.

Normalmente, la malattia insorge dopo i 40-50 anni.

Normale \Rightarrow 11-35 ripetizioni

Premutazione \Rightarrow 27-39 ripetizioni

Patologia \Rightarrow > 39 ripetizioni

Sintomi:

- degenerazione nucleo caudato e putamen \Rightarrow **movimenti coreiformi** (irregolari)
- demenza
- **manifestazioni neuro-psichiatriche**

IT-15 \Rightarrow codifica per la huntingtina. Se muta \Rightarrow acquisizione di funzione nuova \Rightarrow tossicità per i neuroni del caudato e del putamen. La huntingtina mutata interagisce con la caspasi 3 \Rightarrow induzione apoptosi.

Espansione CAG nel gene IT-15 \Rightarrow modifica della huntingtina \Rightarrow abnorme aumento di funzione dell'huntingtina (tossicità)

Emoglobinopatie

Cromosoma 16 \Rightarrow ζ , α_1 , α_2

Cromosoma 11 \Rightarrow ϵ , γ_1 , γ_2 , δ , β

Questi cluster contengono anche pseudo-geni (geni mutati che non possono più venire espressi: rappresentano residui evolutivi di geni globinici un tempo attivi).

Emoglobine:

- embrionali
 - $\zeta_2 \epsilon_2 \Rightarrow$ Hb Gower 1 (1° settimana)
 - $\alpha_2 \epsilon_2 \Rightarrow$ Hb Gower 2 (2-3° settimana)

- $\zeta_2 \gamma_2 \Rightarrow \text{Hb Portland (2-3° settimana)}$
- fetale
 - $\alpha_2 \gamma_2 \Rightarrow \text{HbF (3° settimana - 3° mese) (1\% dopo la nascita)}$
- adulte
 - $\alpha_2 \beta_2 \Rightarrow \text{HbA (96\% dopo la nascita)}$
 - $\alpha_2 \delta_2 \Rightarrow \text{HbA}_2 \text{ (3\% dopo la nascita)}$

Le emoglobinopatie sono malattie genetiche monogeniche a eredità mendeliana.
Ci sono più di 100 alterazioni strutturali dell'emoglobina.

Due tipi di disordini:

- varianti strutturali dell'emoglobina \Rightarrow es., **anemia falciforme (HbS)**
 - alterazione di funzione ($< \text{ o } >$ affinità per l'O₂, HbM)
 - alterazione della stabilità
- difetto di sintesi di una o più catene \Rightarrow **talassemie a e b**

Al contrario delle altre forme, l'anemia falciforme e le talassemie sono frequenti perché lo stato eterozigote protegge contro la malaria \Rightarrow polimorfismo bilanciato.

I disordini genetici dell'emoglobina provocano anemia e sono le malattie monogeniche più comuni.

Anemia falciforme

È una malattia autosomica recessiva. L'8% dei neri americani è eterozigote. 1/700 neri americani sono affetti. Questi valori aumentano nelle zone in cui la malaria è endemica (eterozigoti: fino al 30% della popolazione) \Rightarrow polimorfismo bilanciato.

Essendo una malattia autosomica recessiva, gli eterozigoti sono asintomatici (in condizioni normali), gli omozigoti sono malati gravi.

Difetto genetico: **HbS** ($\beta_6 \text{ Glu} \Rightarrow \text{Val}$)

Il glutammato è polare, mentre la valina è apolare. Il residuo apolare tende a instaurare interazioni idrofobiche, dando luogo a una "zona adesiva" in grado di interagire con un'altra regione idrofobica.

Esiste un sito sulla deossi-HbS che è complementare alla zona adesiva. Per basse pO₂, questo sito complementare di una molecola di deossi-HbS interagisce con la zona adesiva di un'altra molecola di deossi-HbS, portando alla formazione di lunghi aggregati filamentosi, che polimerizzano in fibrille. Le fibrille sono insolubili \Rightarrow precipitano \Rightarrow deformazione dei globuli rossi (caratteristica forma a falce). La formazione delle fibre rende rigido il globulo rosso e può ostruire il flusso capillare.

La falcizzazione inizialmente è reversibile: in condizioni di deossigenazione, il globulo rosso è a falce, ma se c'è ossigeno esso ritorna normale. Dopo un po' di cicli di falcizzazione/defalcizzazione, gli eritrociti si modificano irreversibilmente \Rightarrow falcizzazione irreversibile.

La velocità di formazione delle fibre (polimerizzazione) dipende da:

1. Quantità di HbS \Rightarrow gli eterozigoti hanno una bassa percentuale di HbS (40%), quindi - se non sono esposti a grave ipossia (es., alta quota) - sono del tutto asintomatici.
2. [HbS] \Rightarrow HbF ha effetto protettivo (impedisce la polimerizzazione dell'HbS; infatti la malattia non si manifesta nei primi 5-6 mesi di vita). HbC possiede una maggior tendenza rispetto all'HbA ad aggregarsi con HbS e, quindi, i pazienti con HbS e HbC presentano una malattia più grave dell'anemia falciforme comune. Ogni situazione che aumenti la [Hb] favorisce la falcizzazione. Es., ambiente ipertonico della midollare del rene.
3. Grado di deossigenazione \Rightarrow l'acidosi o l'aumento di 2,3-BPG diminuiscono l'affinità dell'Hb per l'O₂ \Rightarrow aumenta la formazione di deossi-Hb \Rightarrow falcizzazione \Rightarrow ostruzione capillare \Rightarrow circolo vizioso.

Vita media dell'eritrocita falcizzato \Rightarrow 20 giorni (normale: 120 giorni), a causa della maggiore rigidità e fragilità.

Quadro clinico

Eterozigoti \Rightarrow asintomatici. Possono avere dei problemi in caso di attività fisica ad alta quota, viaggi in aerei non pressurizzati, anestesia.

Omozigoti:

- Fenomeni vaso-occlusivi \Rightarrow micro-infarti e macro-infarti (ossa, rene, occhio, encefalo, ulcere cutanee), dovuti alla rigidità degli eritrociti, che non consente loro di deformarsi per passare nei piccoli capillari. Gli eritrociti presentano un'abnorme quantità di molecole d'adesione, che ne facilitano l'adesione sull'endotelio.
- Anemia emolitica grave \Rightarrow i globuli rossi falciformi sono più rigidi e fragili di quelli normali, quindi vengono più facilmente fagocitati dal sistema reticolo-endoteliale.
- Alterazioni costituzionali \Rightarrow difetti nella crescita e nello sviluppo.

Diagnosi

Striscio di sangue

Elettroforesi

Prognosi

90% dei pazienti sopravvive fino a 20 anni

50% dei pazienti raggiunge i 50 anni

Terapia

Chemioterapia con idrossiurea aumenta la [HbF] e riduce la frequenza delle crisi vasoocclusive, perché l'HbF è protettiva nei confronti dell'HbS.

Talassemie

- **Talassemie a**
 - Talassemie α^+ \Rightarrow ridotta produzione di catene α
 - Talassemie α^0 \Rightarrow assente produzione di catene α
- **Talassemie b**
 - Talassemie β^+ \Rightarrow ridotta produzione di catene β

- Talassemie $\beta^0 \Rightarrow$ assente produzione di catene β

Sono anemie emolitiche ed ipocromiche, dovute alla mancata o ridotta sintesi di una delle catene globiniche (α o β). Derivano da delezioni o mutazioni.

Sono molto frequenti nei Paesi mediterranei (Italia, Grecia) e in Africa e in India, cioè nelle zone in cui la malaria è endemica (polimorfismo bilanciato).

Le conseguenze sono un basso livello di Hb, ma anche un eccesso delle altre catene (sintetizzate normalmente) \Rightarrow precipitano in inclusioni insolubili all'interno dell'eritrocita.

Talassemie a

Talassemie α^+ \Rightarrow ridotta produzione di catene $\alpha \Rightarrow$ attività di uno solo dei geni α

Talassemie $\alpha^0 \Rightarrow$ assente produzione di catene $\alpha \Rightarrow$ entrambi i geni α sono inattivi

La presenza/assenza di anemia e la sua gravità dipendono dal numero di geni deleti.

Difetti molecolari:

- **Delezioni**
 - Delezioni α thal 1 \Rightarrow entrambe le copie del gene (talassemia α^0)
 - Delezioni α thal 2 \Rightarrow solo una copia del gene (talassemia α^+); derivano da un crossing over diseguale
- **Non delezioni (rare)** \Rightarrow mutazioni del codone di inizio, mutazioni non senso (\Rightarrow codoni di stop), mutazioni nel sito di poliadenilazione

Portatore silente	$-\alpha/\alpha\alpha$	Asintomatico
Tratto a-talassemico	$--/\alpha\alpha, \alpha-/ \alpha-$	Lieve anemia emolitica
Malattia dell'emoglobina H (alta affinità per l'O ₂ ; precipita negli eritrociti)	$--/\alpha-$	Moderata anemia emolitica con ipocromia e microcitosi; forme di HbH con tetrameri di catene β
Idrope fetale (letale) (Hb Bart $\gamma_4 \Rightarrow$ estrema affinità per l'O ₂)	$--/--$	Mortale in utero

Talassemie b

Talassemie β^+ \Rightarrow ridotta produzione di catene $\beta \Rightarrow$ attività di uno solo dei geni β

Talassemie $\beta^0 \Rightarrow$ assente produzione di catene $\beta \Rightarrow$ entrambi i geni β sono inattivi

Difetti molecolari:

- **Non delezioni** (frequenti le mutazioni puntiformi) \Rightarrow possono modificare:
 - Significato dell'mRNA
 - Trascrizione
 - Splicing
 - Poliadenilazione
- **Delezioni (rare)** \Rightarrow Hb Lepore è costituita da catene α normali e catene che derivano dalla fusione tra un pezzo di gene δ e un pezzo di gene β (\Rightarrow crossing over diseguale) \Rightarrow Hb $\alpha_2(\delta-\beta)_2$. Il problema è che il promotore del gene δ è debole \Rightarrow trascrizione lenta.

<i>Thalassemia major</i> <i>(anemia mediterranea)</i>	Omozigosi β^0/β^0 Omozigosi β^+/β^+	Anemia microcitica e ipocromica, emolisi grave, epatosplenomegalia, <u>deformità dello scheletro</u> (da iperplasia midollare), <u>emocromatosi</u> (per le ripetute trasfusioni)
<i>Thalassemia minor</i>	Eterozigosi β^+/β Eterozigosi β^0/β	Modesta riduzione di HbA, aumento di HbA ₂ , lieve anemia ipocromica

Fibrosi cistica

È la più comune malattia autosomica recessiva, nella popolazione caucasica.

1/25 ⇒ eterozigote

1/2500 ⇒ omozigote

È dovuta alla mutazione del gene CFTR (cromosoma 7) ⇒ Regolatore di conduttanza Transmembrana della Fibrosi Cistica ⇒ proteina canale che trasporta lo ione cloro attraverso la membrana cellulare. Nei pazienti affetti da fibrosi cistica, il canale per il cloro non c'è o non funziona ⇒ l'epitelio degli organi colpiti è impermeabile al cloro.

Il **canale CFTR** è costituito da:

- 2 domini transmembrana che formano il canale per il cloro
- 2 domini citoplasmatici che legano l'ATP e lo idrolizzano (NBD), ricavando l'energia per il pompaggio
- 1 dominio citoplasmatico regolatorio (R) con siti di fosforilazione da parte di PK-A

L'attivazione del canale dipende dalla fosforilazione del dominio citoplasmatico R da parte della PK-A.

Difetto molecolare più frequente ⇒ delezione della Phe₅₀₈ ($\Delta F508$; nel 1° dominio NBD) (90% Danimarca, 52% Italia, 70-80% USA). Le mutazioni possibili sono più di 600 e comprendono mutazioni missenso o non senso, oppure coinvolgono siti di splicing ⇒ svariati effetti: peptide tronco, proteina non funzionale, alterata conduttanza del canale, bassa espressione del canale.

La mutazione $\Delta F508$ causa un'alterazione del processamento e della maturazione della proteina (glicosilazione anomala ⇒ ripiegamento scorretto ⇒ mancato passaggio del "controllo qualità" a livello del RE/Golgi ⇒ degradazione) ⇒ mancanza del canale a livello di membrana.

Mutazioni dei domini transmembrana alterano la selettività ionica del canale.

L'idrolisi dell'ATP è necessaria per l'attività del canale.

La fosforilazione del dominio R attiva il canale ⇒ la delezione del dominio R mantiene il canale nello stato attivo.

CFTR \Rightarrow subisce glicosilazione post-traduzionale; è localizzato nella membrana apicale delle cellule epiteliali (talvolta in quella basolaterale).

Quadro clinico

È una patologia multisistemica che altera il trasporto transepiteliale del cloro in diversi organi:

- **Polmoni** \Rightarrow ostruzione bronchiale a causa di accumulo di muco viscoso (mancando la secrezione di Cl^- , vengono riassorbiti più Na^+ e H_2O \Rightarrow muco più denso che ostruisce le vie aeree e permette l'instaurarsi di infezioni secondarie).
- **Apparato digerente** \Rightarrow disfunzioni dell'assorbimento, a causa dell'ostruzione dei dotti biliari del fegato e pancreatici e dell'occlusione dell'intestino tenue da parte di feci compatte.
- **Apparato genito-urinario** \Rightarrow assenza dei dotti deferenti (\Rightarrow sterilità maschile).
- **Ghiandole sudoripare** \Rightarrow sudore salato ($> [\text{NaCl}]$, perché il Cl^- non è riassorbito, quindi non viene riassorbito neanche il Na^+).

Aspettativa di vita media \Rightarrow ~ 30 anni

Test diagnostico \Rightarrow dosaggio degli elettroliti nel sudore ($[\text{NaCl}]$ è $>$ del normale).

Terapia genica

Sperimentazioni cliniche con vettori adenovirali contenenti gene CFTR normale hanno avuto scarso successo perché l'espressione del gene è limitata e transitoria e l'aumento della dose del virus determina un'intensa risposta immunitaria.

Sperimentazioni con aerosol di DNA incapsulato in lipoflex hanno avuto scarso successo perché il trasferimento e l'espressione del gene avvengono a bassi livelli e per tempi brevi.

In futuro, si incapsuleranno vettori adenovirali in lipoflex, si costruiranno cromosomi artificiali e si procederà al trattamento in utero (immunotolleranza all'adenovirus è maggiore).

Distrofie muscolari

Sono un gruppo eterogeneo di malattie ereditarie caratterizzate da progressiva degenerazione muscolare.

Si ha sempre:

- Variazioni delle dimensioni delle fibre muscolari
- Presenza di aree di necrosi
- Sostituzione delle aree di necrosi con tessuto adiposo e fibroso

Esempi di distrofie muscolari:

- *Duchenne* (DMD) e *Becher* (BMD)
- *Miotonica*
- Facio-scapolo-omerale
- Oculofaringea
- Dei cingoli

Distrofia muscolare di Duchenne (DMD) e di Becher (BMD)

La **DMD** è la più comune forma di distrofia. È una malattia legata all'X recessiva. Colpisce quindi soprattutto i maschi (1/3500 maschi). Il 30% dei casi è dovuto a nuove mutazioni.

Sintomi:

- Prime manifestazioni intorno a 3-5 anni di età: **difficoltà nella deambulazione e ad alzarsi da terra** (segno di Gower)
- Degenerazione progressiva dei muscoli prossimali della coscia e del bacino
- **Perdita progressiva della forza muscolare** (intorno a 12 anni di età i pazienti cessano di deambulare)
- Elevata concentrazione sierica di creatin-fosfo-chinasi (CPK) \Rightarrow rispecchia la degenerazione muscolare (i miociti, morendo, rilasciano CPK)
- 1/3 dei casi presenta ritardo mentale
- **Morte intorno ai 20 anni** per indebolimento della muscolatura cardiaca e polmonare

La **BMD** è clinicamente simile, ma più rara, più lieve e con comparsa più tardiva (~ 20 anni). È anch'essa una malattia legata all'X recessiva. **L'aspettativa di vita è circa 50 anni**. Incidenza 1/20.000 maschi.

Difetto molecolare \Rightarrow gene della **distrofina** (cromosoma X) (2400 kb, 85 esoni, proteina da 400 kDa). Essa viene espresso in tutti i tipi di muscolatura e nell'encefalo (proteina sarcoplasmatica subsarcolemmale). È assente nei pazienti affetti da DMD. È presente in quantità ridotta ed è alterata nei pazienti colpiti da BMD.

Ci sono più varianti della distrofina, che vengono espresse in tipi cellulari diversi.

L'utrofina presenta molte omologie di sequenza con la distrofina (è un po' più corta ed è riccamente presente a livello delle giunzioni neuromuscolari) e, quindi, potrebbe essere usata in terapia.

La distrofina è localizzata sulla faccia citosolica del sarcolemma, presso la giunzione neuromuscolare.

È una componente strutturale del citoscheletro subsarcolemmale.

È strettamente associata con un complesso oligomerico di 6 proteine del sarcolemma. L'ultima parte della porzione di distrofina contenente le cisteine e la prima parte della porzione C-terminale interagiscono col *b-destroglicano* transmembrana, che interagisce con l'*a-destroglicano*, che interagisce con proteine della matrice (*laminina-2*).

L'estremo C-terminale interagisce con proteine citoplasmatiche (*sintrofina* e *distrobrevina*).

La porzione N-terminale interagisce con l'*actina*.

Ruolo della distrofina \Rightarrow Insieme al complesso delle glicoproteine (destroglicani, sintrofina, distrobrevina), fa da ponte tra il citoscheletro (actina) e la matrice extracellulare \Rightarrow impalcatura strutturale che sostiene lo stress meccanico del sarcolemma, per impedire fratture del sarcolemma durante la contrazione delle cellule muscolari.

La mancanza della distrofina facilita la lacerazione delle fibre al ripetersi della contrazione \Rightarrow entra Ca^{2+} \Rightarrow necrosi.

Tipi di mutazioni nella DMD e nella BMD

65% dei casi ⇒ delezioni nel gene della distrofina (ci sono *hot spots*). Mutazioni non sense introducono un codone di stop prematuro ⇒ proteina tronca ⇒ distrofina assente ⇒ fenotipo grave (DMD).

Le delezioni di una o più triplette mantengono lo schema di lettura intatto e quindi la proteina anomala è ancora capace di funzionare, ma a un livello più basso, dando quindi un fenotipo più lieve (BMD).

Ci sono alcuni casi (5%) dovuti a duplicazioni e i rimanenti sono dovuti a mutazioni puntiformi.

Ci sono alcuni rari casi di DMD nelle femmine, per traslocazione X⇒21.

Esistono distrofie muscolari causate da difetti nelle proteine che legano la distrofina (sarcoglicani e laminina).

Terapia genica nella DMD

Per ora solo sperimentazione su topi transgenici, perché si devono trovare mezzi per accedere alle cellule muscolari dell'uomo e il gene della distrofina (14 kb) è più grande della capacità del capsido dell'adenovirus (6 kb). Sono stati usati anche retrovirus come vettori per mioblasti embrionali, ma i mioblasti reimpiantati in vitro esprimono la distrofina solo transitoriamente.

Ipertermia maligna

È una malattia neuromuscolare autosomica dominante. È rara, subdola e potenzialmente letale.

Colpisce l'uomo e i suini. Si manifesta in soggetti apparentemente sani quando si somministrano anestetici volatili fluorurati (alotano) o miorilassanti (succinilcolina).

Incidenza: 1/40-50.000 anestesie negli adulti; 1/10-12.000 anestesie nei bambini

Sintomi:

- **Rigidità muscolare**
- **Ipertermia** ⇒ aumento rapido della temperatura corporea (1°C ogni 5 min)
- **Ipermetabolismo** (tachicardia, acidosi, tachipnea, cianosi, ipotensione)
- **Fibrillazione ventricolare**
- Edema polmonare
- Squilibri elettrolitici (iperpotassiemia, ipercalcemia)
- Discoagulopatie

Morte per fibrillazione ventricolare (entro min), edema polmonare o coagulopatie (entro h), complicanze neurologiche o renali (entro gg).

L'ipersensibilità all'alotano delle fibre muscolari è associata ad un aumento della $[Ca^{2+}]_{int}$.

In condizioni fisiologiche, il rilascio di Ca^{2+} dal reticolo sarcoplasmatico è mediato da un canale chiamato *recettore della rianodina*.

Nel reticolo sarcoplasmatico di suini suscettibili sono state evidenziate alterazioni nei meccanismi regolativi di questo canale. Il difetto molecolare nei maiali è una mutazione puntiforme nel gene del recettore della rianodina, la quale fa sì che il canale alterato si apra a $[Ca^{2+}]$ inferiori, cioè che sia più attivo.

Nell'uomo, il difetto molecolare è una mutazione puntiforme nel gene del recettore della rianodina (cromosoma 19), ma con più variabilità rispetto ai suini.

La mutazione e l'agente anestetico agiscono sinergicamente aumentando la probabilità di apertura del canale.

A causa della somministrazione degli anestetici, c'è una persistente uscita di Ca^{2+} dal reticolo sarcoplasmatico. Il Ca^{2+} viene poi riaccumulato nel reticolo sarcoplasmatico mediante trasporto attivo. La persistente apertura dei recettori della rianodina (mutati) fa sì che il reticolo sarcoplasmatico non sia in grado di trattenere il Ca^{2+} , cosicché si instaura un ciclo futile che provoca rigidità muscolare e degradazione dell'ATP (per cercare di reintrodurre Ca^{2+} nel reticolo sarcoplasmatico).

L'aumento di temperatura corporea è un evento secondario all'attivazione delle vie metaboliche responsabili del ripristino dell'ATP intracellulare; l'ipertermia maligna non è febbre.

Le patologie della trasduzione del segnale

Trasduzione del segnale \Rightarrow invio di informazioni contenute in segnali extracellulari all'interno della cellula, per scatenare risposte.

3 classi di recettori:

1. legati a canali ionici, o canali ionici essi stessi
2. legati a proteine G trimeriche (recettori a 7 domini transmembrana)
3. legati a enzimi (con attività tyr-chinasica o ser/thr-chinasica)

Via di trasduzione dei segnali di proliferazione cellulare (\Rightarrow fattori di crescita: EGF, NGF, FGF, PDGF, ...) **mediata da RAS**

I recettori dei fattori di crescita sono proteine con un dominio transmembrana, un dominio extracellulare e un dominio citoplasmatico, dotate di attività tyr-chinasica.

In seguito al legame del fattore di crescita, il recettore dimerizza e ciascun dominio citoplasmatico fosforila l'altro (su più tirosine).

La proteina **RAS** fa parte della famiglia delle proteine G monomeriche, che mediano i segnali che arrivano dai fattori di crescita, attraverso recettori tyr-chinasici, al nucleo \Rightarrow stimolazione della proliferazione o del differenziamento cellulare. È stata scoperta come oncogene: è mutata nel 30% dei tumori umani.

RAS esiste in due stati conformazionali:

- a) **attivo** \Rightarrow RAS-GTP
- b) **inattivo** \Rightarrow RAS-GDP

La transizione tra i due stati è regolata da due proteine:

- 1) **GAP** (GTPase Activating Protein) \Rightarrow stimola l'idrolisi dell'ATP legato a RAS attiva, intattivandola. È un oncosoppressore. In realtà, RAS potrebbe inattivarsi da sola, ma con estrema lentezza: GAP accelera di molto la reazione.
- 2) **GEF** (GDP Exchanging Factor) \Rightarrow scambia il GDP legato a RAS inattiva con GTP, attivandola.

Attivazione dei fattori di trascrizione mediata da RAS:

1. Legame fattore di trascrizione - recettore
2. Dimerizzazione e cross-fosforilazione dei recettori
3. Legame di GRB2 (proteina con dominio SH2) al dimero
4. Legame di SOS (proteina GEF, con dominio SH3) a GRB2
5. Legame di RAS inattivo a SOS
6. Attivazione di RAS (scambio GDP \Rightarrow GTP promosso da SOS) e suo distacco da SOS
7. RAS \Rightarrow RAF \Rightarrow MEK (MAP chinasi chinasi) \Rightarrow ERK (MAP chinasi) \Rightarrow fattori di trascrizione (jun, fos, ...) \Rightarrow proliferazione cellulare

RAS è ancorata alla faccia interna della membrana plasmatica attraverso un gruppo farnesilico.

Neurofibromatosi di tipo 1

È una malattia autosomica dominante. Presenta penetranza completa ed espressività variabile. ~ 1/3 dei casi deriva da nuove mutazioni.

Incidenza: 1/3500 (la più frequente malattia neurologica ereditaria)

Sintomi \Rightarrow disordini del neuroectoderma:

- **Neurofibromi** (tumori benigni delle cellule di Schwann e dei fibroblasti perineurali o endoneurali)
- **Amartomi dell'iride** (noduli di Lisch)
- **Macchie a caffè-latte**
- **Ritardo mentale**
- **Rischio di neoplasie maligne** (neurofibrosarcomi, astrocitomi, feocromocitomi, rhabdomyosarcomi)

Gene colpito \Rightarrow ***NF-1*** (cromosoma 17) \Rightarrow codifica per la ***neurofibromina***

Funzione \Rightarrow elevata omologia di sequenza con GAP; stimola l'attività GTPasica di RAS, cioè lo inattiva. È un oncosoppressore, in quanto esercita un controllo negativo sulla disponibilità di RAS attivato e quindi sulla proliferazione cellulare.

Espressione \Rightarrow la proteina è presente in quantità elevate solo nel SNC e nelle cellule cromaffini del surrene \Rightarrow strutture derivanti dalle creste neurali

Difetti molecolari \Rightarrow mutazioni non sense (80%); traslocazioni, inserzioni, delezioni (20%).

Retinite pigmentosa

Comprende un gruppo di retinopatie ereditarie.

Incidenza: 1/3000

Si dividono in:

- Autosomiche dominanti

- Autosomiche recessive
- Legate all'X recessive

La più comune è la forma autosomica dominante. Il difetto è nel gene della **rodopsina** (recettore a 7 domini transmembrana) nel cromosoma 3 (80% casi ⇒ mutazioni puntiformi).

La rodopsina mutata non viene trasportata al RE dopo la traduzione. Alcuni mutanti vengono trasportati alla membrana dei dischi del segmento esterno, ma la destabilizzano ⇒ morte dei bastoncelli ⇒ manca la visione notturna.

La morte dei bastoncelli può - raramente - provocare degenerazione della retina (per deposito di pigmento sulla retina) ⇒ coinvolgimento anche dei coni ⇒ diminuisce anche la visibilità diurna ⇒ cecità (spesso)

Tossine batteriche

Le esotossine prodotte dai batteri hanno due funzioni:

- Contrastare le difese dell'ospite
- Creare condizioni adatte alla proliferazione e/o alla diffusione

In entrambi i casi sono favorite la sopravvivenza, la moltiplicazione e la diffusione dei batteri.

Tossine batteriche:

- a) **proteiche** ⇒ esotossine
- b) **lipidiche** ⇒ endotossina

Le tossine proteiche sono suddivise in:

- a) **tossine che agiscono sulla membrana plasmatica** ⇒ alterano la permeabilità di membrana, creando pori o agendo da detergenti (citolisine) ⇒ attaccano la cellula bersaglio aumentando in modo non specifico la sua permeabilità di membrana agli ioni e alle piccole molecole. Si dividono in:
 1. **tossine formanti pori** ⇒ emolisine e leucotossine
 2. **tossine causanti danno alla membrana attraverso un'attività enzimatica** ⇒ fosfolipasi e sfingomielinasi
 3. **tossine con effetto detergente sulla membrana**
- b) **tossine che agiscono dentro la cellula** ⇒ sono la sola causa della patologia (tossine tetanica, botuliniche, difterica, antrace)

Tossine formanti pori

Sono tossine solubili che possono andare incontro a un cambiamento conformazionale da idrofiliche ad anfifiliche, diventando capaci di legarsi alla membrana plasmatica.

La tossina oligomerizza e il complesso multimerico penetra nella membrana plasmatica, formando un poro transmembrana che permette il passaggio di acqua e piccole molecole.

Agiscono principalmente su neutrofili, monociti, macrofagi e linfociti, cioè cellule coinvolte nella risposta infiammatoria e immunitaria ⇒ sono perciò dette anche *leucotossine* o *emolisine*.

Gli effetti sono variabili in rapporto alla [tossina]:

✓ A basse concentrazioni causano:

- Inibizione della motilità e della chemiotassi dei neutrofili
- Inibizione della proliferazione dei linfociti
- Rilascio di mediatori lipidici infiammatori da parte delle cellule endoteliali

Questi effetti sono mediati dall'entrata di calcio attraverso il poro formato dalla tossina, oppure direttamente per stimolazione di proteine di membrana connesse col recettore della tossina.

✓ A concentrazioni più alte causano:

- Inibizione della fagocitosi
- Abolizione del burst respiratorio dei neutrofili
- Induzione dell'aggregazione piastrinica
- Lisi dei globuli rossi e delle piastrine

✓ A concentrazioni ancora più alte causano:

- Distruzione della cellula e danno tissutale
- Uccisione dei macrofagi
- Distruzione del fagosoma

α -tossina di *Staphylococcus aureus*

È monomerica.

Si lega alla membrana cellulare attraverso la fosfatidilcolina e il colesterolo presenti in tutte le cellule di mammiferi.

I monomeri oligomerizzano per formare un esamero anfililico.

L'oligomero si inserisce nella membrana.

Il poro può aprirsi, permettendo il passaggio di ioni e piccole molecole.

Tossine causanti danno alla membrana attraverso un'attività enzimatica

Sono fosfolipasi che attaccano le membrane delle cellule eucarioti, inducendo da sole o in collaborazione con altri enzimi la lisi cellulare.

Es., α -tossina di *Clostridium perfringens* \Rightarrow rimuove la fosfatidilcolina (fosfolipasi C)

Tossine con effetto detergente sulla membrana

δ -tossina (o δ -lisina) di *Staphylococcus aureus* \Rightarrow citolitica per molte cellule (ad alte concentrazioni). Manca di un recettore. È un peptide ad α -elica in soluzione acquosa; ad elica estesa quando lega i lipidi.

- ✓ A basse concentrazioni \Rightarrow la maggior parte della tossina legata rimane sulla superficie della membrana, senza penetrarla. Può già stimolare la produzione di superossido da parte dei neutrofili e l'attivazione della fosfolipasi A_2 cellulare, con il conseguente rilascio di mediatori infiammatori.
- ✓ A concentrazioni più alte \Rightarrow più molecole insieme si inseriscono nella membrana e formano canali \Rightarrow entrata di calcio \Rightarrow stessi eventi visti per le tossine formanti pori (entrano acqua e piccole molecole \Rightarrow lisi osmotica)
- ✓ A concentrazioni ancora più alte \Rightarrow la tossina si comporta da detergente, formando micelle e quindi solubilizzando le membrane cellulari.

Streptolisina S di *Streptococcus pyogenes* ⇒ uccide il leucocita dopo la fagocitosi del batterio

Tossine che agiscono dentro la cellula

Per esplicitare la loro azione, queste tossine - rilasciate dal batterio nello spazio extracellulare - devono venire legate dalle cellule bersaglio e penetrarvi.

4 tipi, distinguibili a seconda dell'attività che inducono:

1. ***adenilato ciclasi*** ⇒ fattore edematoso del complesso tossico dell'antrace (EF)
2. ***ADP-ribosiltransferasi*** ⇒ tossina difterica (DT), tossina termolabile di *E. coli* (LT), tossina della pertosse (PT), tossina colerica (CLT), tossina di *P. aeruginosa* (ETA)
3. ***adenina-glicoidrolasi*** ⇒ tossina termostabile di *E. coli* (ST), tossina di Shiga (SLT)
4. ***zinco-endoropeptidasi*** ⇒ tossina tetanica (TeNT), tossine botuliniche (BoNT), fattore letale del complesso tossico dell'antrace (LF)

Tossine A-B a 2 protomeri:

- **B** ⇒ legame
- **A** ⇒ attività catalitica

Processo di intossicazione cellulare ⇒ 4 stadi:

1. legame del protomero B ai recettori di superficie
2. internalizzazione del complesso tossina-recettore
3. traslocazione della porzione catalitica (A) nel citoplasma
4. modifica enzimatica di un bersaglio citosolico da parte del protomero A

Tossina difterica (DT)

È prodotta da *Corynebacterium diphtheriae*, che si moltiplica negli epiteli (naso, gola, pelle) e non penetra nei tessuti circostanti.

Causa necrosi delle cellule della mucosa con formazione di essudato infiammatorio e pseudomembrane.

Dal sito di infezione si dissemina nel SNC e nel cuore.

Il gene che codifica per la tossina è portato da un fago lisogenico β , che rende il batterio tossigenico.

Il gene in questione è espresso in presenza di basse [Fe] ⇒ il danno indotto dal batterio è funzionale al procacciarsi Fe ⇒ se c'è già, non ha senso cercarne di più ⇒ gene DT inibito.

La tossina è prodotta come pre-pro-tossina. Viene poi trasformata in pro-tossina nello spazio periplasmatico e infine attivata completamente per taglio proteolitico, con formazione di una catena bicaenaria A-B, legata da ponti disolfuro.

La tossina entra nella cellula eucariote tramite endocitosi mediata da recettore. Nelle vescicole rivestite di clatrina c'è un pH acido, necessario per l'uscita dalla vescicola della tossina: il dominio di traslocazione, a pH acido, cambia conformazione (idrofilica ⇒ idrofobica) ⇒ si inserisce nella membrana della vescicola, esponendo il protomero A

all'esterno. Il protomero A è liberato quindi nel citosol (per riduzione del ponte S-S (il citosol è riducente)).

DT blocca la sintesi proteica catalizzando l'ADP-ribosilazione di EF-2 (fattore di allungamento della sintesi proteica delle cellule eucarioti) \Rightarrow morte della cellula. È potentissima: basta una molecola per uccidere una cellula.

DT è la sola causa della difterite.

Tossina colerica (CLT)

È prodotta da *Vibrio cholerae*, che causa una malattia infettiva epidemica caratterizzata da massiva diarrea, dovuta ad alterazione dell'assorbimento intestinale di acqua ed elettroliti.

Le conseguenze di una perdita giornaliera di molti litri di liquidi sono:

- perdita di coscienza (per diminuita irrorazione dell'encefalo)
- acidosi
- ipoglicemia
- ipocalcemia
- collasso cardiaco
- shock ipovolemico

Il batterio è introdotto con cibi e liquidi contaminati e aderisce fortemente ai microvilli intestinali. Qui produce l'enterotossina (CLT) e altri fattori di virulenza.

Per instaurare il colera, non basta la tossina (come invece per DT): servono anche flagelli, fimbrie ed adesine.

CLT ha una struttura AB_5 \Rightarrow simile alla tossina termolabile di *E. coli* (LT). Ciascuna subunità B possiede un sito di legame per il ganglioside di membrana GM1 \Rightarrow legame delle subunità B a GM1 sulla membrana apicale delle cellule epiteliali intestinali. Segue l'internalizzazione e un percorso contrario a quello normale dell'apparato di Golgi \Rightarrow arrivo al RE \Rightarrow raggiungimento della membrana basolaterale. La subunità A agisce poi sulla membrana basolaterale.

CLT e LT modificano (per ADP-ribosilazione) la subunità α delle proteine G_s (proteine G trimeriche che attivano l'adenilato ciclasi) \Rightarrow attivazione persistente della cascata del cAMP. Conseguenze:

- diminuzione del riassorbimento di Na^+ e Cl^-
- aumento della secrezione di Cl^- e HCO_3^-
- aumento della secrezione di H_2O

PT modifica (per ADP-ribosilazione) la subunità α delle proteine G_i (proteine G trimeriche che inattivano l'adenilato ciclasi) \Rightarrow inattivazione persistente.

Tossina della pertosse (PT)

È prodotta da *Bordetella pertussis*, che causa la pertosse, trasmessa attraverso saliva o diretto contatto. Agisce in modo simile alla tossina colerica.

Il batterio aderisce all'epitelio delle alte vie respiratorie tramite adesine e fimbrie, e qui produce varie tossine, tra cui PT.

PT non è la sola causa della pertosse (come CLT per il colera).

PT modifica (per ADP-ribosilazione) la subunità α delle proteine G_i (proteine G trimeriche che inattivano l'adenilato ciclasi) \Rightarrow inattivazione persistente G_i \Rightarrow aumento della cascata del cAMP.

PT ha una struttura AB_5 \Rightarrow S1 è la porzione enzimatica; S2, S3, 2 copie di S4 e S5 formano il protomero di legame.

Complesso tossico dell'antrace

È prodotto da *Bacillus anthracis*, che causa il carbonchio. Nel carbonchio si ha la stimolazione massiva dei macrofagi, che liberano sostanze ad azione infiammatoria acuta \Rightarrow shock settico (spesso letale).

È una malattia degli animali che casualmente colpisce anche gli uomini per contatto diretto con gli animali, o per penetrazione delle spore attraverso ferite, per inalazione o per ingestione di carne contaminata.

Fattori di virulenza:

1. capsula antifagocitaria di poly-D-glutammato
2. tossine **EF** e **LF**, che agiscono dentro la cellula, dopo interazione con **PA** (protomero B), che media il legame alle cellule e la penetrazione.

PA \Rightarrow antigene protettivo

EF \Rightarrow fattore edematoso

LF \Rightarrow fattore letale

Né LF, né EF sono tossiche da sole, perché senza PA non sono in grado di entrare dentro le cellule.

LF è una zinco-proteasi, che agisce sulla MAP chinasi MEK dei macrofagi, provocando da parte di questi una massiccia sintesi di IL-1 e TNF_α \Rightarrow morte per shock settico.

Tossina tetanica (TeNT) e tossine botuliniche (BoNT)

Sono prodotte rispettivamente da *Clostridium tetani* e *Clostridium botulinum*.

C. tetani \Rightarrow 1 tossina

C. botulinum \Rightarrow 7 tossine (A-G), prodotte da sierotipi diversi. A, B, E, F \Rightarrow botulismo dell'uomo.

Le tossine clostridiali sono le sole cause delle rispettive patologie (come PT).

Tetano

Sintomi eclatanti \Rightarrow colpisce il SNC; dà paralisi spastica \Rightarrow morte per collasso cardiaco e paralisi dei muscoli respiratori.

Immunità (con vaccino) ⇒ dura ~ 15 anni

Nei Paesi del terzo mondo è la prima causa di morte tra i bambini entro il primo anno di vita (per contaminazione durante il taglio del cordone ombelicale con strumenti infetti).

Botulismo

Sintomi meno eclatanti ⇒ colpisce il SNP; dà paralisi flaccida ⇒ difficoltà a mettere a fuoco la vista, a controllare gli sfinteri, a deglutire, a respirare, ecc. ⇒ morte per arresto respiratorio.

È una patologia rara nei Paesi ricchi, anche se è frequente negli uccelli.

Anche se le due patologie sembrano molto diverse, in realtà il meccanismo d'azione delle tossine è lo stesso.

Spore tetaniche ⇒ penetrano attraverso ferite, piercing, tatuaggi, spine di rosa, ecc. La germinazione delle spore avviene in ferite non disinfettate e necrotiche. Il batterio rimane nel sito di infezione, ma libera la tossina nei motoneuroni fino al midollo spinale.

Tossina tetanica ⇒ spiccato neurotropismo per le giunzioni neuromuscolari. Aderisce ed entra nelle terminazioni sinaptiche dei motoneuroni; poi viaggia in vescicole con trasporto assonico retrogrado fino al corpo cellulare del motoneurone, nel midollo spinale. Entra negli interneuroni inibitori, inibendone la trasmissione sinaptica ⇒ non c'è più l'inibizione reciproca tra muscoli agonisti e muscoli antagonisti: entrambi i gruppi muscolari si contraggono contemporaneamente.

Spore botuliniche ⇒ penetrano attraverso il cibo infetto. Il botulismo delle ferite è rarissimo. Normalmente, la flora batterica è in grado di contrastare le spore (ma nei bambini no). Quindi, per avere botulismo, bisogna che penetrino le tossine (non i batteri).

Tossine botuliniche ⇒ vengono assorbite dagli enterociti ⇒ diffusione per via ematica ⇒ arrivo ai motoneuroni: internalizzazione in vescicole nei terminali. A differenza della tossina tetanica, si bloccano a questo livello, inibendo il rilascio di acetilcolina.

Il meccanismo d'azione delle tossine clostridiali è lo stesso: inibizione della trasmissione sinaptica.

Le tossine clostridiali sono potentissime (10 ng uccidono un uomo). Sono prodotte come protossine e poi liberate per lisi.

Blocco della trasmissione sinaptica da parte delle tossine clostridiali

Le vescicole di neurotrasmettitore arrivano alla membrana della terminazione sinaptica per opera della **VAMP** (Vesicle-Associated Membrane Protein ⇒ legata alla vescicola), della **sintaxina** (transmembrana ⇒ membrana della terminazione sinaptica) e della **SNAP25** (ancorata sul lato interno della membrana della terminazione sinaptica).

Le tossine clostridiali tagliano una di queste tre proteine SNARE ⇒ non si forma più il complesso ⇒ no liberazione di neurotrasmettitore.

Differenza tra tossine botuliniche e tetanica ⇒ BoNT penetrano direttamente a livello della terminazione del motoneurone; TeNT penetra una volta giunta negli interneuroni inibitori.

BoNT B, D, F, G ⇒ tagliano VAMP

TeTx (tetanica) ⇒ taglia VAMP

BoNT A, E ⇒ tagliano SNAP25

BoNT C ⇒ taglia syntaxina

Al microscopio, si vede un accumulo di vescicole nella terminazione, visto che esse non possono essere secrete. Le tossine clostridiali non uccidono le cellule.

Le tossine botuliniche sono usate (a bassissime dosi, in siti circoscritti) nel trattamento di patologie da ipercontrattilità muscolare. Es., distonie cervicali (torcicollo spastico), blefarospasmo (ipercontrattilità delle palpebre), iperidrosi (ipersudorazione), alcune emicranie e alcune rughe (quelle causate dall'eccessiva contrazione dei muscoli mimici). I benefici sono limitati nel tempo, perché il terminale bloccato - dopo un po' - emette fibre collaterali nuove ("sane").