

La genetica in gastroenterologia pediatrica

Alcune cose da sapere (PARTE 2^a)

Martina Fornaro, Enrico Valletta
 UO di Pediatria, Ospedale "G.B. Morgagni - L. Pierantoni", AUSL di Forlì

Nella seconda parte di questa breve rassegna sulle principali componenti genetiche note delle malattie gastrointestinali del bambino, vengono prese in considerazione alcune patologie del fegato e del pancreas, talora rare, gravi e a esordio precoce, talaltra più comuni e meno impegnative.

Malattie del fegato

Epatopatie colestatiche

Sono epatopatie a esordio nella prima infanzia che si manifestano con colestasi a carico di un fegato funzionalmente ancora immaturo e più suscettibile a eventi nocivi di natura ambientale, genetica o metabolica [1].

Il difetto di alfa-1 antitripsina (A1AT) è una patologia autosomica recessiva (1:1800 nati), a penetranza ed espressività variabili, con una mutazione puntiforme che determina la sintesi di una proteina strutturalmente anomala (sostituzione di un singolo amminoacido G324K) che non è in grado di essere secreta e che viene trattenuta nel reticolo endoplasmico degli epatociti con effetto tossico. Il gene responsabile è *SERPINA1* (14q32.1) e gli omozigoti sono portatori della mutazione in entrambe le copie del gene. La valutazione della proteina carente attraverso la tipizzazione del suo inibitore Pi identifica tre alleli rilevanti. L'allele Pi*M è l'allele più comune in tutte le popolazioni. Gli alleli Pi*Z e Pi*S sono due varianti che determinano il deficit della proteina. Un individuo PiMM è normale e ha normali concentrazioni plasmatiche di A1AT. PiMZ ha un modesto incremento del rischio di pneumopatia in età adulta. PiSZ generalmente non si associa a epato- o pneumopatia, ma a un aumentato rischio di COPD nei fumatori. I soggetti PiZZ hanno bassi livelli di A1AT e sono a elevato rischio di malattia. Oltre al gene *SERPINA1*, una variante allelica (2484G/A) del gene *ERMan1* che produce una mannosidasi responsabile della clearance del reticolo endoplasmico, agirebbe come modulatore dell'espressività clinica del difetto determinando una precoce comparsa e una maggiore gravità dell'epatopatia. Il test genetico è disponibile per la conferma della diagnosi, per la diagnosi del portatore e prenatale.

Le colestasi intraepatiche familiari progressive (PFIC) sono patologie del sistema di trasporto canalicolare degli acidi biliari negli epatociti che determinano colestasi ingravescente ed elevato rischio d'insufficienza epatica già nella prima infanzia. PFIC-1 è determinata da mutazioni del gene *ATP8B1* (18q21-q22) che codifica per una proteina trasportatrice, FIC-1, funzionalmente o strutturalmente anomala. Alcune mutazioni del gene esitano in una FIC-1 solo parzialmente non funzionante, determinando una colestasi meno grave (colestasi intraepatica ricorrente benigna, BRIC-1). Il trapianto di fegato è generalmente risolutivo, anche se sono stati segnalati casi di epatopatia steatosica e cirrotica in fegati trapiantati. PFIC-2 si caratterizza per una colestasi con livelli normali di γ GT determinata dalla produzione di una proteina trasportatrice dei sali biliari (BSEP) anomala conseguente a mutazioni del gene *ABCB11* (2q31.1) con modalità ereditarie autosomiche recessive. La forma meno impegnativa con sintomi ricorrenti è nota come BRIC-2. L'evoluzione può essere rapida e il trapianto epatico risolutivo, tranne nei casi di recidiva colestatica del fegato trapiantato in presenza di autoanticorpi contro la BSEP. La sintesi di una proteina trasportatrice MDR3 anomala costituisce la base patogenetica della PFIC-3. Il gene mutato responsabile è *ABCB4* (7q21) e la malattia si caratterizza per una colestasi con γ GT elevate. Mutazioni del gene *ABCB4* sono responsabili, oltre che della PFIC-3, anche della cirrosi biliare dell'adulto, della colestasi intraepatica in gravidanza, della colelitiasi associata a ipofosfolipidemia e, in eterozigosi, di alcune manifestazioni colestatiche anitteriche idiopatiche. Nonostante l'individuazione del difetto genetico in queste tre patologie, un consistente numero di colestasi

intraepatiche dell'infanzia sfugge ancora a una precisa classificazione. Merita invece un cenno, tra le epatopatie colestatiche a esordio precoce, la sindrome di Alagille (ALGS), che associa a una paucità delle vie biliari intraepatiche tratti sindromici cardiaci, oculari e muscoloscheletrici. Malattia rara (~1:100.000 nati), autosomica dominante, si manifesta in epoca neonatale con ittero colestatico, e l'origine genetica del difetto è stata individuata in un gene *Jagged1* (*JAG1*) sul braccio corto del cromosoma 20 (20p12). Oltre il 95% dei pazienti con ALGS ha una mutazione (ne sono state identificate oltre 400) o una delezione di *JAG1* (ALGS tipo 1) che codifica per una proteina recettoriale transmembrana "Notch", evidentemente importante nello sviluppo embrionario degli organi affetti [2]. I pochi soggetti negativi per *JAG1* sono portatori di una mutazione del gene *Notch2* (ALGS tipo 2) che può funzionare da unico determinante della malattia o come gene modificatore dell'espressività fenotipica della malattia in chi ha il gene *JAG1* mutato. La diagnosi genetica è disponibile e rende possibile il relativo counselling.

L'atresia delle vie biliari (AVB) è la causa più comune di colestasi neonatale e rappresenta una indicazione al trapianto di fegato nel bambino. Coinvolge primariamente le vie biliari extraepatiche in un processo infiammatorio e fibrotico che interessa velocemente anche i dotti intraepatici con danno epatocitario progressivo. La patogenesi della AVB appare complessa e coinvolge, probabilmente, aspetti genetici, ambientali e immunologici. La componente genetica fa riferimento ad alcuni geni che controllano i processi di lateralizzazione attorno all'asse destra-sinistra nel corso dell'embriogenesi. Sono il gene dell'*inversina* e il *CFC1* che codificano per la proteina

Per corrispondenza:
 Enrico Valletta
 e-mail: e.valletta@ausl.fo.it

aggiornamento avanzato

CRYPTIC. In entrambi i casi i riscontri conseguiti su modelli animali hanno ottenuto solo parziali conferme nell'uomo. Secondo altri modelli di malattia l'AVB sarebbe legata a mutazioni dei geni che regolano lo sviluppo delle strutture pancreatiche (*Sox17*) e della colecisti (*Lgr4*), o a fattori di crescita dell'endotelio vascolare. Queste acquisizioni sulla patogenesi dell'AVB non offrono, al momento, alcun risvolto pratico.

La malattia di Wilson interessa 1/30.000 individui e si manifesta con epatopatia cronica ingravescente e sintomi neurologici legati all'accumulo del rame. La trasmissione è autosomica recessiva, legata a una mutazione sul gene *ATP7B* (13q14.3). Essendo numerose le mutazioni del gene *ATP7B* che causano la malattia di Wilson, la diagnosi genetica non è d'impiego comune. Tuttavia, se nel singolo paziente viene identificata la mutazione responsabile, questa può essere ricercata nei familiari di primo grado.

Colelitiasi

Nel bambino e nell'adolescente è evento raro ma da non trascurare. La frequenza varia dallo 0,13%, tra 6 e 19 anni di età in Italia, al 2% in adolescenti obesi in Germania. Nell'adulto, dove la patologia è molto più frequente, importanti fattori contributivi sono stati individuati nell'etnia (circa il 50% di colelitiasi negli Indiani d'America), sesso femminile, parità, dislipidemia, obesità, insulino-resistenza e familiarità per colelitiasi [3-4]. Oltre il 90% dei calcoli della colecisti è a contenuto colesterolico. Uno studio su oltre 40.000 gemelli in Svezia, ha suggerito una forte componente genetica alla quale si associa un'altrettanto importante influenza di altri fattori, primo tra tutti l'obesità. Studi su modelli murini hanno individuato oltre 20 geni (geni *Lith*) fortemente implicati nella colelitiasi. Analogamente, nell'uomo, geni candidati sono situati sui cromosomi 1p10, 2p, 3q, 4p, 8p, 9p, 10p e 16q (geni litogenici). Il singolo gene più rilevante è la variante D19H del gene *ABCG8* sul cromosoma 2 che sembra rispondere di circa il 10% del rischio totale per colelitiasi e che determina un'aumentata sintesi del colesterolo a livello epatico. I portatori dell'allele 19H hanno un incremento del rischio di 2 volte se eterozigoti e di 7 volte se omozigoti. Una forma particolare di

colelitiasi denominata "colelitiasi associata a ipofosfolipidemia" è stata attribuita a una singola mutazione del gene *ABCB4* che regola il trasporto dei fosfolipidi di membrana. Varianti del gene (*NR1H4*) che codifica per un recettore nucleare dei sali biliari e per un trasportatore (*SLC10A2*) degli acidi biliari sono state anch'esse associate a un più elevato rischio di colelitiasi. Nell'ambito delle colelitiasi le indagini genetiche non hanno oggi una reale utilità clinica.

Sindrome di Gilbert

Condizione ereditaria a trasmissione autosomica dominante con penetranza incompleta, nella quale si ha incremento variabile della bilirubina non coniugata (indiretta) in assenza di emolisi e di malattia epatocellulare [5]. È una forma non evolutiva, benigna, determinata dalla riduzione dell'attività del gene *UGT1A1* (2q37) della UDP-glicuronidil-transferasi 1A1. Il genotipo più comune è il polimorfismo omozigote nel promoter A (TA)₇TAA del gene *UGT1A1*. Numerose altre varianti dello stesso gene danno forme intermedie di sindrome di Gilbert e sono state identificate anche nella sindrome di Crigler-Najjar I e II. Il difetto della s. di Gilbert incrementa il rischio di colelitiasi e potrebbe influenzare l'andamento dell'iperbilirubinemia nel neonato, nel lattante al seno nelle prime settimane di vita o in presenza di altre condizioni emolitiche (incompatibilità ABO, sferocitosi). La s. di Gilbert, per la sua benignità, non richiede, di norma, alcun approfondimento genetico.

Malattie del pancreas

Pancreatiti croniche

Anche le pancreatiti sono il risultato dell'interazione tra fattori ambientali ed ereditarietà genetica; sono noti almeno 4 determinanti genetici, tutti in relazione al controllo dell'attività della tripsina all'interno del pancreas [6]. Una mutazione del gene *PRSS1* (7q35) che sintetizza per il tripsinogeno cationico causa attivazione del tripsinogeno in tripsina (processo che normalmente dovrebbe avvenire nel duodeno) già all'interno della ghiandola con autodigestione del pancreas. Ne risulta una forma ereditaria di pancreatite che origina da oltre una ventina di mutazioni note e che esordisce

attorno ai 10-11 anni di età. Nel 50% dei casi evolve in pancreatite cronica con un rischio di neoplasia del 40% a 70 anni. Un sistema di parziale protezione (blocca non più del 20% dell'attività della tripsina) verso l'accidentale attivazione del tripsinogeno è fornito da un inibitore della serina-proteasi codificato dal gene *SPINK1* (5q31). È ritenuto importante in alcune forme di pancreatite tropicale, ma agirebbe più come gene modificatore di patologia in concomitanza con altri e più importanti fattori genetici e ambientali di pancreatite.

Il 2% della popolazione generale è portatore di una mutazione di *SPINK1*, ma raggiunge il 25% in alcuni gruppi affetti da pancreatite cronica idiopatica. Mutazioni di *PRSS1* e *SPINK1* vanno ricercate in bambini con pancreatite ricorrente-cronica, specie se con precedenti familiari. Ugualmente importanti sono il gene del chimotripsinogeno (*CTRC*) e quello che regola il livello del calcio intra-acinare (*CASR*).

Tutti questi geni controllano l'attivazione del tripsinogeno a diversi livelli (acinare o duttale) e con diversi meccanismi, suggerendo la possibilità di approcci terapeutici distinti a seconda del difetto genetico individuato [7]. Anche mutazioni del gene *CFTR* della fibrosi cistica sono state riscontrate con una certa frequenza in alcune casistiche di pancreatite cronica idiopatica e di pancreatite cronica tropicale suggerendo un loro ruolo concausale.

Fibrosi cistica (FC)

La FC è una malattia autosomica recessiva, causata da una mutazione nel gene *CFTR* (7q31.2) che codifica per una proteina di 1480 amminoacidi regolatrice dei canali del cloro attraverso la membrana delle cellule epiteliali. Dalla sua scoperta, poco più di venti anni fa, le conoscenze sul gene *CFTR* si sono accumulate a un ritmo impressionante e non potremo qui che accennarne brevemente. Il pancreas e il tratto digestivo sono organi nei quali il difetto della proteina *CFTR* si esprime con particolare evidenza, ma è noto che la FC è malattia sistemica che interessa anche l'apparato respiratorio, le ghiandole sudoripare e il sistema riproduttivo. La mutazione più frequente è la $\Delta F508$ presente nel 50% dei soggetti con FC in Italia, arrivando all'85% in Dani-

marca e Gran Bretagna. Tuttavia, a oggi, sono state identificate e depositate oltre 1700 mutazioni e polimorfismi (www.genet.sickkids.on.ca/cftr/) suddivisi in cinque classi (I-V) in rapporto alla produzione di una proteina strutturalmente o funzionalmente anomala [8]. Alcune di queste mutazioni (classi I-III) si esprimono fenotipicamente con una malattia più grave, altre (classi IV, V) si associano più frequentemente a un pancreas funzionalmente sufficiente o a una pneumopatia meno impegnativa. L'influenza di altri geni modificatori è probabilmente determinante. In Italia si stima vi siano un affetto da FC ogni 2700 nati vivi e un portatore ogni 26. Una coppia ogni 700 ha una probabilità su 4 di generare a ogni gravidanza un figlio con FC. I portatori non presentano alcuna manifestazione clinica. Nella FC, le acquisizioni genetiche hanno avuto una rapida applicazione clinica, rendendo possibili la diagnosi genetica, la diagnosi prenatale e quella del portatore, fino a ipotizzare concretamente la possibilità di una terapia genica. Su questi temi si stanno oggi confrontando strategie e filosofie di screening e d'intervento, talora assai diverse, che sollevano problemi organizzativi ed etici di grande complessità [9].

Sindrome di Shwachman-Diamond (SDS)

È una rara (1:80.000) malattia autosomica recessiva che si esprime nel bambino con insufficienza pancreatica, difetto dell'emopoiesi, anomalie cardiache, epatiche, scheletriche, immunologiche e predisposizione alla leucemia [10]. Circa il 90% dei pazienti con SDS ha una mutazione del gene *SBDS* (7q11) che codifica per una proteina ubiquitaria nelle cellule e particolarmente a livello dei nucleoli. La sua funzione non è del tutto nota, ma sarebbe coinvolta nella biogenesi dei ribosomi e preverrebbe l'instabilità genomica durante la mitosi. L'indagine genetica è senz'altro utile ai fini diagnostici.

Commento

Sappiamo che in svariate patologie del tratto gastrointestinale del bambino concorrono, in misura variabile, fattori ambientali e genetici con il possibile ulteriore contributo di eventi scatenanti ancora, in larga parte, ignoti. Per sapere se una malattia abbia una più o meno forte componente genetica, possiamo calcolare il rischio (λ_s) nei fratelli di un individuo affetto dividendolo per il rischio nella popolazione generale [11]. Tanto più elevato è questo rapporto tanto maggiore è la rilevanza della componente genetica. Per fare un esempio, la fibrosi cistica (classica malattia mendeliana) ha $\lambda_s = 500$, la celiachia $\lambda_s = 2-5$, le MICI $\lambda_s = 1,3-8,3$. La nostra capacità di studiare estensivamente il genoma umano consente oggi di mettere in evidenza un numero enorme di possibili mutazioni in un altrettanto grande numero di loci genetici. Correlare queste osservazioni con il dato clinico di malattia rappresenta il passaggio più difficile, per l'elevata numerosità delle popolazioni da studiare, per raggiungere la significatività statistica utile all'identificazione di loci solo modificamente influenti e per la difficoltà di confermare le medesime osservazioni in studi diversi e, magari, in popolazioni di etnie differenti. Comunque sia, vero è che non possiamo ignorare quanta parte – piccola o grande che sia – abbiano, già oggi, le conoscenze genetiche nella gestione complessiva di queste malattie. Informazioni in questo senso sono disponibili rapidamente per chiunque e le domande che ci vengono poste dai nostri pazienti sono sempre più precise e incalzanti. I test genetici possono essere utilizzati in funzione del supporto diagnostico per confermare il sospetto clinico, o a scopo predittivo per indagare una generica predisposizione a sviluppare la malattia (la celiachia è l'evenienza più comune), fino alle più complesse ed eticamente delicate richieste di diagnosi prenatale o di previsione di malattie che si svilupperanno nel corso della vita, ma sul cui

decorso naturale non siamo oggi in grado d'intervenire (la corea di Huntington è l'esempio tipico, ma anche le poliposi familiari possono porre, per alcuni versi, problemi simili). L'attesa è che, nel futuro, la genetica ci consenta non solo di offrire una sempre più efficace consulenza in termini prognostici o di scelte riproduttive, ma soprattutto di differenziare in maniera più precisa le diverse varianti di una malattia e d'individualizzare le scelte terapeutiche modificandone effettivamente la prognosi e/o migliorando la qualità di vita delle persone affette. ♦

Bibliografia

- [1] Santos JL, Choquette M, Bezerra JA. Cholestatic liver disease in children. *Curr Gastroenterol Rep* 2010;12(1):30-9. doi: 10.1007/s11894-009-0081-8.
- [2] Turnpenny PD, Ellard S. Alagille syndrome: pathogenesis, diagnosis and management. *Eur J Hum Genet* 2012;20(3):251-7. doi: 10.1038/ejhg.2011-181.
- [3] Marschall HU, Katsika D, Rudling M, Einarsson C. The genetic background of gallstone formation: an update. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;396(1):58-62. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.143.
- [4] Wittenburg H. Hereditary liver disease: gallstones. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010;24(5):747-56. doi: 10.1016/j.bpg.2010.07.004.
- [5] Fretzayas A, Moustaki M, Liapi O, Karpathios T. Gilbert syndrome. *Eur J Pediatr* 2012;171(1):11-5. doi: 10.1007/s00431-011-1641-0.
- [6] Nydegger A, Couper RT, Oliver MR. Childhood pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21(3):499-509.
- [7] Solomon S, Whitcomb DC. Genetics of pancreatitis: an update for clinicians and genetic counselors. *Curr Gastroenterol Rep* 2012;14(2):112-7. doi: 10.1007/s11894-012-0240-1.
- [8] Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros* 2011;10 suppl 2:S86-S102. doi: 10.1016/S1569-1993(11)60014-3.
- [9] Castellani C, Picci L, Tamanini A, et al. Association between carrier screening and incidence of cystic fibrosis. *JAMA* 2009;302(23):2573-9. doi: 10.1001/jama.2009.1758.
- [10] Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23(2):233-48. doi: 10.1016/j.hoc.2009.01.007.
- [11] Tello-Ruiz MK, Walsh EC, Rioux JD. Gastroenterologic and Hepatic Diseases. In: *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5965/>.