

**L'ASSISTENZA SANITARIA TRANSFRONTALIERA:
QUALI DIRITTI PER I PAZIENTI E LA COOPERAZIONE
TRA GLI STATI MEMBRI DELL'UNIONE EUROPEA**

ATASSIA ASSOCIATA A GEMIN5 (OMIM#619333)

Dott.ssa Ginevra Zanni

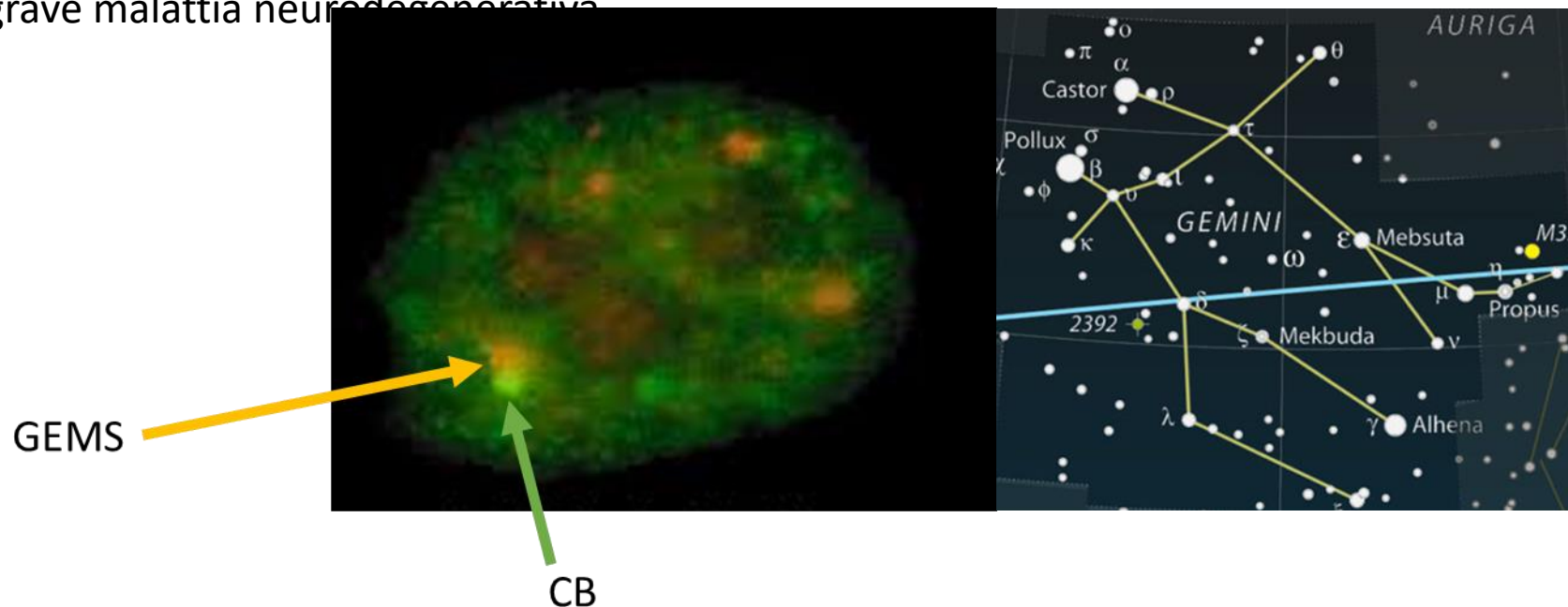
UO Malattie Neuromuscolari e Neurodegenerative
UO Neurologia dello Sviluppo

Ospedale Pediatrico B. Gesù IRCCS, Roma

Breve Storia di GEMIN5 (GEM-ASSOCIATED PROTEIN 5)

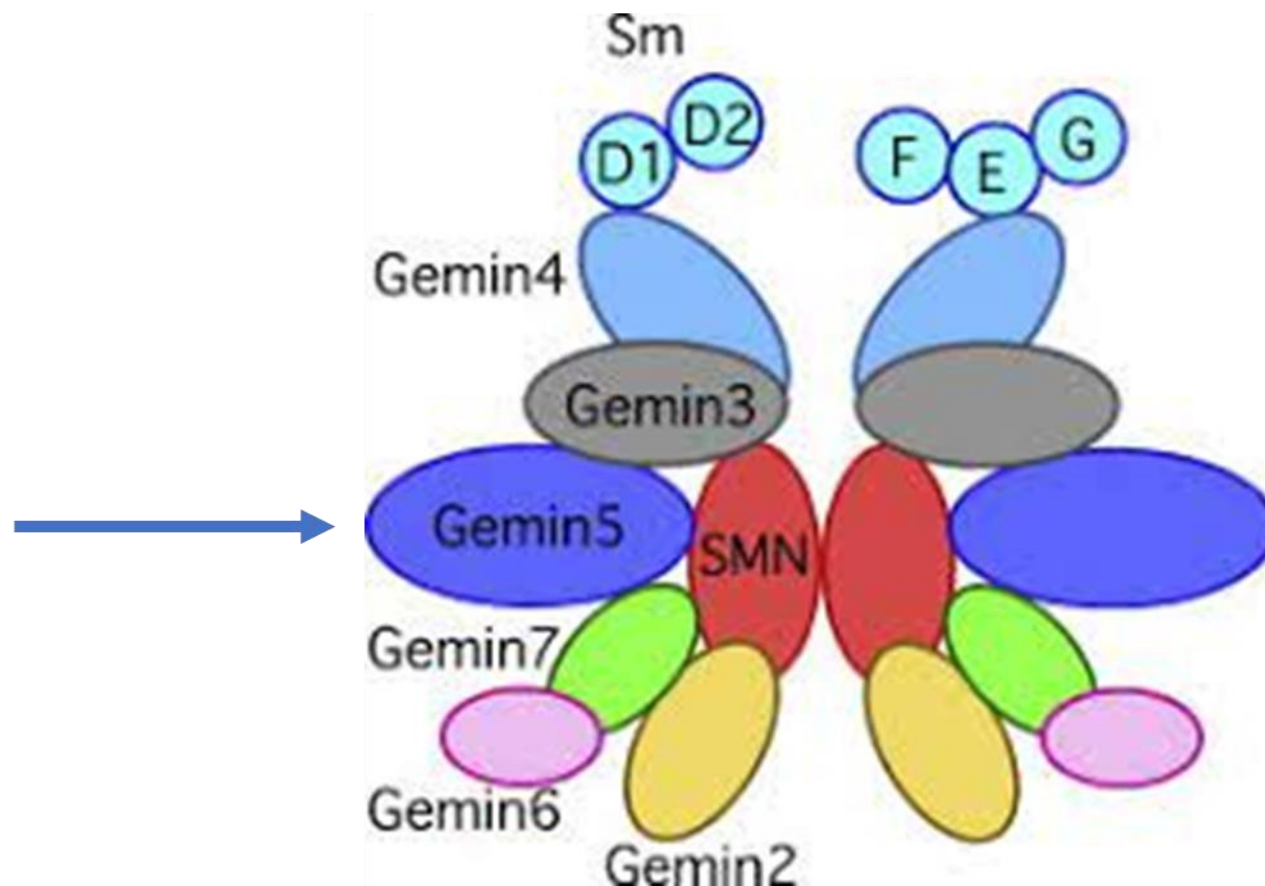
Identificata per la prima volta da Gubitza nel 2002. Stumpf nel 2021 localizza il gene **GEMIN5** a livello del cromosoma 5q33.2 il quale codifica per una proteina legante l'RNA, di 1508 amminoacidi. Sempre nel 2021, Kour et al identificano varianti bialleliche di GEMIN5 (malattia autosomica recessiva) in individui appartenenti a 22 famiglie con disturbo del neurosviluppo, atrofia cerebellare e disfunzione motoria (NEDCAM). Attualmente le famiglie riportate in letteratura sono 48.

Il nucleo di una cellula contiene 1-10 foci densi detti "Corpi di Cajal" (CB), contenenti molecole implicate nel processamento degli RNA: piccoli RNA nucleolari (snoRNA) e piccoli RNA nucleari (snRNA) in relazione con la maturazione degli RNA messaggeri. Le GEMS sono foci densi "gemellati" ai corpi di Cajal e contengono GEMIN5 oltre ad altre molecole facenti parte del complesso SMN (survival motor neuron complex) implicato nell'amiotrofia spinale (SMA), una grave malattia neurodegenerativa.

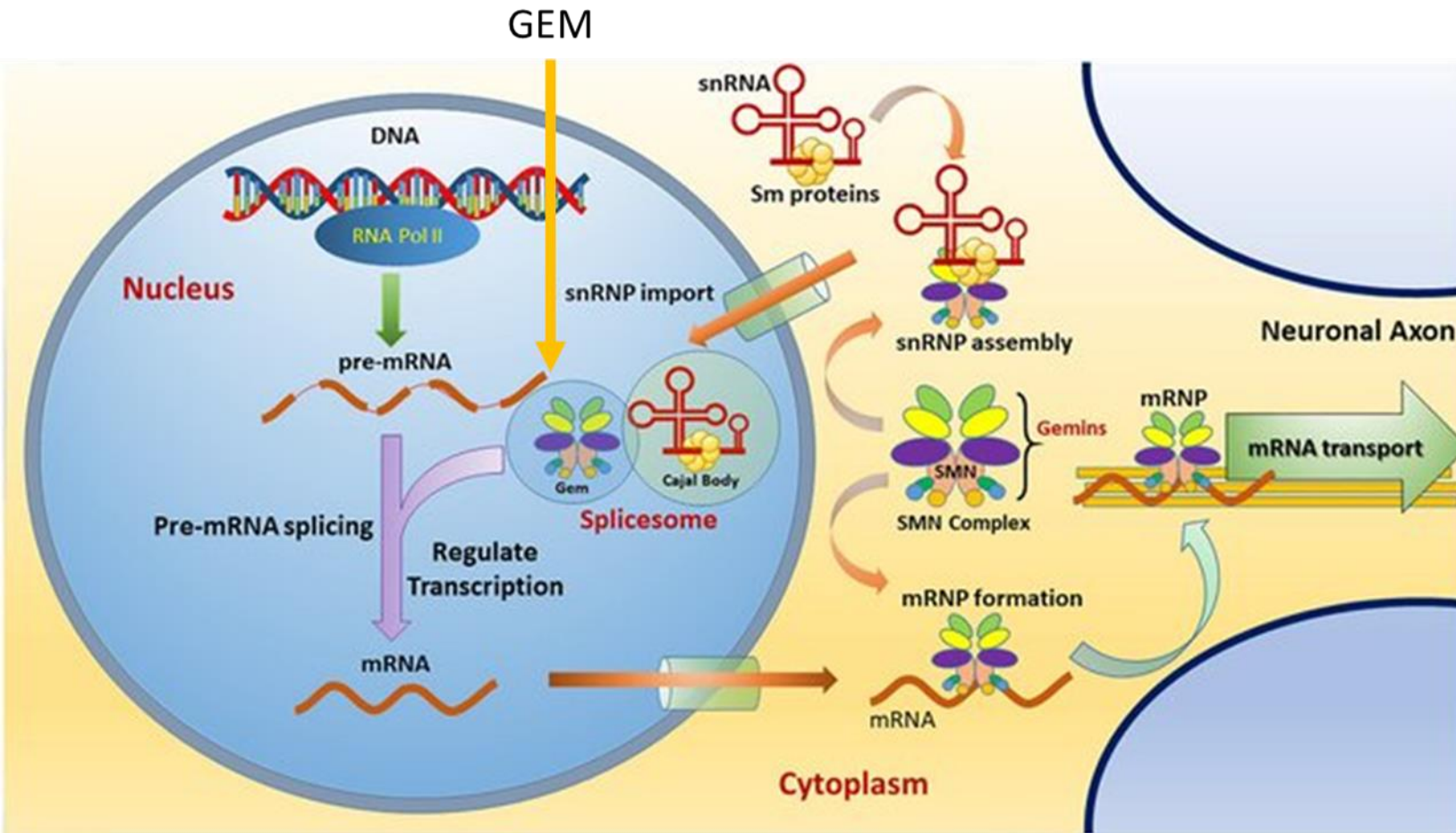


Complesso SMN

Il complesso multiproteico SMN è composto da SMN, Gemins 2–8 e UNRIP. Nel citoplasma, il complesso SMN-snRNP “attivato” da Gemin5 viene importato nel nucleo dove agisce nella maturazione degli RNA messaggeri attraverso lo splicing (oppure agire nel trasporto assonale di altre RNP ribonucleoproteine)

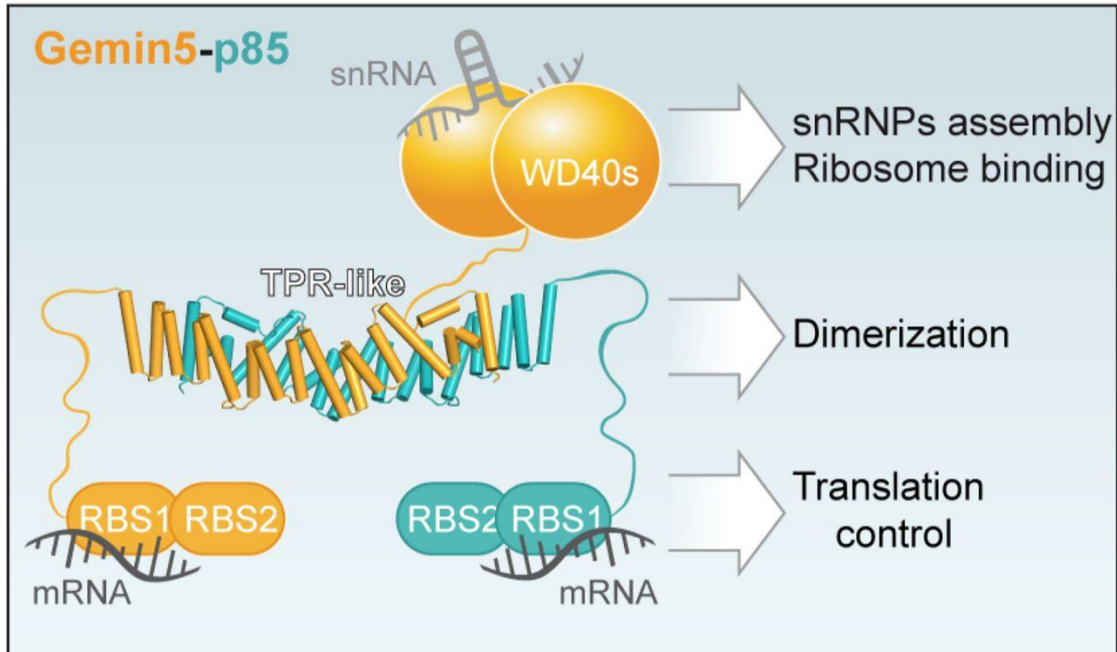


GEMIN5 PROTEINA MULTIFUNZIONALE



ASSEMBLAGGIO COMPLESSO SMN
METABOLISMO RNA, SPLICING
LOCALIZZAZIONE/TRASPORTO RNA
REGOLAZIONE mRNA (espressione genica)
TRADUZIONE/ribosomi (espressione proteica)

STRUTTURA DELLA PROTEINA GEMIN5



Tre domini:

1) WD40s

-assemblaggio complesso SMN import nucleare per splicing
-interazione con i ribosomi traduzione globale nel citoplasma

2)TPR-like

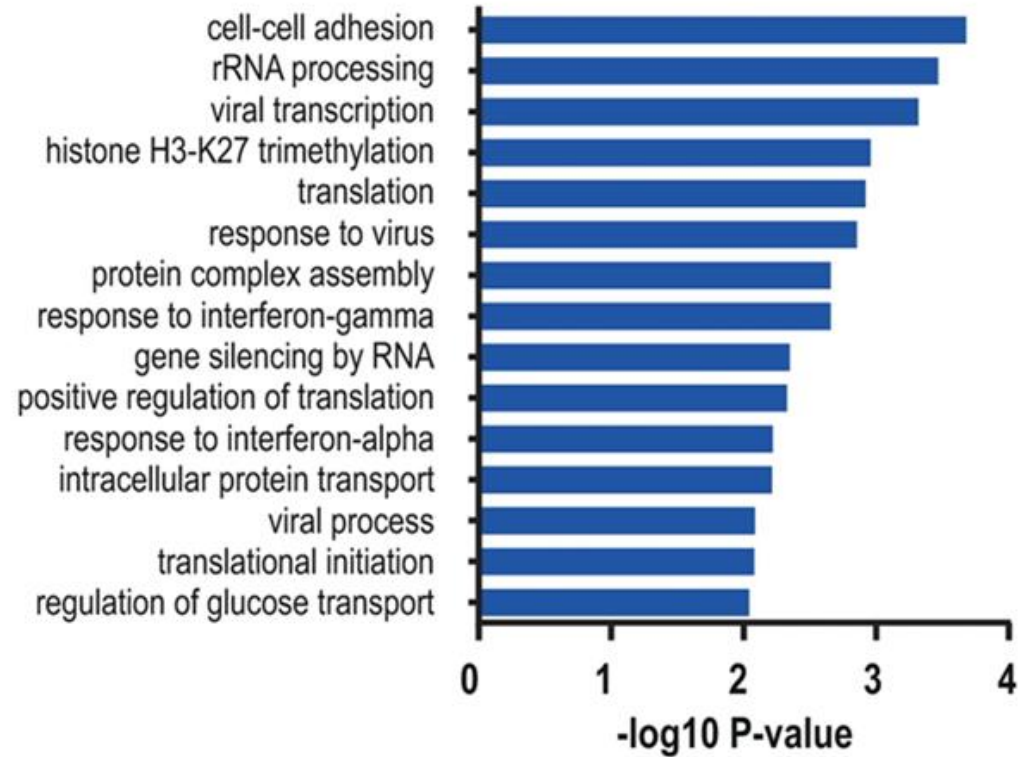
autoassemblaggio (omodimeri, omodecameri)

3) RBS1-RBS2 per interazione con RNA specifici

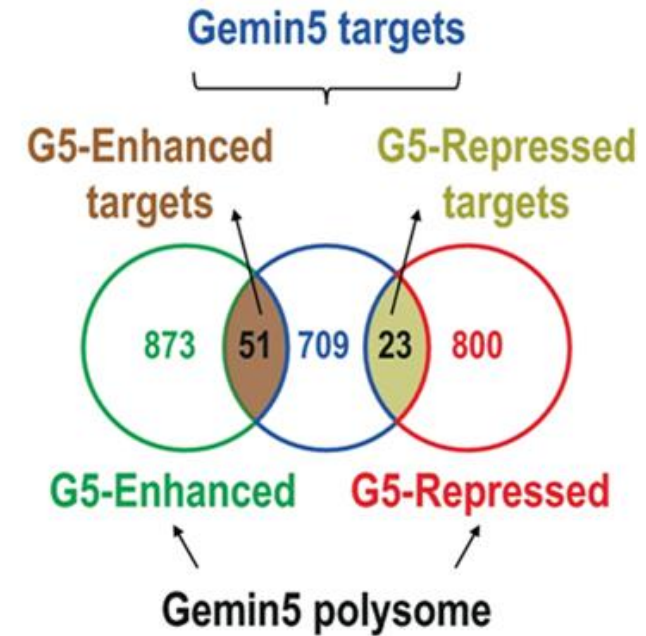
(traduzione selettiva) sia SMN dipendente che SMN indipendente

Analisi di RNA specifici target di GEMIN5

a

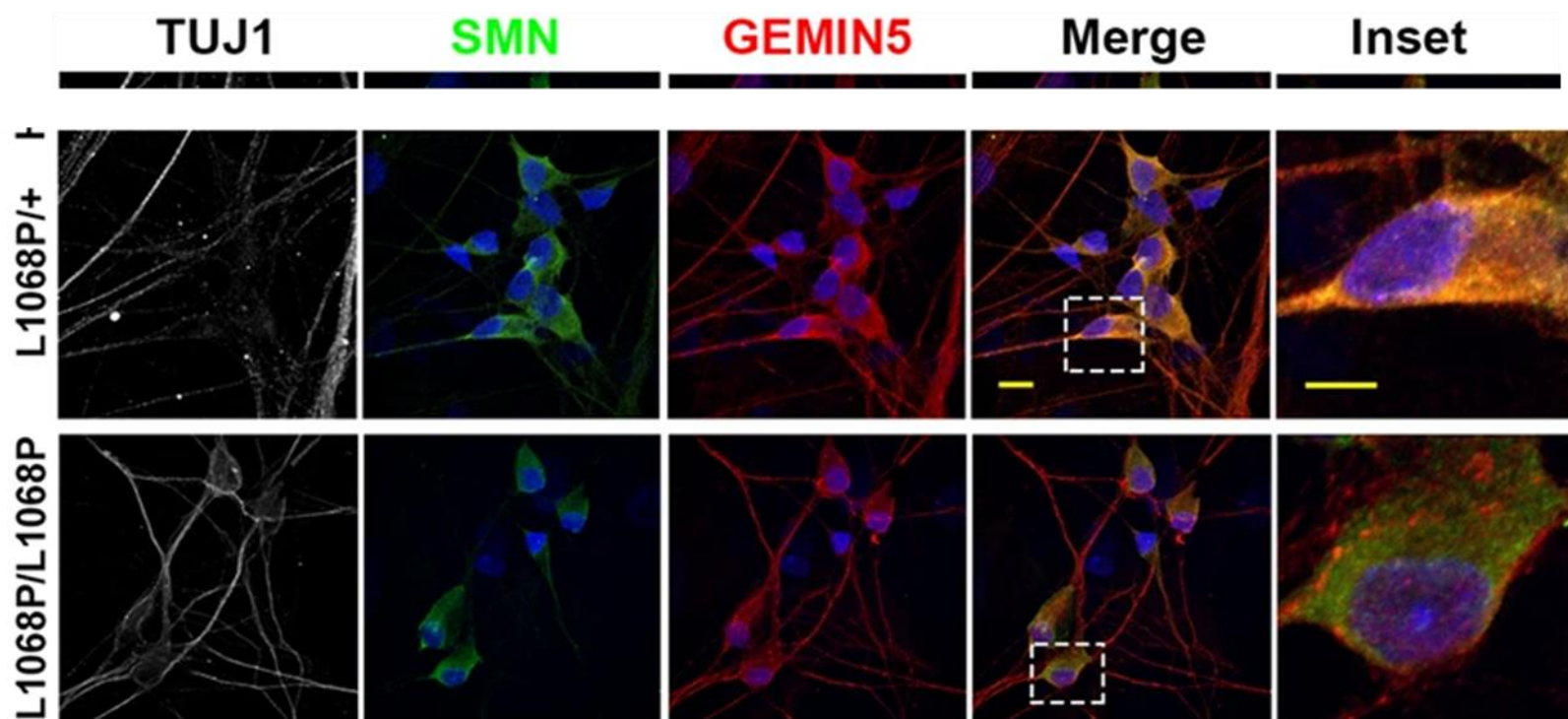


b

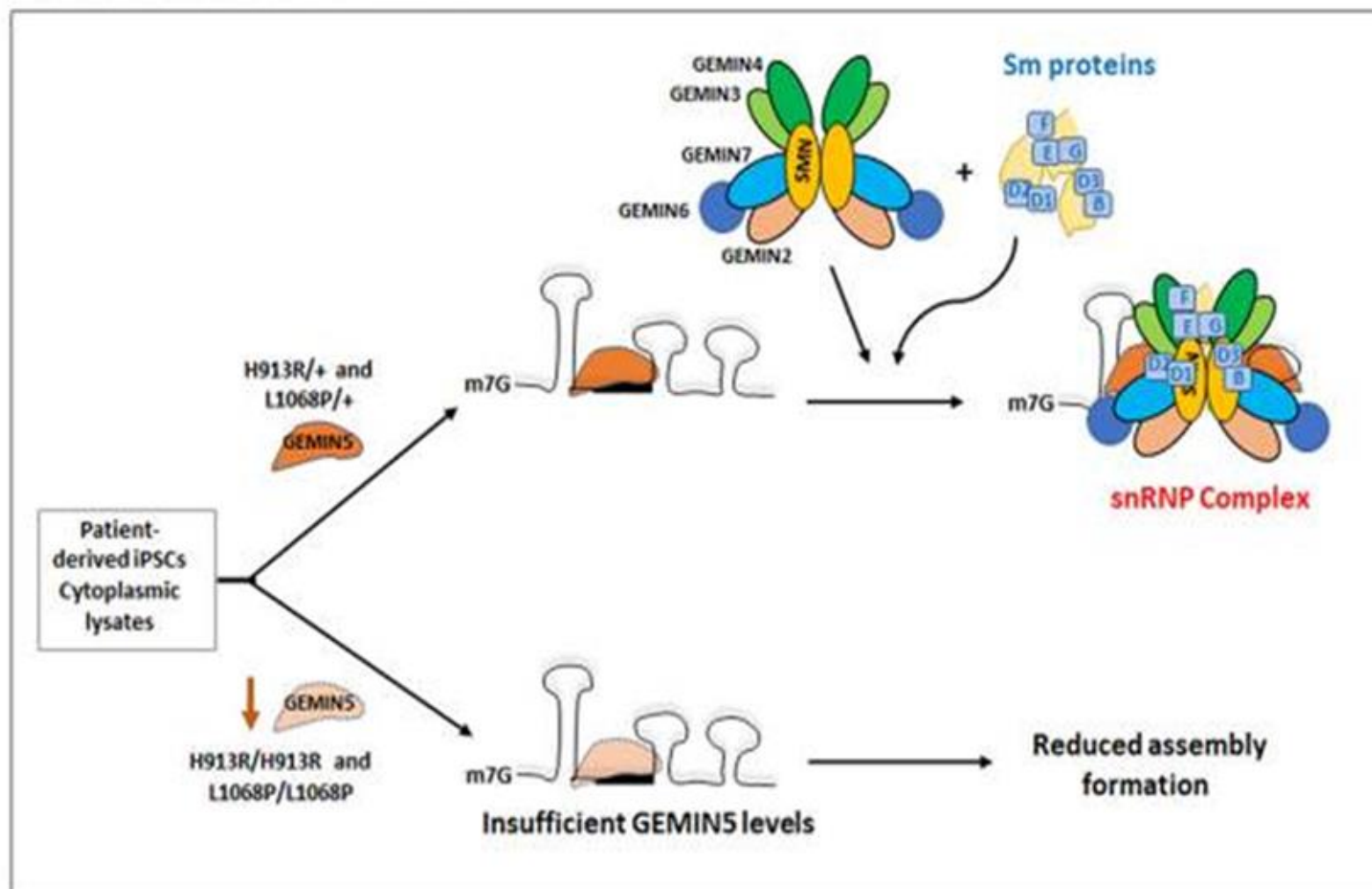


NEDCAM = Neurodevelopmental Disorder with Cerebellar Atrophy and Motor Dysfunction

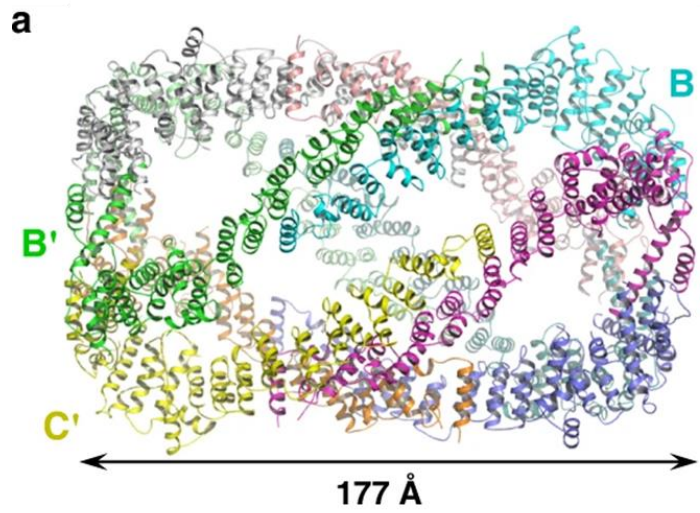
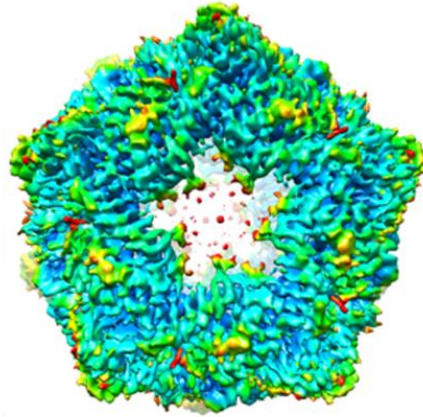
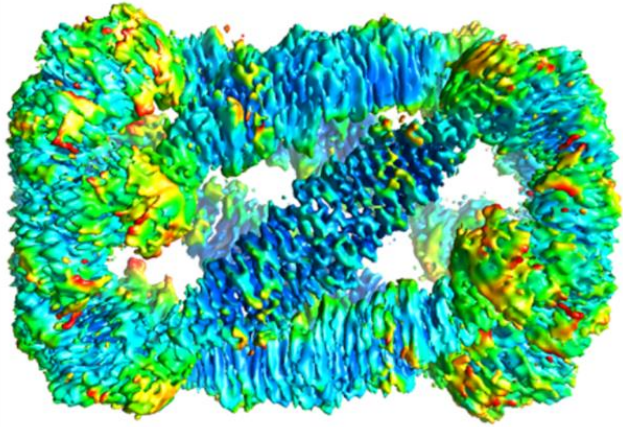
Cellule modello (iPSCs) derivate da alcuni pazienti GEMIN5, mostrano riduzione del 70-80% dei livelli di proteina (a causa dell'instabilità della proteina mutata), alterata distribuzione subcellulare soprattutto a livello del citoplasma



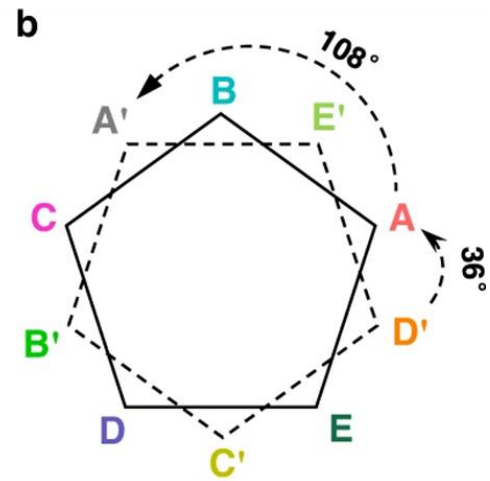
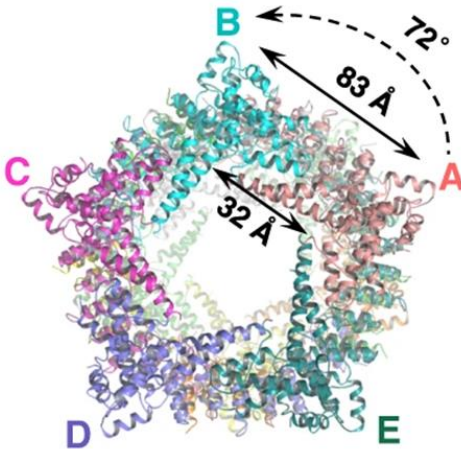

Cellule modello (iPSCs) derivate da pazienti GEMIN5, mostrano RIDUZIONE ASSEMBLAGGIO SMN



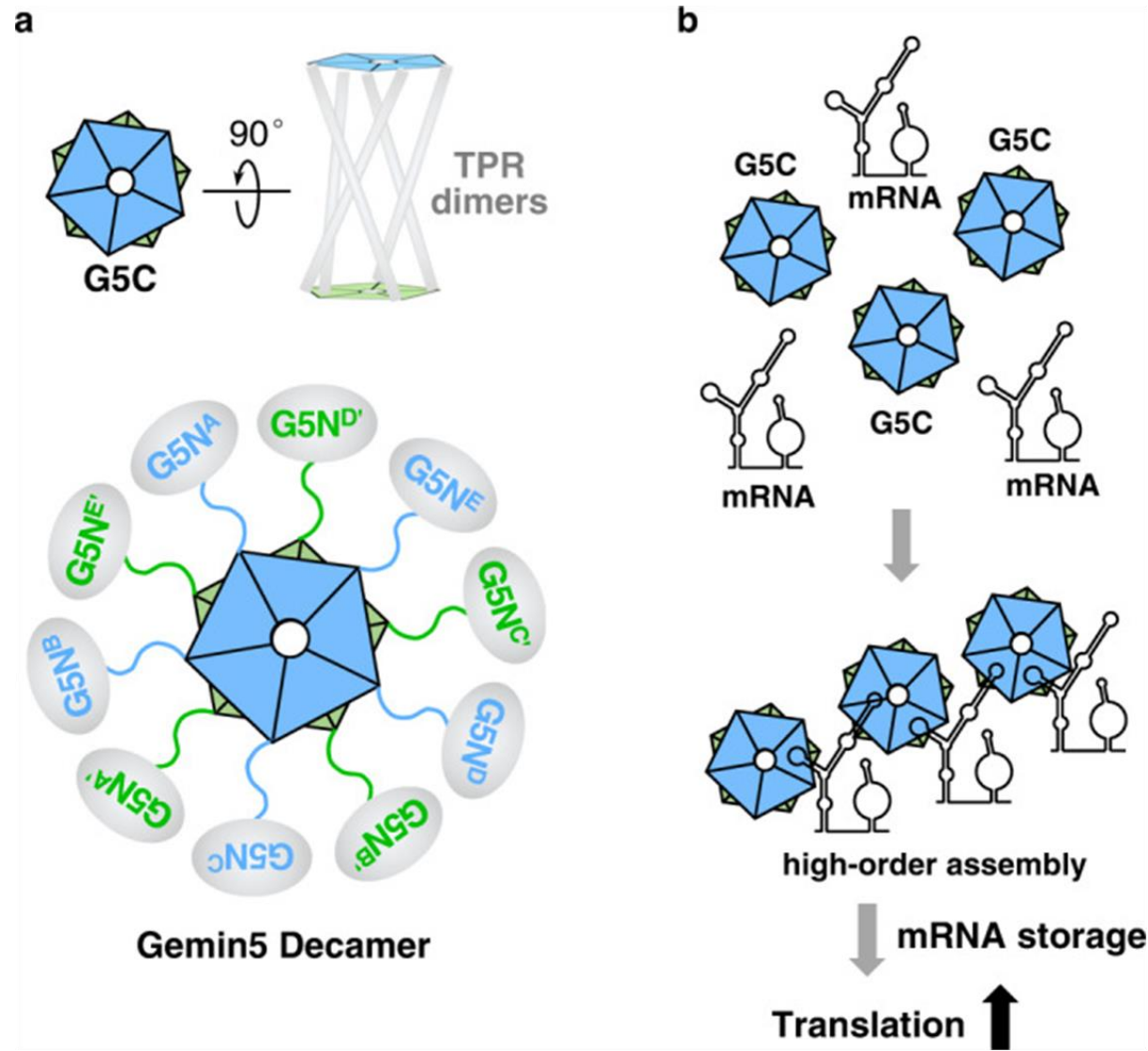
Struttura molecolare 3D di GEMIN5



90°

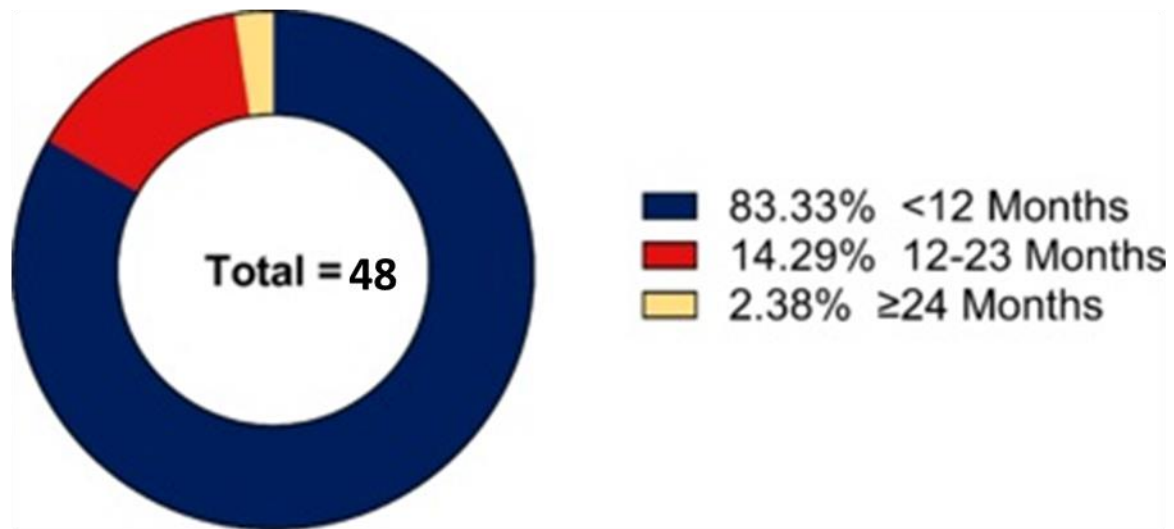


DIMERI e DECAMERI di GEMIN5



DATI CLINICI

Età di esordio nelle famiglie riportate in letteratura



DECORSO: NON PROGRESSIVO 65%

REGRESSIONE: 0%

RITARDO ACQUISIZIONE TAPPE MOTORIE: 100%

IPOTONIA CENTRALE: 90%

IPERTONO agli ARTI: 50%

EPILESSIA: 15%

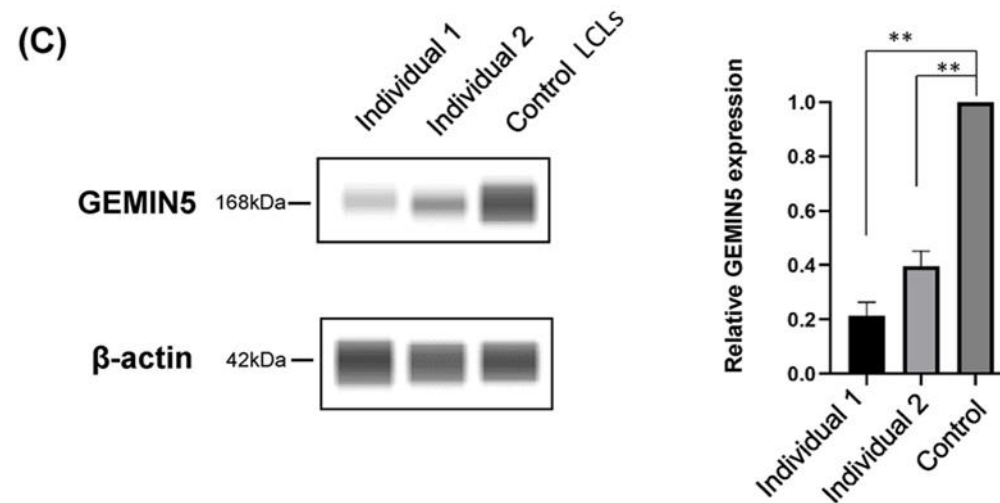
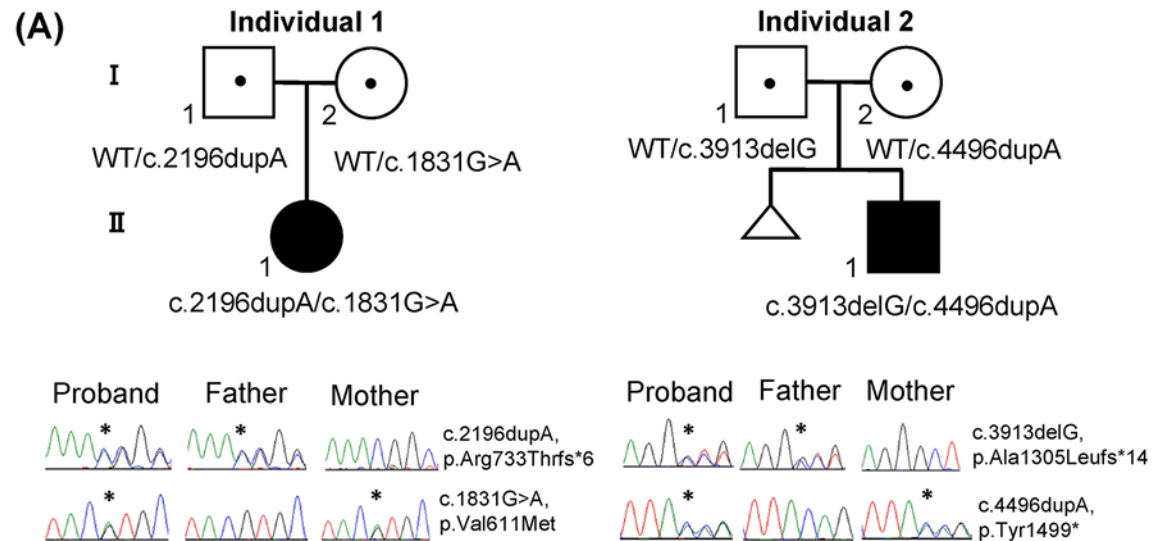
ATROFIA CEREBELLARE/ATASSIA: 100%

DISABILITA' INTELLETTIVA: 90%

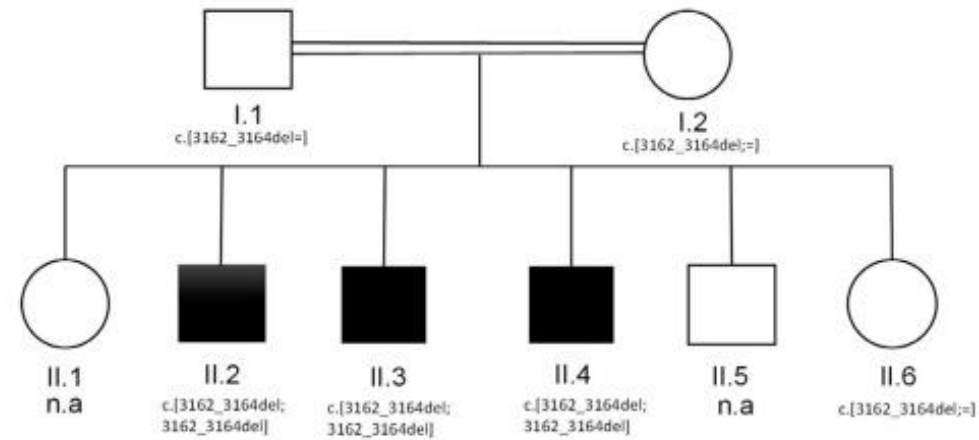
FORME GRAVI SMA-LIKE: 1.5-2%

NEUROPATIA: (alcuni casi descritti)

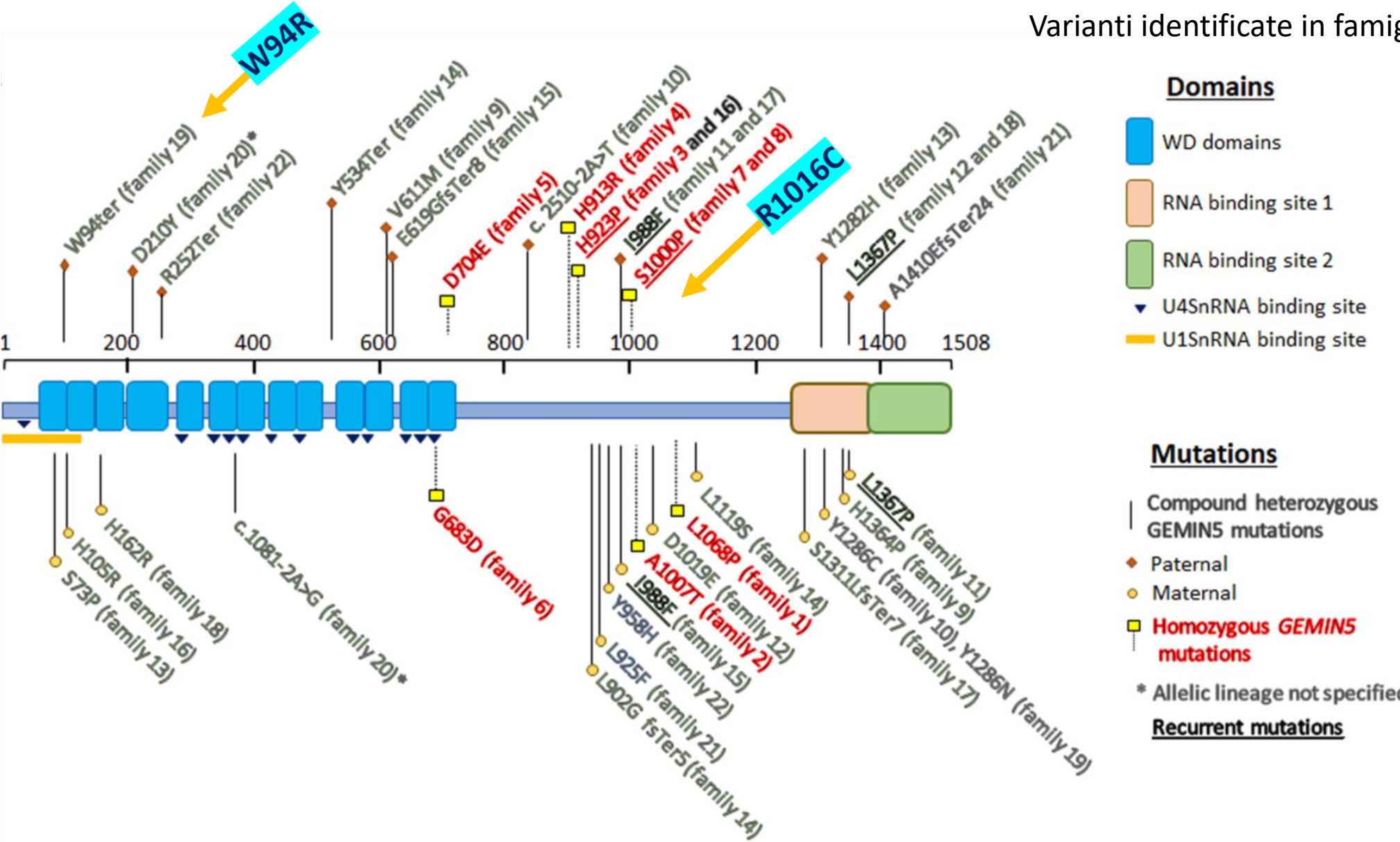
Ridotta espressione di GEMIN5 nei linfoblasti di 2 pazienti



Famiglia consanguinea con varianti GEMIN5 in omozigosi



Varianti identificate in famiglie GEMIN5



RISULTATI dell'ANALISI ESOMICA

Analysis: I-BN221215153009 (Trio Analysis) > Analyze

Open Not Assigned

Info: Subject Clinical VCF Samples Adv...

Fast Track (Lines: 40 Locations: 33 Genes: 29)

Recessive HOM/HEMI

Recessive Compound HET

Dominant HET

Mitochondria

Filters and Tools

RELEVANCE	PATHOGENIC	NOTES	TAGS	LOCATION	GENE	AND GENETIC DATA		ASSOCIATED SA...		ACMG		VARIANT CALLING Q&R			CLINICAL EVIDENCE				IN HOUSE			EFFECT & PREDICTION			FREQUEN...	
						AA	ZYG	FAT...	MO...	DOM	REC	Q&R	DP2	ALT...	PHENO	M...	CLINVAR	OMIM	OMIM I...	V	G	AF (...)	EFFECT	SEV	CADD (PHR...	MAX AF (%)
<input type="checkbox"/>	LP			5:154278839	GEMIN5	R1016C	HET		HET	VUS	VUS	High	226...	46.35	162.06 ⓘ	3/3	VUS	Neurode...	AR			0.097	Missense	Med	27.10	0.46
<input type="checkbox"/>	VUS			5:154316632	GEMIN5	W94R	HET	HET		VUS	VUS	High	306...	52.40	162.06 ⓘ	3/3		Neurode...	AR				Missense	High	29.30	--

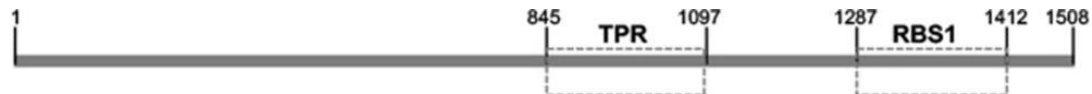


Frequenza R1016C nella popolazione generale

Vantaggio eterozigoti?

Population	AF (%)	# HOM	# HET	# HEMI
gnomAD Exomes (Filter:)				
All	0.46	5	1,139	--
American	0.43	0	147	--
African	0.22	0	35	--
Ashkenazi Jewish	0.28	0	28	--
East Asian	0.0055	0	1	--
European (Finish)	0.032	0	7	--
European (non-Finish)	0.74	5	824	--
Other	0.54	0	33	--
South Asian	0.21	0	64	--
Controls	--	--	--	--
gnomAD Genomes (Filter:)				
All	0.35	0	110	--
American	0.35	0	3	--
African	0.057	0	5	--
Ashkenazi Jewish	0.34	0	1	--
East Asian	--	0	0	--
European (Finish)	0.029	0	1	--
European (non-Finish)	0.62	0	96	--
Other	0.37	0	4	--
South Asian	--	--	--	--





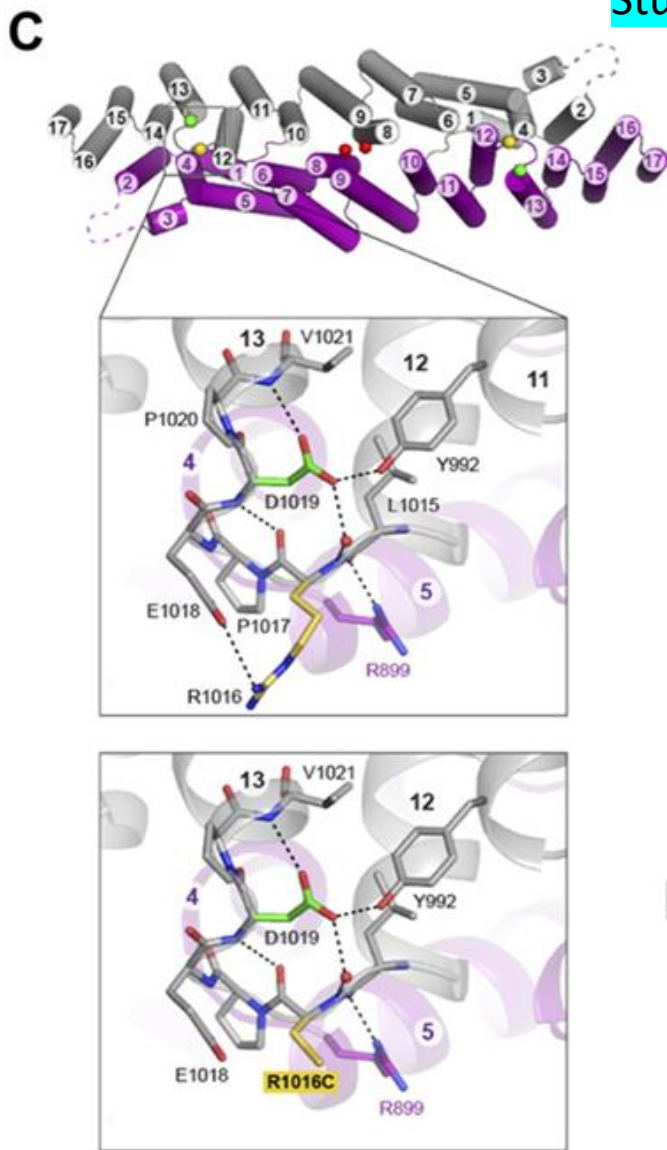
CONSERVAZIONE DEL RESIDUO R (Arginina) 1016 nel corso dell'evoluzione

	1002H	1012K	1022L	1365A	1375A
<i>Homo sapiens</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Pan troglodytes</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Pongo abelii</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Macaca nemestrina</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Theropithecus gelada</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORAVAEVQ	LFSEKHASLONSORAVAEVQ
<i>Papio anubis</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Ptilocolobus tephrosceles</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Otolemur garnettii</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLQSSORTIAEVQ	LFSEKHASLQSSORTIAEVQ
<i>Pteropus alecto</i>	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	LFSEQHACLONSORTVAEVQ	LFSEQHACLONSORTVAEVQ
<i>Pteropus vampyrus</i>	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA VVVAKARLRPEDP I LKDL YLSWG	LFSEQHACLONSORTVAEVQ	LFSEQHACLONSORTVAEVQ
<i>Ictidomys tridecemlineatus</i>	NH FYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TWG	LFSEKHASLONSRRRTVAEVQ	LFSEKHASLONSRRRTVAEVQ
<i>Acinonyx jubatus</i>	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Felis catus</i>	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Delphinapterus leucas</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LKDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LKDL YLSWG	LFSEEHAGLQNAQRTIAEVQ	LFSEEHAGLQNAQRTIAEVQ
<i>Sus scrofa</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LRDLYLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LRDLYLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I LRDLYLSWG	LISEKHASLONSORTIAEVQ	LISEKHASLONSORTIAEVQ
<i>Canis lupus familiaris</i>	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	NH FYREA I AVAKARLRPEDP I LKDL YL TWG	LFSEKHASLONSORTVAEVQ	LFSEKHASLONSORTVAEVQ
<i>Bos taurus</i>	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I I KDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I I KDL YLSWG	NH FYREA I A I AKARLRPEDP I I KDL YLSWG	LLSEKHAGLQNAQRTVAEVQ	LLSEKHAGLQNAQRTVAEVQ
<i>Mus musculus</i>	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKEL YLSWG	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKEL YLSWG	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKEL YLSWG	LFSEKHASLQTSORTVAEVQ	LFSEKHASLQTSORTVAEVQ
<i>Rattus norvegicus</i>	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YLSWG	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YLSWG	LFSEKHASLQTSORTVAEVQ	LFSEKHASLQTSORTVAEVQ
<i>Gallus gallus</i>	NNFYREA I V I AKARLRPEDP I LKDL YL TSWA	NNFYREA I V I AKARLRPEDP I LKDL YL TSWA	NNFYREA I V I AKARLRPEDP I LKDL YL TSWA	LLSEAI AALQSTORDIAEVQ	LLSEAI AALQSTORDIAEVQ
<i>Python bivittatus</i>	HNFFREA I V I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	HNFFREA I V I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	HNFFREA I V I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	LLSEDHAKVQNI R KDISRVQ	LLSEDHAKVQNI R KDISRVQ
<i>Xenopus tropicalis</i>	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TSWA	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TSWA	NHLYREA I AVAKARLRPEDPVLKDL YL TSWA	LLSDLHAPFQSAQREIAEVQ	LLSDLHAPFQSAQREIAEVQ
<i>Carassius auratus</i>	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	LLSEPHANLQATORAIEEIQ	LLSEPHANLQATORAIEEIQ
<i>Electrophorus electricus</i>	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	LLSEPHANLQATORAIEDIQ	LLSEPHANLQATORAIEDIQ
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	HQLYREA I ALAKARLRPEDPVLKDL YMTWA	LLSEPHATCQATORAIAKIQ	LLSEPHATCQATORAIAKIQ
<i>Notechis scutatus</i>	HNFFREATV I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	HNFFREATV I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	HNFFREATV I AKARLRPEDPVLKDL Y I CWA	LLSEDHAEVQSLQRDISRIQ	LLSEDHAEVQSLQRDISRIQ
<i>Danio rerio</i>	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	HQFYREA I ALARARLQPEDPVLKDL YMSWA	LLSEAHADLQANORAIAEIQ	LLSEAHADLQANORAIAEIQ

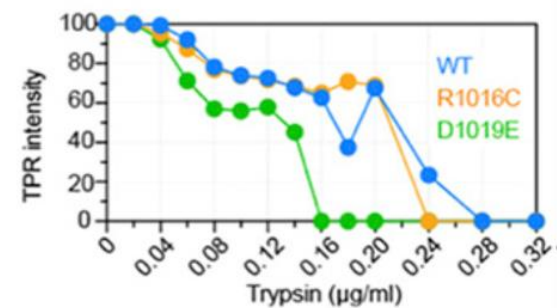
R1016C D1019E L1367P



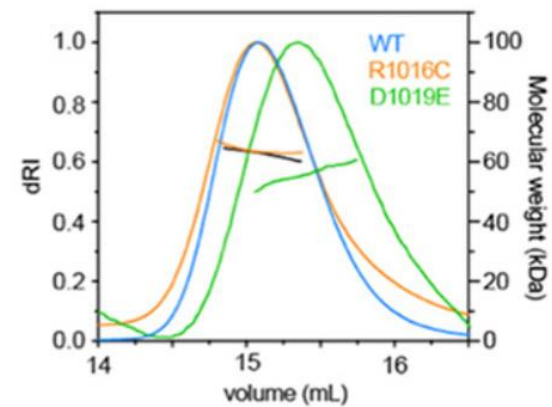
Studi funzionalità R1016C



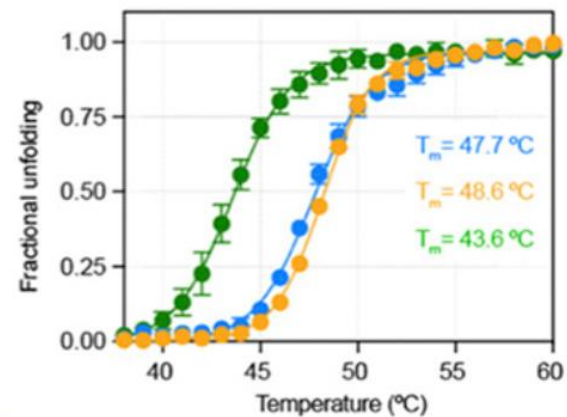
Sensibilità all'enzima tripsina



Analisi dei dimeri



Stabilità della proteina



Dal 1996 ad oggi.. STORIA di MARCO e PROGRESSI DELLA GENOMICA

Unicogenito di genitori non consanguinei, nato alla 41° settimana

Ipotonia neonatale e macrosomia alla nascita

Ha camminato verso i 13-14 mesi

Strabismo notato a 5 anni, successivamente corretto

E' successivamente comparsa un'atassia rimasta stabile negli anni

Lieve disartria e dismetria

Episodi di sindrome vaso-vagale in coincidenza con traumi dolorosi o spaventi

Controlli cardiologici nella norma

Le neuroimmagini (RM cerebrali) hanno evidenziato una atrofia globale del cervelletto

Fino al 2013 i laboratori di genetica sequenziavano geni singoli mediante sequenziamento diretto (Sanger)

Dal 2014 NGS pannelli genici (analisi di centinaia di geni simultaneamente) e poi ESOMI (migliaia 6-20k)

Attualmente si analizzano GENOMI interi.

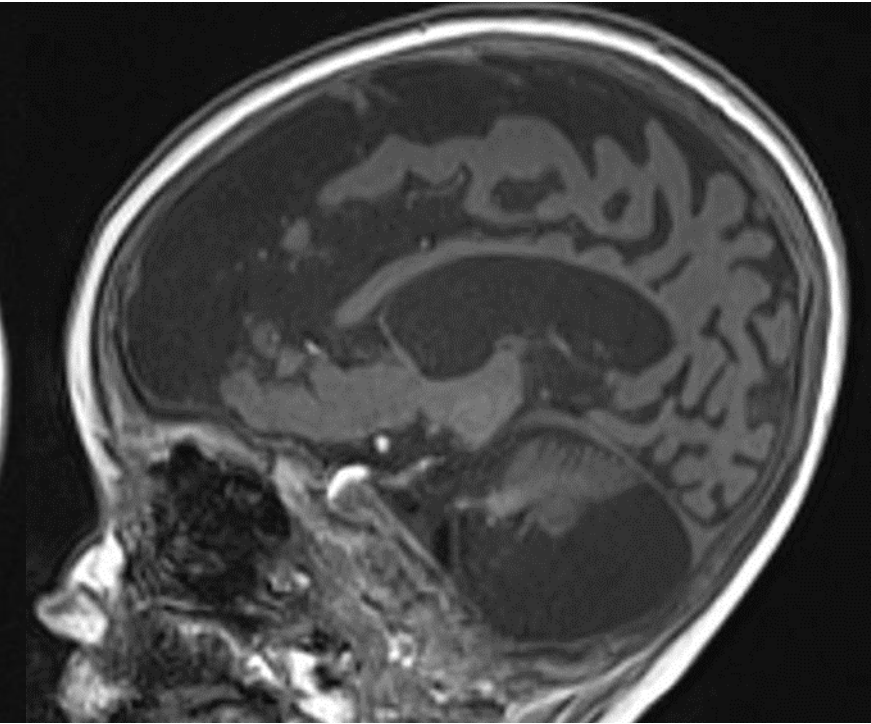
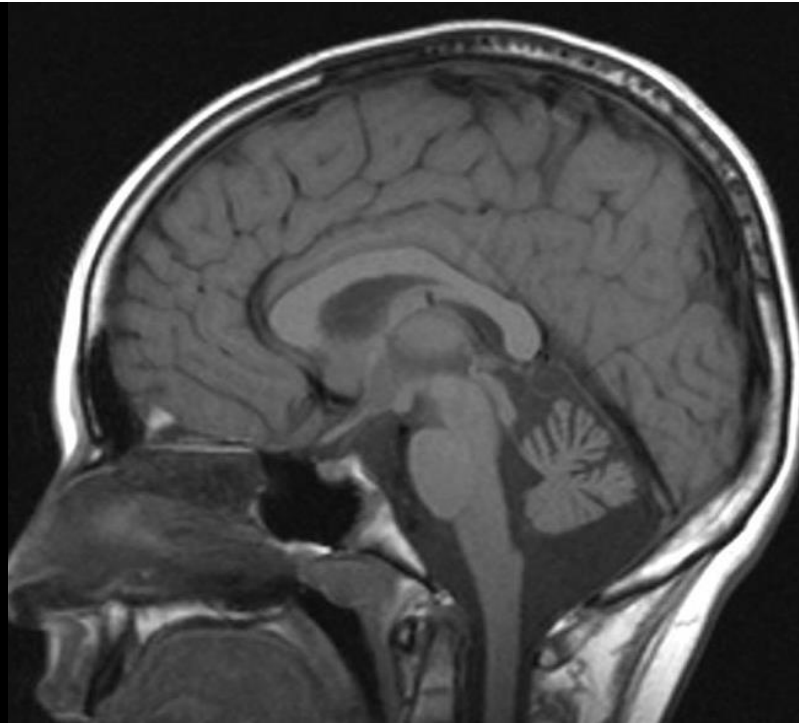
Nel 2023 l'analisi esomica e l'associazione, in letteratura, di varianti rare di GEMIN5 (Kour et al. 2021) con quadri di atrofia cerebellare in una serie di pazienti/famiglie, ci hanno permesso di individuare GEMIN5 (1 variante nota, una variante nuova) entrambe verosimilmente ipomorfe i.e con un impatto più lieve sulla funzione della proteina. Non sono note famiglie con entrambe varianti LOF «perdita di funzione»



QUADRO NEURORADIOLOGICO DI «ATROFIA CEREBELLARE»



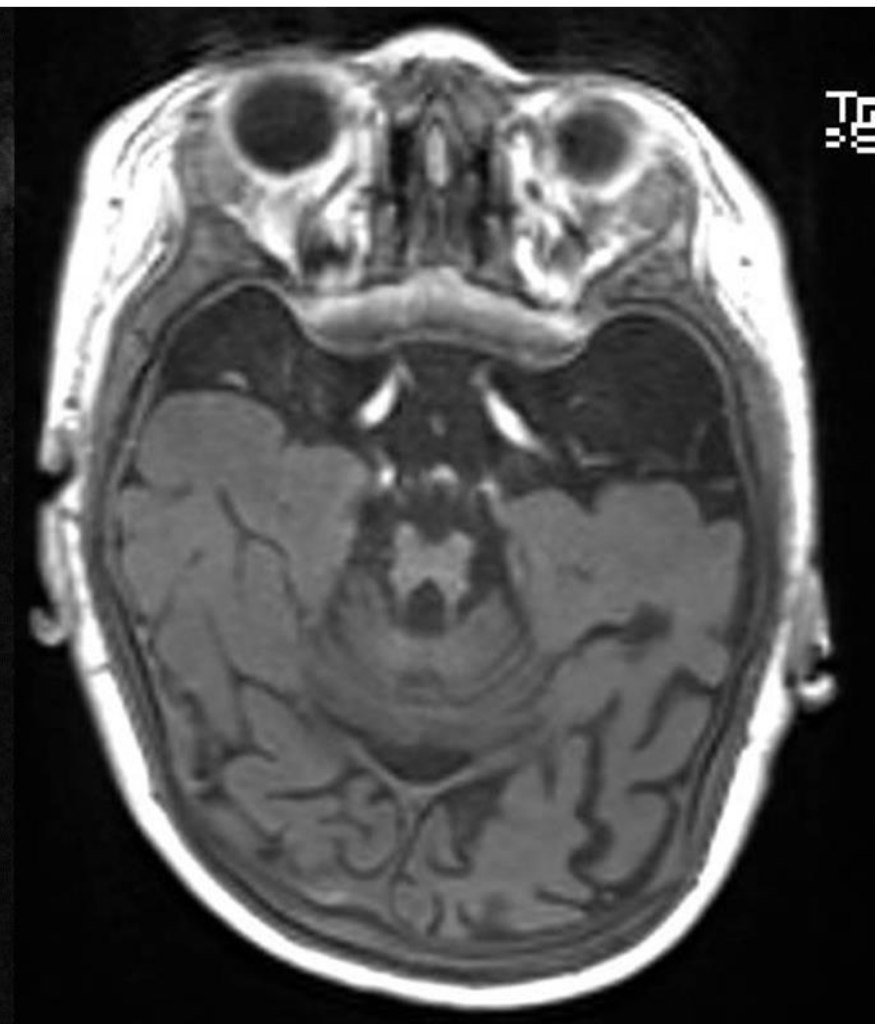
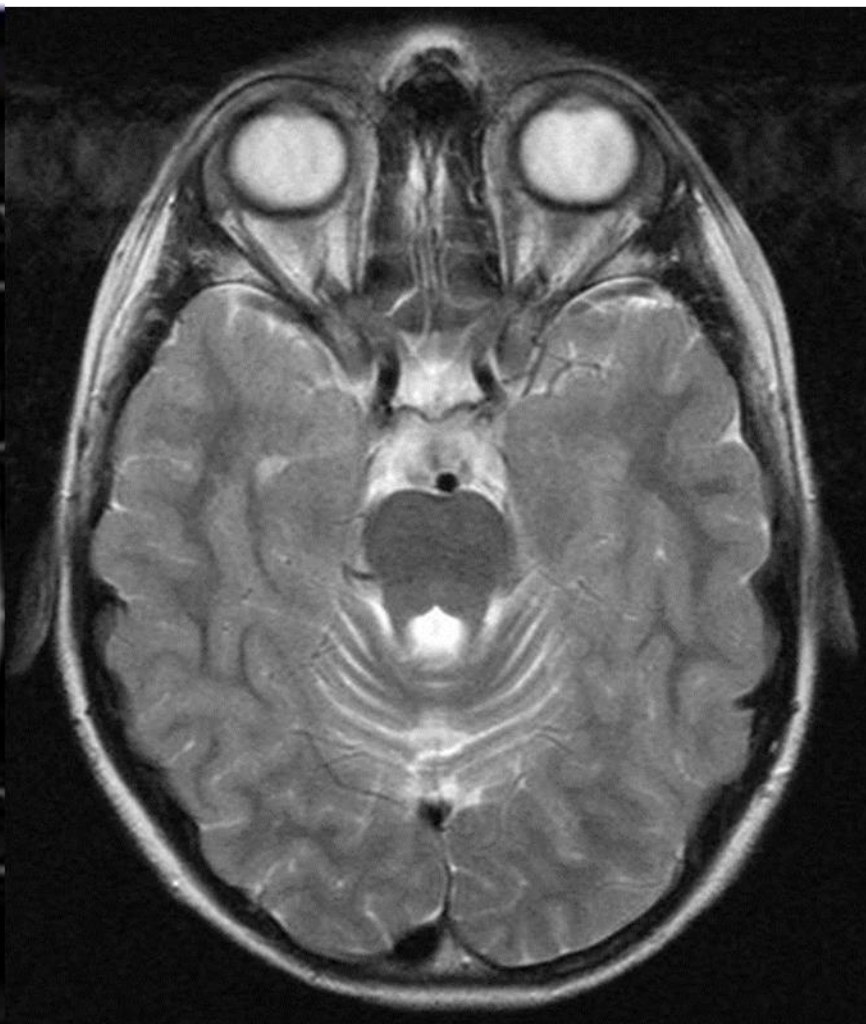
normale



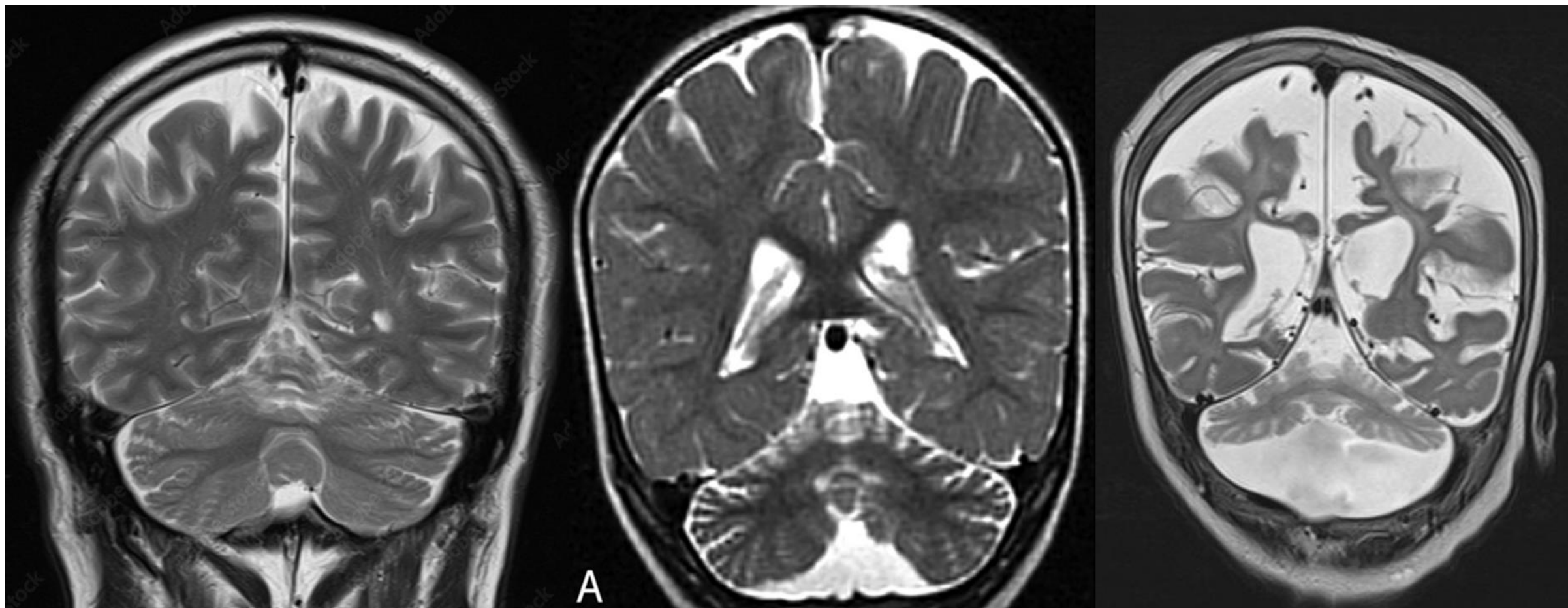
paziente con varianti GEMIN5 più gravi



normale



Altro paziente con varianti GEMIN5



normale

Altro paziente con varianti GEMIN5

Questioni aperte e Prospettive

- STORIA NATURALE- FOLLOW-UP dei pazienti, valutazioni funzionali, qualità della vita
- RAPPRESENTANZA DEI PAZIENTI/ FAMIGLIE: associazioni (AISA), gruppi di supporto specifici
- GRUPPI DI LAVORO all'interno degli ERN per meglio definire ed affrontare queste forme neurologiche rare, scambio di expertise, collaborazione con rappresentanti dei pazienti
- RICERCA su CELLULE e MODELLI ANIMALI (Drosophila, Zebrafish) modello murino ancora non disponibile e modelli cellulari da pazienti (iPSCs, organoidi) permetterebbero di approfondire lo studio dei meccanismi fisiopatologici
- SCREENING GENETICO E CONSULENZA GENETICA: testare GEMIN5 non solo in neonati SMN1 negativi con ipotonia grave e riflessi assenti, specialmente se associati ad atrofia cerebellare, ma anche in pazienti pediatrici con ritardo del neurosviluppo prevalentemente motorio e riscontro di atrofia cerebellare alla RM cerebrale.
- TERAPIE RIABILITATIVE, occupazionali, pet therapy, videogames, farmacologiche (eg epilessia)
- TERAPIE INNOVATIVE nei pazienti con forme gravi (modulazione dell'espressione SMN con farmaci per SMA?); "SMN upregulation ameliorates defective snRNP biogenesis and alternative splicing defects caused by loss of GEMIN5 in iPSC neurons."Fortuna et al. 2023





Ministero della Salute

Direzione Generale della Ricerca e dell' Innovazione in Sanità

BANDO 2013 PROGRAMMI DI RETE FINANZIATI

PROGRAMMA NETWORK CODICE:

NET-2013-02356160

SCORE MEDIO DEL NETWORK: 13,75

TITOLO PROGRAMMA DI RETE:

Pediatric ataxias and Public Health : epidemiological studies and disease registry, characterization of genetic determinants and implementation of protocols for diagnosis, management, and rehabilitation using innovative low cost, widely accessible techno

Destinatario Istituzionale Istituto Superiore di Sanita'

FINANZIAMENTO: € 1.707.366

<https://www.iss.it/malattie-rare-atassie-chi-siamo>

ATAXIA GLOBAL INITIATIVE
worldwide platform for clinical research in ataxias



European Reference Network

for rare or low prevalence complex diseases

Network
Neurological Diseases (ERN-RND)

