



**Chiarezza, accuratezza e semplicità
negli esami genetici**



La IHG Pharmaco Ltd è una società associata all'Università di Bristol che opera da 10 anni nel campo della ricerca ed ha ricevuto due premi SMART (1999 e 2002).

La IHG Pharmaco Ltd è stata fondata nel 1999 ed in questi anni ha sviluppato oltre 60 kit diagnostici, molti dei quali sono stati provati presso i laboratori del Servizio Sanitario Nazionale britannico. L'attività di ricerca e sviluppo viene svolta presso la Facoltà di Scienze Biomediche (School of Medical Sciences) dell'Università di Bristol, mentre la produzione ha luogo in un centro adiacente.

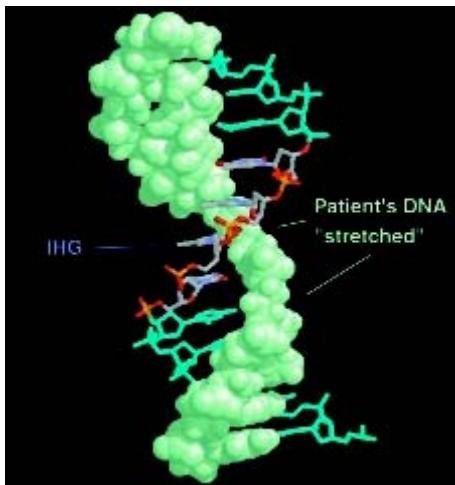


La medicina genetica e l'applicazione delle tecniche di diagnosi rapida

La medicina genetica comprende discipline importanti come:

- Diagnosi delle malattie genetiche
- Determinazione dei fattori di rischio di natura genetica
- Medicina forense
- Farmacogenetica – lo studio della configurazione genetica di una persona, che determina il modo in cui questa persona risponde ad un particolare composto. Questo è di particolare importanza nella terapia anti-tumorale, in cui la configurazione genetica di un paziente influenza profondamente il successo di un particolare trattamento o di un regime terapeutiche.

Per trarre vantaggio dai progressi fatti in queste discipline sono necessari esami diagnostici accurati, rapidi e di facile utilizzo. La IHG Pharmaco ha sviluppato una tecnologia brevettata che utilizza generatori eteroduplex indotti (IHG) per l'identificazione degli SNP. I principi di base di questa tecnologia sono illustrati nella figura a destra, che mostra il modello di un gene con una mutazione specifica per una malattia genetica ereditaria. Uno dei due nastri di DNA del paziente (evidenziato in verde) è stato sostituito da un nastro di DNA ad azione "mimante" – un generatore eteroduplex indotto (IHG). Questo allunga la struttura del DNA del paziente nella regione in cui si trova il difetto genetico. Le 4 basi che vengono utilizzate per indurre gli eteroduplex nell'elica sono illustrate nel centro della figura, con i singoli atomi colorati.

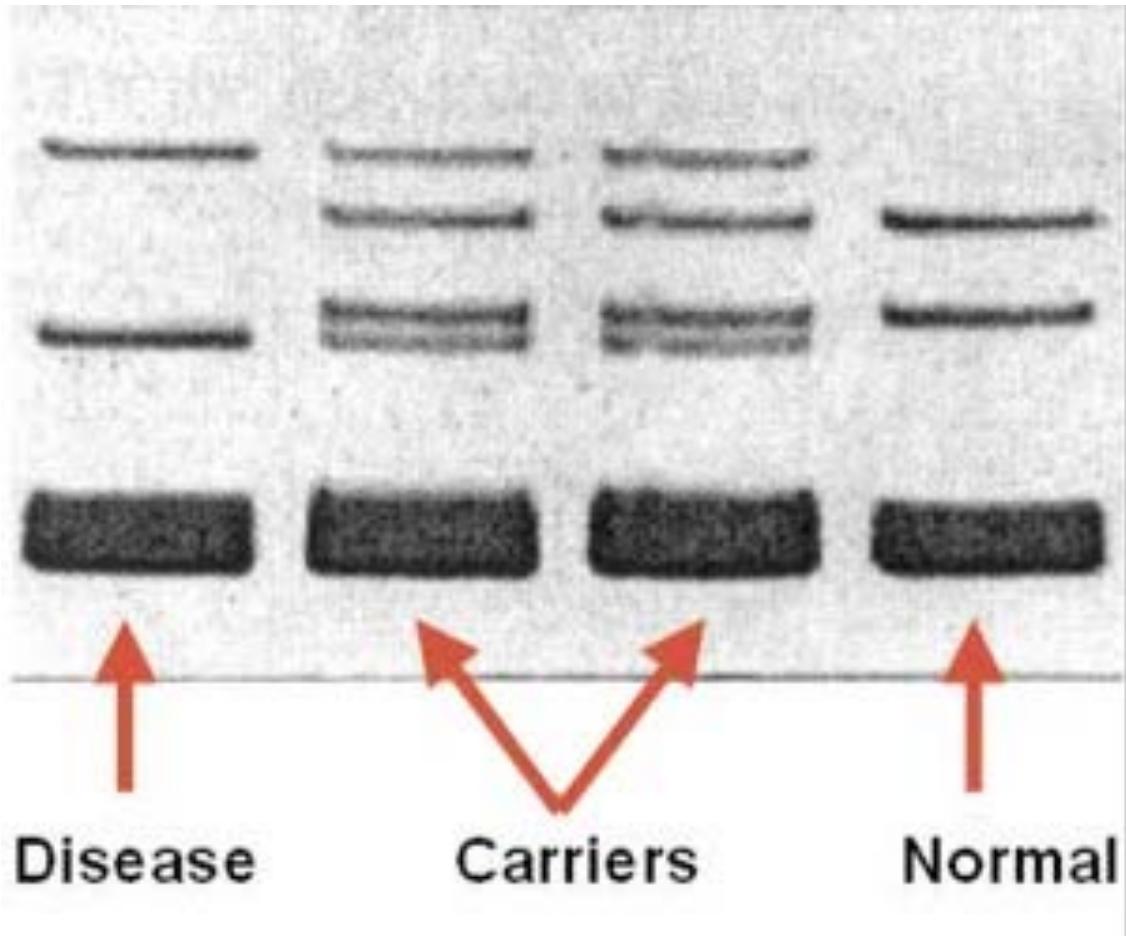


Uso degli IHG per la diagnosi genetica

L'allungamento del DNA provoca una alterazione della struttura che permette di identificare in modo accurato:

- Individui sani che non hanno la malattia
- Portatori sani della malattia
- Soggetti che hanno ereditato, e che svilupperanno, la malattia genetica.

La figura illustra i risultati della diagnosi IHG di una patologia comune a carico della coagulazione del sangue (fattore V Leiden), che viene illustrata sia in un tracciato elettroforetico con PAGE su minigel (elettroforesi in poliacrilammide) che in un tracciato CE (elettroforesi capillare).

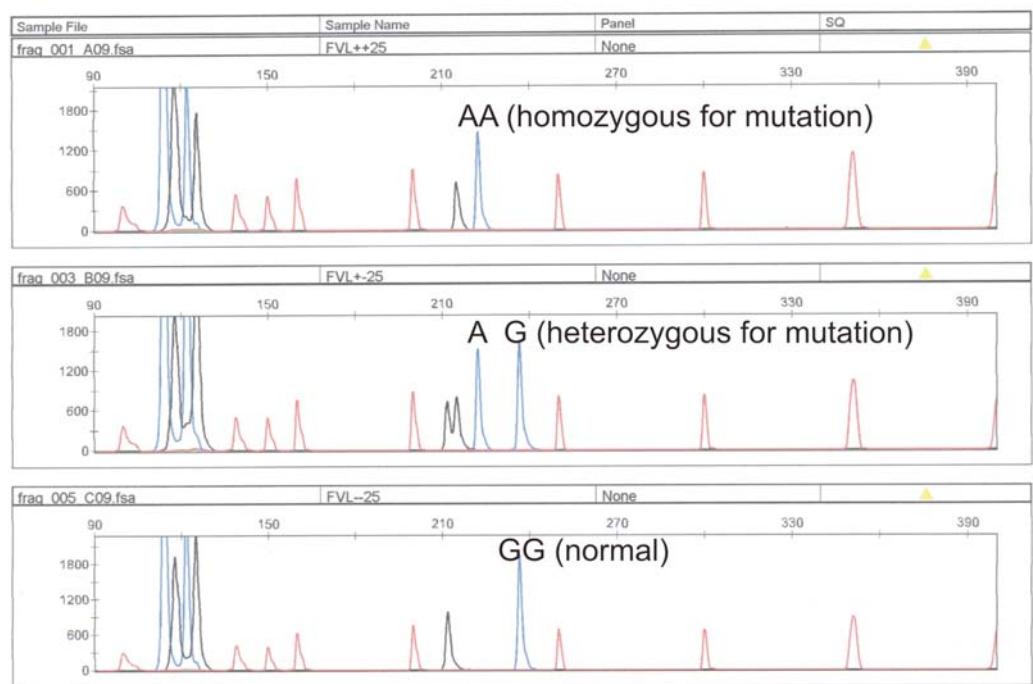


Tracciato PAGE su minigel



GeneMapper v3.5

jackieigh18106



Tracciato elettroforesi capillare (CE)

Poliformismi a singolo nucleotide (SNP) e mutazioni

- I polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) sono il tipo più frequente di variazione genetica nel genoma umano. Questi polimorfismi rappresentano oltre il 90% di tutte le differenze tra gli individui. E' probabile che questi pattern variabili degli SNP siano alla base di gran parte delle caratteristiche complesse del fenotipo che vengono osservate nell'uomo. Potenzialmente, l'analisi degli SNP è in grado di prevedere la suscettibilità ad un gran numero di patologie cliniche, tra cui tumori, patologie cardiovascolari e malattie mentali, e di rendere possibile la farmacoterapia mirata. Sono già stati identificati milioni di SNP all'interno del genoma umano. Gli SNP sono considerati importanti marker genetici a causa della loro abbondanza all'interno del genoma umano e di una loro possibile associazione a molti tratti genetici ed alla suscettibilità del soggetto alle patologie. Gli SNP possono essere raggruppati all'interno di una regione del DNA e possono essere ereditati in diverse combinazioni o aplotipi.
- Le mutazioni sono rappresentate da una classe di SNP che crea proteine aberranti o differenze aberranti nell'espressione proteica associate alle patologie metaboliche ereditarie classiche o ad altre patologie, come ad esempio la fibrosi cistica, la fenilketonuria, la malattia falciforme e la malattia di Von Willebrand.

In che modo la tecnologia IHG è rilevante per l'identificazione degli SNP e delle mutazioni?

Diversamente da molti esami diagnostici del DNA in uso attualmente, un singolo generatore eteroduplex indotto (IHG) è in grado di identificare SNP singoli o multipli e aplotipi. Questo è reso possibile dalla struttura unica dell'esame IHG. Per molte applicazioni, questo permette una riduzione sostanziale del numero di esami necessari. L'identificazione degli aplotipi rappresenta un grande vantaggio. Un numero crescente di dati dimostra infatti che gli aplotipi, non i genotipi, possono avere un'importanza più rilevante nella malattia e negli studi sull'espressione proteica. I risultati dell'identificazione degli aplotipi con il metodo IHG dimostrano chiaramente il collegamento fisico degli SNP.

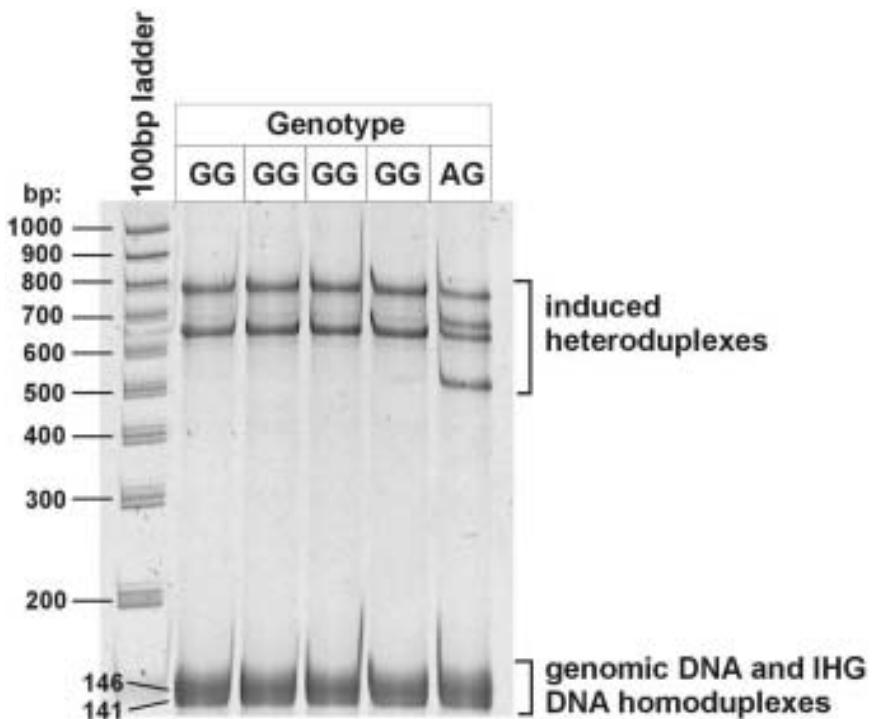
Come funziona il IHG reagente?

Un IHG reagente svolge una azione mimante di alcune regioni del DNA all'interno dei geni, ma differisce da questi per la presenza di uno o più 'identificatori'. Questi identificatori si trovano accanto agli SNP all'interno del DNA.

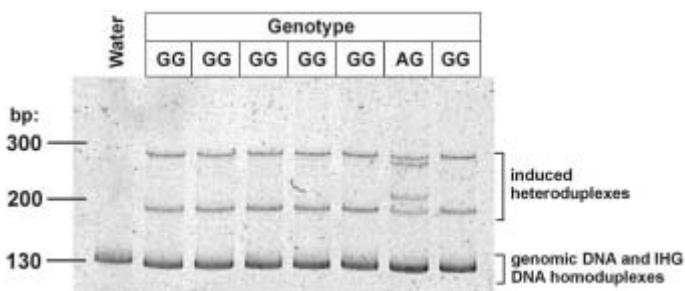
In determinate condizioni sperimentali, quando il DNA umano (contenente gli SNP in questione) si mescola con l'IHG reagente (contenente gli identificatori) si verifica un cambiamento strutturale, cioè il DNA si piega e diventa più rigido, in un modo che è specifico all'SNP o ha luogo una mutazione che provoca la malattia.

Un singolo IHG reagente che possiede una combinazione di identificatori è in grado di provocare cambiamenti strutturali unici negli SNP individuali o in gruppi di SNP e negli aplotipi. Questi cambiamenti vengono indotti dalla formazione di eteroduplex e possono essere rilevati utilizzando vari tipi di apparecchiature.

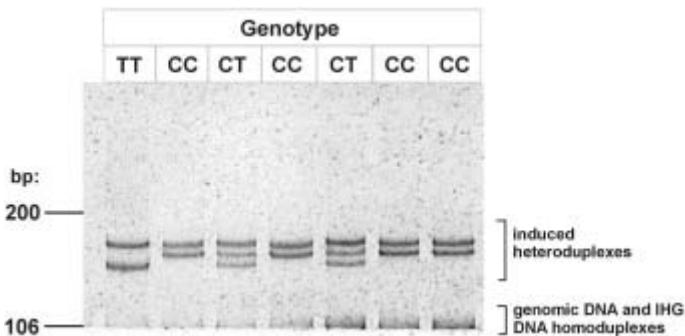
Minigel clinici



Esame PAGE su minigel del Fattore V Leiden che dimostra la presenza di eteroduplex indotti



Esame PAGE su minigel della protrombina che dimostra la presenza di eteroduplex indotti



Esame PAGE su minigel di MTHFR che dimostra la presenza di eteroduplex indotti

Quali sono i vantaggi della tecnologia IHG?

Livello elevato di accuratezza

Non occorre ripetere l'esame

Semplicità

Non richiede personale altamente specializzato, né un training prolungato.

PCR a tubo singolo per esame genomico e IHG del DNA seguito da un breve passaggio miscelazione-riscaldamento-raffreddamento. Non occorrono enzimi di restrizione, sonde, passaggi di ibridazione o di lavaggio, o coppie multiple di primer.

Piattaforme flessibili

Dal gel a bassa tecnologia a microcapillari ad alta tecnologia e WAVE

Non occorre utilizzare un solo tipo di apparecchiatura. Si adatta ad apparecchiature di diversi livelli e prezzi

Capacità flessibile

Non occorre lanciare lotti di grandi dimensioni.

I risultati vengono prodotti più rapidamente per il paziente.

Collegamento

La sua caratteristica unica: un solo IHG è in grado di identificare SNP singoli e multipli e aploidi. Possibilità di metodica multiplex.

Risparmio di lavoro e di tempo con lo stesso livello di accuratezza

DNA di controllo per tutti gli alleli conosciuti

Permette di identificare nuovi alleli per nuove possibilità diagnostiche

Possibilità di sviluppare nuovi esami in settimane

Permette di rispondere in maniera rapida alle esigenze dei clienti e dei mercati in via di sviluppo

Caratteristiche della tecnologia IHG a confronto

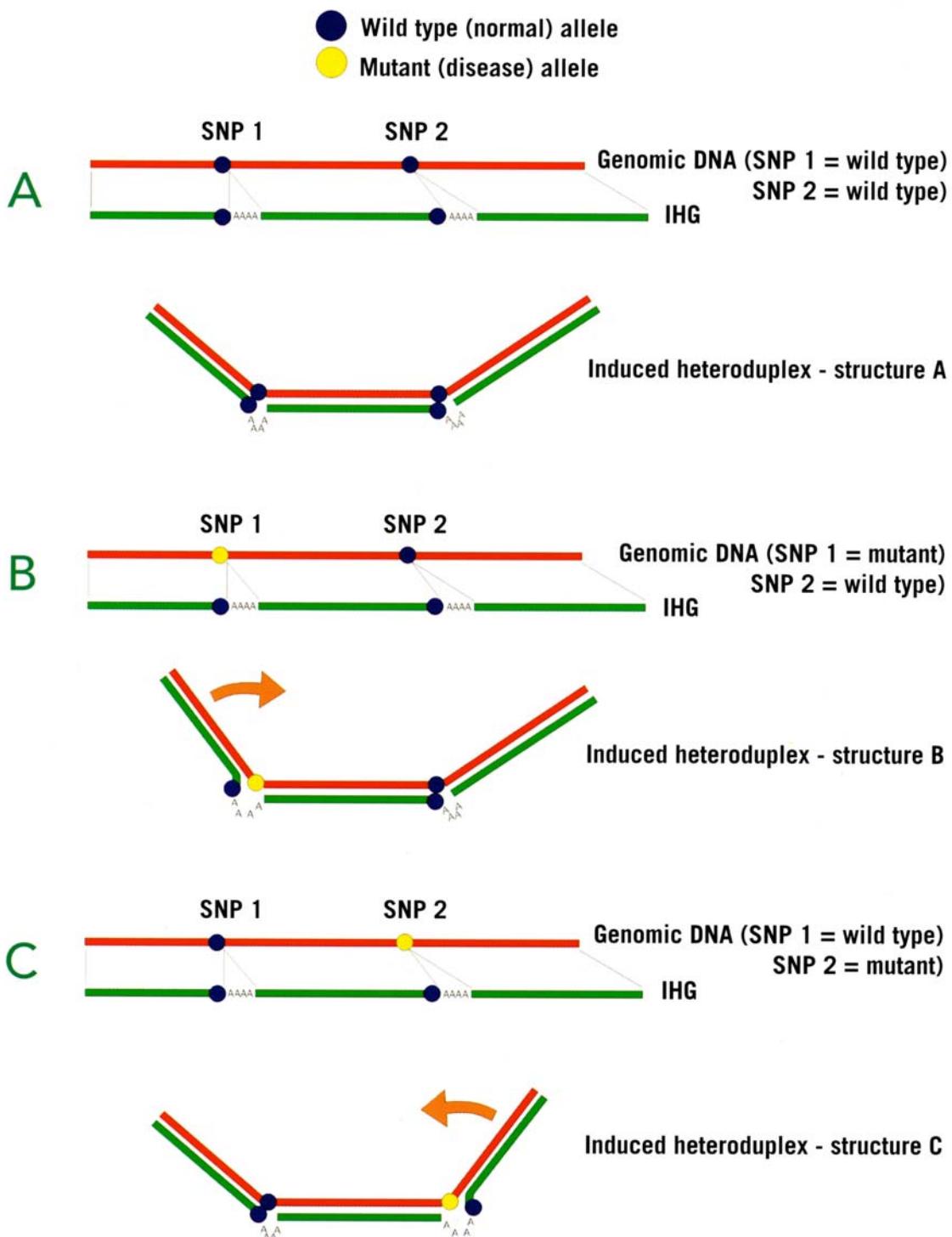
Method:	IHG	SSO dot	SSO reverse dot	SSP (ARMS)	RFLP	SSCP	Sequencing	RSCA	Gene Chip microarray
Identifies haplotypes without cloning?	✓	✗	✗	✗	some	some	✗	some	✗
All heterozygotes unequivocal?	✓	✗	✗	✗	✗	some	✗	some	✗
Single reagent for multiple SNPs?	✓	✗	✗	✗	✗	n/a	n/a	n/a	✗
Multiple probes/enzymes not required?	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	✗	✗
Simple post-PCR manipulation?	✓	✗	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Flexible instrument/gel platform?	✓	✓	n/a	✓	✓	✗	✗	✗	✗
Identifies new mutations?	✓	✗	✗	✗	✗	<80%	✓	some	✗
Rapid?	✓	✗	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✗
All allelic controls provided?	✓	✗	✗	✗	✗	✗	n/a	✗	✗

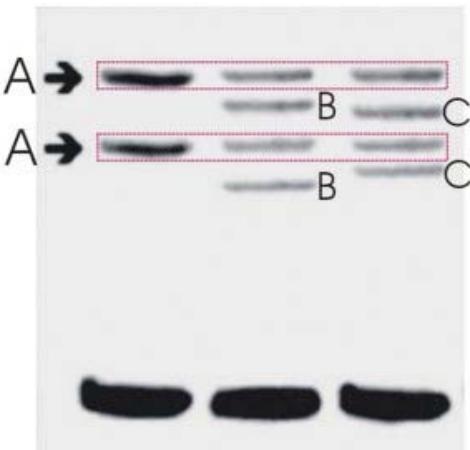
I metodi elencati di seguito vengono utilizzati attualmente per l'identificazione degli SNP:

1. SSO (Sequence Specific Oligonucleotide – oligonucleotide sequenza-specifico) Dot
2. SSO (Sequence Specific Oligonucleotide – oligonucleotide sequenza-specifico) Reverse Dot
3. SSP (ARMS): Sequence-Specific Primers – amplificazione con primer sequenza-specifici
4. RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism – poliformismo di lunghezza con enzimi di restrizione)
5. SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism - polimorfismo della conformazione del filamento singolo)
6. Sequenziamento diretto
7. Analisi di riferimento della conformazione del filamento
8. Sequenziamento del microarray del chip genetico/microarray

I metodi elencati sopra sono spesso intensivi, costosi, richiedono tempi di esecuzione lunghi e sono poco precisi. Inoltre la loro esecuzione dipende spesso delle apparecchiature disponibili. Ma l'aspetto più importante è dato dal fatto che gli esami attualmente disponibili non sono in grado di stabilire gli aplotipi di una persona (vedi sopra).

In quale modo un solo IHG reagente è in grado di identificare 2 o più SNP individuali e gli aplotipi?





Nell'esempio riportato nella pagina precedente, un solo IHG è in grado di identificare 2 SNP presenti all'interno della stessa regione amplificata di DNA (colorata in rosso). La sequenza wild type (sana) presso ciascuno degli SNP è colorata in blu, la sequenza mutante (malata) è colorata in giallo (vedi i pannelli B e C). La struttura tridimensionale degli eteroduplex formati con l'IHG è diversa (illustrata dai diversi angoli dei "bracci") in relazione alla presenza di una sequenza wild type o mutante presso l'uno o l'altro dei siti SNP. Queste differenze nella struttura possono essere identificate, ad esempio, mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide o su minigel (vedi il pannello riportato sopra). Nella colonna di sinistra, il soggetto presenta due cromosomi normali (conformazione A), che danno origine alle due bande caratteristiche (indicate dalle frecce).

Nella colonna di mezzo, il soggetto presenta un cromosoma normale ed uno mutato presso l'SNP 1 (rispettivamente pattern A e B). Nella colonna di destra, il soggetto presenta un cromosoma normale ed uno mutato presso l'SNP 2 (rispettivamente pattern A e C).

In pratica, è possibile identificare fino a 6 o più mutazioni in una sola regione di DNA con un singolo IHG reagente. Per estensione del principio, si possono includere ad esempio più poli(A) inserimenti nelle sedi appropriate dell'IHG.

Gli IHG sono in grado inoltre di identificare diverse combinazioni (aplotipi) di SNP (non illustrati). Ad esempio, se il soggetto presentasse mutazioni sia nella sede SNP 1 che nella sede SNP 2, si osserverebbero bande con un diverso pattern.

Kit di IHG reagente attualmente disponibili

Malattie della coagulazione

Fattore V Leiden (FVL)

Il fattore V Leiden è la malattia ereditaria della coagulazione maggiormente diffusa. Una percentuale compresa tra il 3 e l'8% della popolazione caucasica (bianca) degli Stati Uniti e dell'Europa è portatrice di una copia della mutazione FVL, mentre circa 1 persona su 5000 è portatrice di due copie di questa mutazione. In altre popolazioni questa mutazione è meno diffusa. Questa patologia aumenta di 3-8 volte il rischio di trombosi venosa negli individui eterozigoti (un gene malato ereditato) e in misura sostanzialmente maggiore, di 30-140 volte, negli individui omozigoti (due geni malati ereditati).

Protrombina (PTR)

La mutazione della protrombina G20210A è al secondo posto tra le patologie ereditarie della coagulazione più diffuse, a causa della quale gli individui eterozigoti hanno un rischio di insorgenza di trombosi 3-6 volte più elevato. La PTR rappresenta un fattore di rischio lieve per la formazione di trombi, ma se associata ad altri fattori di rischio o ad altri disturbi della coagulazione, il rischio di trombosi aumenta in modo drastico.

Riduttasi metilenetetraidrofolato (MTHFR)

La riduttasi 5,10-methylenetetraidrofolato è l'enzima metabolico che converte la omocisteina in metionina. Una riduzione dell'attività di MTHFR (come nel caso dei disturbi provocati dalla mutazione C677T) causa un aumento dei livelli di omocisteina. Questo disturbo è conosciuto come iperomocisteinemia e costituisce un fattore di rischio di trombosi arteriosa e venosa. La presenza della mutazione MTHFR aumenta di 5 volte il rischio di formazione di trombi.

I tre disturbi della coagulazione e le mutazioni associate ad essi che sono stati descritti possono rappresentare un fattore di rischio significativo di particolare rilevanza nelle circostanze elencate di seguito:

Pillola anticoncezionale

Tutte le donne che assumono la pillola contraccettiva presentano un rischio circa 4 volte maggiore di formazione di trombi. Nelle donne che hanno una mutazione FVL, questo rischio aumenta di 30-35 volte. Se una donna presenta una mutazione PTR ereditaria, il rischio è 3 volte più elevato. Nelle donne che hanno più di una mutazione, il rischio è 100 volte più elevato.

Terapia ormonale sostitutiva (TOS)

Tutte le donne che si sottopongono alla terapia TOS presentano un rischio da 2 a 4 volte più elevato di formazione di trombi. Nelle donne con una mutazione FVL, il rischio aumenta di 13-15 volte. Nelle donne con due mutazioni, il rischio è ancora maggiore.

Gravidanza

La formazione di trombi rappresenta la causa principale di morte nelle donne in gravidanza. Tutte le donne in gravidanza presentano un rischio circa 5-6 volte maggiore di formazione di trombi. Nelle donne con una mutazione FVL, questo rischio è 7-16 volte più elevato. Nelle donne con due mutazioni, il rischio è 40 volte più elevato.

Interventi chirurgici

Esiste sempre il rischio di formazione di trombi nel corso di un intervento chirurgico o nel periodo post-operatorio. Nelle persone con una mutazione FVL il rischio è circa 20 volte più elevato.

Viaggi aerei o altri viaggi di lunga durata

Le persone affetti da malattie ereditarie della coagulazione presentano un rischio più elevato (fino a 100 volte maggiore) di formazione di trombi nel corso di un viaggio di lunga durata (3 ore o più),

	Rischio relativo con 1 mutazione	Rischio relativo con >1 mutazione
Pillola contraccettiva	30-35	100
TOS	13-15	Più elevato
Gravidanza	7-16	40
Interventi chirurgici	20	Più elevato
Viaggi di lunga durata	10	Più elevato

In confronto al rischio causato da una sola mutazione, la presenza di due mutazioni aumenta di 3 volte tale rischio. Con la profilassi, una adeguata consapevolezza e un adeguato trattamento, questi rischi possono essere ridotti in maniera significativa ed in alcuni casi possono essere eliminati completamente.

Tumore

Il rischio di trombosi venosa nei pazienti oncologici è 7 volte più elevato in confronto ai pazienti sani. I pazienti affetti da leucemia presentano un rischio 28 volte più elevato di trombosi. I portatori di FVL e PTR presentano un rischio 12 volte maggiore di trombosi in confronto ai soggetti che presentano questa mutazione non affetti da tumore. Nei pazienti oncologici che presentano un aumento del rischio di trombosi venosa è stato raccomandato di prendere in considerazione una profilassi anticoagulante.

Blom, J. W., Doggen, C. J., Osanto, S., Rosendaal, F. R. (2005).

Old and new risk factors for upper extremity deep venous thrombosis. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 3 (11): 2471-8.

Kit di IHG reagente disponibili in futuro

- **Fenilchetonuria:** gene PAH
- **Malattia falciforme:** gene b-globina
- **Emocromatosi C282Y e H63D**
- **β-talassemia:** gene HBB
- **Fibrosi cistica:** gene CFTR
- **Malattia di Von Willebrand:** gene vWF, varianti 2A, 2B e 2N
- **Insufficienza del legame proteico al mannosio**: gene MBL
- **TPMT* (IHG-RT-PCR)**
- **ApoE 2/3/4***
- **ApoA IV**
- **Stromelisina-1 5T/6T**
- **BChE**
- **Fattore XIII**
- **HLA-A, B, C, DRB***
- **N-Ras**
- **Polimorfismi del promotore del gene citochina: IL10*, TNFSF2*, IL6, TGFB*, IL1B**

* = apotipizzazione degli IHG

IHG Pharmaco Ltd
Dept. of Cellular & Molecular Medicine
School of Medical Sciences (F59), University Walk, Bristol BS8 1TD
Tel+44 (0) 1285 750 264



Glossario dei termini

Allele : La variante specifica (nucleotide) di un polimorfismo in un singolo locus su un cromosoma; ad esempio A, C, G o T.

Amplicon : Una sequenza amplificata di DNA generata mediante PCR.

Fibrosi cistica : Una malattia genetica causata dalle mutazioni nel gene CFTR, caratterizzata da difetti nel trasporto degli ioni che interessa le mucose polmonari ed intestinali.

DTI : Department of Trade and Industry – Ministero del Commercio e dell’Industria

Fattore V Leiden : La sindrome V Leiden , o trombofilia, è caratterizzata da una risposta anticoagulante insufficiente alla proteina C attivata (APC) e da un aumento del rischio di tromboembolia venosa. Il termine "fattore V Leiden " si riferisce alla sostituzione specifica G-a-A nel nucleotide 1691 nel gene per il fattore V, che predispone alla sostituzione di un singolo amminoacido (Arg506Gln) presso una delle tre sedi APC di clivaggio nella molecola del fattore Va. Il fattore V Leiden viene attivato con una frequenza di circa 10 volte più lenta in confronto al normale fattore V e rimane più a lungo in circolo. Questo provoca un aumento della produzione di trombina ed un lieve stato di ipercoagulabilità, che si riflette in un aumento dei livelli di frammenti della protrombina F1+2 e di altri marker attivati della coagulazione. Gli individui eterozigoti con mutazione del fattore V Leiden presentano un lieve aumento del rischio di trombosi venosa; gli individui omozigoti presentano un rischio molto più elevato di formazione di trombi.

Microarray del chip genetico : Raccolta di punti microscopici contenenti sonde di oligonucleotide attaccate ad una superficie solida come vetro, plastica o un chip in silicone per formare un array. I microarray possono essere utilizzati per genotipizzare o mettere in sequenza regioni multiple di un genoma utilizzando amplicon prelevati dal DNA del paziente.

Genoma : L’intero patrimonio genetico di un individuo, nel quale vengono rappresentati tutti i 46 cromosomi.

Genotipo : La combinazione di due alleli rappresentati da un locus polimorfico su cromosomi omologhi; ad esempio in un polimorfismo A a G, i genomi possibili sarebbero AA, AG o GG

Aplotipo : La combinazione di due o più alleli in posizione ravvicinata all’interno del genoma

Eteroduplex : Un ibrido formato da un amplicon di IHG e un amplicon generato dal DNA del paziente.

Eterozigosità : Presenza di diversi alleli su ciascuno omologo cromosomico.

Omozigosità : Presenza di alleli identici su entrambi gli omologhi cromosomici.

Identificatore : Una serie di nucleotidi introdotti in un IHG in una posizione adiacente ad un sito polimorfo, al fine di indurre la formazione di un loop spaiato di DNA negli eteroduplex formati con amplicon dal DNA del paziente.

IHG : Generatore di eteroduplex indotti.

MTHFR : La iperomocisteinemia è un fattore di rischio riconosciuto per le malattie delle arterie coronariche, la trombosi venosa e l'ictus. Questa malattia è inoltre coinvolta nella patogenesi dei difetti del tubo neurale, dei feti nati morti e dell'interruzione di gravidanza spontanea ricorrente. Una causa della iperomocisteinemia è rappresentata dalle mutazioni nel gene MTHFR.

Mutazione : Una variazione nella sequenza del nucleotide che può verificarsi nelle cellule della linea germinale o nelle cellule somatiche. Nelle cellule della linea germinale, le mutazioni possono essere ereditate dai figli che ereditano la mutazione. Le mutazioni hanno generalmente una frequenza inferiore all'1% nella popolazione.

PCR : Polymerase Chain Reaction - reazione polimerasica a catena. Un processo attraverso il quale una sequenza specifica di DNA può essere amplificata attraverso passaggi iterativi di annealing del primer, allungamento del primer e denaturazione mediante calore.

Fenilchetonuria : Malattia ereditaria causata da mutazioni nel gene PA H, caratterizzata dalla incapacità di un individuo di utilizzare la fenilalannina, un amminoacido essenziale.

Polimorfismo : Variazione di una sequenza di nucleotidi in una determinata posizione nel genoma, osservata nella popolazione con una frequenza dell'1% o più elevata.

Protrombina : Mutazione della protrombina G20210A. Questa patologia è un fattore di rischio comune di trombosi che aumenta il rischio di trombosi venosa profonda, ictus o morte del feto.

Analisi di riferimento della conformazione del filamento (RSCA) : Tecnica di genotipizzazione con la quale vengono formati eteroduplex con amplicon del DNA del paziente e amplicon di alleli naturali conosciuti (riferimento). Gli eteroduplex generati in questo modo possono essere separati mediante elettroforesi ed i pattern possono essere utilizzati per indicare il genotipo del paziente.

RFLP (Poliformismo di lunghezza con frammento di restrizione) : Tecnica di genotipizzazione con la quale gli amplicon del DNA del paziente vengono digeriti con endonucleasi allele-specifiche.

Malattia falciforme : Malattia ereditaria causata da mutazioni nel gene HBB, caratterizzata da episodi di dolore, anemia (carenza di globuli rossi), infezioni gravi e danno agli organi vitali. Esistono numerose forme comuni di malattia falciforme: SS (l'individuo eredita un gene falciforme da ciascun genitore); SC (il figlio eredita un gene falciforme ed un gene per un altro tipo anomalo di emoglobina, HbC) e talassemia S-beta (il figlio eredita un gene falciforme ed un gene della beta talassemia, un'altra anemia ereditaria)

SNP (Polimorfismo a singolo nucleotide) : Polimorfismo che provoca una alterazione della base di un singolo nucleotide all'interno del genoma.

SSCP (polimorfismo della conformazione del filamento singolo) : Tecnica di genotipizzazione con la quale gli amplicon del DNA del paziente vengono denaturati mediante calore e poi raffreddati rapidamente per indurre la formazione di duplex DNA intra-nastro. Questi duplex vengono poi separati mediante elettroforesi per generare pattern di banding genotipo-specifici su gel non denaturante.

SSO (Oligonucleotide sequenza-specifico) dot : Tecnica attraverso la quale amplicon immobilizzati e non etichettati vengono genotipizzati mediante ibridizzazione con un numero di oligonucleotidi omologhi individuali etichettati.

SSO (Oligonucleotide sequenza-specifico) reverse dot : Tecnica attraverso la quale amplicon etichettati vengono genotipizzati mediante ibridizzazione con un numero di oligonucleotidi omologhi immobilizzati e non etichettati.

SSP (ARMS) : Tecnica di genotipizzazione che prevede l'amplificazione PCR del DNA del paziente con primer di oligonucleotide sequenza-specifici (SSP). L'amplificazione si verifica solamente se il DNA del paziente è esattamente uguale al SSP. Questa tecnica viene anche chiamata 'sistema di amplificazione della sequenza mutata refrattaria (ARMS)

Malattia di Von Willebrand : Malattia ereditaria causata da mutazioni del gene VWF. Si tratta della malattia emorragica ereditaria più comune, che colpisce entrambi i sessi in percentuale uguale. Nella maggior parte dei casi il sanguinamento è lieve e può insorgere dopo una procedura chirurgica o dopo una estrazione dentale. Questa malattia viene peggiorata dall'assunzione di aspirina e di altri farmaci anti-infiammatori non steroidei (NSAID). In gravidanza il sanguinamento può diminuire. E' una malattia molto comune, che colpisce almeno l'1% della popolazione. Una storia familiare di un disturbo emorragico costituisce il fattore di rischio primario. Nelle donne con mestruazioni abbondanti o prolungate, la malattia di Von Willebrand è più comune nelle donne di razza caucasica che nelle donne di razza africana.

Wild type : L'allele più frequente in una sequenza DNA polimorfica.