

Report sull'attività svolta dall' 01/08/08 al 31/10/08 presso il laboratorio di Genetica Molecolare dell' ASO O.I.R.M. S.Anna
Titolo della borsa di studio: Genetica della sclerosi laterale amiotrofica sporadica in rapporto al calcio.

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è la forma più frequente di malattia del motoneurone, caratterizzata da paralisi progressiva e da esito fatale entro tre anni dall'insorgenza dei sintomi. Circa il 7% è ereditaria, con pattern autosomico dominante; il 93% si presenta come forme sporadiche. La SLA familiare è geneticamente eterogenea: il 20% dei casi presenta mutazioni del gene SOD1, ma sono noti altri geni mutati in forme più rare di SLA. Le cause della SLA sporadica sono di più difficile inquadramento (cooperazione di fattori genetici e ambientali, esposizione a sostanze tossiche come gli organofosforici utilizzati in agricoltura). La malattia è stata correlata ad attività fisiche pesanti e all'attività sportiva agonistica.

Recentemente in letteratura sono stati pubblicati alcuni studi sul gene TARDBP, che codifica per la TAR-DNA binding protein (TDP-43), una delle principali componenti degli aggregati neuronali nei pazienti con SLA; si ipotizza che mutazioni sul gene TDP-43 generando variazioni aminoacidiche siano causa di formazione di una proteina TDP-43 anomala che si accumula a livello neuronale. Pertanto nel nostro lavoro di ricerca stiamo indagando questo gene, con l'obiettivo di chiarire il suo ruolo nella patogenesi della SLA.

Metodi e risultati. Sono stati estratti i DNA dai campioni di sangue periferico di pazienti affetti da SLA e successivamente sono stati amplificati gli esoni 4 e 6 del gene TARDBP, che sono quelli più soggetti a variazioni: sono stati analizzati 62 casi familiari e 125 casi sporadici.

Gli amplificati sono stati purificati mediante il GenElute™ PCR Clean-Up Kit della ditta SIGMA e successivamente quantificati su gel di agarosio all'1,5%. I campioni sono stati sequenziati direttamente utilizzando il Big Dyes Terminator e purificati con Illustra™ AutoSeq G-50 Dye Terminator Removal Kit della ditta GE Healthcare. Le sequenze sono state poi effettuate su sequenziatore ABIPrism 3100Avant.

Le principali mutazioni descritte in letteratura sono D169G, G287S, A315T, G348C, R361S, A382T, N390D, N390S.

E' stata trovata una mutazione puntiforme già nota ed una nuova non ancora descritta in letteratura, su due casi sporadici e su un caso familiare.

In parallelo stiamo conducendo un'analisi anche su campioni di DNA di controllo di individui sani e su tali campioni finora non sono state riscontrate mutazioni.

Obiettivi. Caratterizzazione di mutazioni o varianti che conferiscono un rischio di SLA. Questo studio potrà chiarire il ruolo del gene TARDBP nella patogenesi della SLA; l'informazione potrà essere di rilevanza per i ricercatori nel campo della SLA, perché dovrebbe ipotizzare una nuova via metabolica implicata nella neurodegenerazione. A tale proposito verrà prodotto un database con i dati di sequenziamento, per permettere ad altri ricercatori di combinare i propri risultati con il nostro database, allo scopo di aumentare la casistica e la significatività. Le informazioni prodotte da questo studio potranno risultare utili anche nella pratica clinica ed in particolare potranno permettere una diagnosi più rapida dei pazienti SLA in stadi precoci della malattia. Infine, la verifica di nuove vie metaboliche potrà portare all'identificazione di farmaci specifici, che abbiano un'efficace azione di arresto o di diminuzione della velocità di progressione della malattia.

To, 31/10/08

Maura Brunetti

