

Report sull'attività svolta dall' 1/11/09 al 31/01/10 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.

La TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43), codificata dal gene TARDBP, è stata identificata come la principale proteina coinvolta nella demenza frontotemporale (FTD), con o senza sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Mutazioni nel gene TARDBP sono state descritte nel 2-3% dei pazienti affetti da SLA (sia in casi familiari, sia apparentemente sporadici) e si ipotizza che tali mutazioni siano coinvolte nella patogenesi della SLA. Tuttavia in letteratura vi è soltanto una descrizione di due pazienti affetti da FTD con mutazione nel gene TARDBP, che in seguito hanno sviluppato Malattia del Motoneurone (MND).

Obiettivi. In questo studio abbiamo analizzato il gene TARDBP in pazienti affetti da SLA familiare ed abbiamo descritto le anomalie cognitive in tre famiglie in cui sono state evidenziate mutazioni in tale gene.

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 36 casi familiari e 280 campioni di DNA di controllo di individui sani.

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.

E' stata evidenziata la mutazione puntiforme p.A382T, in tre casi, mentre non si sono riscontrate mutazioni nei 280 controlli.

La mutazione p.A382T del gene TARDBP è stata riscontrata in tutti i membri affetti delle tre famiglie di cui era disponibile il DNA; tutti i membri già affetti da SLA hanno sviluppato Demenza FrontoTemporale (FTD), confermata da test neurofisiologici e da riduzione del metabolismo nelle aree associative frontali riscontrato con PET/TC.

Conclusioni. Tre famiglie, apparentemente non correlate tra loro, affette da SLA familiare, con la mutazione p. A382T nel gene TARDBP, hanno sviluppato FTD.

La FTD coesegrega con la SLA in queste famiglie: potrebbe svilupparsi più frequentemente nei pazienti affetti da SLA con la mutazione A382T.