UNIVERSITY & RESEARCH
HOSPITALS

PUNTO DI ASCOLTO TRA MALATI MIOTONICI, MEDICI E RICERCATORI

Aula Magna, IRCCS Policlinico San Donato
Piazza E. Malan, 1 – San Donato Milanese

Sabato 12 Novembre 2016

L'insulino resistenza nelle Distrofie Miotoniche

Dott.ssa Laura Valentina Renna, PhD

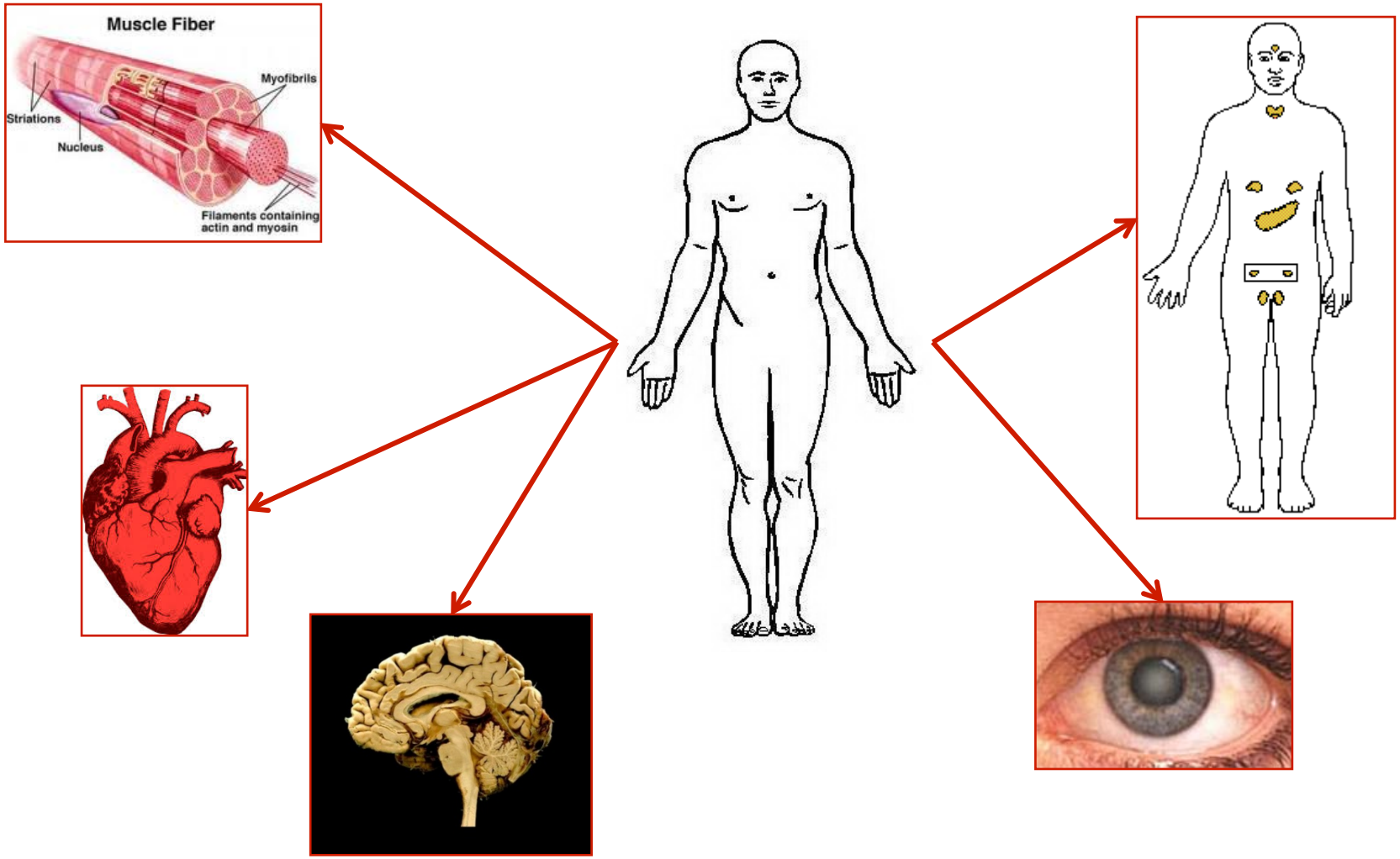
fondazione malattie miotoniche

MYOTONIC DYSTROPHY FOUNDATION

Wyck Foundation

Centro per lo Studio delle Malattie Neuromuscolari

Sono malattie **multisistemiche**: i sintomi non colpiscono quindi solo il muscolo scheletrico ma anche altri sistemi.



I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Alterazioni Metaboliche

Le Distrofie Miotoniche sono caratterizzate da **alterazioni metaboliche**

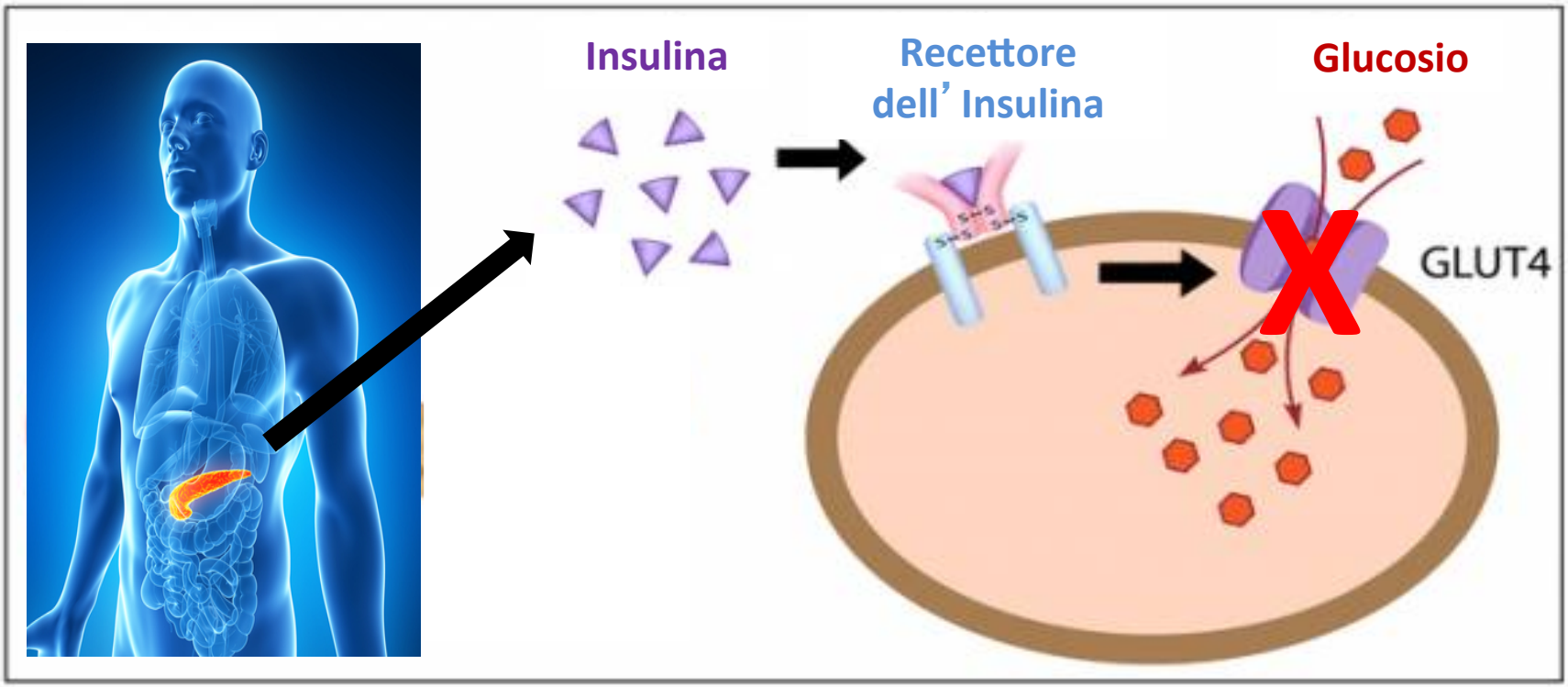
- **Insulino resistenza**
- iperinsulinemia
- ipertrigliceridemia

L'insulino resistenza è un FATTORE DI RISCHIO per lo sviluppo di aterosclerosi, ipertensione, malattie cardiovascolari, diabete, obesità e perdita di massa muscolare

Le alterazioni metaboliche nei pazienti DM potrebbero peggiorare alcuni aspetti multisistemici della patologia, in particolare a livello del **cuore**, del **muscolo scheletrico** e del **sistema nervoso centrale**.

Correggere l'insulino resistenza potrebbe portare ad un miglioramento del quadro multisistemico della malattina, incrementando la qualità di vita dei pazienti affetti da Distrofia Miotonica.

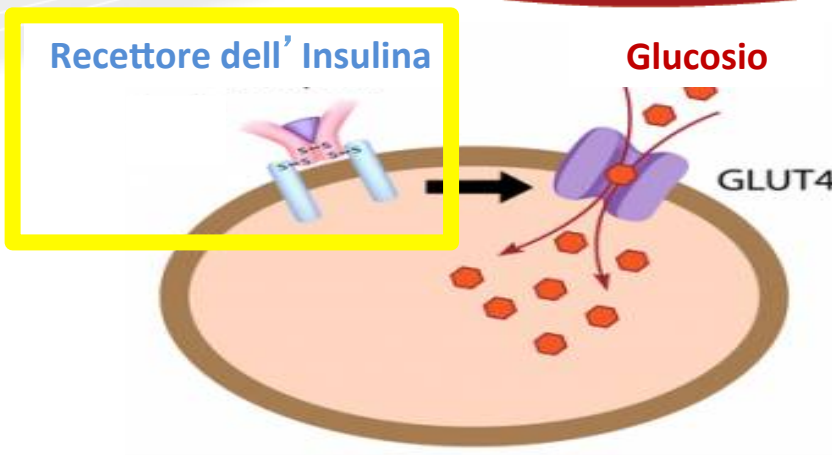
Insulino Resistenza



Per correggere l' insulino resistenza bisogna innanzitutto conoscere i **MECCANISMI MOLECOLARI** che ne costituiscono la causa

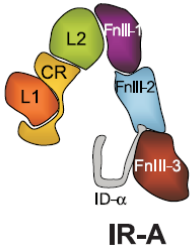
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Insulino Resistenza e DM

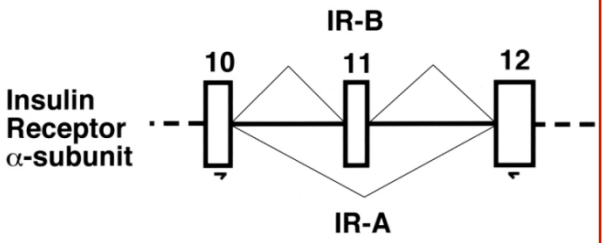


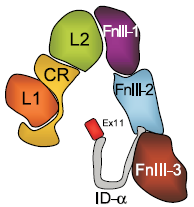
Nei pazienti DM vi è un' alterazione del recettore dell' insulina, che è maggiormente presente nella sua isoforma fetale.

- -Esone 11
- **Fetale**
- **Minore affinità all' insulina**



IR-A





IR-B

- +Esone 11
- **Adulta**
- **Maggiore affinità all' insulina**

?

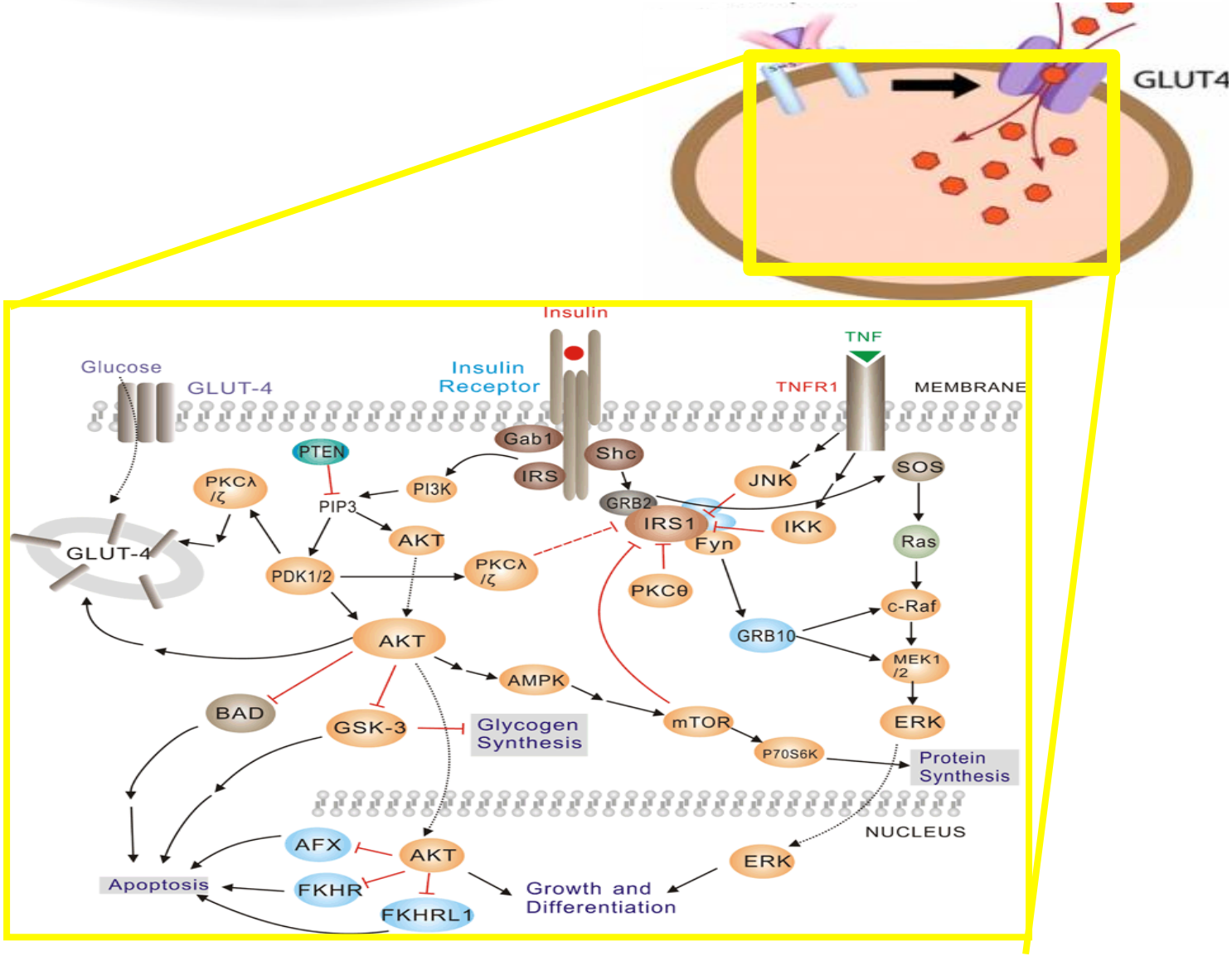
Nessuno ha mai effettivamente dimostrato se questa alterazione è l' unica causa alla base dell' insulino resistenza e delle alterazioni metaboliche dei pazienti DM

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Insulino Resistenza e DM

Recettore dell' Insulina

Glucosio



I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

MYOTONIC
DYSTROPHY
FOUNDATION

2016 GRANT RECIPIENTS

In partnership with the Wyck Foundation, London, UK, MDF is pleased to announce the following 2016-2017 Grant Recipients:

January 20, 2016

Laura Valentina Renna, PhD
Lab Muscle histopathology and molecular biology
IRCCS-Policlinico San Donato
Via Morandi 30
San Donato Mil, Milan, Italy 20097

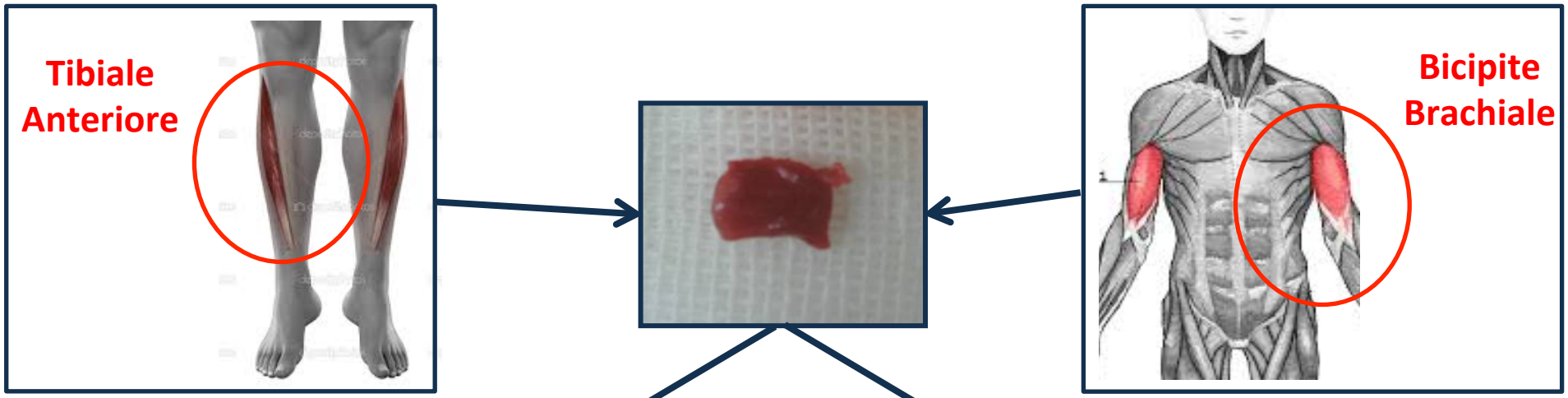
**** *NOTICE OF AWARD* ****

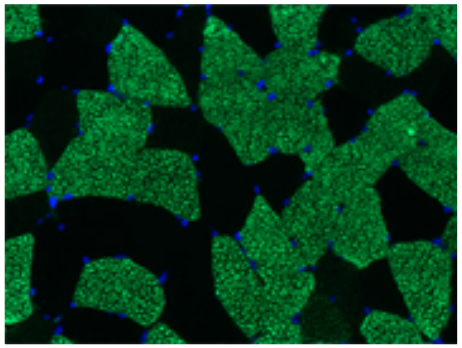
On behalf of the Wyck Foundation, we are pleased to award a grant to Dr. Laura Valentina Renna for the application titled "A new approach of pathomolecular mechanism in myotonic dystrophy insulin resistance by nutrigenomics" The amount noted below includes no institutional overhead.

AMOUNT AWARDED	SUPPORT PERIOD
$102,500	1 February 2016 – 31 January 2018

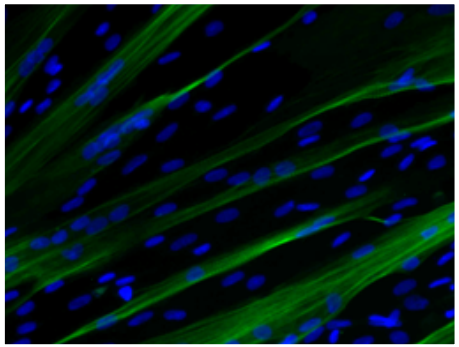
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Sono state analizzate alcune proteine coinvolte nella segnalazione dell'insulina, sia *ex vivo* sulle biopsie muscolari che *in vitro* su colture primarie di cellule muscolari.





Ex vivo

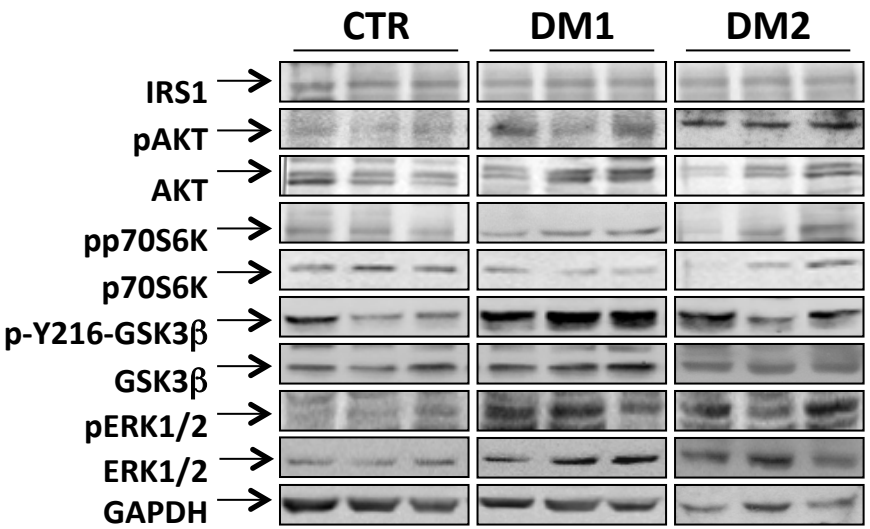


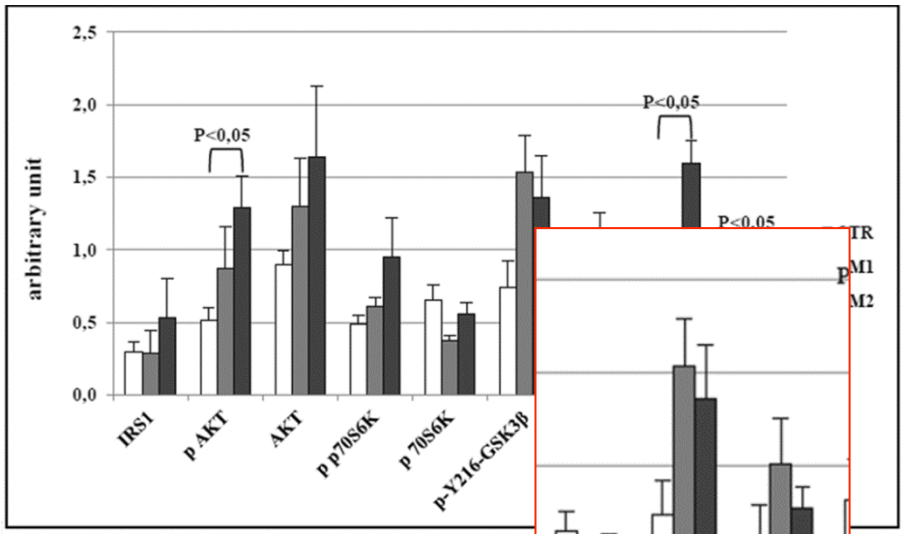
In vitro

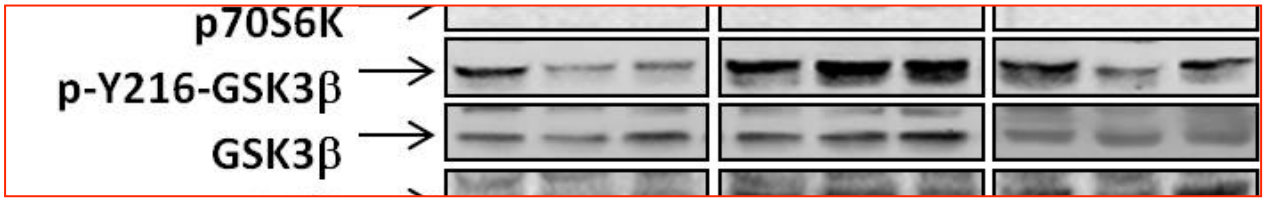
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Analisi *ex vivo*: muscoli prossimali

Analisi dell'espressione di alcune proteine della via di segnalazione dell'insulina





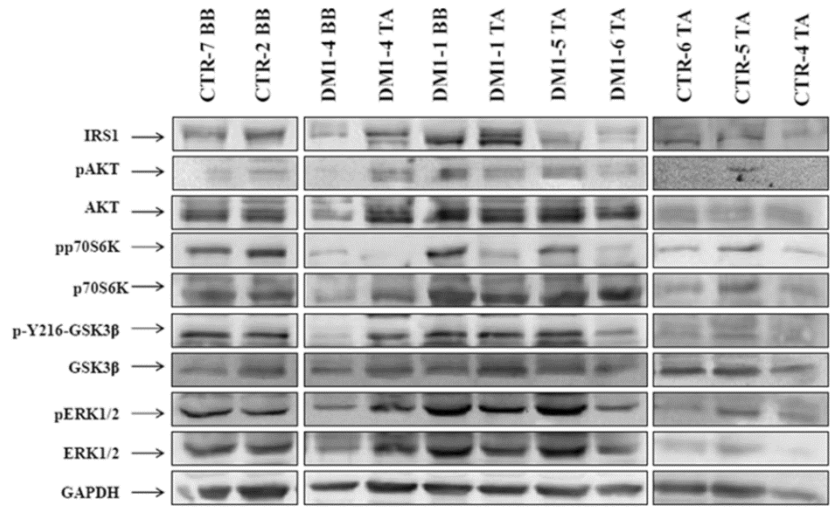


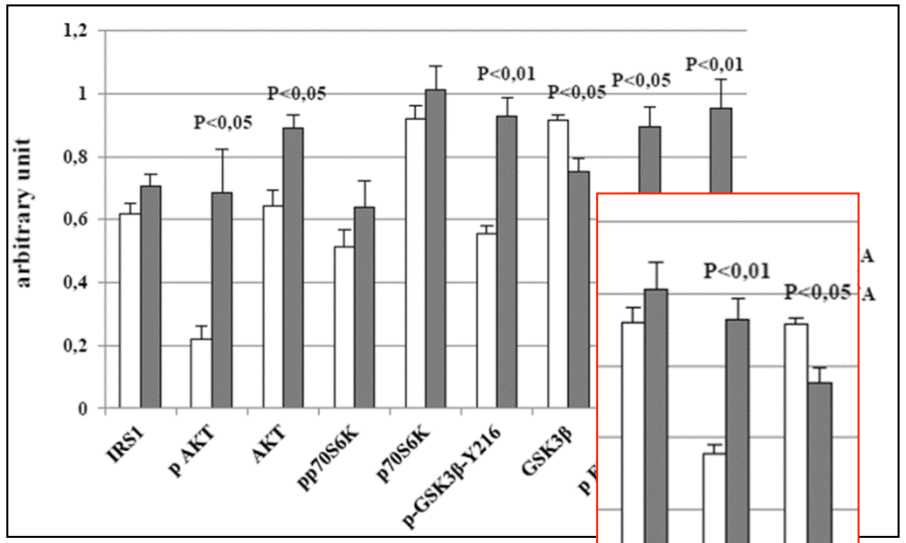
➢ **I livelli di espressione e di attivazione di alcune proteine coinvolte nel pathway dell'insulina sono più alti nei DM rispetto ai controlli, ed in particolare nei pazienti DM2.**

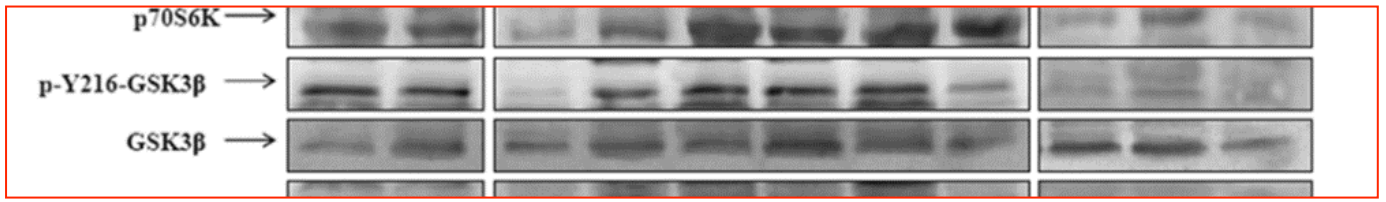
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Analisi *ex vivo*: muscoli distali

Analisi dell'espressione di alcune proteine della via di segnalazione dell'insulina



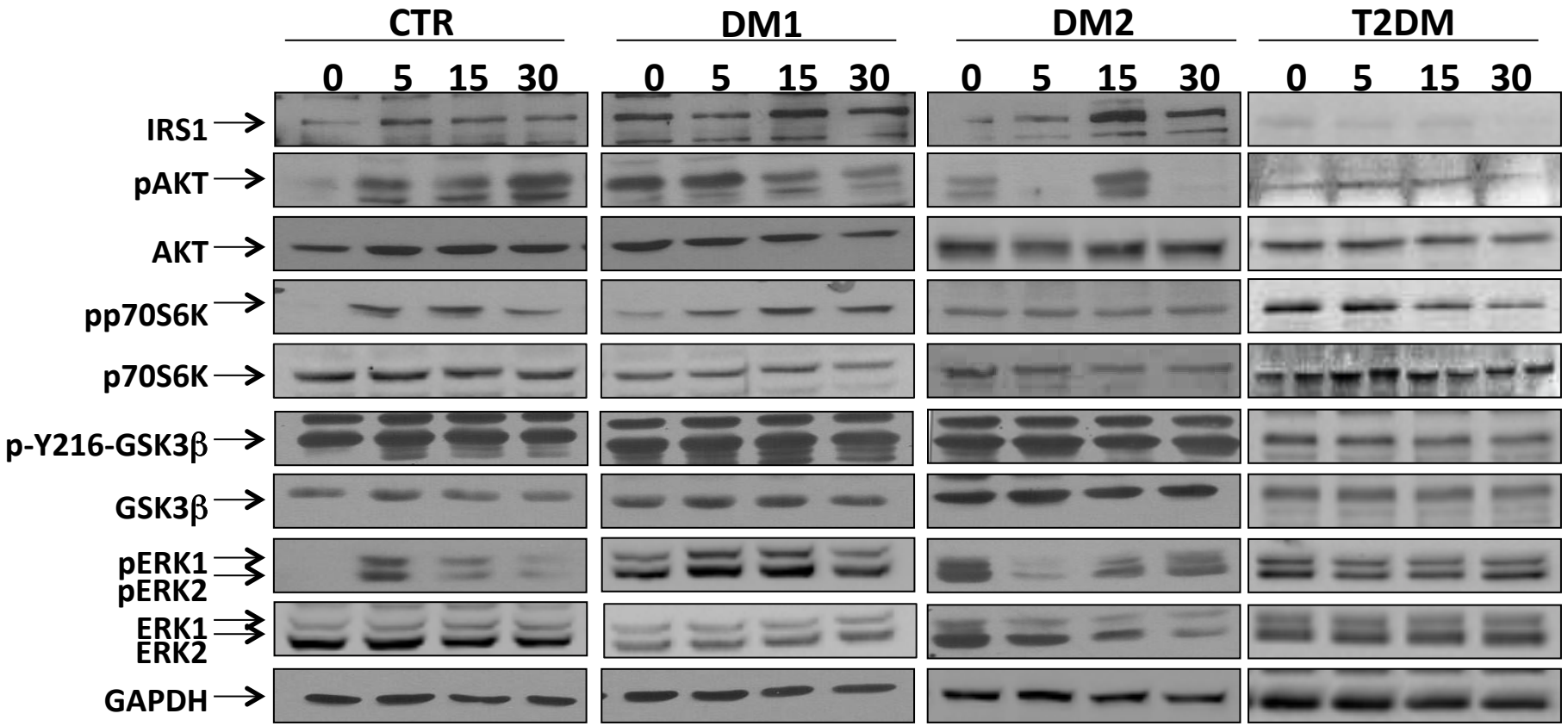




➢ **I livelli di espressione e di attivazione di alcune proteine coinvolte nel pathway dell'insulina sono più alti nei DM1 rispetto ai controlli nel muscolo maggiormente affetto in questa patologia**

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Analisi *in vitro*

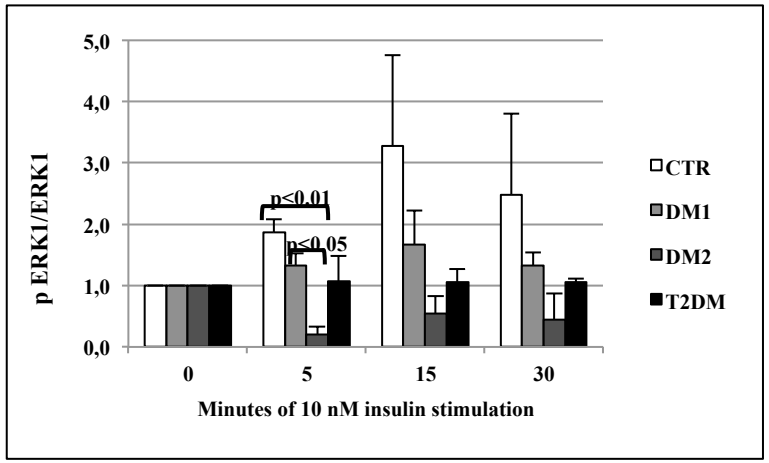


Abbiamo quindi analizzato l'attivazione delle proteine in seguito a stimolazione insulinica

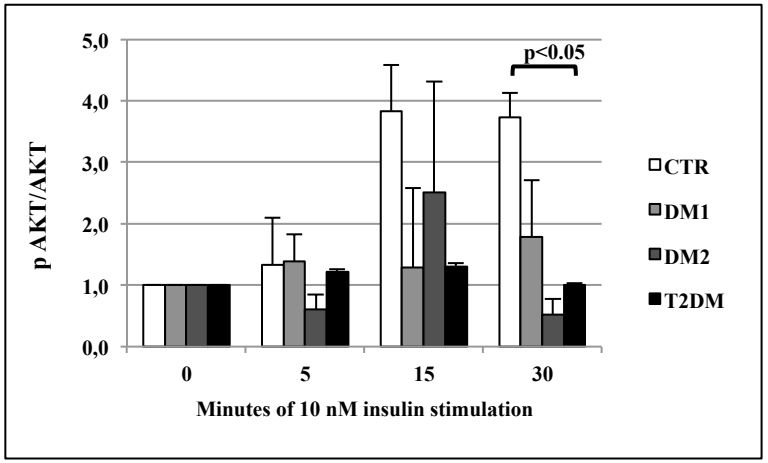
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Analisi *in vitro*

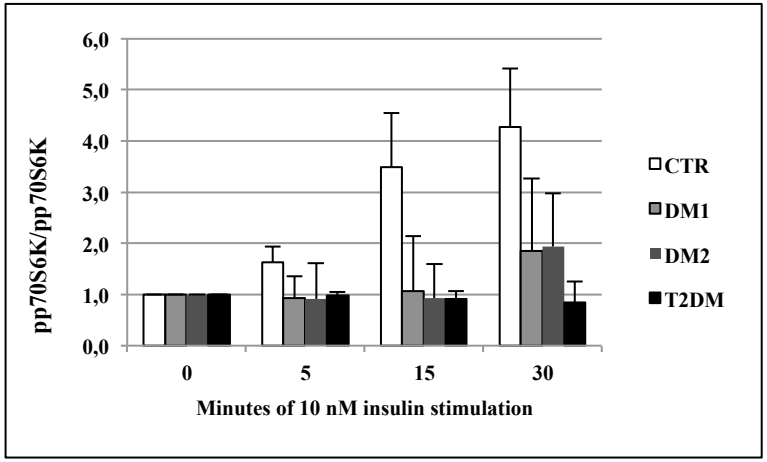
ERK1



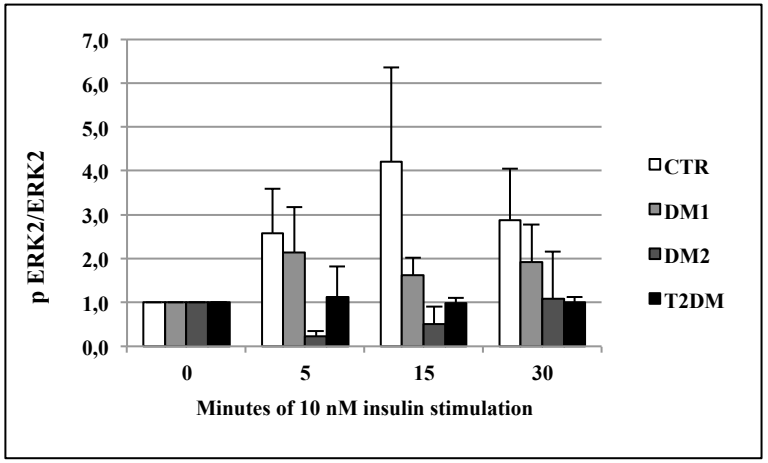
AKT/PKB



p70S6K



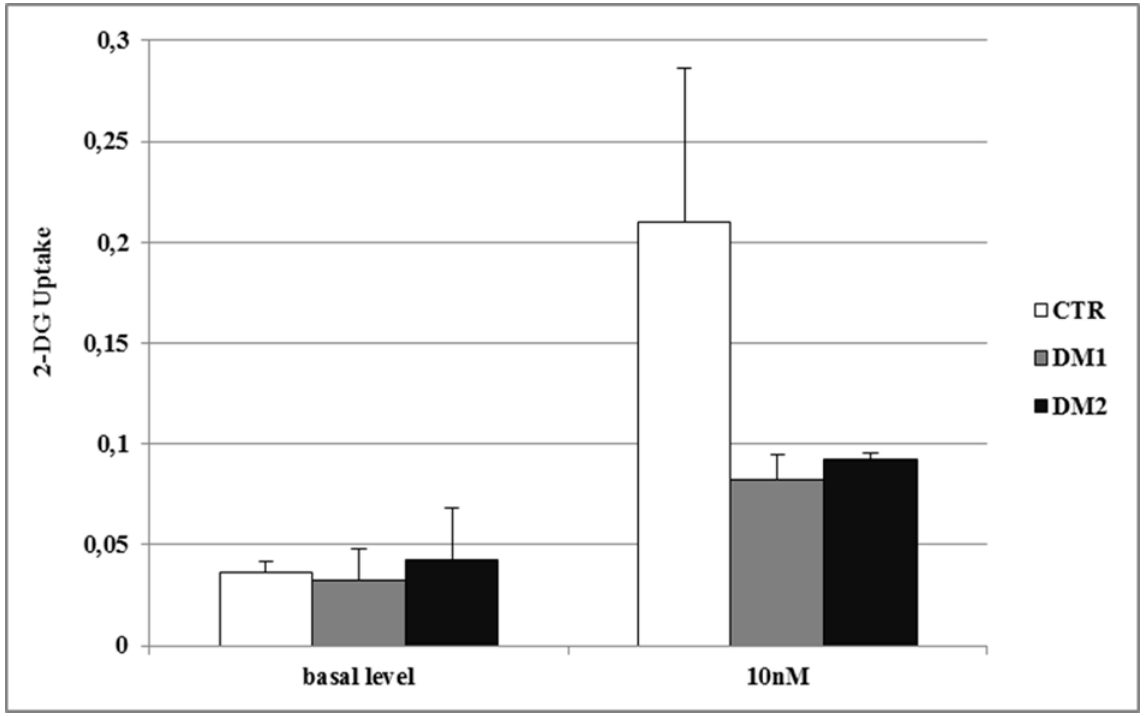
ERK2



I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Analisi in vitro

Per avere ulteriore conferma abbiamo valutato l'assorbimento di glucosio all'interno della cellula in seguito a stimolo insulinico



Le cellule muscolari DM assorbono meno glucosio rispetto ai controlli in seguito a stimolo insulinico

In progress

- Attualmente sono in corso ulteriori esperimenti volti ad analizzare la via di segnalazione insulinica al fine di identificare nuovi **BIOMARKER** che possano essere utilizzati per interventi terapeutici per la cura dell'insulino resistenza nei pazienti affetti da **DM1 e DM2**.

- Nostra intenzione è quella di somministrare alle cellule DM sostanze naturali insulino mimetiche (resveratrolo, betaina e carnitina) per valutarne gli effetti sull'insulino resistenza e sull'atrofia muscolare osservata nei pazienti DM. Tali composti rappresenterebbero delle altenative naturali alla metformina.

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

MYOTONIC
DYSTROPHY
FOUNDATION

2016 MDF
ANNUAL CONFERENCE
September 15 – 17 Washington DC

ulin signalling and cytoskeletal abnormalities in myotonic dystrophy skeletal mu

enna Laura Valentina[1], Iachettini Sara[2], Fossati Barbara[2], Saraceno Lorenzo[2], Colombo Roberto[3], Meola Giovanni[1,2], Cardani Rosan

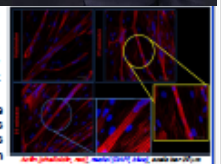
r Biology, IRCCS-Policlinico San Donato, Milan, Italy; [2]Department of Biomedical Sciences for Health, IRCCS-Policlinico San Donato, Universi
University of Milan, Milan, Italy.

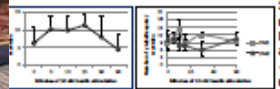
Objective

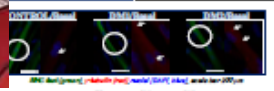
Methodolo

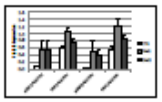
Phalloidin staining during 30 inutes of 10 nM insulin stimulation s shown that remodelling in actin toskeleton was present in few yotubes and with no direct rrelation with insulin stimulation.

The analysis of microtubule cleation by γ-tubulin staining has own that in CTR myotubes there is insulin dependent increase in crotubule nucleation that it is not ident in DM muscle cells.









✓ DM myotubes exhibit a 2 fold increase in microtubule nucleation before insulin stimulation as compared to CTR.

✓ The increase in basal microtubule nucleation is associated with an increase in ERKs basal phosphorylation.

er defects in insulin signalling may contribute to insulin resistance in DM patients despite the aberrant alternative splicing of IR gene.

Conclusions

- The basal expression and activation of some proteins involved in the insulin pathway is impaired in DM *biceps brachii* biopsies and these alterations are evident also in DM1 despite proximal muscles are usually less affected than distal muscles in this type of DM.
- At T5 both DM and control myotubes express IRA isoform.
- Post-receptor insulin signal transduction via both Ras-ERK and IRS1-Akt pathway, glucose uptake and GLUT4 translocation appear to be impaired only in DM myotubes.
- Microtubule nucleation is impaired in DM muscle cells.

Since metabolic changes contribute to muscle weakness and wasting, cardiovascular diseases and neuropathies, the identification of therapeutic target for insulin resistance treatment in DM patients could contribute to ameliorate the multisystemic spectrum of these diseases thus improving the quality of life of DM patients.

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

MYOTONIC
DYSTROPHY
FOUNDATION

2016 MDF
ANNUAL CONFERENCE
September 15 – 17 Washington DC

Wyck
Foundation

MDF FELLOWS 2016-2017

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Modello animale per la DM2

Lukasz Sznajder, PhD
University of Florida, US

Myotonic Dystrophy Type 2 - Mouse Models, Pathomechanism and Therapy

Dr. Sznajder, in his proposal "Myotonic dystrophy type 2: mouse models, pathomechanism and therapy" plans to use recently developed techniques in genetic engineering to generate novel mouse models for DM2. These new mouse models will be thoroughly characterized to determine if they faithfully recapitulate DM2 disease manifestations and study the molecular events that underlie DM2 disease progression. These DM2 mouse models will be employed to develop a therapy for DM2 based on drugs called antisense oligonucleotides, which are currently being tested in clinical trials for DM1.

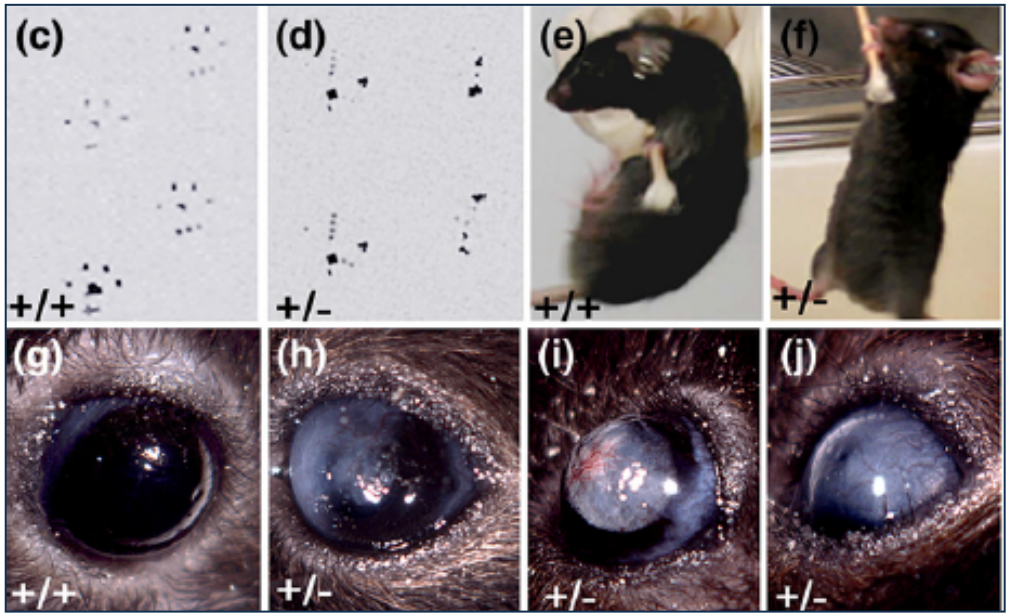
Scopo del progetto è utilizzare tecniche all'avanguardia per generare un nuovo modello di topo per la DM2 che ricapitoli fedelmente tutti i sintomi della patologia e che possa essere usato per testare gli oligonucleotidi antisenso che sono attualmente usati nel trial clinico della DM1.

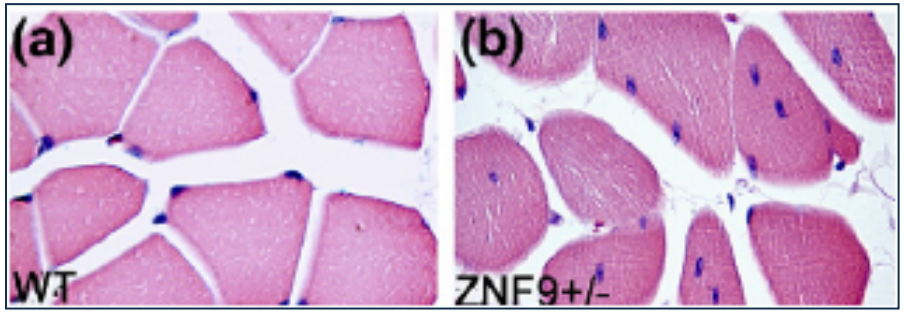
I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Modello animale per la DM2

Haploinsuffciency for *Znf9* in *Znf9*$^{+/-}$ Mice Is Associated with Multiorgan Abnormalities Resembling Myotonic Dystrophy

Wei Chen[1,2], Yucheng Wang[1,2], Yoko Abe[1], Lukas Cheney[1]
Bjarne Udd[3,4,5] and Yi-Ping Li[1,2*]





TUTTAVIA questo modello animale non presenta l' RNA TOSSICO che è caratteristica principale della patologia.

I.R.C.C.S.
POLICLINICO
SAN DONATO

Ringraziamenti

Prof. Giovanni MEOLA

medici

biologi

Dott.ssa Barbara Fossati
Dott. ssa Elisa Brigonzi
Dott. Michele Cavalli
Dott. Giovanni Arpa
Dott. Andrea Marchesi

Dott.ssa Rosanna Cardani
Dott.ssa Laura V Renna
Dott.ssa Francesca Bosè
Dott.ssa Elena Canali
Dott. Nicola Ferrari

MYOTONIC DYSTROPHY FOUNDATION

MDF-Myotonic Dystrophy Foundation

fm

FMM-Fondazione Malattie Miotoniche

Wyck Foundation

Wyck Foundation