PUNTO DI ASCOLTO TRA MALATI MIOTONICI, MEDICI E RICERCATORI

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

Sabato 24 Novembre 2018

Studio delle mutazioni genetiche rare nelle DM e nelle canalopatie muscolari nella pratica del laboratorio

Dr.ssa Francesca Bosè







MUTAZIONI GENETICHE: QUANDO?



✓ Pazienti Miotonici NON-DM con sospetta canalopatia prelievo di sangue



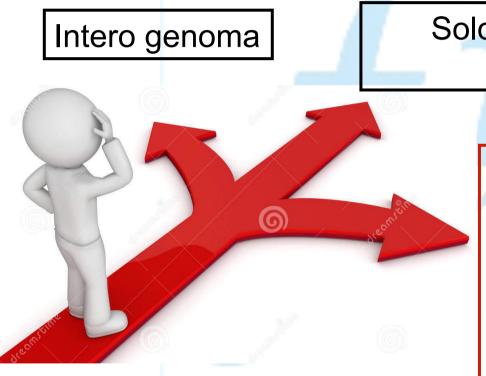
estrazione di DNA



Sequenziamento



COSA SI PUO' SEQUENZIARE



Solo le regioni codificanti per proteine

Solo geni singoli

Nel nostro caso, in relazione alla miotonia:

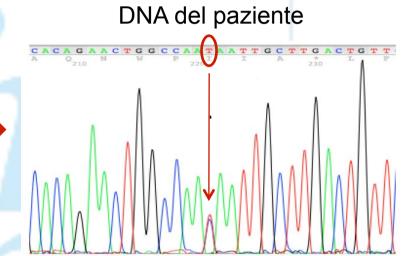
- CLCN1 (canale del cloro muscolare)
- *SCN4A* (canale del sodio muscolare)

ANALISI DEI RISULTATI

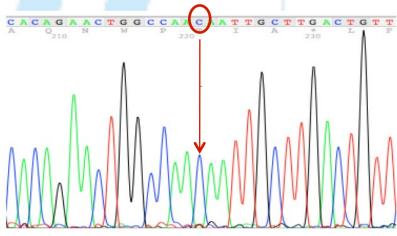


Risultati del sequenziamento

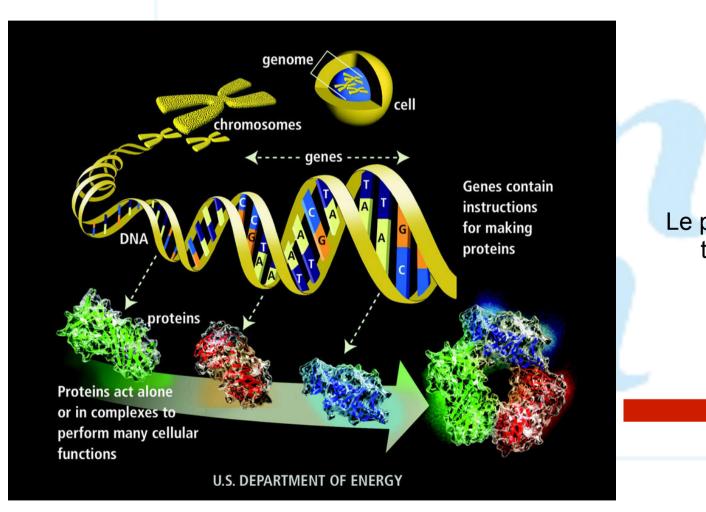
La sequenza del gene del paziente viene confrontata con quella del gene "sano" depositata in banca dati





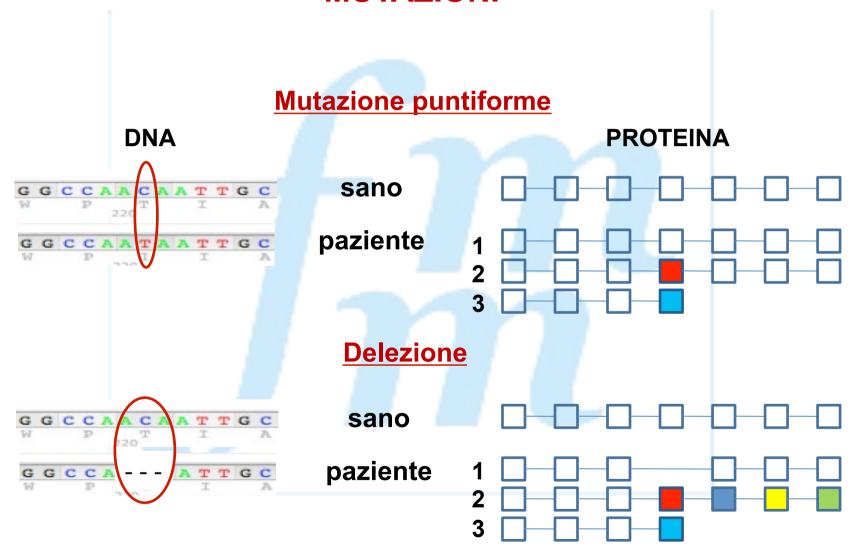


DAL GENE ALLA PROTEINA

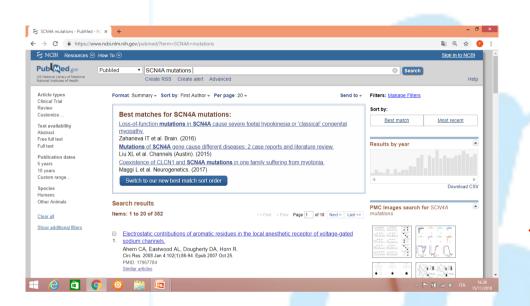


Le proteine espletano tutte le funzioni fisiologiche dell' individuo

MUTAZIONI



MUTAZIONI



Ricerca della mutazione trovata in PubMed

La mutazione è già nota e riportata in letteratura



E' anche noto come trattare il paziente nel modo e con il farmaco più efficace

La mutazione non è nota ed è quindi da studiare





MUTAZIONI GENETICHE RARE NON NOTE



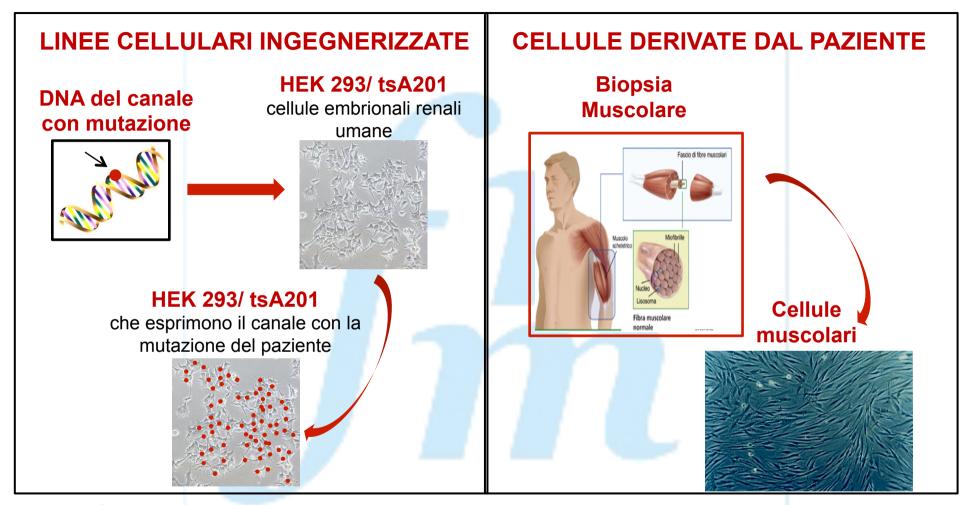
Quali conseguenze ha la mutazione trovata nel paziente sulla funzionalità del canale?

Il difetto di funzionalità del canale mutato spiega i sintomi riportati dal paziente?

Quali farmaci possono essere efficaci per correggere tale difetto e quindi curare o ridurre i sintomi del paziente?

Linee cellulari "ingegnerizzate" con mutazione da studiare

Cellule del paziente



- 1. Studi di elettrofisiologia per caratterizzare il canale mutato e la sua funzionalità
- 2. Trattamento delle cellule con farmaci (già in uso nella pratica clinica e farmaci di nuova generazione) e valutazione del loro effetto sulla funzionalità del canale

RISULTATI OTTENUTI DAL LABORATORIO

1. Studi di elettrofisiologia per caratterizzare il canale mutato e la sua funzionalità

Neuromuscul Disord. 2015 Apr;25(4):301-7. doi: 10.1016/j.nmd.2015.01.006. Epub 2015 Jan 21.

SCN4A mutation as modifying factor of myotonic dystrophy type 2 phenotype.

Bugiardini E¹, Rivolta I², Binda A², Soriano Caminero A³, Cirillo F⁴, Cinti A⁵, Giovannoni R⁵, Botta A⁶, Cardani R⁷, Wicklund MP³, Meola G⁸.

J Neurol. 2012 Oct;259(10):2090-9. doi: 10.1007/s00415-012-6462-1. Epub 2012 Mar 10.

Co-segregation of DM2 with a recessive CLCN1 mutation in juvenile onset of myotonic dystrophy type 2.

Cardani R¹, Giagnacovo M, Botta A, Rinaldi F, Morgante A, Udd B, Raheem O, Penttilä S, Suominen T, Renna LV, Sansone V, Bugiardini E, Novelli G, Meola G.

Sci Rep. 2018 Jul 23;8(1):11058. doi: 10.1038/s41598-018-29302-z.

SCN4A as modifier gene in patients with myotonic dystrophy type 2.

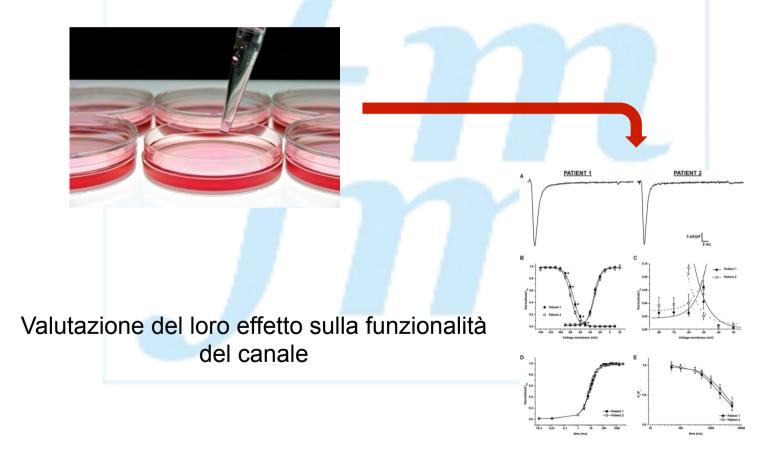
Binda A¹, Renna LV², Bosè F², Brigonzi E³, Botta A⁴, Valaperta R⁵, Fossati B³, Rivolta I⁶, Meola G^{3,7}, Cardani R².

- a. Individuazione della mutazione mediante sequenziamento
- b. Introduzione del DNA con la mutazione in linee cellulari/estrazione cellule da biopsia muscolare
- c. Utilizzo delle cellule per studi di elettrofisiologia volti a caratterizzare la funzionalità del canale

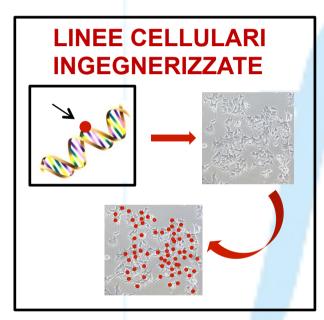
La mutazione trovata nel paziente altera la funzionalità del canale e aggrava il fenotipo DM2

MEDICINA DI PRECISIONE

2. Trattamento delle cellule con farmaci (già in uso nella pratica clinica e farmaci di nuova generazione) e valutazione del loro effetto sulla funzionalità del canale



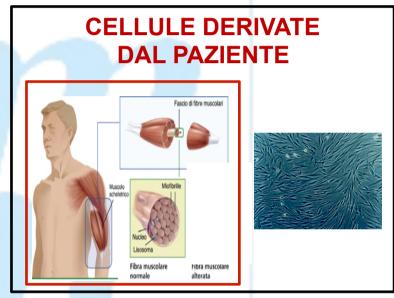
MEDICINA DI PRECISIONE- QUALI CELLULE?



Illimitate

Sistema artificiale che non tiene conto del "background genetico" del paziente





Cellule d'elezione per gli studi conclusivi prima della somministrazione del farmaco al paziente

IL NOSTRO TEAM

Biologi

Medici

Dot.ssa Rosanna Cardani

Dott.ssa Francesca Bose'
Dott.ssa Laura V. Renna
Dott.ssa Michela Veneziano

Prof.ssa Ilaria Rivolta

Dott.ssa Anna Binda

Prof. Giovanni Meola

Dott.ssa Barbara Fossati Dott.ssa Elisa Brigonzi Dott. Michele Cavalli