



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE

Biologia Generale e Genetica Medica
Via Forlanini, 14
27100 Pavia

tel. 0382 987521 (segreteria sezione)
0382 987730 (laboratorio)
fax 0382 525030

LETTERA INFORMATIVA INERENTE I RISULTATI OTTENUTI AL TERMINE DEL 1° ANNO DI FINANZIAMENTO DEL PROGETTO DI RICERCA

Sindrome di Shwachman-Diamond:

1) origine delle anomalie cromosomiche tipiche nella linea maturativa della cellula staminale emopoietica; 2) proprieta' meccaniche del globulo rosso e dei neutrofili: correlazioni con aspetti clinici dei pazienti

Ricercatore principale: Dr. Antonella Minelli (Dip. di Patologia Umana ed Ereditaria ora Dip. di Medicina Molecolare, sez. Biologia Generale e Genetica Medica, Università degli Studi di Pavia).
Collaboratori: Prof. Pasquali e prof. Maserati (Varese), dr. Longoni (Monza), dr. Sainati (Padova), dr. Zecca e prof. Locatelli (Pavia), dr. Cristiani (Pavia) e prof. Sasso (Napoli).

1) Le anomalie citogenetiche clonali più frequentemente osservate nel midollo osseo di pazienti affetti dalla Sindrome di Shwachman-Diamond (SDS) sono un isocromosoma per il braccio lungo del cromosoma 7 [i(7)(q10)] ed una delezione di parte del braccio lungo del cromosoma 20 [del (20)(q11)].

Dati non pubblicati relativi ad indagini citogenetiche condotte in colture di sangue periferico non stimolato di alcuni pazienti SDS, hanno dimostrato, anche se in un numero minore di cellule, la presenza di quelle stesse alterazioni cromosomiche già osservate nel loro midollo osseo (F. Pasquali and E. Maserati, comunicazione personale).

Sulla base di queste osservazioni, è stato pianificato di isolare da sangue periferico differenti tipi cellulari (linfociti e granulociti) allo scopo di 1) verificare se le anomalie cromosomiche del midollo osseo persistono anche in cellule differenziate; 2) determinare se la distribuzione delle anomalie citogenetiche in questi tipi cellulari si differenzi nei differenti pazienti; 3) associare i risultati ottenuti alle caratteristiche ematologiche dei pazienti.

Nell'arco del primo anno di finanziamento sono stati raccolti campioni di sangue periferico (nelle modalità descritte nel progetto presentato all'AISS e validate dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Pavia) appartenenti a quattro casi ed in essi è stata eseguita la separazione delle cellule attraverso gradienti di densità.

Successivamente da queste cellule è stato estratto ed analizzato il DNA genomico, in parallelo con il DNA dei genitori dei pazienti, per la presenza delle anomalie cromosomiche sopraindicate attraverso

l'amplificazione (PCR) di specifiche sequenze altamente polimorfiche distribuite nelle regioni cromosomiche interessate.

In tutti i casi è stata osservata una differenza quantitativa nei linfociti e/o granulociti tra gli alleli localizzati nelle regioni cromosomiche coinvolte dalle specifiche anomalie cromosomiche clonali, [del (20)(q11)] nel caso 1 e 2 e [i(7)(q10)] nel caso 3 e 4, come era stato precedentemente dimostrato nel midollo osseo.

Questi risultati, sebbene ottenuti in un numero limitato di casi, hanno suggerito che:

1) le anomalie cromosomiche dimostrate nel midollo osseo persistono anche in cellule completamente differenziate;

2) in alcuni casi è possibile osservare un comportamento differente sia per tipo cellulare che per anomalia cromosomica: [del (20)(q11)] è espressa in misura maggiore nei granulociti che nei linfociti (caso 2), mentre [i(7)(q10)] (caso 4) è paragonabile in entrambi i tipi cellulari.

Ottenere questo tipo di evidenze analizzando un numero maggiore di casi può fornire informazioni nell'ambito delle correlazioni con il fenotipo ematologico dei pazienti.

2) La seconda parte del presente progetto, condotta in collaborazione con il Dipartimento di Ingegneria Elettronica dell' Università degli Studi di Pavia, ha riguardato lo studio delle proprietà meccaniche dei globuli rossi in pazienti SDS, con mutazioni note nel gene SBDS, attraverso l'utilizzo di un particolare strumento denominato "Tenditore Ottico" (Optical Stretcher ,OS). Il principio di funzionamento di questo strumento si basa su una trappola ottica a due fasci contropaganti che consente di intrappolare la cellula, che è successivamente deformata aumentando la potenza del laser. L'analisi dell'elasticità della cellula è ottenuta valutandone la deformazione in funzione della forza ottica applicata.

I risultati finora ottenuti dimostrano la fattibilità di questa tecnica per lo studio delle proprietà meccaniche dei globuli rossi nei pazienti affetti da SDS; in particolare, suggeriscono una minore deformabilità dei globuli rossi provenienti da dieci pazienti SDS rispetto a controlli sani di pari età.

Si tratta di risultati preliminari da verificare, in primo luogo, aumentando il numero dei casi analizzati ed anche estendendo l'analisi ad altri tipi cellulari quali i neutrofili che mostrano nella SDS una ridotta chemiotassi ed altri difetti funzionali.

Il grafico sotto riportato riassume la distribuzione statistica della deformazione delle cellule ad una data forza ottica.

