



Report spese per finanziamento ricerca scientifica per Atassia Telangiectasia.

Primo anno

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

Dipartimento Universitario di Pediatria

Struttura Complessa di Immunologia Pediatrica

Direttore Prof. Claudio Pignata

Tel.081-7464340- fax. 081-5451278- e-mail:pignata@unina.it

Il gruppo di ricerca diretto dal Prof. Claudio Pignata ha ricevuto, per il primo anno, un finanziamento pari a 15.000 euro da parte dell'Associazione "Un vero sorriso" per condurre gli studi sull'Atassia Teleangiectasia.

Durante il primo anno, non ancora concluso, sono stati spesi 9.800,45 euro, che hanno permesso di realizzare i seguenti obiettivi:

- 1) Conclusione del progetto "Tecniche avanzate di neuroimaging quale strumento di valutazione degli effetti del betametasona" che aveva lo scopo di valutare se i cambiamenti indotti dal trattamento con gli steroidi nella performance motoria nei pazienti A-T fossero associati anche a modificazioni delle immagini di risonanza magnetica funzionale (fMRI). In tale ambito è stato possibile stabilire che i cambiamenti nella performance motoria osservati nei pazienti A-T trattati con il betametasona erano correlati ad un aumento della attivazione delle aree corticali. Questa osservazione, pertanto, suggerisce che il trattamento con gli steroidi potrebbe effettivamente migliorare la funzione motoria di questi pazienti facilitando il meccanismo di compensazione corticale.

I dati ottenuti da questi studi sono stati oggetto di un lavoro scientifico intitolato "Steroid treatment in Ataxia-Telangiectasia induces alterations of functional magnetic resonance imaging during pronosupination task." Al momento questo lavoro è stato inviato per la pubblicazione ad una rivista internazionale, il cui comitato di revisori lo sta valutando per la pubblicazione. In questo manoscritto l'Associazione "Un vero sorriso" è stata inserita negli acknowledgments.

ASSOCIAZIONE UN VERO SORRISO ONLUS

www.unverosorriso.it

Via Campana, 27 b – 10125 Torino

Tel:011-2460087 / Fax:011-6695473

Email: info@unverosorriso.it

CF: 97694060019



2) Allestimento di teche di materiale biologico prelevato da tutti i pazienti A-T seguiti presso il nostro Centro, per studi biochimici e molecolari. Da tutti i pazienti A-T abbiamo estratto i linfociti dal sangue periferico che sono stati poi conservati in azoto liquido; abbiamo, inoltre, ottenuto lisati proteici ed estratto DNA ed RNA da tutti i pazienti A-T.

Per tutti i pazienti sono state create linee immortalizzate con EBV e conservate in azoto liquido.

In tutti i pazienti A-T sono stati condotti anche studi funzionali relativi alla capacità proliferativa dei linfociti in risposta a stimoli mitogenici in vitro al fine di definire preliminarmente il grado di variabilità nel tempo.

Per tali scopi è stato necessario acquistare i seguenti reagenti e prodotti di laboratorio:

- Plasticheria (pipette sierologiche, provette, flasks e piastre per colture cellulari);
- Azoto liquido per il mantenimento delle teche di materiale biologico;
- Fattori di crescita e terreni di coltura per il mantenimento delle linee cellulari in vitro;
- Timidina triziata, liquido di scintillazione, filtri e vials per la valutazione della risposta proliferativa dei linfociti;
- Kit per estrazione di RNA;
- Reagenti per estrazione di DNA;
- Anticorpi policlonali per la caratterizzazione intracitosolica e di membrana dei linfociti estratti da tutti i pazienti.



FINANZIAMENTI PREVISTI PER IL II E III ANNO: Nei prossimi 2 anni, nuovo obiettivo della nostra attività di ricerca sull'Atassia Teleangiectasia, sarà quello di studiare il meccanismo d'azione del betametasone. Da studi precedenti condotti dal nostro gruppo è emerso che il betametasone a basso dosaggio induce paradossalmente proliferazione dei linfociti isolati dai pazienti A-T, mentre ci si attendeva un effetto soppressorio. La nostra ipotesi è che tale effetto possa essere dovuto ad una possibile implicazione del meccanismo autofagico nella patogenesi dell'A-T. Pertanto abbiamo pianificato di studiare l'effetto del betametasone sulla clearance cellulare mediata dal network lisosomi-autofagia.

A tale scopo, valuteremo:

- Eventuali alterazioni nella formazione di lisosomi e delle vescicole autofagiche che verranno visualizzate attraverso immagini di microscopia ed analisi di molecole coinvolte nel processo mediante western blotting;
- La possibilità di identificare fattori di trascrizione processo-specifici sia a livello molecolare che proteico;
- La presenza qualitativa e quantitativa delle molecole coinvolte nella formazione delle vescicole e nel trafficking cellulare.

Per tali scopi è stato necessario acquistare i seguenti reagenti e prodotti di laboratorio:

- Anticorpi policlonali per la caratterizzazione intracitosolica e di membrana di proteine dei linfociti estratti da tutti i pazienti;
- Anticorpi policlonali per valutare la presenza delle proteine coinvolte nella formazione delle vescicole lisosomiali e autofagiche.

Pertanto, si prevede che per i prossimi 2 anni sia necessario un ulteriore finanziamento di 15.000 euro/anno.