

Caratterizzazione genetica di pazienti affetti FC mediante ricerca di delezioni nel gene CFTR

L'analisi mutazionale del gene "Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" (CFTR) risulta cruciale per la diagnosi, prognosi, terapia e prevenzione della Fibrosi Cistica (FC).

Per la caratterizzazione genetica di tutti i pazienti affetti da forme sia tipiche che atipiche di FC e/o soggetti con sospetto diagnostico afferenti al Centro di Riferimento Regionale Lazio è stata quindi progettata, validata e resa operativa una procedura a più fasi per l'individuazione delle mutazioni e delezioni del gene CFTR.

In particolare la metodologia standard che viene attualmente seguita nell'approccio integrato tra il Centro FC e la Sez. di Biochimica Clinica consiste in: a) una prima fase di applicazione di un test commerciale di I livello CF-OLA (Abbott) che ricerca le 32 mutazioni più comuni (19 delle quali rappresentate nell'Italia Centrale), la cui detection rate è del 78%, b) una seconda fase (eseguita in caso di incompleta caratterizzazione alla fase precedente) di applicazione del nostro test regionale (CF-SNAP+20, basato sullo SNaPshot kit, Applied Biosystems) comprendente un pannello specifico di 14 mutazioni particolarmente frequenti nell'Italia Centrale e aggiuntive rispetto alle 19 precedenti e, qualora necessario, con indagine anche del tratto (TG)mTn la cui detection rate, in combinazione con il test CF-OLA, è dell'88%, c) una terza fase nella quale viene applicato il test di II livello, cioè il metodo di sequenziamento completo delle regioni codificanti, delle zone introniche (non codificanti) adiacenti gli esoni e della zona iniziale, anch'essa non codificante ma di regolazione (5'-flanking). la cui detection rate, in combinazione con i test precedenti, è del 96% .

Ad oggi 432 soggetti affetti da forma tipica di Fibrosi Cistica (FC) sono stati valutati dal punto di vista mutazionale secondo la procedura a 3 fasi. Di tali 432 pazienti al momento 402 risultano completamente caratterizzati dal punto di vista genetico ; 26 pazienti risultano con una mutazione non trovata e 4 con entrambe le mutazioni non individuate. Quindi 34 alleli FC risultano non caratterizzati e in questi casi sono probabilmente presenti tipi di mutazioni non analizzabili mediante i metodi applicati.

In effetti il nostro database contiene 1248 mutazioni note e analizzabili con il nostro metodo (su un totale di 1297) mentre sfuggono 2 mutazioni pienamente introniche (una delle quali inclusa nel test di I livello) e 47 grandi delezioni. Allo scopo di identificare tutti gli alleli FC presenti nella Regione Lazio si vuole ottimizzare la nostra procedura mediante l'aggiunta di un ulteriore step atto alla ricerca delle delezioni più comuni della popolazione caucasica mediante un nuovo metodo diagnostico (FC-DEL, NLM diagnostici). Tale analisi genetica, attraverso l'amplificazione di alcune sequenze del gene CFTR e la successiva rivelazione mediante ibridazione inversa su striscia, consente di identificare 6 delle principali delezioni coinvolte nella FC: 22,23del; ex2del; 2,3del; ex1indel; 22,23,24del; 17a,17b,18del..

Si procederà quindi alla ricerca delle delezioni più comuni nei 30 soggetti FC non completamente caratterizzati.

Lo scopo di questo lavoro è, oltre alla completa caratterizzazione genetica dei pazienti, verificare se tra le delezioni indagate ve ne sia qualcuna particolarmente rappresentativa dell' Italia Centrale.