

La senescenza cellulare e l'instabilità del genoma sono marcatori della sindrome di Cornelia de Lange



Italian National Research Council

Maddalena Di Nardo¹, Ian D. Krantz^{2,3} and Antonio Musio¹

¹ Institute for Biomedical Technologies, National Research Council, Pisa, Italy

² Roberts Individualized Medical Genetics Center, Division of Human Genetics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, USA

³ Perelman School of Medicine, The University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

Introduzione

La coesina è un complesso proteico evolutivamente conservato, implicato in tutti i processi biologici che coinvolgono la cromatina e i cromosomi, come la replicazione, la ricombinazione, la riparazione, e la trascrizione. Le varianti germinali sono responsabili di una classe di malattie rare umane attualmente chiamate disturbi della regolazione trascrizionale, precedentemente note come "coesinopatie". La sindrome di Cornelia de Lange (CdLS), con un'incidenza stimata tra 1:10.000 e 1:30.000 nati vivi, è la più frequente. Le caratteristiche comuni includono: deterioramento cognitivo, ritardo della crescita pre e postnatale, microcefalia, dismorfismo facciale, irsutismo e difetti degli arti superiori. La CdLS è causata da mutazioni nei geni HDAC8, NIPBL, RAD21, SMC1A e SMC3 appartenenti al nucleo della coesina o ai suoi regolatori.

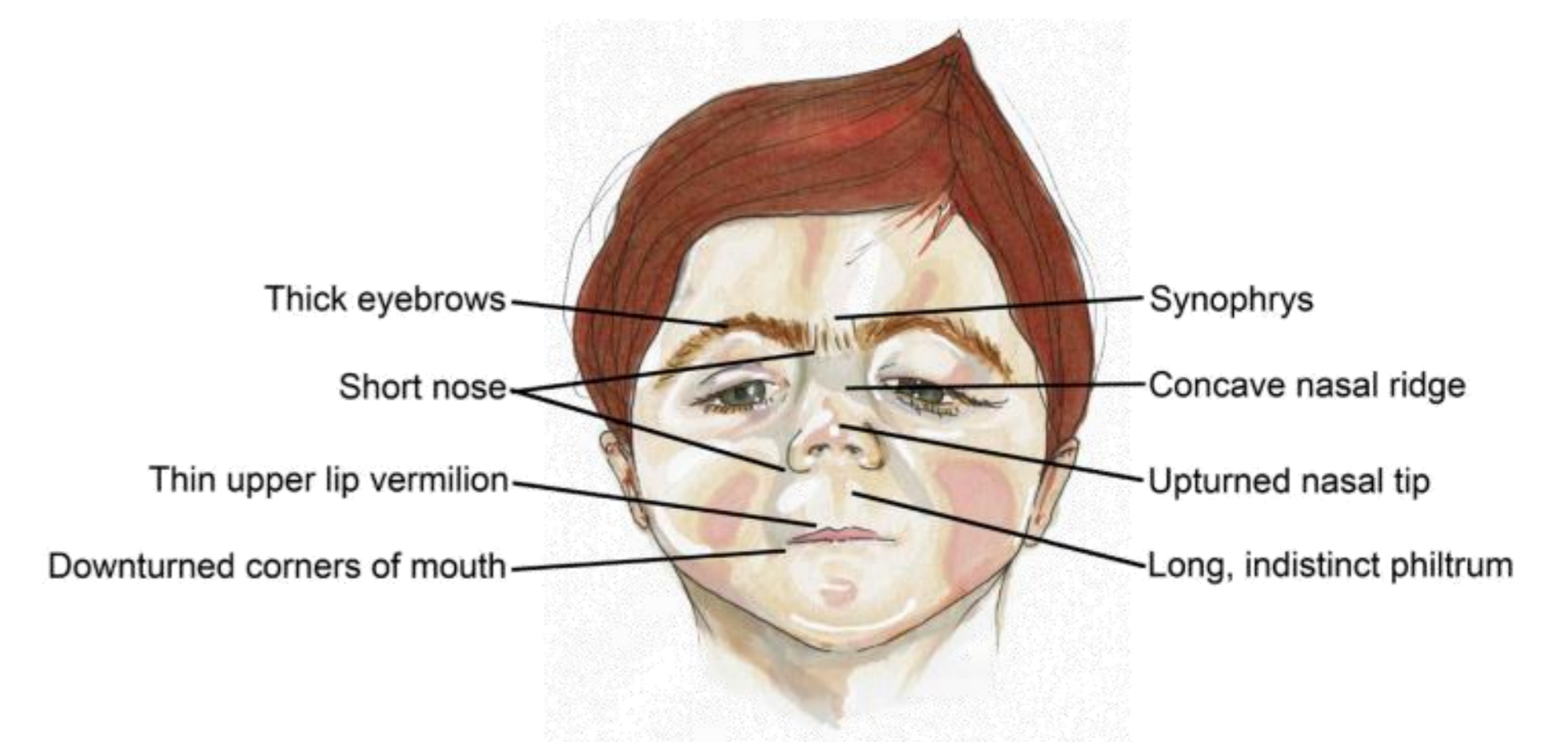


Figura 1. Fenotipo CdLS

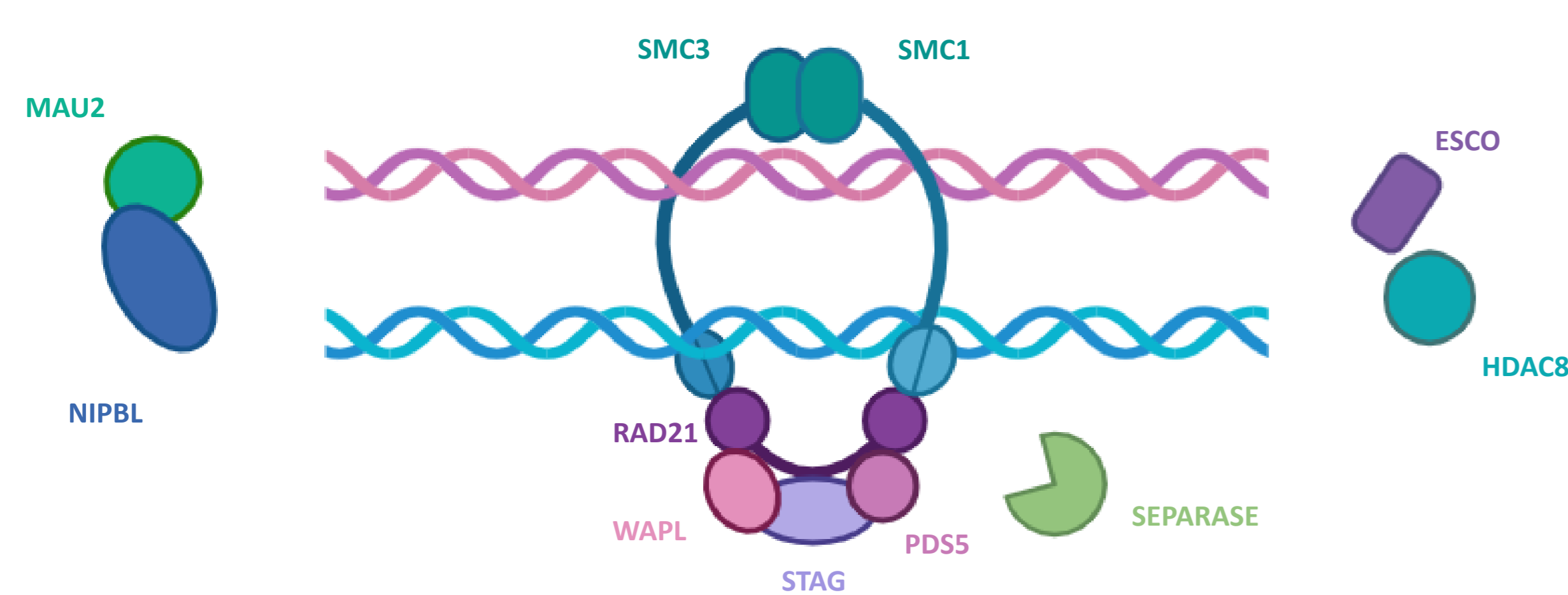


Figura 2. Struttura della coesina

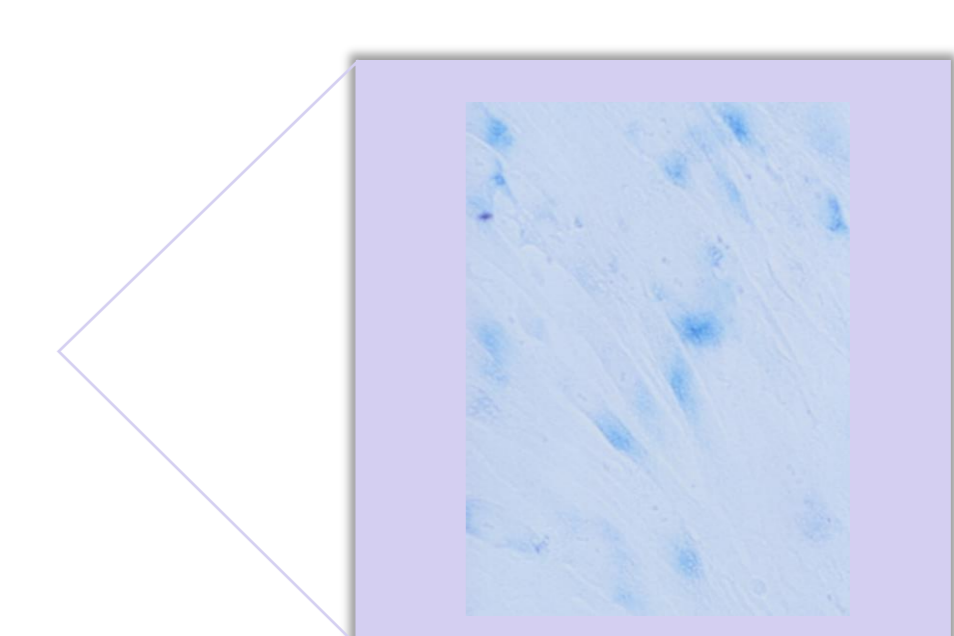
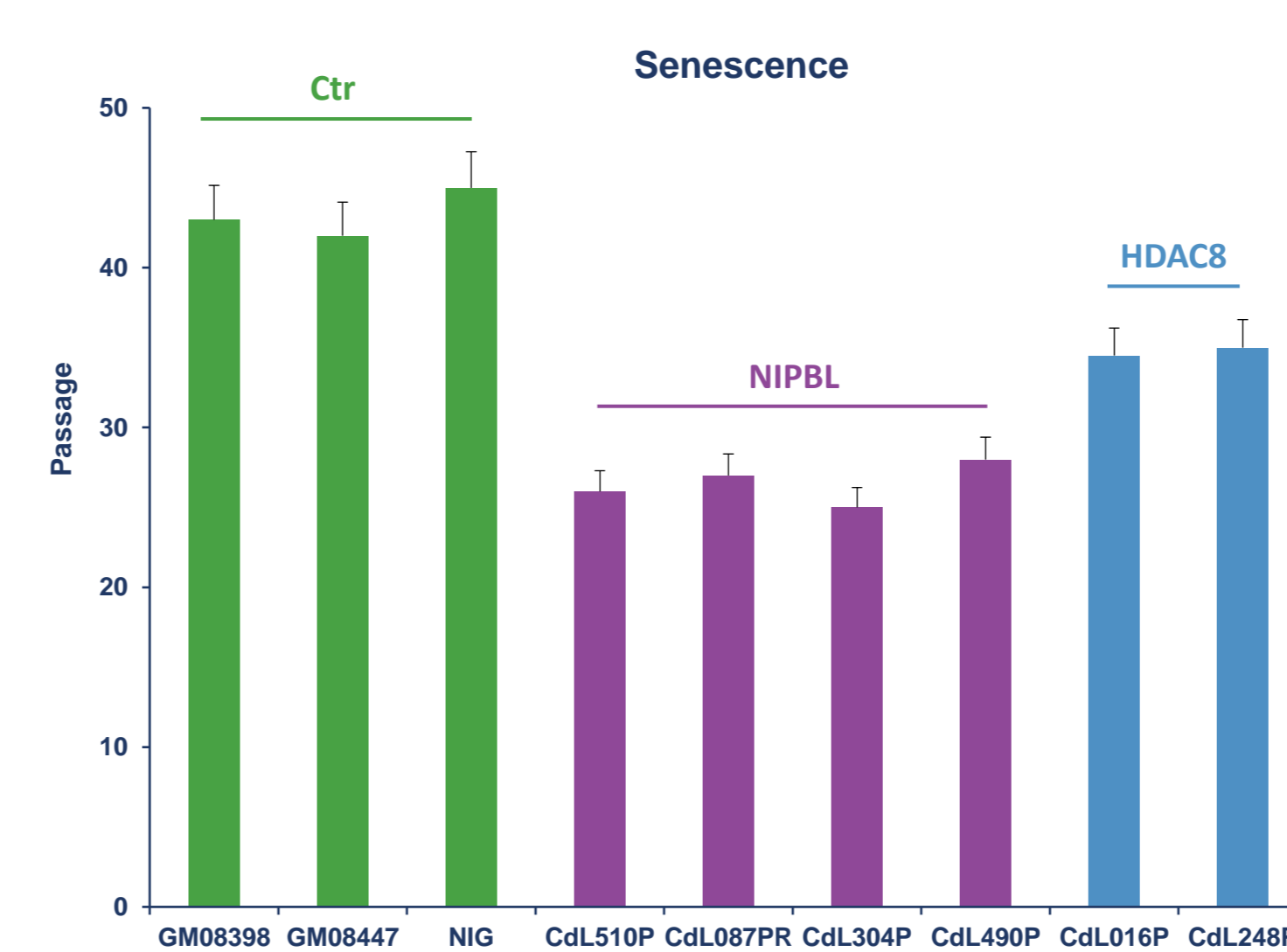
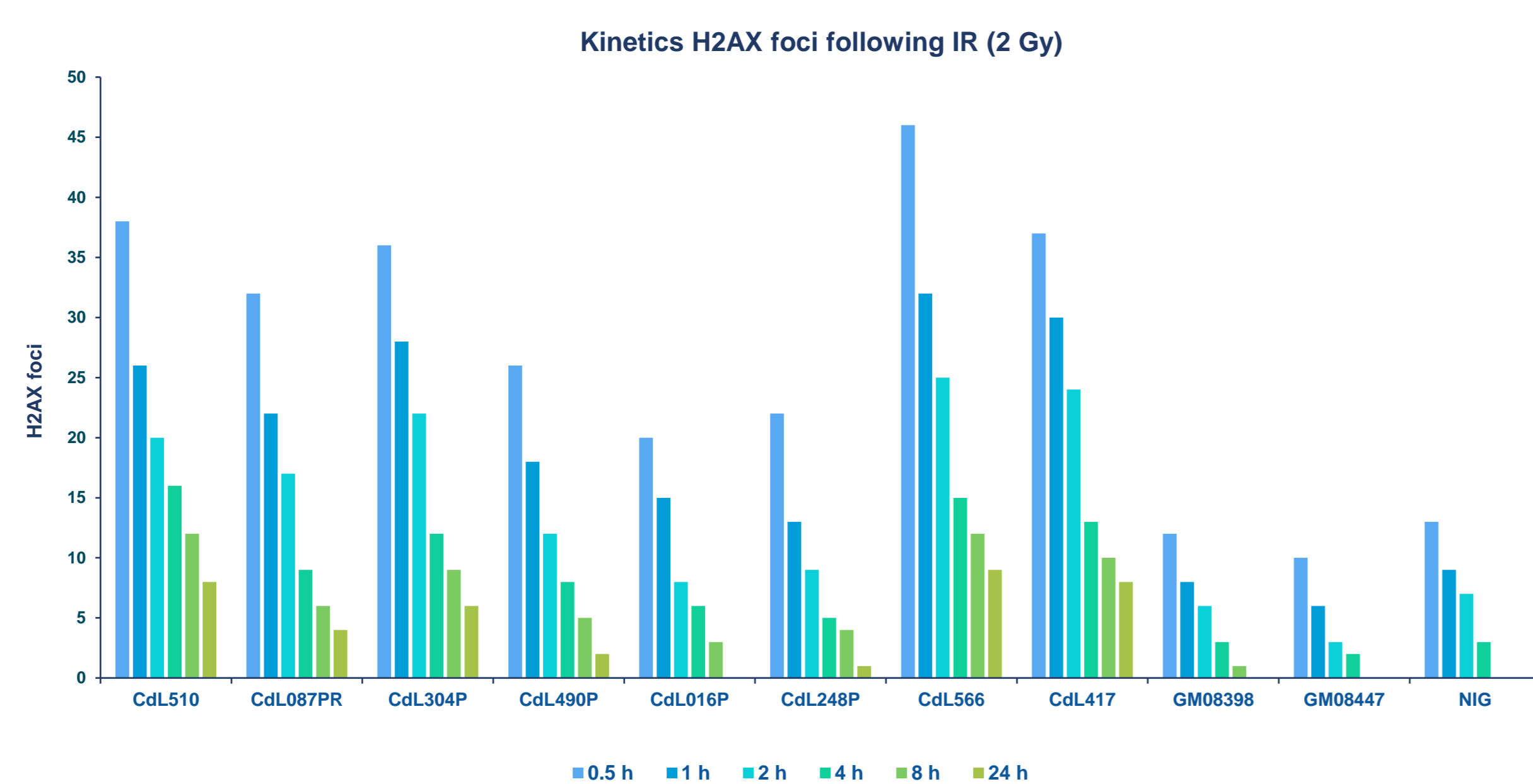
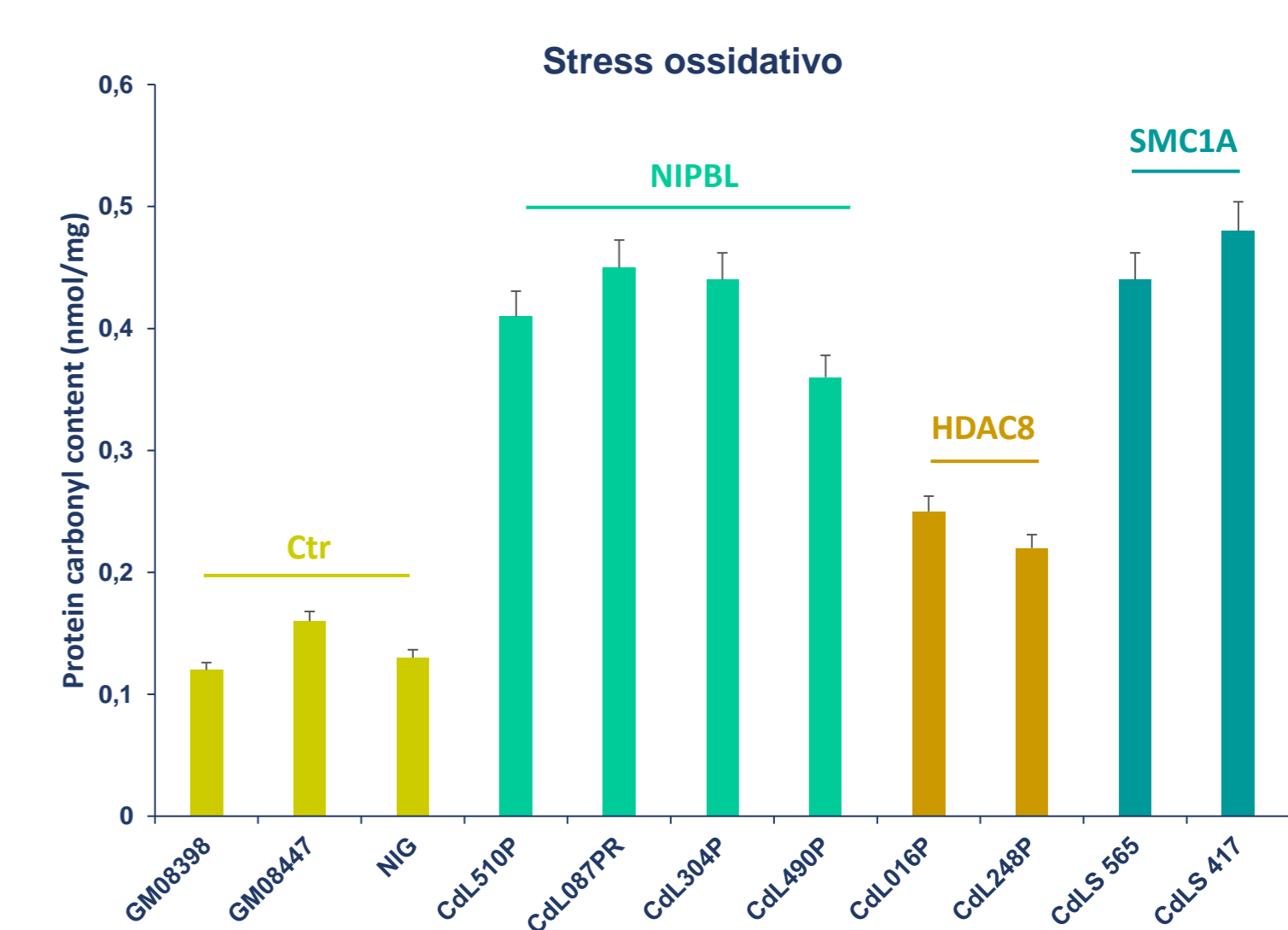
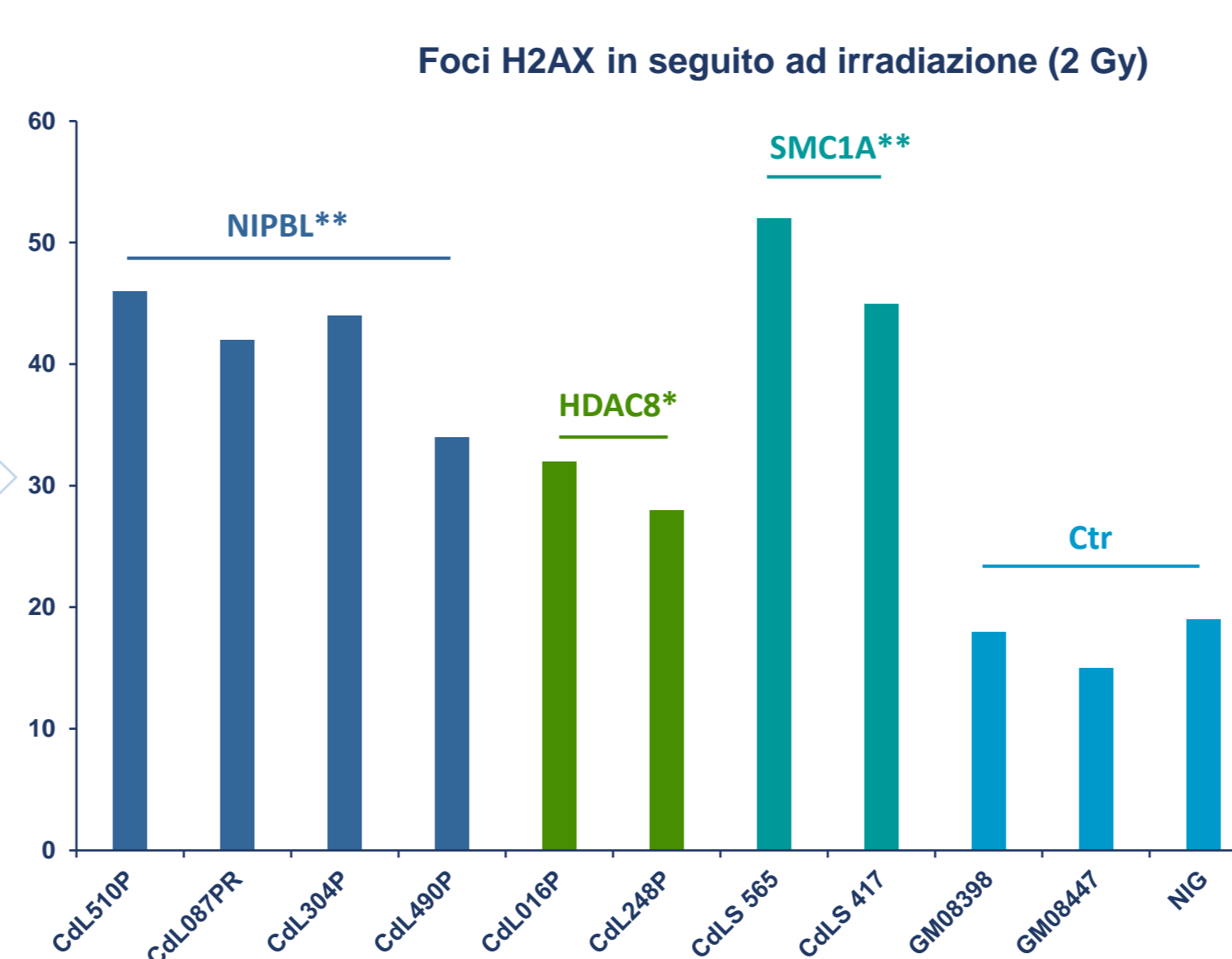
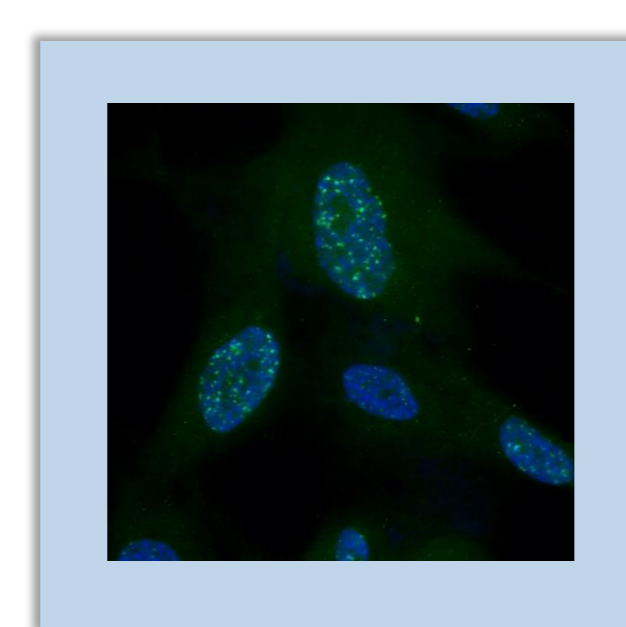
Recentemente, abbiamo dimostrato che fibroblasti primari derivanti da due pazienti affetti da CdLS, portatori di una mutazione nel gene SMC1A, sono caratterizzati da instabilità genomica, elevato livello di stress ossidativo e ridotta durata della vita cellulare. Fino ad ora, non è stato condotto alcuno studio sistematico per indagare se l'instabilità del genoma e la senescenza cellulare siano marker dei pazienti affetti da CdLS.

Risultati

Per approfondire questo argomento, abbiamo coltivato linee cellulari CdLS con mutazioni nei geni SMC1A, NIPBL e HDAC8. Abbiamo scoperto che le cellule CdLS sono diventate senescenti intorno al 25° passaggio con una notevole diminuzione della loro durata di vita in vitro rispetto alle linee cellulari di controllo. Questa senescenza è stata confermata con il test della β -galattosidasi. Successivamente, abbiamo analizzato il livello di stress ossidativo durante la progressione cellulare in vitro. Per studiare lo stress ossidativo globale, abbiamo misurato il livello di carbonili proteici mediante ELISA. Al passaggio iniziale, il contenuto di carbonile proteico nelle cellule CdLS era significativamente più elevato rispetto alle cellule di controllo. Inoltre, anche la frequenza delle aberrazioni cromosomiche spontanee è risultata significativamente più elevata in tutte le linee cellulari mutate.

Linea cellulare	Gene
CdL510P	NIPBL
CdL087PR	NIPBL
CdL304P	NIPBL
CdL490P	NIPBL
CdL016P	HDAC8
CdL248P	HDAC8
CdLS 565	SMC1A
CdLS 417	SMC1A
GM08398	Control
GM08447	Control
NIG	Control

Linea cellulare	Aberrazioni cromosomiche	Metafasi
CdL510P (NIPBL)	15	100
CdL087PR (NIPBL)	12	100
CdL304P (NIPBL)	13	100
CdL490P (NIPBL)	9	100
CdL016P (HDAC8)	7	100
CdL248P (HDAC8)	6	100
CdLS565 (SMC1A)	26	100
CdLS417 (SMC1A)	23	100
GM08398	3	100
GM08447	2	100
NIG	2	100



Conclusioni

Le linee cellulari mutate in SMC1A, NIPBL e HDAC8 mostrano instabilità spontanea del genoma, stress ossidativo e invecchiamento precoce in vitro. Questi risultati indicano che la senescenza e l'instabilità del genoma possono essere considerati marcatori specifici delle cellule CdLS.



NUTRAGE
Consiglio Nazionale delle Ricerche