

ID: 19 - Profilo di espressione di miRNA in modelli cellulari di osteoblasti Gaucher: ruolo del miR-488-3p nella patogenesi delle alterazioni ossee della malattia

Eleonora Pavan¹, Stefania Zampieri¹, Dania Ferino², Matteo Turetta³, Paolo Peruzzo¹, Maximiliano Emanuel Ormazabal⁴, Maurizio Scarpa¹, Jessica Biasizzo², Andrea Dardis¹

¹ Centro di coordinamento regionale per le Malattie rare, Azienda Sanitaria Universitaria del Friuli Centrale, Udine, Italia, ² Istituto di clinica patologica, dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Sanitaria Universitaria del Friuli Centrale, Udine, Italia, ³ Immunologia e biomarcatori tumorali, Centro di Riferimento Oncologico di Aviano (CRO) IRCCS, Aviano (PN), Italia, ⁴ IIFP, Universidad Nacional de La Plata, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata, Argentina

Introduzione

La malattia di Gaucher (GD) è una patologia causata da mutazioni bialleliche del gene *GBA1* che portano ad un deficit dell'enzima β -glucosidasi acida (GBA) e al conseguente accumulo di glucosilceramide e altri glicosfingolipidi nei lisosomi. Anche se la sintomatologia è variabile e riguarda diversi distretti, oltre il 90% dei pazienti GD riporta sintomi ossei. La base molecolare di tali sintomi non è chiara, ma è stato suggerito il ruolo dei microRNA (miRNA) nel processo patogenetico.

Scopo

Studiare il ruolo dei miRNA nella patologia ossea nel GD.

Metodi

La tecnologia CRISPR/Cas9 è stata utilizzata per modellare degli osteoblasti GD, di cui è stata studiata la funzionalità con le colorazioni Alizarin e Sirius Red e la qRT-PCR. L'inibitore della GBA CBE è stato utilizzato per modellare osteoblasti GD partendo da colture primarie. NGS e qRT-PCR sono stati impiegati per misurare l'espressione dei miRNA.

Risultati

Al fine di studiare il ruolo dei miRNA nella malattia ossea, abbiamo sviluppato un modello di osteoblasti GD sfruttando la tecnologia CRISPR/Cas9 per spegnere il gene *GBA1* nella linea di osteosarcoma SaOS. Gli osteoblasti ottenuti (SaOS GBA KO), mostravano un'assenza di espressione di GBA, un massiccio accumulo di substrato e una ridotta capacità di depositare matrice extracellulare, similmente a quanto osservato negli osteoblasti ottenuti da pazienti GD. Abbiamo poi confrontato il profilo di espressione dei miRNA delle SaOS GBA KO con quello delle SaOS wt, analizzando oltre 700 miRNA. Tra i 15 miRNA differenzialmente espressi nelle cellule KO vs wt, abbiamo selezionato il miRNA miR-488-3p per ulteriori studi in quanto aumentato di 14 volte nelle SaOS GBA KO. Per confermare tale osservazione, abbiamo analizzato l'espressione del miR-488-3p in colture di osteoblasti primari trattati con un inibitore della GBA, notando anche in questo caso un aumento della sua espressione. Infine, con l'obiettivo di individuare il suo possibile effetto sulla funzionalità cellulare, abbiamo trattato le SaOS wt con il miR-488-3p, osservando una riduzione di espressione di due geni fondamentali per la formazione della matrice extracellulare (fosfatasi alcalina e collagene di tipo I) probabilmente a causa di una minor espressione di un loro fattore di trascrizione (RUNX2).

Conclusioni Grazie allo sviluppo di un nuovo modello di osteoblasti GD abbiamo identificato il miR-488-3p come possibile fattore chiave nella patogenesi dei sintomi ossei nel GD.
