

## SINDROME DI RETT

- Progetto completato - Premio di laurea -

“Human induced pluripotent stem cells to model Rett Syndrome”

Dr. Manuela Cassotta - Università di Trieste

### Descrizione

La Sindrome di Rett, RTT, è una malattia dello sviluppo neurologico che colpisce quasi esclusivamente le bambine (1 caso su 10000 di nuove nate) ed è la seconda causa di ritardo mentale nelle bambine.

La RTT classica è caratterizzata da sviluppo apparentemente normale nei primi 6-18 mesi di vita e, successivamente, perdita della motricità grossolana e fine già acquisita, perdita della capacità di interagire e socializzare e comparsa di movimenti stereotipati delle mani.

L'evoluzione e la gravità della malattia sono molto variabili e sono state osservate diverse varianti atipiche.

Nel 95% dei casi la malattia è dovuta ad una mutazione (loss of function) nel gene MECP2 (methyl CpGbinding protein 2), mentre in circa il 5% dei casi la mutazione è sul gene che codifica per la protein chinasi CDKL5 (variante della Rett conosciuta come Early infantile epileptic encephalopathy, EIEE), entrambi sul cromosoma X.

La maggior parte dei bambini affetti da CDKL5 soffre di crisi che iniziano nei primi mesi di vita.

La maggior parte di questi bambini non può camminare, parlare o nutrirsi, e molti sono su sedia a rotelle.

Attualmente non esiste una terapia per questa malattia e la causa principale di tale fallimento è da attribuire alla mancanza di un valido modello neuronale, human based.

I modelli animali e quelli basati su neuroni animali non sono infatti in grado di ricapitolare adeguatamente le caratteristiche della malattia umana.

### Scopo della tesi

Contribuire allo sviluppo di un modello in vitro human based di sindrome di Rett (MeCP2) e sua variante CDKL5 nell'ottica dell'animal replacement.

Il modello è basato su hiPSCs (cellule staminali umane pluripotenti indotte) derivate da fibroblasti di pazienti, da cui vengono differenziate dapprima le cellule staminali neurali e poi neuroni.

Esistono evidenze nell'uomo che lo stress ossidativo abbia un ruolo nella patogenesi della Rett e che i farmaci antiossidanti abbiano effetti benefici nei pazienti.

Il presente studio è volto perciò nello specifico a valutare la risposta delle cellule umane (dai fibroblasti ai neuroni) allo stress ossidativo e a testare delle sostanze antiossidanti di origine naturale, quali candidati farmaci.

Vengono inoltre osservate le differenze morfologiche in assenza e presenza di stress ossidativo, nei vari stadi di sviluppo da hiPSCs a NSCs a neuroni.

## **Materiali e metodi**

Lo stress ossidativo viene valutato attraverso tecniche di immunofluorescenza, quantificando la traslocazione nucleare di Nrf2, dapprima sui fibroblasti (replicando uno studio già presente in letteratura, per mettersi nelle condizioni sperimentali) e poi sulle hiPSCs, NSCs e neuroni.

Per le hiPSCs vengono utilizzati sistemi di coltura serum e feeder free (no substrato di fibroblasti di topo e senza siero animale).