

RIASSUNTO

Il collagene VI è una proteina della matrice extracellulare che forma un reticolo di microfilamenti nel muscolo scheletrico ed in altri organi. Le mutazioni dei geni del collagene VI causano, nell'uomo, principalmente due malattie genetiche: la miopatia di Bethlem e la distrofia muscolare congenita di Ullrich. Come centro di riferimento nazionale per le neuropatie muscolari, in 12 anni, abbiamo raccolto una casistica di 245 pazienti, indagati a livello genomico e trascrittomico, al fine di catalogare e caratterizzare le mutazioni nei tre geni del collagene VI. La casistica a livello nazionale si è dimostrata sovrapponibile a quella presente in letteratura sia per frequenza di mutazione e fenotipo, sia per tipo di mutazioni riscontrate.

Considerata l'importanza di indagare il trascritto in generale nelle patologie neuromuscolari e, nello specifico, nei disordini del collagene VI, in questo lavoro abbiamo paragonato due differenti metodiche: RNA sequencing (RNAseq) e FluiCol6 micro-fluidic exome array. Il sequenziamento dell'RNA si è rivelato il miglior strumento da utilizzare, in parallelo con l'analisi genomica, nella diagnosi delle patologie del collagene VI. Al contrario, la micro-fluidic card FluiCol6 ha fornito diversi falsi positivi e si è dimostrata inefficace nell'identificare la mutazione di splicing del controllo positivo.

Ad oggi manca un modello cellulare che riproduca fedelmente e in modo completo il fenotipo patologico, indotto dal deficit di collagene VI. A tale scopo si è scelto di studiare e validare le cellule staminali di origine urinaria, rivelatesi un buon modello *in vitro* per lo studio della Distrofia muscolare di Duchenne. I primi risultati ottenuti hanno fornito buone aspettative; le cellule staminali urinarie infatti mostrano lo stesso pattern di espressione, per i geni del collagene VI e relative isoforme, dei fibroblasti. Inoltre, i primi esperimenti di immunostochimica rivelano la presenza della proteina nella matrice extracellulare anche se, la completa caratterizzazione proteica non è ancora conclusa. I modelli cellulari per il collagene VI, utilizzati solitamente in diagnostica e ricerca sono i fibroblasti e i mioblasti isolati da biopsie cutanee e muscolari, rispettivamente. Ottenere questi due tipi cellulari richiede l'utilizzo di metodiche invasive perciò, se le USCs si rivelassero un modello cellulare alternativo agli attuali sistemi si avrebbe la possibilità di ottenere linee cellulari in modo semplice, poco costoso, ripetibile e ben accettato dai pazienti, soprattutto da quelli in età pediatrica.