

DIPARTIMENTO FARMACIA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN FARMACIA

DOCENTE Prof.ssa Barbara Izzo

INSEGNAMENTO Diagnostica Molecolare Clinica

Tipologia di insegnamento di base

Crediti formativi (CFU)

Settore Scientifico disciplinare (SSD) --BIO12-

Posizionamento nel calendario didattico (*Il semestre*)

Prerequisiti Biochimica Generale, Chimica generale, Biologia

Propedeuticità Biochimica Generale

Commissione d'esame: Prof. Barbara Izzo (Presidente) Dott. C. Irace

Collaboratori di supporto all'attività didattica: -----

OBIETTIVI FORMATIVI

Il corso di Diagnostica Molecolare Clinica mira alla comprensione ed alla conoscenza delle alterazioni genetiche e molecolari delle malattie sia ereditarie che non ereditarie e dei principali approcci metodologici di biologia molecolare clinica necessari per l'inquadramento diagnostico delle suddette patologie.

Lo studente alla fine del corso sarà in grado di ampliare le proprie conoscenze attraverso la

PROGRAMMA DEL CORSO

Introduzione alla Diagnostica Molecolare: concetti base-Geni-alleli-Dominanza e recessività-Classificazione delle malattie genetiche-Le mutazioni causative delle malattie genetiche e la loro classificazione-il test genetico-sensibilità e specificità. Il laboratorio di Diagnostica Molecolare Clinica-Gli step dell'iter diagnostico-Il prelievo-Tipologia del campione biologico-Metodi di estrazione: fenolo- cloroformio-kit commerciali-sistemi automatici di

estrazione-analisi qualitativa e quantitativa degli acidi nucleici estratti.: Introduzione alle metodiche di Diagnostica molecolare: La PCR-principio-le fasi- i requisiti-vantaggi-Preparazione della mix PCR-Visualizzazione del prodotto di PCR: elettroforesi su gel d'agarosio. Retrotrascrizione-Principio- meccanismo- reagenti-; RT-PCR quantitativa-Principio-Tipi di sonde (sonde Taqman, Sybergreen, Molecular Beacons). Applicazioni della RT-PCR quantitativa. Distrofia Muscolare di Duchenne- Caratteristiche cliniche-Il gene-La distrofina ed il suo ruolo-Basi genetiche (trasmissione X-linked recessiva) Tipi di mutazioni:(macrodelezioni-macroduplicazioni-mutazioni puntiformi) - Distrofia muscolare di Becker- Tecniche per la diagnosi della Distrofia Muscolare di Duchenne. Diagnosi Istologica: Western Blot per monitorare i livelli di espressione della distrofina principio della tecnica. Diagnosi diretta: Multiplex degli esoni del gene della distrofina ed Elettroforesi capillare per l'identificazione delle macrodelezioni e macroduplicazioni. DHPLC principio ed applicazioni nella determinazione delle mutazioni puntiformi della DMD/BMD.:Terapia DMD-DMB- Fibrosi cistica. Caratteristiche cliniche- Epidemiologia-Sintomi-alterazione genetica- La proteina.La funzionalità del canale del cloro. Test del sudore. Screening di I° livello. Reverse Dot Blot-Principio. Screening di II° livello DHPLC-Screening di terzo livello MPLA. Terapia della fibrosi cistica. Diagnosi prenatale diretta ed indiretta della fibrosi cistica-tecniche molecolari. Emoglobinopatie-Anemia a cellule falciformi (mutazione puntiforme glicina 6 valina). Diagnosi clinica e diagnosi molecolare. Elettroforesi delle globine. Analisi diretta mediante RFLP. Alfa e beta talassemia. Mutazioni più frequenti responsabili delle beta talassemie b°39 (stop codon) e b +IVS1-110 (splicing alternativo). Tecniche per la diagnosi molecolare della beta talassemia. Analisi diretta: reverse dot blot (8 mutazioni più frequenti), ARMS. Ricerca di mutazioni rare SSCP. Sequenziamento secondo Sanger principio e automazione. Tumorigenesi: origini del tumore. Geni coinvolti nella tumorigenesi:-oncogeni -protooncogeni-geni oncosoppressori-geni coinvolti nel riparo del DNA. Mutazioni per acquisizione (dominanti) e perdita di funzione (recessive). Tipi di mutazione che determinano l'insorgenza del tumore:mutazioni puntiformi (protoncogene Ras) -amplificazione genica (c-myc)-traslocazioni cromosomiche (BCR-ABL) -Geni oncosoppressori-esempio del Retinoblastoma come forma ereditaria e sporadica di tumore (ipotesi del doppio colpo) Esempi di geni oncosoppressori-p53; brcA1 e brca2; proteina APC. Classificazione delle Leucemie.La leucemia mieloide cronica: basi molecolari. Approccio diagnostico alla leucemia mieloide cronica. Emocromo. Esame del cariotipo. Indagini molecolari.PCR qualitativa.PCR quantitativa-Terapia. Trapianto di midollo. Gleevec. Monitoraggio della risposta: risposta ematologica-citogenetica e molecolare. Espressione dei risultati. Il referto della leucemia mieloide cronica alla diagnosi e nel follow up. La resistenza alla terapia. Tipi di resistenza. Le mutazioni puntiformi. Screening delle mutazioni - DHPLC e sequenziamento. Strategia terapeutica. Inibitori di seconda generazione. Farmacogenetica e Farmacogenomica. Definizioni della variabilità nella risposta ai farmaci.Efficacia ed effetti collaterali. Geni che influenzano la risposta al farmaco: trasportatori ed enzimi del metabolismo;recettori canali ionici. La biotrasformazione epatica. Polimorfismi di geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo del farmaco:la famiglia del citocromo P450.Polimorfismi di geni che codificano per recettori coinvolti nel metabolismo del farmaco:recettore b2-adrenergico (polimorfismo in pos 164 con effetto di riduzione dell'attivazione dei recettori b2 di membrana-polimorfismo in pos. 16 con effetto di riduzione dei recettori b2 adrenergici-polimorfismo in pos 19 con effetto benefico per aumento del numero di recettori b2 adrenergici. Test tipo per la farmacogenomica: la tecnologia del microarray. Medicina forense. Concetto di identificazione. La tipizzazione genetica mediante il fingerprinting. La variabilità genetica. I polimorfismi di lunghezza e di sequenza SNPs ed STR. -Iter diagnostico e fase procedurale per la tipizzazione genetica individuale. Applicazione della tipizzazione individuale per attribuzione ed esclusione di paternità. Applicazione nelle indagini criminologiche. DNA mitocondriale e sue applicazioni.

TESTI E MATERIALE DIDATTICO CONSIGLIATO

M. Ciaccio-G. Lippi- Biochimica Clinica e Medicina di Laboratorio
Diagnostica molecolare nella Medicina di Laboratorio-Balestrieri-D'amora-Giordano-Napoli-
Pavan ED.PICCIN 2009

DIAPOSITIVE DELLE LEZIONI SUL SITO WEB DEL DOCENTE

METODI DIDATTICI/ORGANIZZAZIONE DELL'INSEGNAMENTO

Lezioni Frontali ed attività seminariali

MODALITÀ DI VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Al termine del corso sono previste delle attività seminariali. La valutazione di queste è un dato utile allo studente per una valutazione del suo impegno e dei risultati raggiunti.

Il voto finale d'esame è espresso in trentesimi da 18/30 a 30/30 e lode e tiene conto:

a) della valutazione delle prove seminariali; b) delle conoscenze acquisite inerenti i diversi argomenti affrontati durante il corso che vengono riproposti nel corso dei seminari svolti.

L'attribuzione del voto avviene secondo i criteri riportati in Tabella:

Voto	Descrittori
< 18 <i>insufficiente</i>	<i>Conoscenze frammentarie e superficiali dei contenuti, esposizione carente</i>
18 - 20	<i>Conoscenze dei contenuti sufficienti ma generali, esposizione semplice, incertezze nell'applicazione di concetti teorici</i>
21 - 23	<i>Conoscenze dei contenuti appropriate ma non approfondite, capacità di applicare i concetti teorici, capacità di presentare i contenuti in modo semplice</i>
24 - 25	<i>Conoscenze dei contenuti appropriate ed ampie, discreta capacità di applicazione delle conoscenze, capacità di presentare i contenuti in modo articolato.</i>
26 - 27	<i>Conoscenze dei contenuti precise e complete, buona capacità di applicare le conoscenze, capacità di analisi, esposizione chiara e corretta</i>
28 - 29	<i>Conoscenze dei contenuti ampie, complete ed approfondite, buona applicazione dei contenuti, buona capacità di analisi e di sintesi, esposizione sicura e corretta,</i>
30 30 e lode	<i>Conoscenze dei contenuti molto ampie, complete ed approfondite, capacità ben consolidata di applicare i contenuti, ottima capacità di analisi, di sintesi e di collegamenti interdisciplinari, padronanza di esposizione</i>