

Ricerca corrente IZSVe 10/09 Studio retrospettivo da tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPEt) per la valutazione di biomarcatori prognostici e predittivi nella patologia neoplastica del cane.

Responsabile scientifico: dott.ssa Granato Anna

Abstract

In oncologia umana e veterinaria, crescente importanza è attribuita all'identificazione di biomarkers molecolari, utili a fornire informazioni più approfondite sulla biologia delle neoplasie, con particolare riferimento alla progressione tumorale (prognosi), alla sua possibile risposta a diversi interventi terapeutici e al possibile ruolo svolto dalla presenza di contaminanti ambientali cancerogeni. In uno studio recente, peraltro ancora in corso, su campioni biotipici di mastocitoma, osteosarcoma, linfoma e neoplasie mammarie del cane, sono stati valutati i profili di espressione genica (RNAm) di un set di trascritti target (in particolare di geni prognostici, responsivi ai contaminanti ambientali, nonché coinvolti nel fenomeno della resistenza ai farmaci antitumorali).

I tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina rappresentano un archivio importante di materiale biologico, che può essere conservato per anni. Questo archivio è classicamente utilizzabile per la messa a punto e l'attuazione di nuovi saggi immunohistochimici, utilizzabili sia in ambito diagnostico che di ricerca. Inoltre, esso può rappresentare una vasta e ben caratterizzata fonte di campioni per gli studi di biologia molecolare, per lo sviluppo di saggi per analisi genetiche nonché per l'identificazione di agenti infettivi. L'archivio di materiale paraffinato è infatti diventato essenziale per l'esecuzione di studi di genomica, in particolare per studiare le modulazioni del trascrittoma riscontrabili nell'ambito di diversi processi patologici. L'utilizzo di questa fonte di campioni permetterebbe quindi un ampio studio retrospettivo avvalorato dell'elevato numero di campioni potenzialmente disponibile. Pur essendo questo scenario incoraggiante bisogna tenere conto che presenta alcune difficoltà

di cui la più importante è senza dubbio la qualità dell'RNA e del DNA estratto. La fissazione in formalina, infatti, genera una fitta rete di legami tanto tra le proteine, quanto tra le proteine e gli acidi nucleici. Questi ultimi subiscono inoltre processi di frammentazione e di modificazione chimica (legame di gruppi monometilici ad alcune basi del DNA/RNA).

Lo scopo del presente studio è quello di ottimizzare un protocollo di estrazione di DNA e RNAm da tessuti neoplastici di cane fissati in formalina ed inclusi in paraffina, che permetta di ottenere una sufficiente quantità di acido nucleico senza che questo contenga inibitori che ostacolano le fasi successive di analisi, utili per l'esecuzione di studi retrospettivi basati sull'impiego dei saggi in real time RT-PCR quantitativa precedentemente messi a punto per i geni sopra citati; in particolare, permetterà di correlare tra di loro i risultati dell'analisi molecolare, la risposta alla terapia antitumorale ed il follow-up clinico.