

*Percorsi condivisi in diagnosi prenatale  
Lecce 22 Giugno 2013*

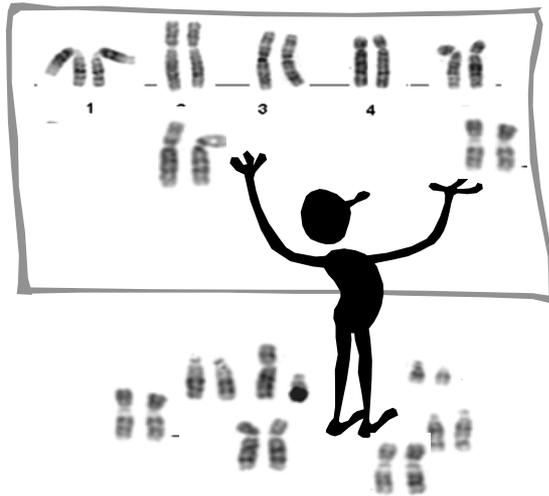
# LA CITOGENETICA CONVENZIONALE E MOLECOLARE NELLO STUDIO DEL CARIOTIPO FETALE



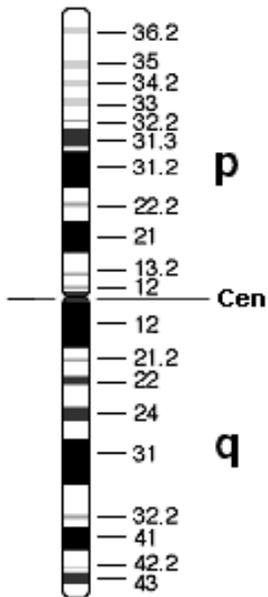
# Citogenetica

*"La citogenetica e' lo studio dei fenomeni genetici attraverso l'analisi citologica dei cromosomi al microscopio"*

Ferguson-Smith



## Citogenetica convenzionale



La citogenetica convenzionale è una tecnica che permette lo studio del numero e della struttura dei cromosomi (studio del cariotipo)

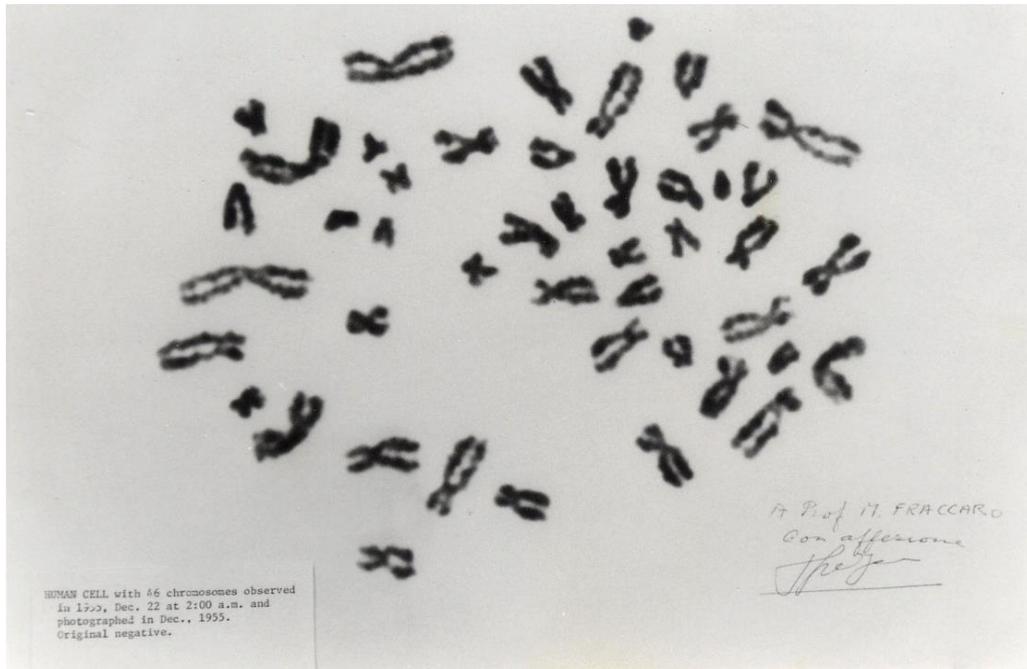


Hereditas, Volume 42, Issue 1-2, pages 1-6, May 1956

## THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

By *JOE HIN TJIO* and *ALBERT LEVAN*

ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME  
LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN

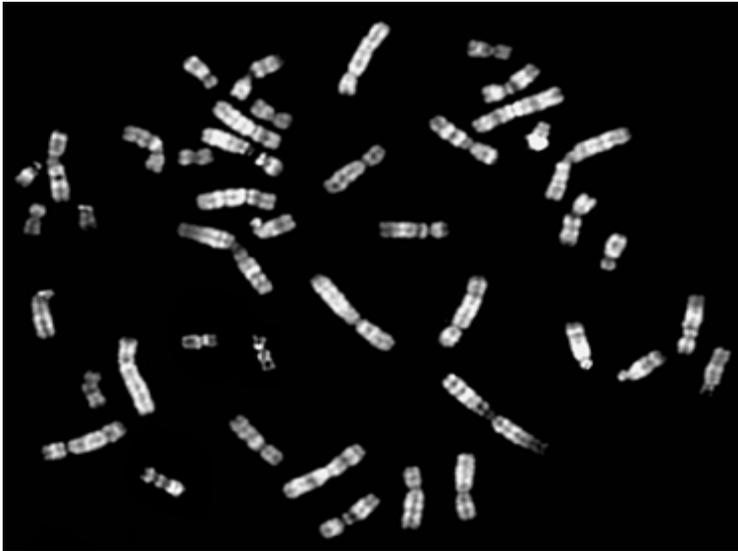


# Citogenetica

1971

Q-banding

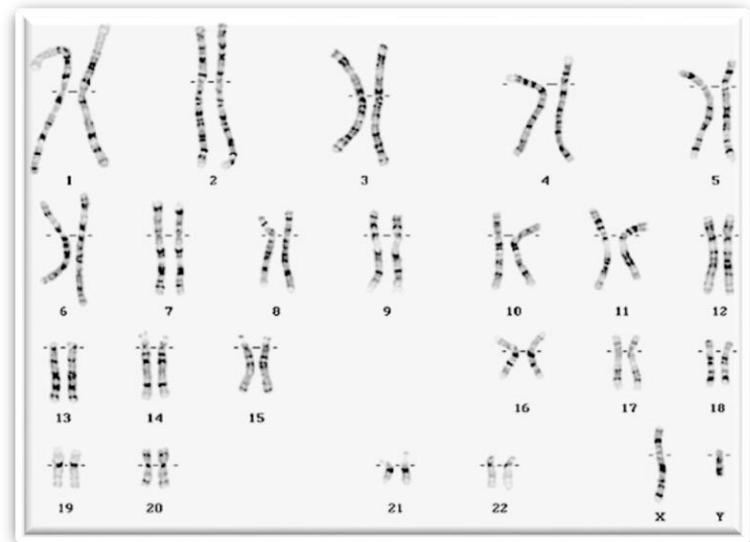
Quinacrine mustard (Caspersson)



1972

G-banding

Giemsa



## Bandeggio

BANDE

SIMBOLO

METODO DI COLORAZIONE

Q

QF,QFQ,QFH

QUINACRINA

G

GTG,GAG

GIEMSA (dopo trattamento con enzimi proteolitici o soluzioni saline)

R

RHG,RH,RF  
RB,RBG,RBA

GIEMSA (dopo trattamento con soluzione salina calda o arancio di acridina o BrdU combinato con Giemsa o acridina)

C

CB,CBG

GIEMSA (dopo trattamento con idrossido di bario)

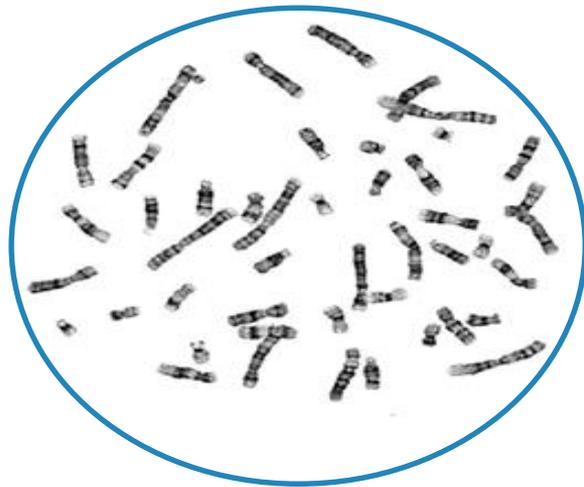
N, T, Ag-NOR, G11, Cd, etc.....



## C-Band



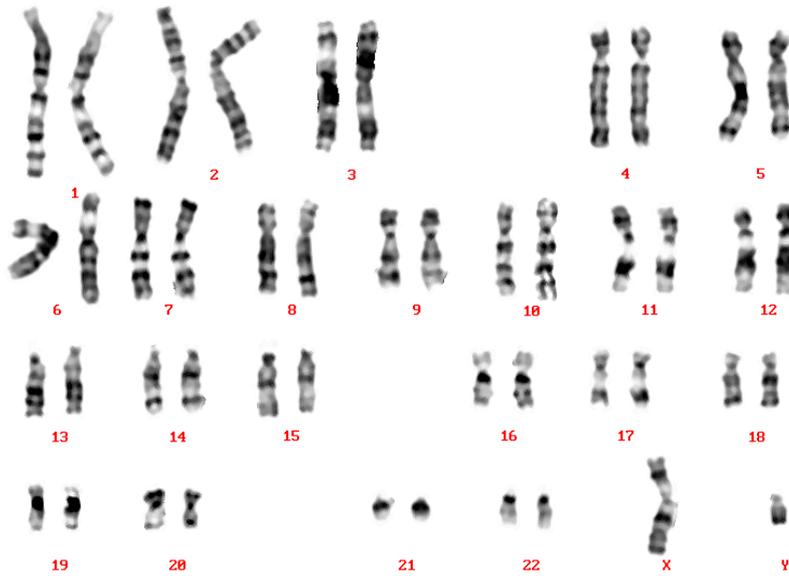
## piastra metafasica analisi immagine e cariotipizzazione



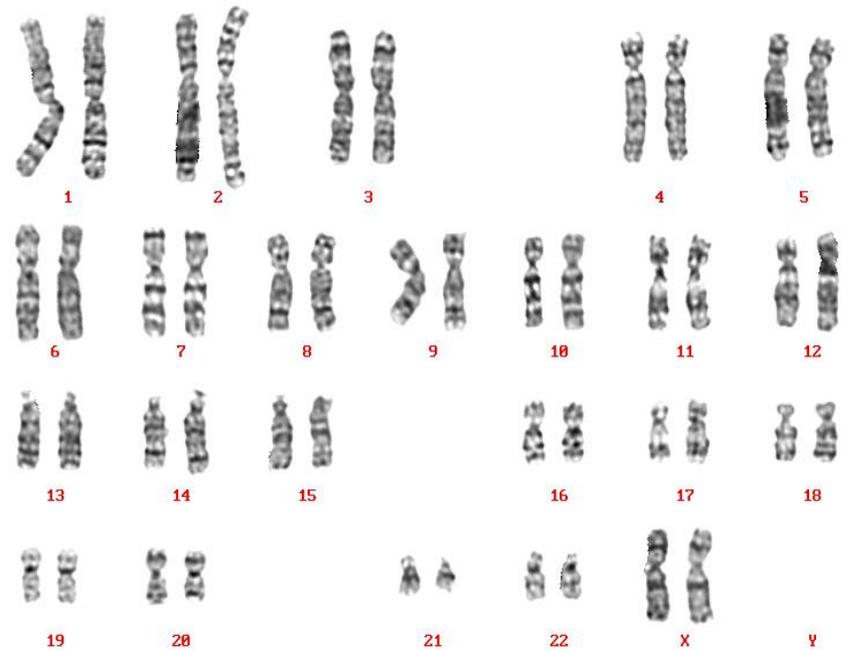
sistemi di analisi d'immagine  
computerizzati per la  
cariotipizzazione automatica e  
per la refertazione

# Cariotipo normale bande GTG

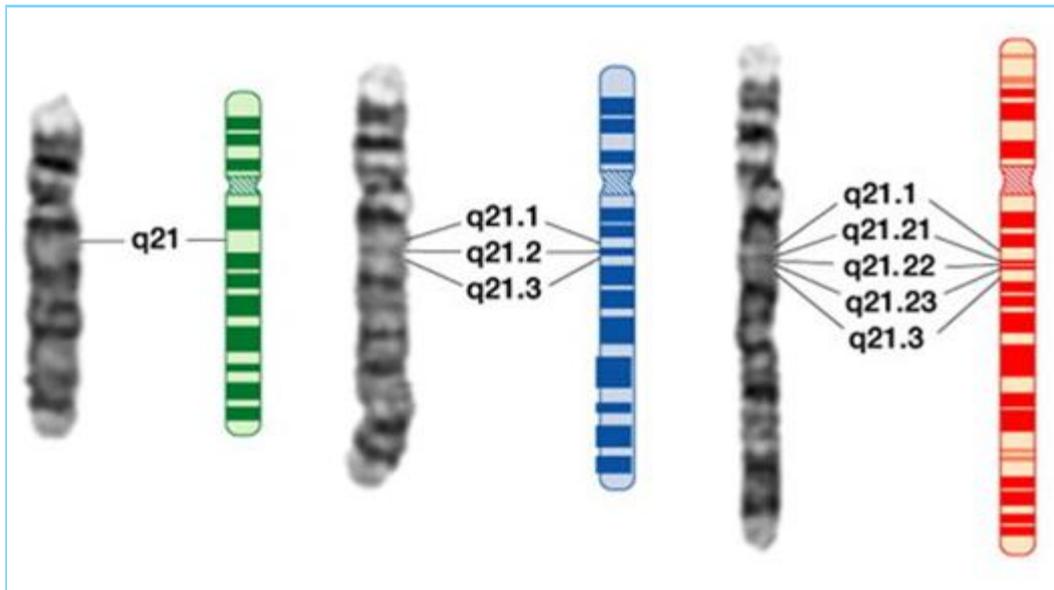
46,XY



46,XX



## come si leggono le bande citogenetiche



400 bande

550 bande

850 bande

risoluzione cariotipo per corredo aploide



# linee guida

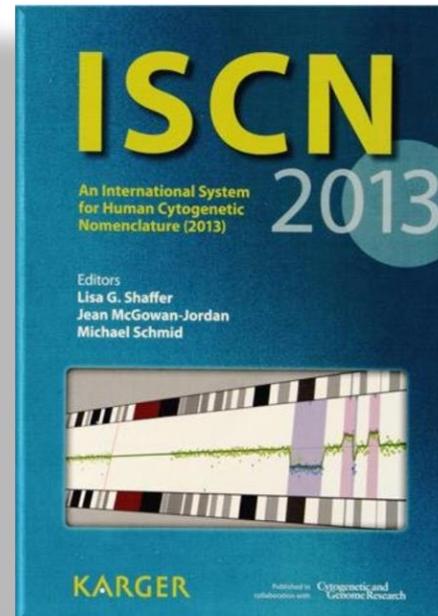
I Test devono essere eseguiti secondo le linee guida

- SIGU, Società Italiana di Genetica, (Consensus 2007 e successivi aggiornamenti)
- E.C.A., Linee Guida Europee Citogenetica
- .....

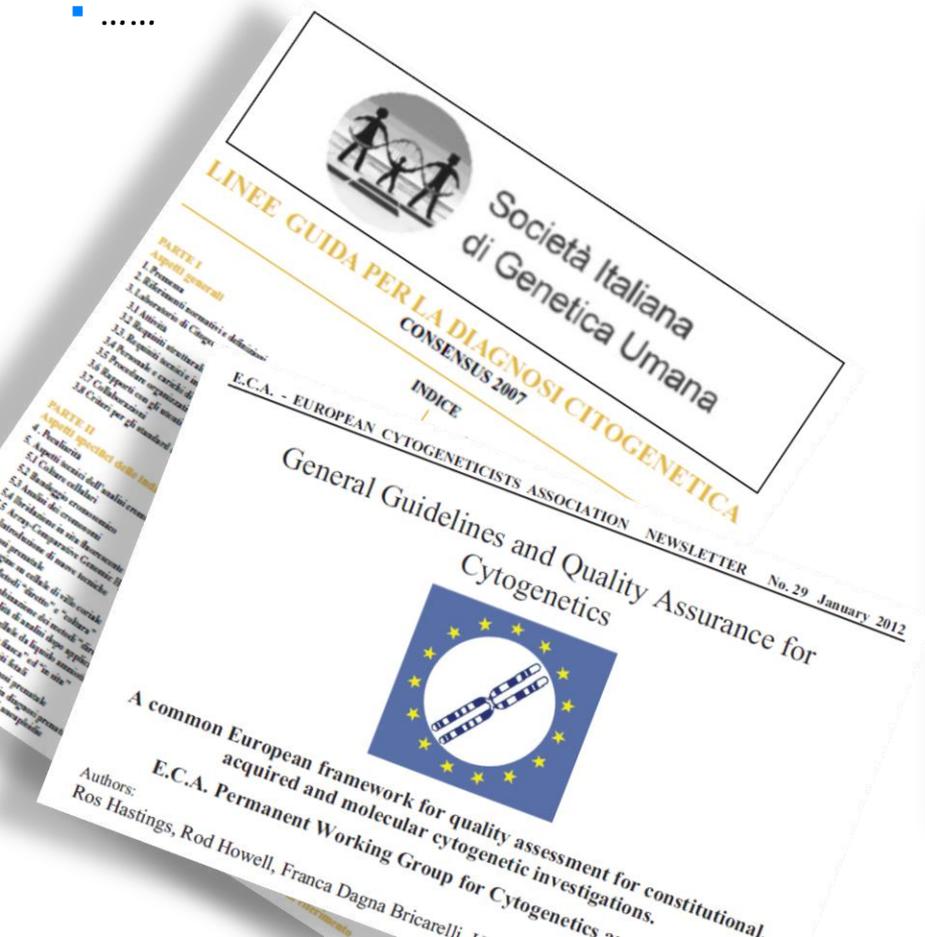


- descrizione del cariotipo

An International System for Human Cytogenetic Nomenclature



Recommendations of the International Standing Committee on Human Cytogenetic



- Il Laboratorio deve effettuare sistemi di **controllo di qualità interni (CQI)**.

Per ogni attività riportata nella fase analitica vanno analizzati almeno trimestralmente gli indicatori identificati dal Laboratorio.



Qualora non venissero raggiunti gli standard va intrapresa una verifica del processo in oggetto.



**Prodotto:** Diagnosi citogenetica prenatale

**Finalità:** Fornire risultato del cariotipo fetale accurato e attendibile, appropriato rispetto al dubbio diagnostico, con approfondita interpretazione

**Destinatari:** professionista richiedente per paziente in stato di gravidanza

fattore qualità	indicatore	livello accettabilità	standard esterno	dati necessari	strumenti raccolta dati	Resp. elaborazione	periodicità	Resp. analisi	Risultato
Evitare il fallimento culturale dovuto a contaminazione batterica, micoplasmi, miceti, alla presenza di fattori tossici, malfunzionamento di incubatori e del sistema di alimentazione CO2.	N° campioni di liquido amniotico pervenuti per analisi del cariotipo fetale che non hanno consentito la determinazione del cariotipo fetale sul N° di campioni di liquido amniotico pervenuti.	<=2%	1) Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)- Consensus 2007 "linee guida per la diagnosi citogenetica" 2) European Cytogeneticists Association "guidelines and quality assurance" ECA 2012	Data base di refertazione	Estrazione informatica dal data base refertazione	Dingente Responsabile	trimestrale	Dingente Responsabile	0/0 I 0/0 II 0/0 III 0/0 IV  0/0 anno



## Piano indicatori di processo

Processo: **gestione indagini di laboratorio di citogenetica**

fattore qualità	indicatore	livello accettabilità	standard esterno	dati necessari	strumenti raccolta dati	Resp. elaborazione	Period.	Resp. analisi	Risultato
Adeguatezza spreading delle metafasi nella processazione campioni e allestimento del preparato citogenetico	Percentuale utilizzo backup colture amniociti sul totale delle colture all'anno	5%	nessuno	numeratore n backup utilizzati a causa scarso spreading. Denominatore totale delle colture di amniociti per determinazione del cariotipo	Scheda registrazione backup	La registrazione è a cura dell'operatore che processa il backup,	annuale	Direttore Responsabile	0/0 = 0,0%
Tempestività di refertazione	% di referti con tempo tra inizio della fase analitica e consegna del referto superiore ai valori indicati dalle linee guida	10%	Società Italiana di Genetica Umana (SIGU)- Consensus 2007 "linee guida per la diagnosi citogenetica"	Per categoria referti percentuale risposta entro i limiti	Database refertazione	Direttore Responsabile	annuale	Direttore Responsabile	Liquido amniotico 0,0% Sangue periferico 0,0% Materiale abortivo 0,0%



- Il Laboratorio deve partecipare per i test citogenetici a programmi di **verifica esterna di qualità (VEQ)** a livello nazionale/europeo.

 Qualora non venissero raggiunti gli standard va intrapresa una verifica del processo in oggetto.



VEQ

# European Molecular Genetics Quality Network



W.I.S.S.I.T

**Test Genetici**

ISS : Test Genetici : Qualità : Contatti e modalità di partecipazione



**Domenica Taruscio**

Istituto Superiore di Sanità  
Via Gianlo della Bella, 34  
00161 - Roma (I)  
Telefono: 06 4990 4018  
Fax: 06 4990 4370  
taruscio@iss.it

**Contatti e modalità di partecipazione**

Possono partecipare al Controllo esterno di qualità **tutti i laboratori pubblici e privati che eseguono test di genetica molecolare per fibrosi cistica, X-fragile, beta talassemia e poliposi adenomatosa del colon (gene APC) e citogenetica costituzionale (prenatale e postnatale) e oncologica**

Per aderire inviare una e-mail ai seguenti indirizzi:  
testgenetici@iss.it

Indicando:

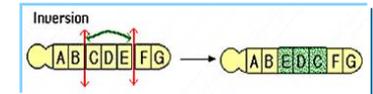
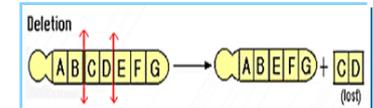
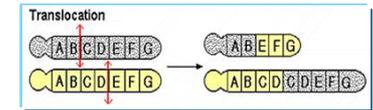
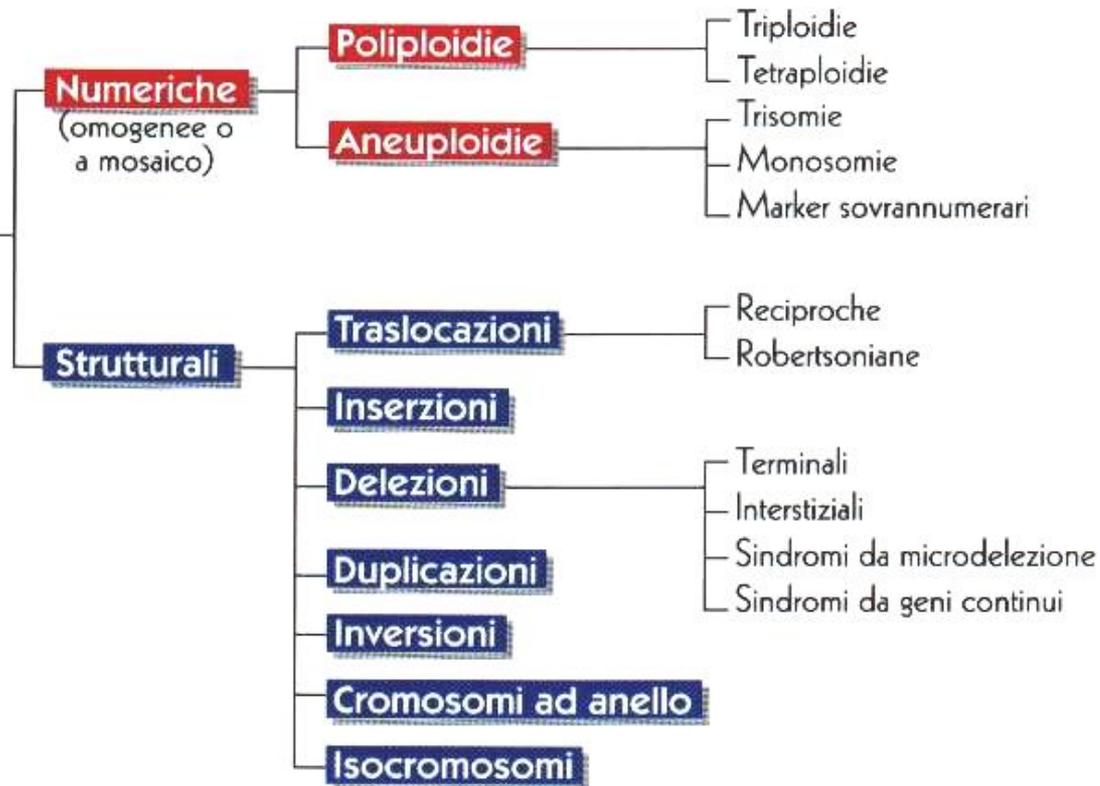
- Il /i test genetico/i per cui si vuole partecipare
- Nome del Laboratorio
- Struttura di appartenenza
- Indirizzo Completo
- Nome e Cognome del Responsabile del Laboratorio o persona di riferimento per controllo esterno di qualità
- Telefono, fax ed e-mail della persona di riferimento

**CEQA** Cytogenetic European Quality Assessment

EuroGentest  
Supported by  
EuroGentest network

# Anomalie cromosomiche

## Anomalie cromosomiche



## Incidenza di anomalie cromosomiche

Tipo di anomalia	Incidenza
<b>Aneuploidie degli autosomi</b>	<b>1 / 700</b>
Trisomia 21	1 / 830
Trisomia 18	1 / 7.500
Trisomia 13	1 / 22.700
altre aneuploidie	1 / 34.000
<b>Anomalie strutturali (autosomi, X e Y)</b>	<b>1 / 375</b>
Bilanciate ( Non Robertsoniane )	1 / 885
Bilanciate ( Robertsoniane )	1 / 1.100
Sbilanciate ( Non Robertsoniane)	1 / 1.800
Sbilanciate ( Robertsoniane )	1 / 13.600



## Incidenza di anomalie cromosomiche

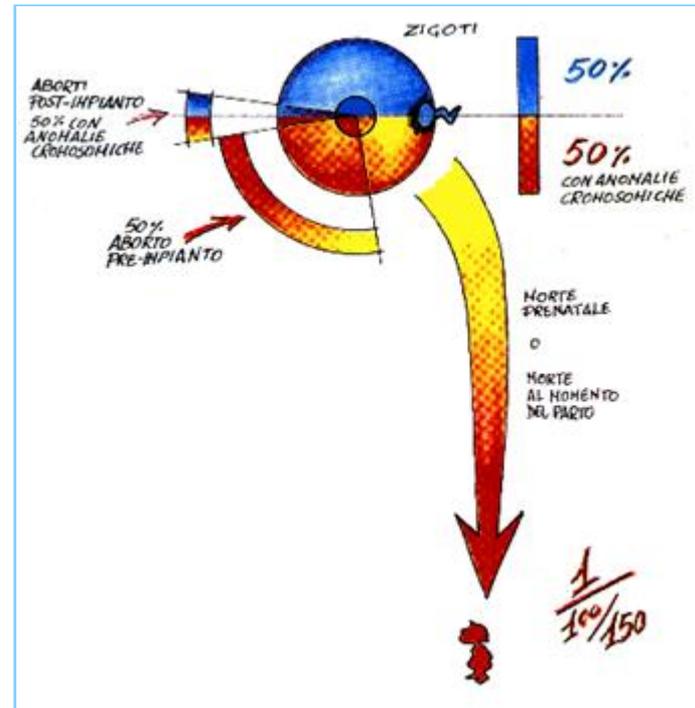
Tipo di anomalia	Incidenza
Crom. sessuali in MASCHI	1 / 360
47,XXY	1 / 1.000
47,XYY	1 / 1.000
altre aneuploidie X o Y	1 / 2.350
Crom. sessuali in FEMMINE	1 / 580
45,X	1 / 4.000
47,XXX	1 / 900
altre aneuploidie X	1 / 2.700



## Patologia cromosomica

Le patologie cromosomiche, singolarmente rare, hanno un peso importante in termini di incidenza alla nascita e prevalenza nella popolazione generale

La conseguenza di gran lunga più frequente della patologia cromosomica è l'aborto



## Cariotipo fetale

**L'epoca prenatale è  
quindi  
il teatro in cui la  
patologia  
cromosomica svolge il  
ruolo di primo attore**

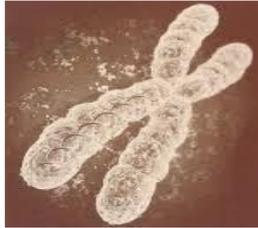
Attualmente l'indagine citogenetica per lo studio del cariotipo fetale interessa circa l'80% delle diagnosi prenatali eseguite per evidenziare patologie genetiche



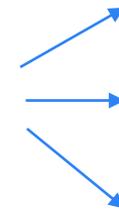
## indicazioni alla diagnosi prenatale citogenetica

- ❑ **Età materna > 35 anni**
  - l'aumento del rischio di aneuploidie cromosomiche correla con l'età materna
- ❑ **Genitori con precedente figlio affetto da aneuploidia**
  - rischio di ricorrenza circa 1%
- ❑ **Genitori eterozigoti per anomalie cromosomiche bilanciate**
  - aumento del rischio di concepimenti sbilanciati
- ❑ **Anamnesi familiare positiva per patologia cromosomica**
  - analisi del cariotipo su sangue del genitore a rischio
- ❑ **Evidenza ecografica di malformazioni fetali**
  - circa il 20% di questi feti è sbilanciato
- ❑ **Alterazione dei parametri biochimici su sangue materno**





**STUDIO CITOGENETICO  
PRENATALE** utilizza



Villi coriali

Liquido amniotico

Sangue fetale

La **TECNICA DI ELEZIONE** sarà scelta in base a

- settimana gestazionale
- probabilità di anomalie cromosomiche
- efficacia e sensibilità della tecnica



# Cariotipo fetale da villi coriali

## Materiale esaminato

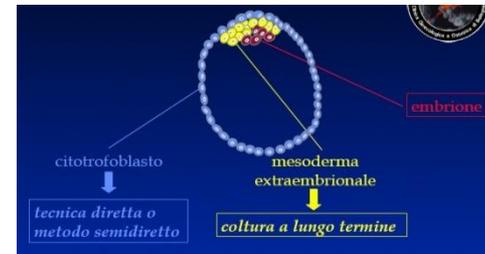
cellule del trofoblasto

## Metodica d'indagine

- rapidità
- minore rischio di inquinamento da cellule materne
- attività mitotica e qualità delle metafasi inferiori rispetto alla tecnica della coltura

### ★ coltura diretta

si analizzano le mitosi spontanee presenti nel citotrofoblasto, dopo 48-72 ore dal prelievo



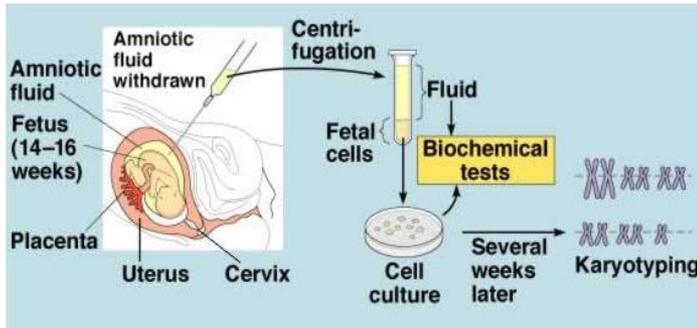
- contaminazione con cellule di origine materna

### ★ coltura a lungo termine

le colture vengono allestite previo trattamento dei villi con enzimi proteolitici per disgregare le cellule del cito e del sinciziotrofoblasto

# Cariotipo fetale da cellule di liquido amniotico

## Materiale esaminato



cellule di liquido amniotico  
cellule di desquamazione  
provenienti da:  
sacco amniotico, epidermide,  
mucosa del tubo digerente, del  
tratto respiratorio e urogenitale

## Metodica d'indagine

*migliore valutazione diagnostica in caso di mosaicismo cromosomico o di contaminazione materna*

*tempi di coltura più brevi*

*maggiore crescita cellulare*

★ cloni in situ

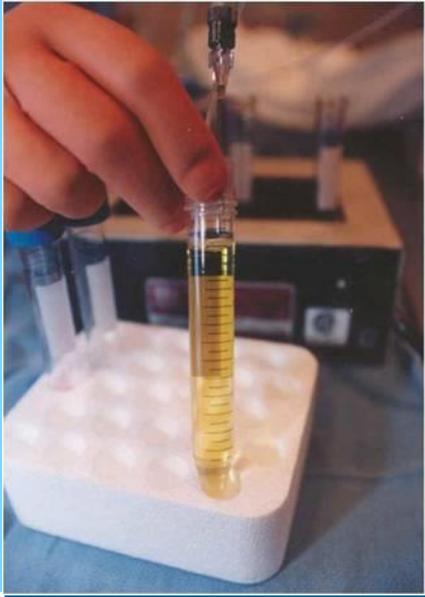
l'analisi avviene per colonie

★ metodo in fiasca

si perde l'individualità dei cloni

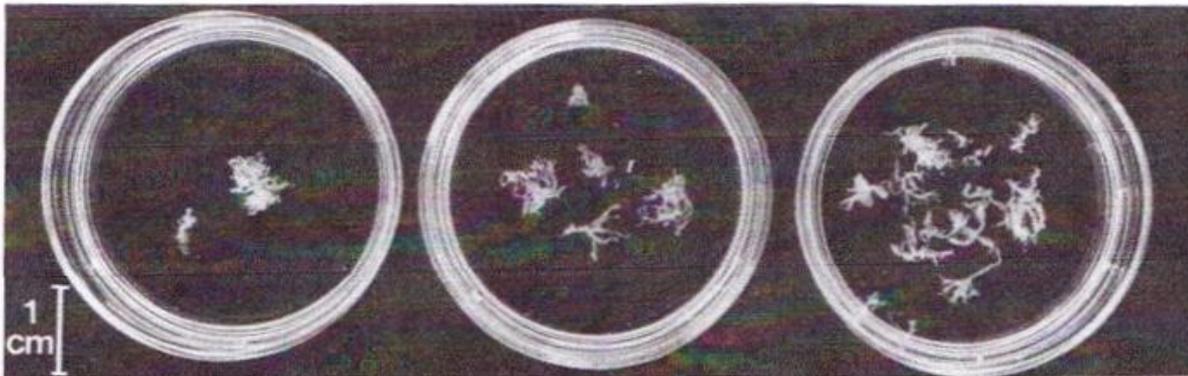


## quantità campione



liquido amniotico

20 ml



5 mg

10 mg

20 mg



villi coriali

20 mg

## Problemi tecnici collegati alla diagnosi citogenetica fetale

- ❑ Fallimento dello sviluppo della coltura cellulare in vitro (<1%)
- ❑ Crescita in coltura di cellule di origine materna (CCM)



## Frequenza delle anomalie cromosomiche in diagnosi prenatale

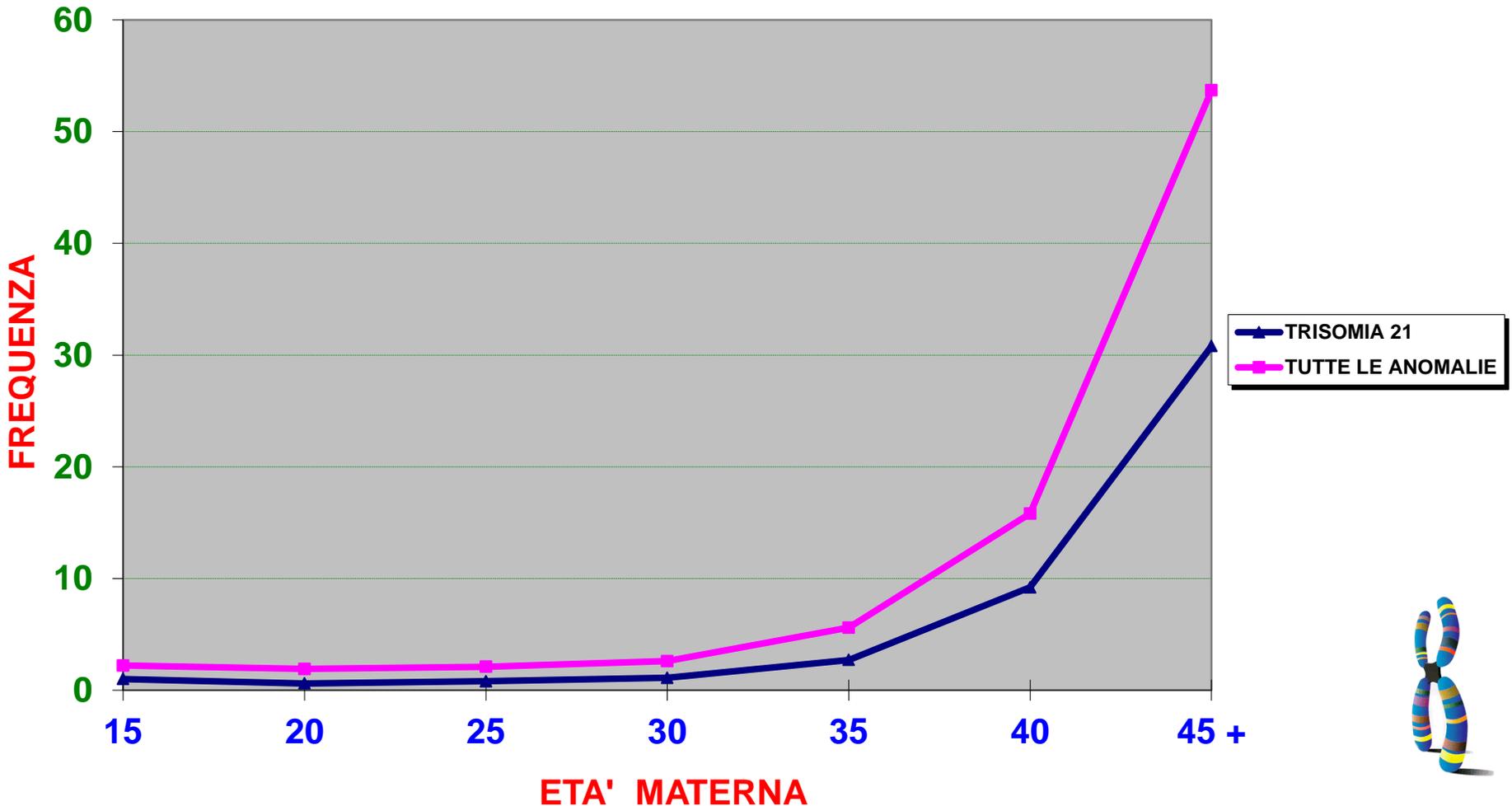
<i>Età materna</i>	<i>L. A.</i>	<i>CVS</i>
<b>35a</b>	0.76 %	0.78 %
<b>40a</b>	2.50 %	3.40 %
<b>45a</b>	8.33 %	7.14 %

Milunski A. (ed) Genetic disorders and the fetus.

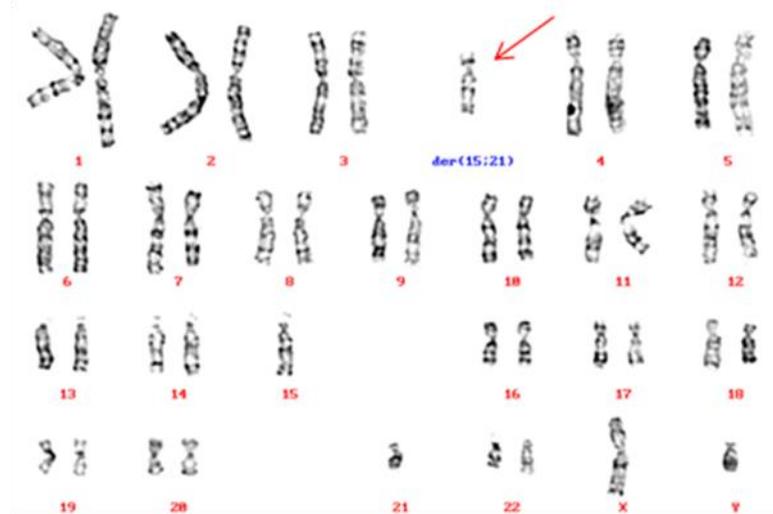
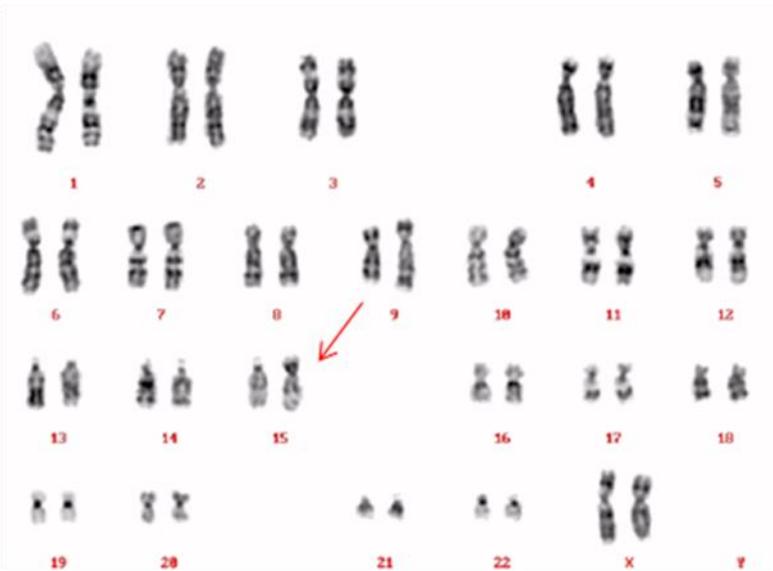


# Frequenza anomalie cromosomiche in rapporto all'età materna

Frequenza delle anomalie cromosomiche per 1.000 nati in rapporto all'età materna (Hook, 1985)



# Trisomia 21



Incidenza alla nascita media: 1/800-1.000

Range di variabilità: 1/600-1/2.000

Progressiva riduzione dell'incidenza da diagnosi prenatale



Trisomia libera materna: 85-90%

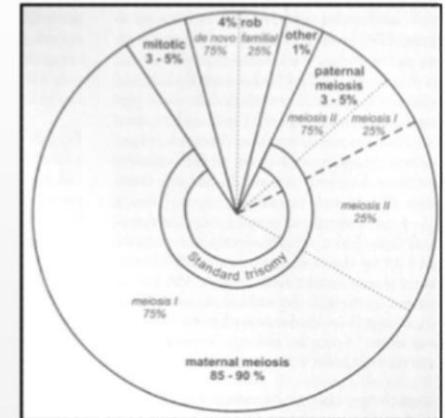
Trisomia libera paterna: 3-5%

Traslocazione roberstoniana *de novo*: 3%

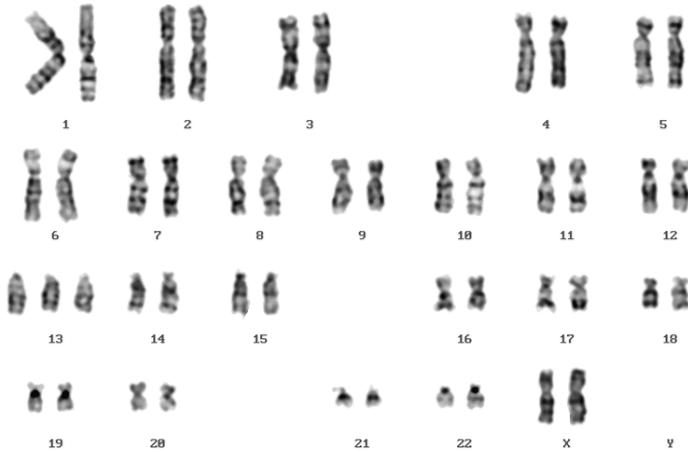
Traslocazione robertsoniana familiare: 1%

Mosaico: 3-4%

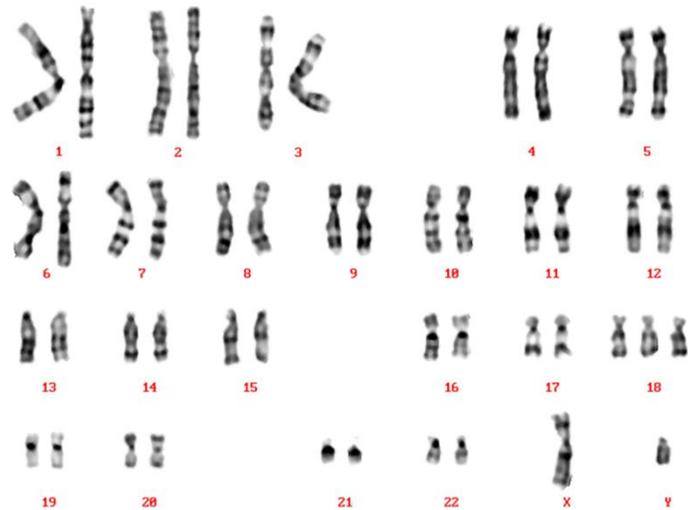
Altro: 1%



# Trisomia 13 e 18

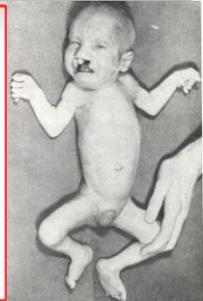


47,XX,+13



47,XY,+18

**Trisomia 13**  
Incidenza alla nascita: 1/10.000-12.000  
Progressiva riduzione dell'incidenza da diagnosi prenatale  
Trisomia libera materna: 65%-70%  
Trisomia libera paterna: 10-15%  
Traslocazione robertsoniana de novo: 14%  
**Traslocazione robertsoniana familiare: 1%**  
Mosaico: 5%



**Trisomia 18**  
Incidenza alla nascita: 1/5.000-7.000  
Progressiva riduzione dell'incidenza da diagnosi prenatale  
Trisomia libera materna: 75%  
Trisomia libera paterna: 15%  
Traslocazione: rarissimo  
Mosaico: 10%



# Sindromi di Turner e Klinefelter

## Sindrome di Turner

Incidenza alla nascita: 1/2.500 femmine

45,X: 45%

45,X/46,XX: 13%

45,X/46,X,(iXq): 8%

45,X/46,X,+ring(X): 6%

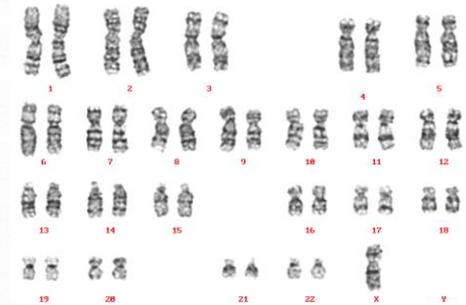
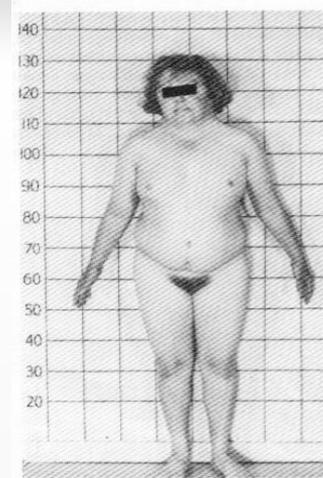
45,X/46,XY (o derivativo Y): 7%

46,X,(iXq): 7%

46,X,Xpdel: 2%

46,X,Xqdel: 2%

Altro: 10-12%



45,X

## Sindrome di Klinefelter

Incidenza alla nascita: 1/1.000 maschi

Non disgiunzione materna: 30-35%

Non disgiunzione paterna: 45-50%

Mosaico: 10%

Altro: 10%



47,XXY





L'analisi citogenetica prenatale standard, in alcuni casi, non consente di stabilire una precisa correlazione cariotipo-fenotipo

rischio empirico ←

- Mosaici
- Piccoli cromosomi marker soprannumerari
- Inversioni de novo
- Aneuploidie dei cromosomi sessuali
- Traslocazioni reciproche de novo
- Traslocazioni complesse de novo

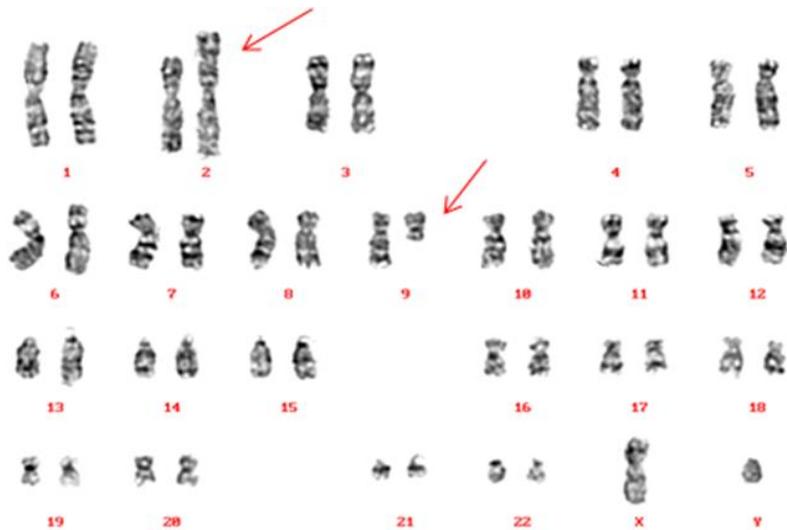
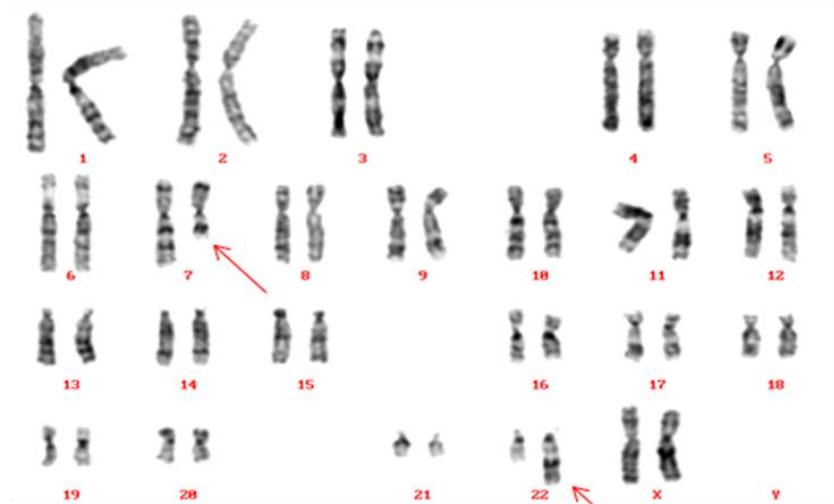


# Traslocazioni bilanciate

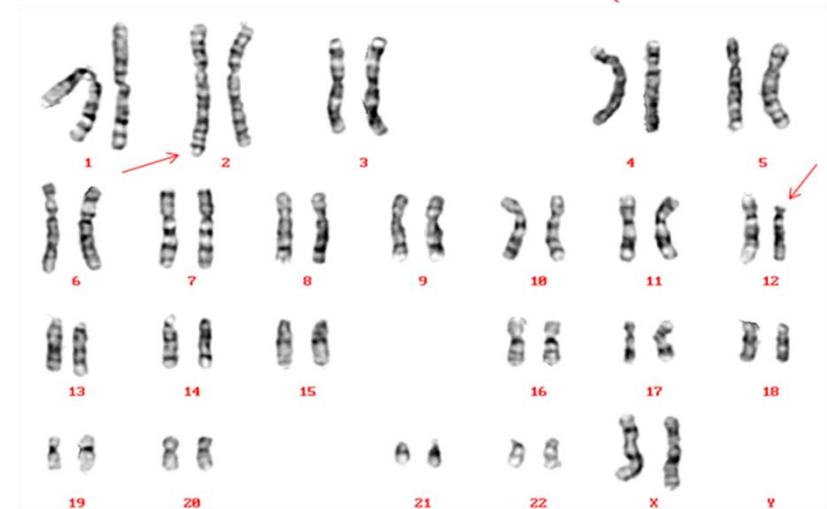
46,XX,t(10;14)(q26;q24)



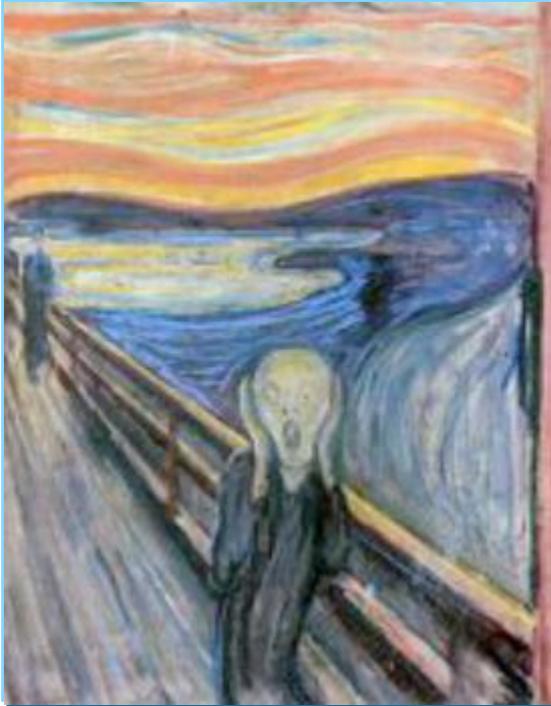
46,XX,t(7;22)(q22;q13)



46,XY,t(2;9)(p25;q12)



46,XX,t(2;12)(q37;p12)



... un mosaico! ...



mosaicismo cromosomico  
possibile «incubo» in diagnosi prenatale



Presenza in uno stesso individuo di due o più linee cellulari a cariotipo diverso

- ❖ Livello I (pseudomosaicismo a singola cellula)
- ❖ Livello II (pseudomosaicismo a cellule multiple)
- ❖ Livello III (mosaicismo vero)

anomalie in vitro o derivate da tessuti extraembrionali

anomalia cromosomica in almeno 2 fiasche di coltura indipendenti



# mosaicismo in diagnosi prenatale: approfondimento diagnostico

Table 1  
Suspension culture

**Indications for extensive work-up**

a.

- Autosomal trisomy involving a chromosome 2, 5, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 21 or 22 (SC MC)
- Unbalanced structural rearrangement (MC)
- Marker chromosome (MC)

**Indications for moderate work-up**

b.

- Extra sex chromosome (SC MC)
- Autosomal trisomy involving a chromosome 1, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 17 or 19 (SC MC)
- 45, X (MC)
- Monosomy (other than 45,X) (MC)
- Marker chromosome (SC)
- Balanced structural rearrangement (MC)

**Indications for basic workup**

c.

Single cell with:

- 45,X
- Unbalanced structural rearrangement
- Balanced structural rearrangement
- Break at centromere with loss of one arm

SC single cell observation **MC more than one cell observation (single flask)**

**In situ culture**

**Indications for extensive work-up**

a.

- Autosomal trisomy involving a chromosome 2, 5, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20, 21 or 22 (SCo MCo)
- Unbalanced structural rearrangement (MCo)
- Marker chromosome (MCo)

**Indications for moderate work-up**

b.

- Extra sex chromosome (SCo MCo)
- Autosomal trisomy involving a chromosome 1, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 17 or 19 (SCo MCo)
- 45, X (SCo MCo)
- Monosomy (other than 45,X) (SCo MCo)
- Marker chromosome (SCo)
- Balanced structural rearrangement (MCo)
- Unbalanced structural rearrangement (SCo)

**Indications for basic workup**

c.

- All single cell abnormalities

SCo single cell observation **MCo Multiple Colony (Single dish)**

Association for Clinical Cytogenetics  
PRENATAL DIAGNOSIS BEST PRACTICE GUIDELINES (2009) V1.00

## 7.6 Exclusion of mosaicism CVS and amniotic fluid



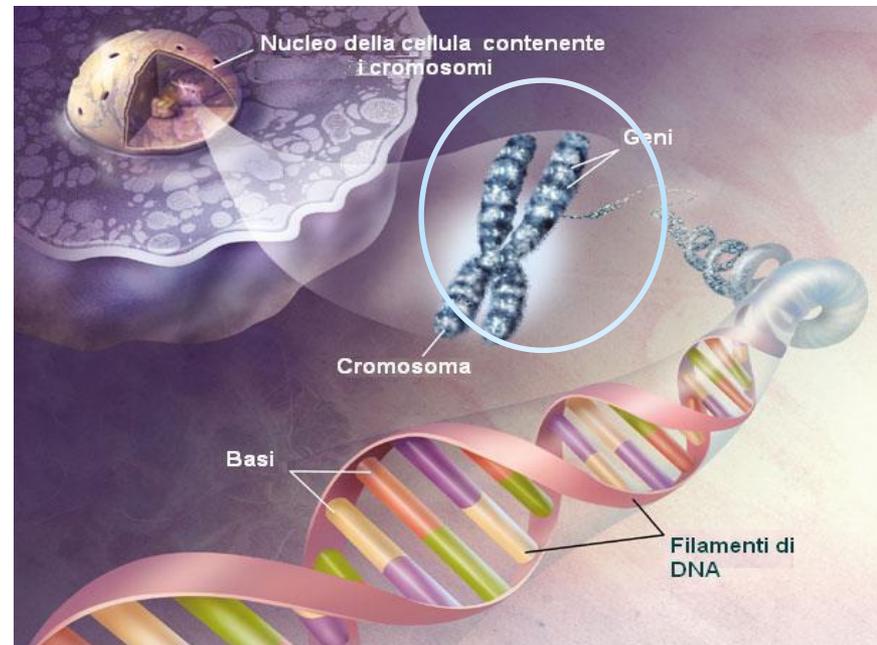
## vantaggi della citogenetica classica

- ❑ Individua anomalie numeriche e strutturali
- ❑ Analizza tutti i cromosomi
- ❑ Non e' necessario specificare il problema a priori
- ❑ Individua anomalie cromosomiche inattese
- ❑ Individua anomalie cromosomiche bilanciate



## svantaggi della citogenetica classica

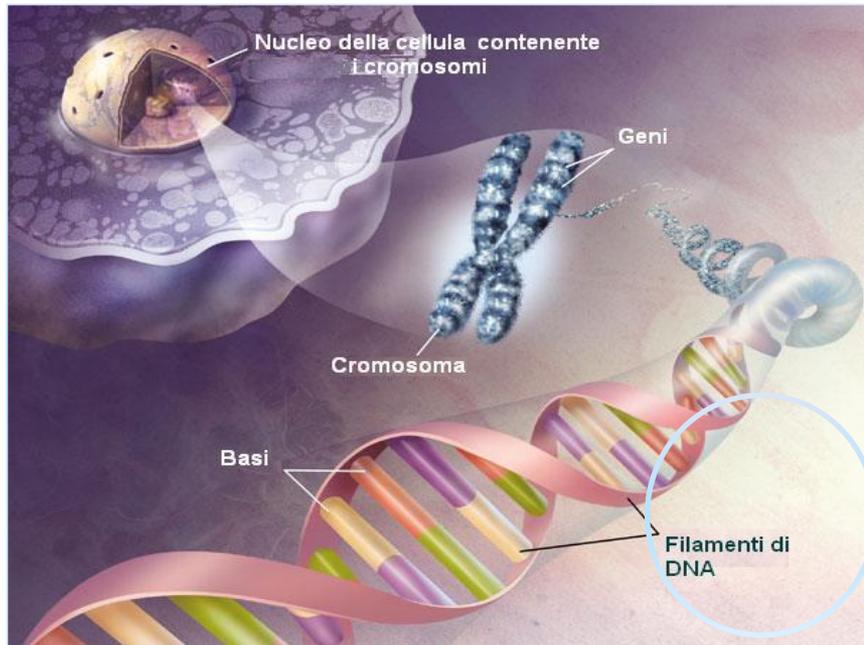
- ❑ OCCORRONO CELLULE IN DIVISIONE :  
COLTURA CELLULARE  
dispendio di tempo  
rischio di fallimento
- ❑ PERMETTE DI IDENTIFICARE RIARRANGIAMENTI DI  
NON MENO DI 5 Mb



quando il cariotipo non ce la fa ...



# La Citogenetica Molecolare



Permette un'analisi mirata di una regione cromosomica consentendo di mettere in evidenza riarrangiamenti di alcune centinaia di chilobasi



**FISH** (fluorescence in situ hybridization)

**PRINS** (primed in situ labeling)

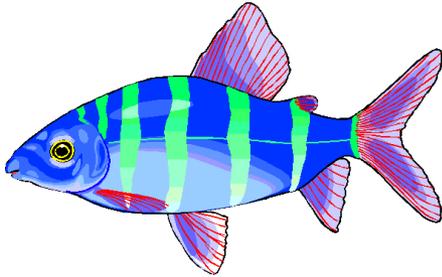
**PCR *in situ*** (polymerase chain reaction *in situ*)

**CGH** (comparative genomic hybridization)

**Array-CGH**



# FISH (Fluorescence in situ hybridization)



metodica che si presta al maggior numero di applicazioni, strumento di indagine essenziale in molti campi della medicina

Ostetricia

Pediatria

Oncologia

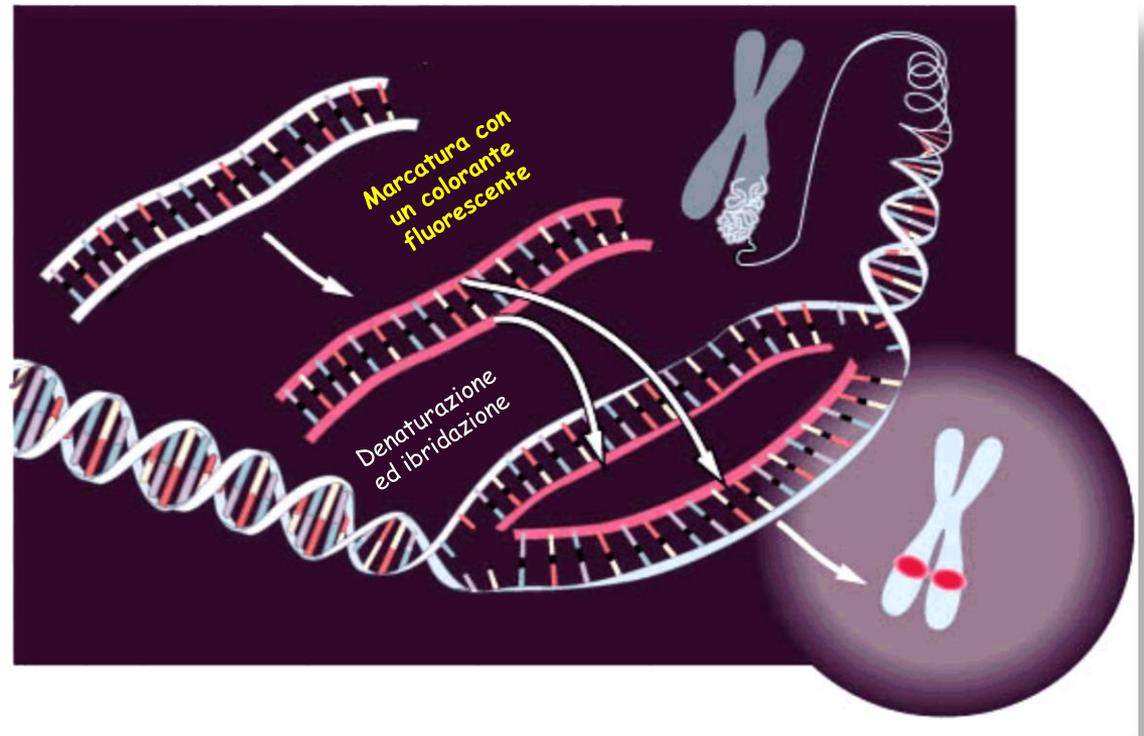
Genetica clinica



## principio generale

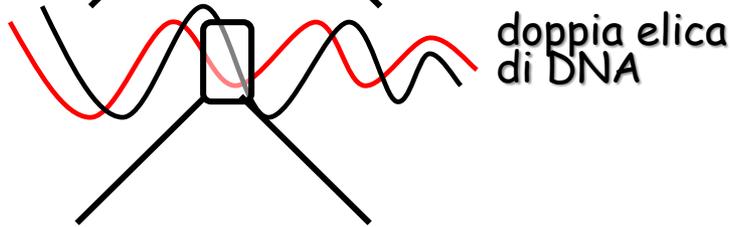
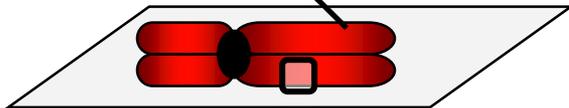
Capacità del DNA di riconoscere sequenze complementari e di legarsi ad esse

Tale identificazione avviene mediante **sonde marcate** in maniera non isotopica, impiegando fluorocromi che emettono a diverse lunghezze d'onda

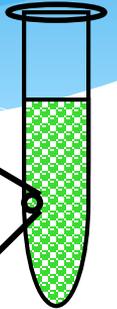


# Descrizione della tecnica FISH

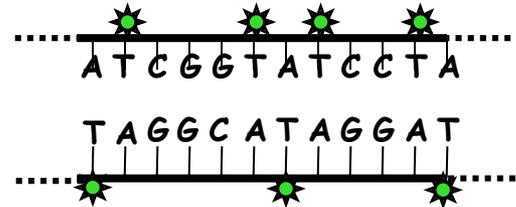
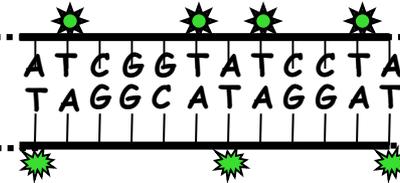
cromosoma  
sul vetrino



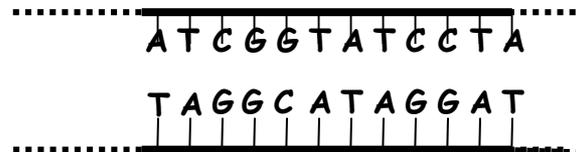
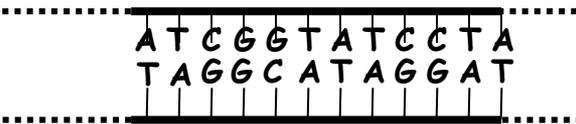
sonda complementare marcata  
con un fluorocromo



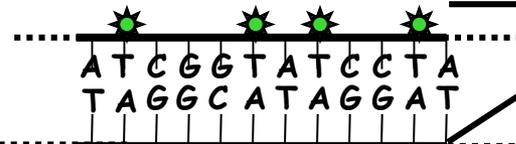
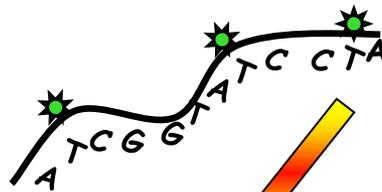
denaturazione



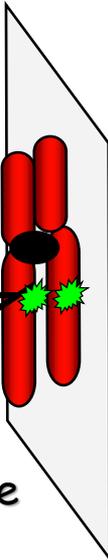
denaturazione



ibridazione della sonda sui  
cromosomi denaturati  
sul vetrino



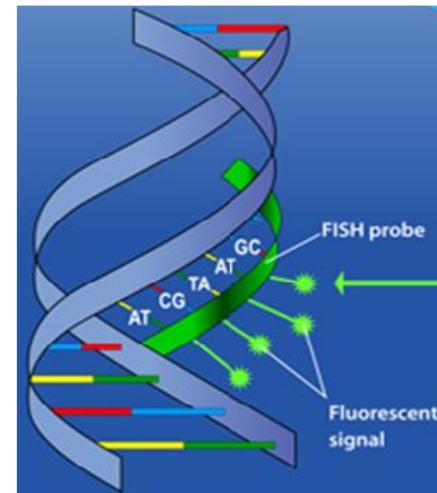
osservazione  
del vetrino



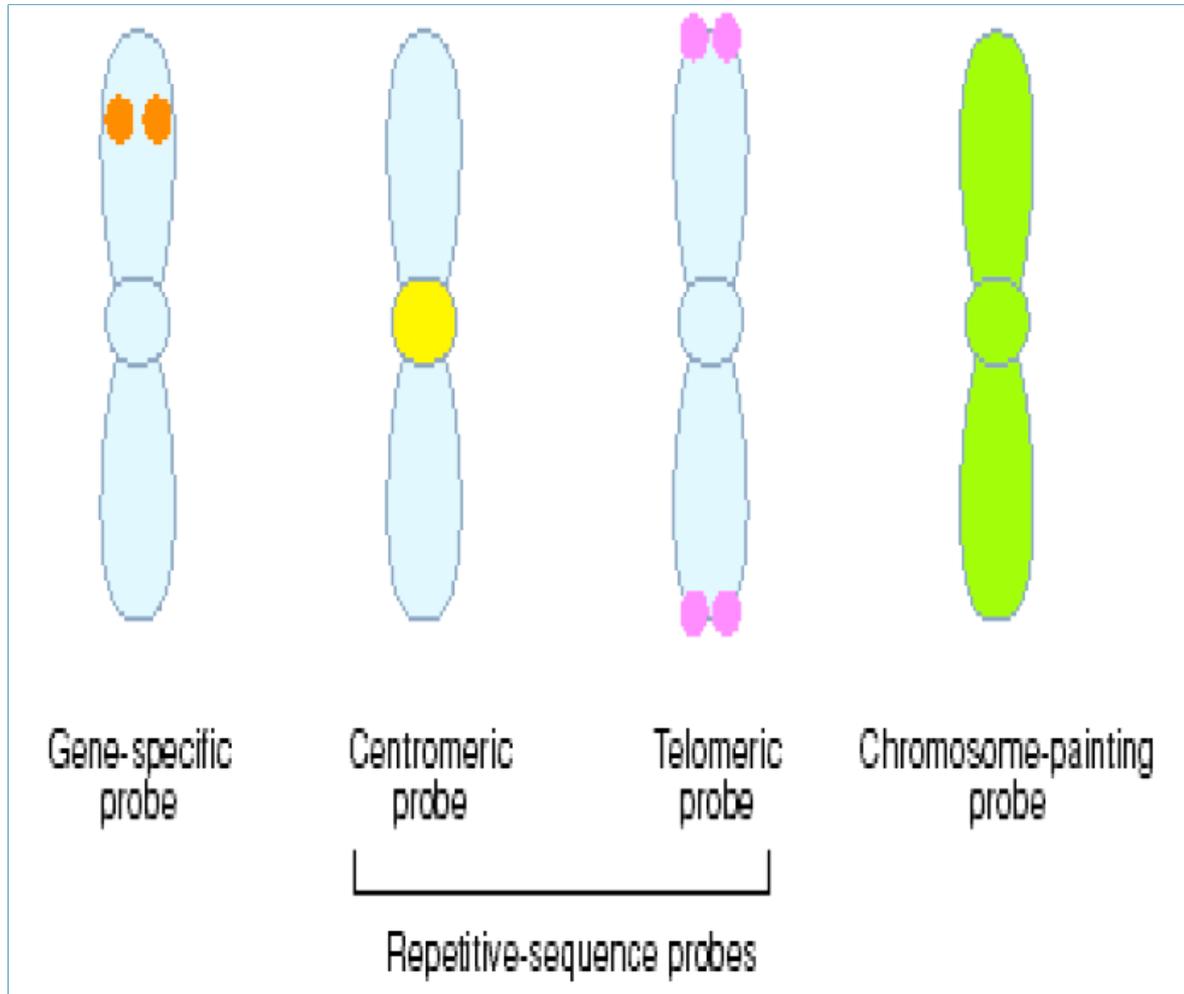
## SONDA



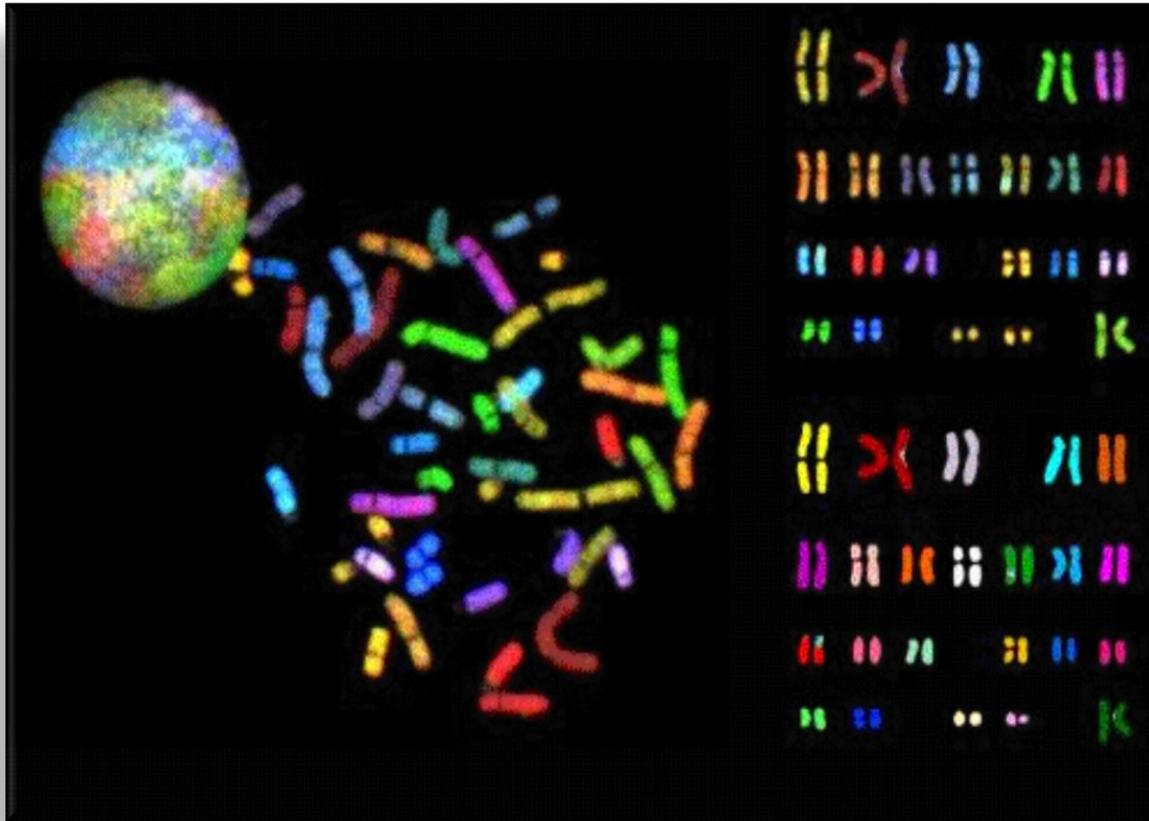
Specifica sequenza di DNA marcato  
capace di legarsi ad una sequenza  
complementare presente sul cromosoma



# Sonde FISH



# Chromosome Painting



## La FISH interfaseica prenatale

Su amniociti non coltivati  
costituisce un metodo rapido (24-48 ore) per rilevare

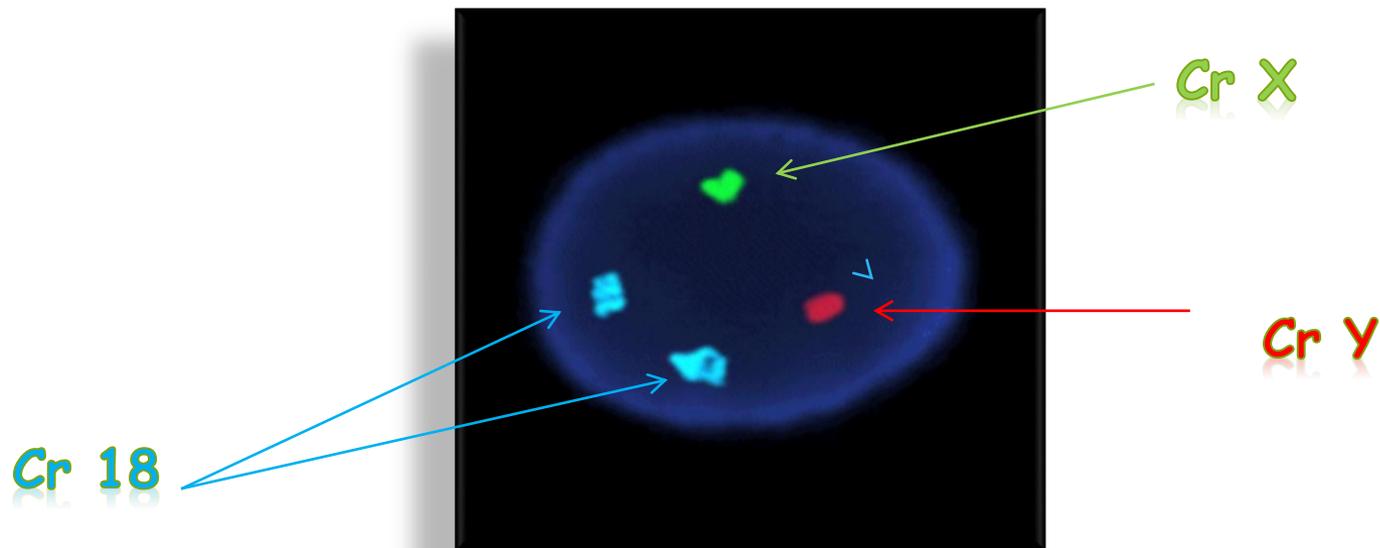
- ❑ Trisomia 21
- ❑ Trisomia 18
- ❑ Trisomia 13
- ❑ Aneuploidia dei cromosomi sessuali



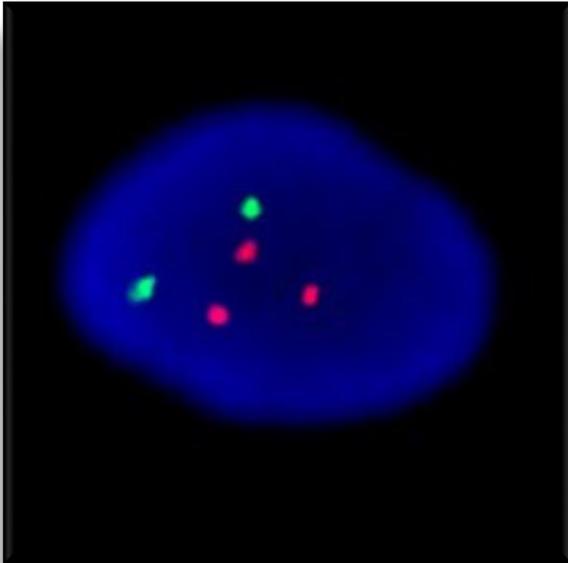
## FISH applicazioni in DP

Il liquido amniotico viene processato fino ad ottenere un preparato costituito da nuclei in interfase che vengono ibridati con sonde per i cromosomi 21, 13, 18, X e Y

Il risultato consiste nella valutazione del numero di segnali specifici per il cromosoma di interesse presenti in ciascun nucleo

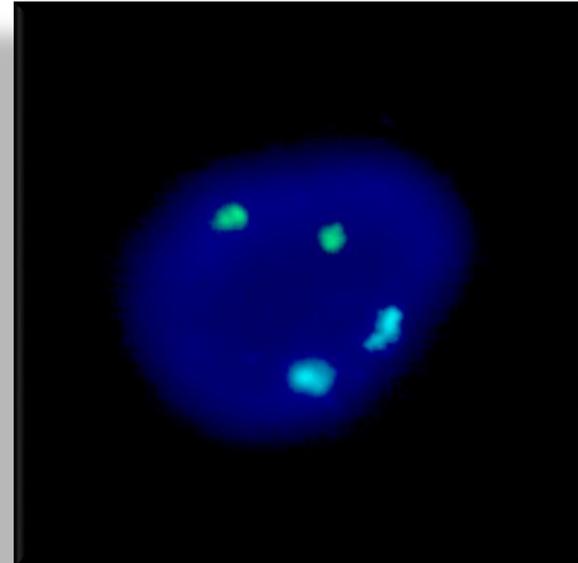


## FISH interfascica prenatale



● Sonda del 21

● Sonda del 13



● Sonda del 18

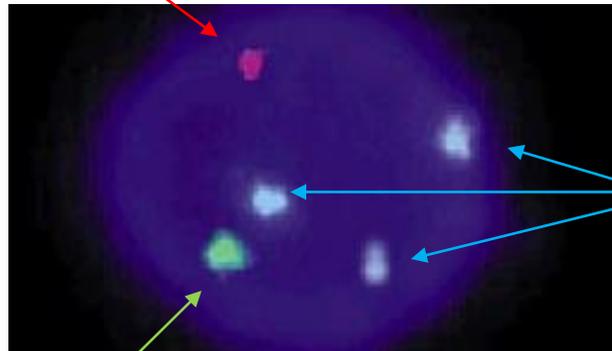
● Sonda dell' X

Trisomia del 21



# FISH interfaseica prenatale

**Cromosoma Y**



**Cromosoma 18**

**Cromosoma X**



## Consenso FISH interfascica prenatale

.....L'ibridazione fluorescente in situ (FISH) è una tecnica di citogenetica molecolare che sarà applicata relativamente ai soli cromosomi 21, 13, 18, X e Y.

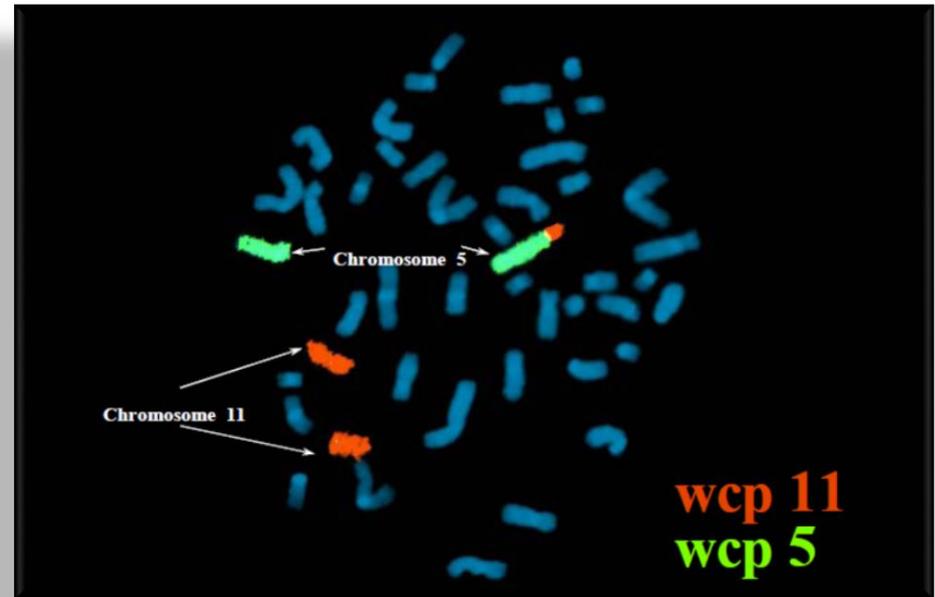
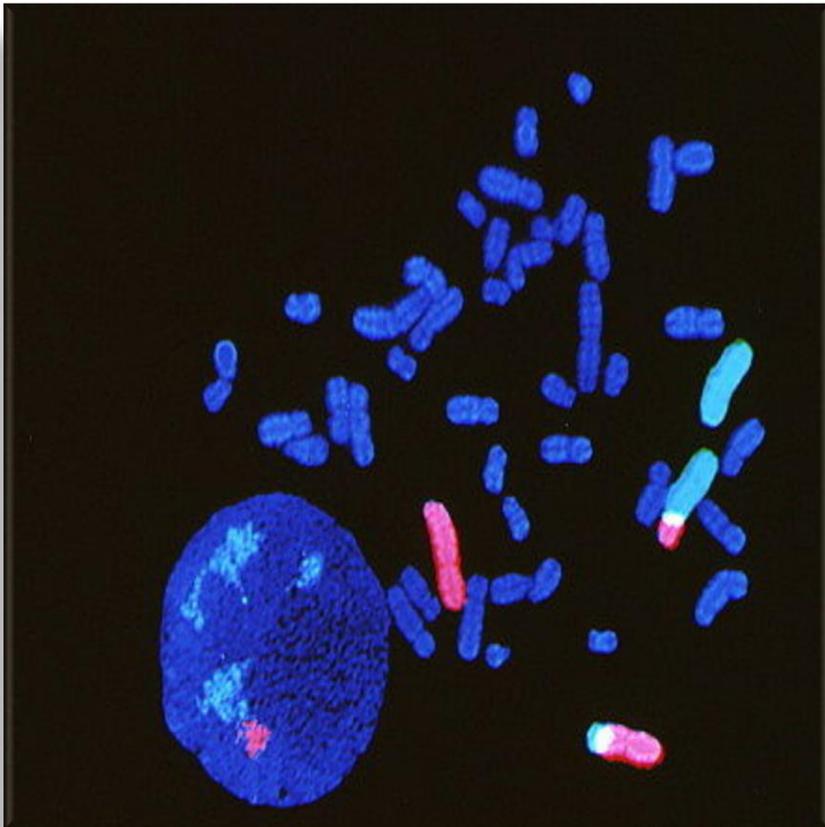
Il metodo consente, pertanto, di ottenere un risultato preliminare sul sesso e sulla presenza delle seguenti anomalie: trisomia 21, 13 e 18.

Tale tecnica fornisce risultati attendibili in non oltre il 90% dei campioni esaminati.....

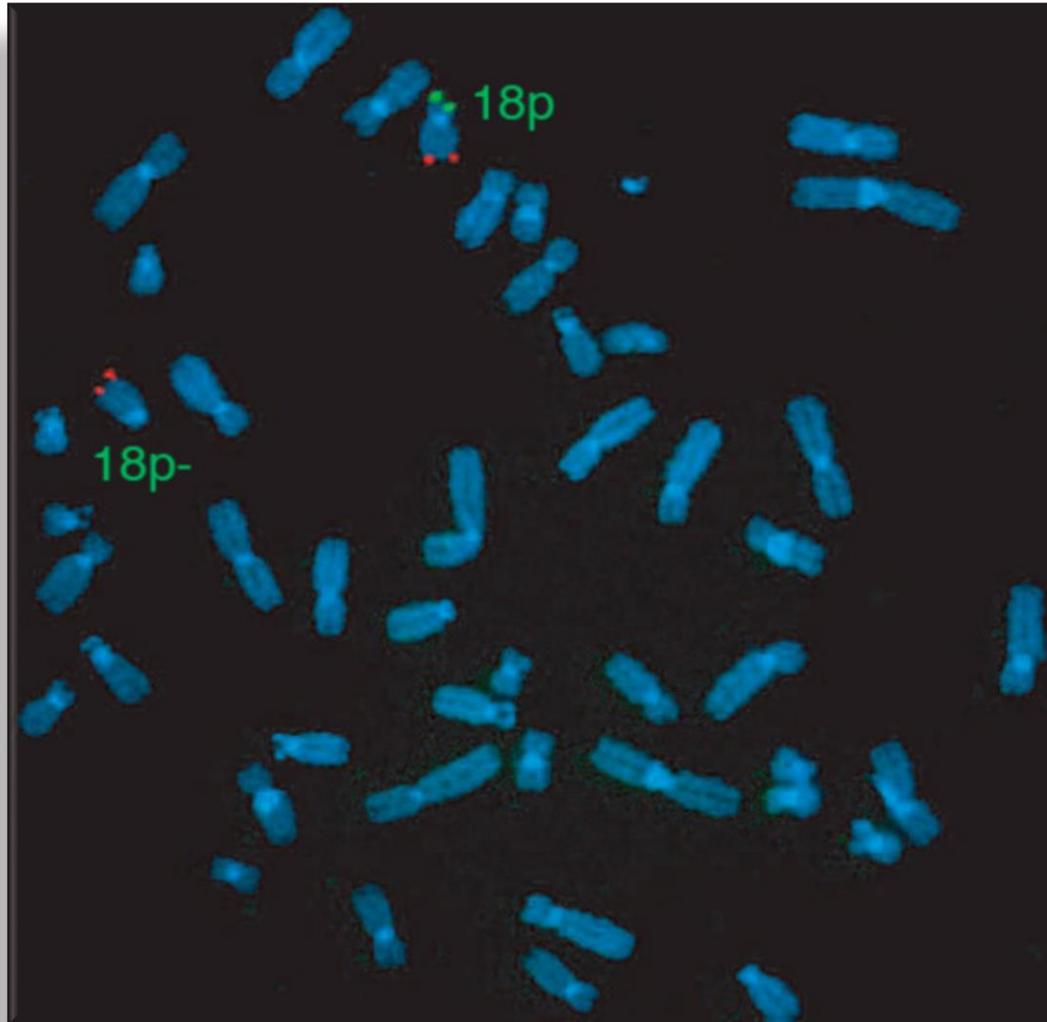
Si rimanda alla diagnosi definitiva mediante la tradizionale coltura degli amniociti.....



# FISH nelle traslocazioni



## FISH nelle delezioni



# FISH nella diagnosi di sindromi da microdelezioni cromosomiche

## PRINCIPALI SINDROMI DA MICRODELEZIONE

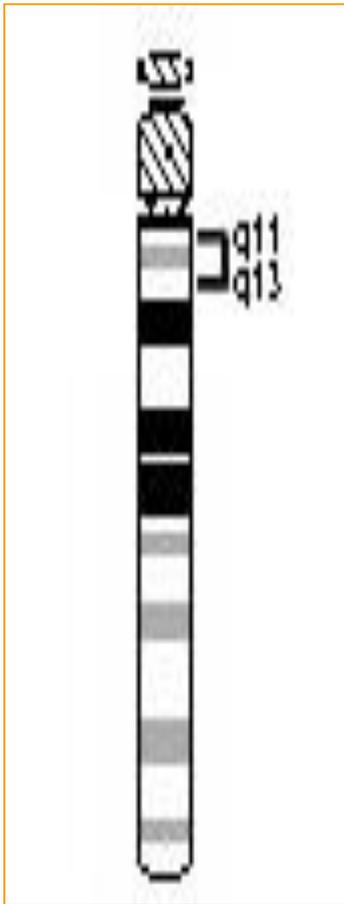
Sindrome	Localizzazione cromosomica	Soggetti con microdelezione
Prader-Willi/Angelman	15q11.13	70%
Williams	7q11.23	90%
Di George/ Velocardiofaciale	22q11.2	75%
Smith-Magenis	17p11.2	95%
Miller-Dieker	17p13.3	90%



Regione sottoposta a **imprinting genomico**:

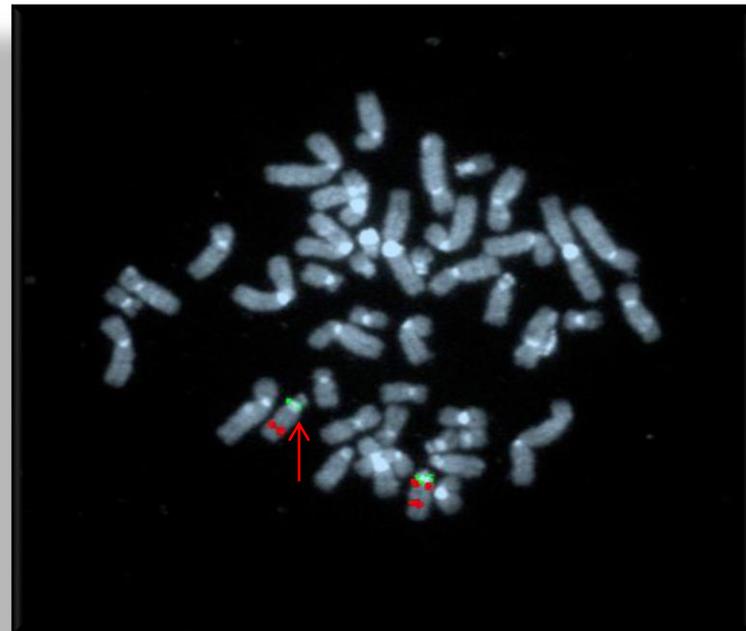
differente espressione di alcuni geni in rapporto alla loro origine paterna o materna

### Delezione 15q11-q13

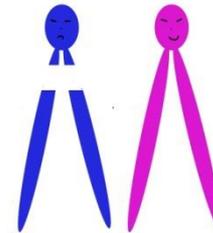
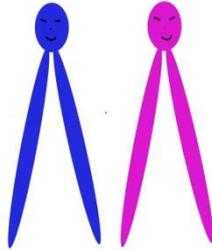
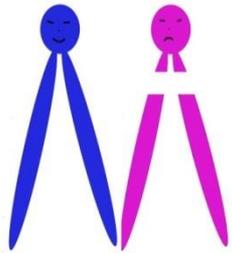


**~4 Mb**

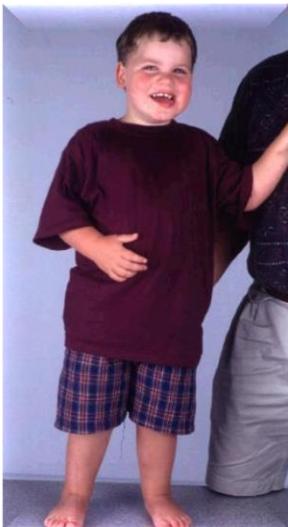
**15**



## Soggetto normale



## Angelman Syndrome



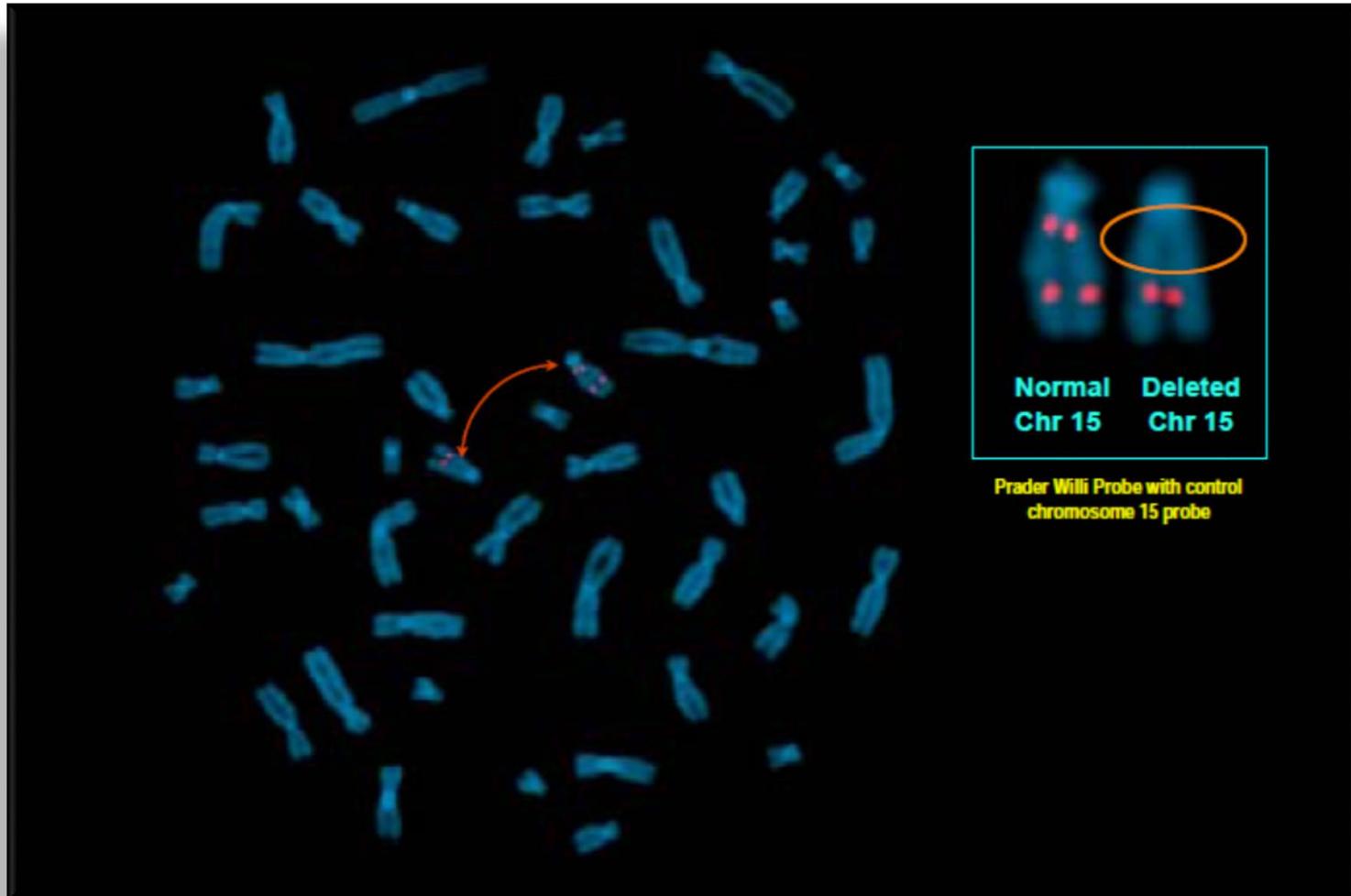
## Prader-Willi Syndrome



Delezione 15q11-q13: 70%



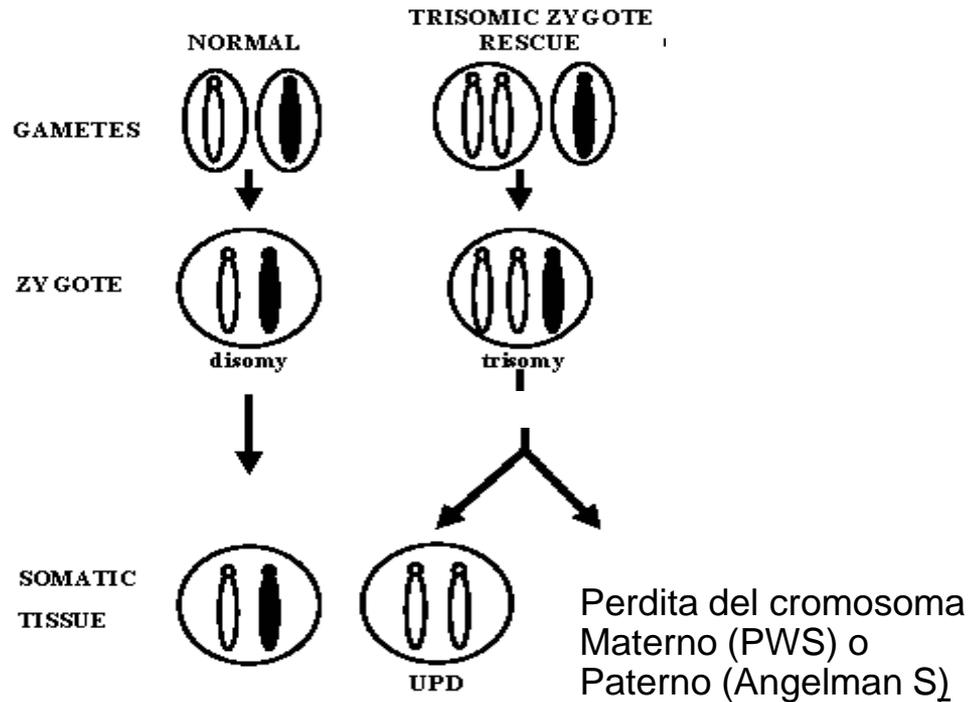
# Prader-Willy Syndrome



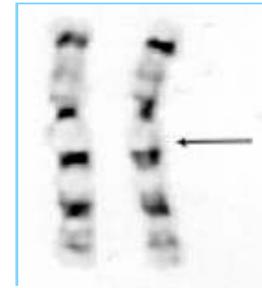
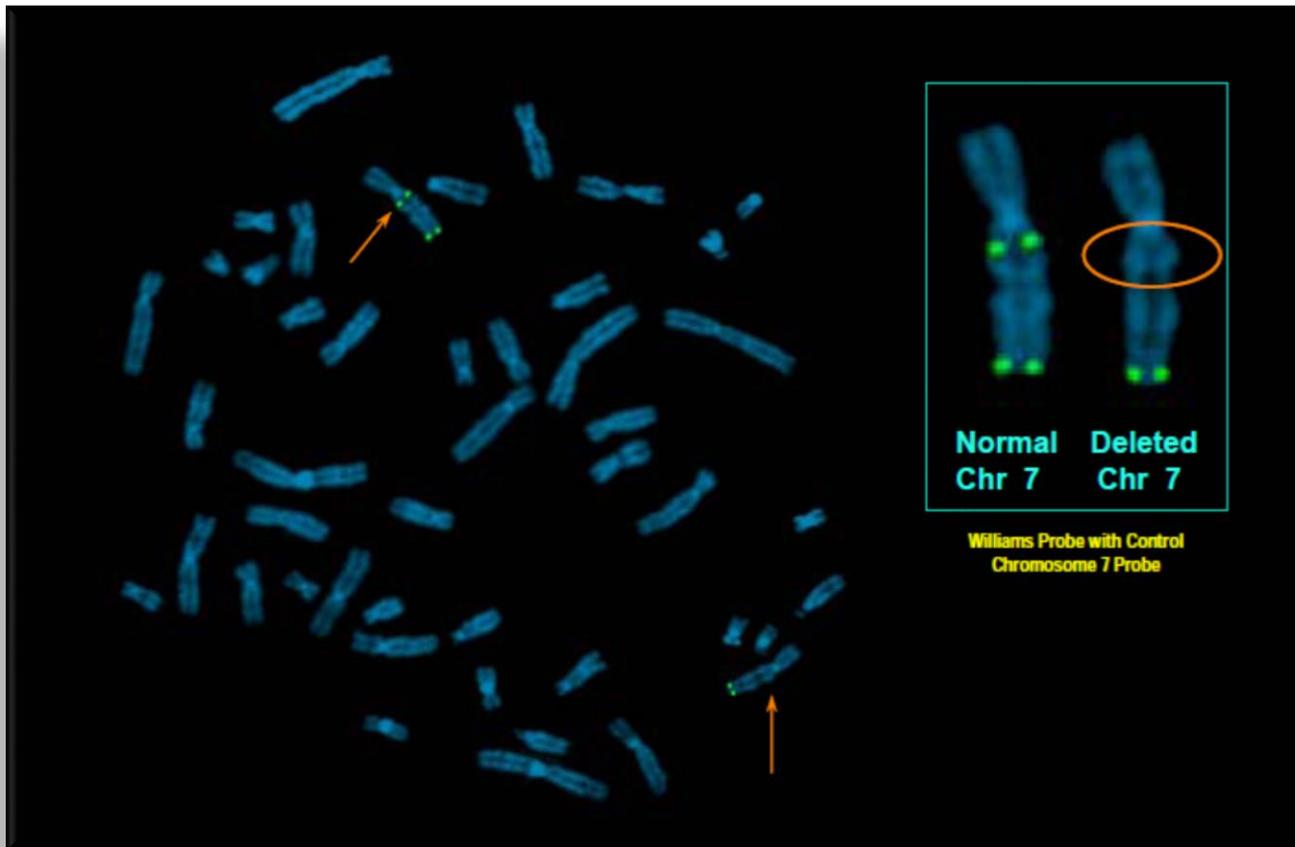
# Angelman Syndrome Prader-Willi Syndrome

Disomia uniparentale: 25%

I due cromosomi 15 omologhi vengono ereditati dallo stesso genitore



# William Syndrome



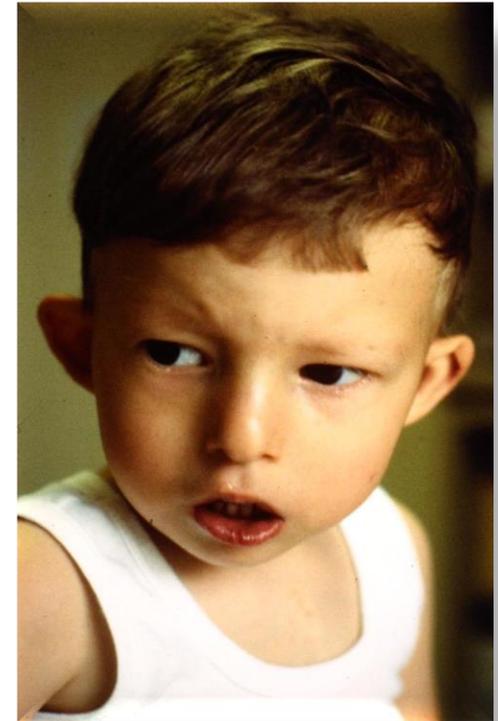
Delezione 7q11.23: 90%

## SINDROME da DELEZIONE 22q11.2 (Sindrome di DiGeorge/Velocardiofacciale)

Prevalenza: 1:6000 nati vivi

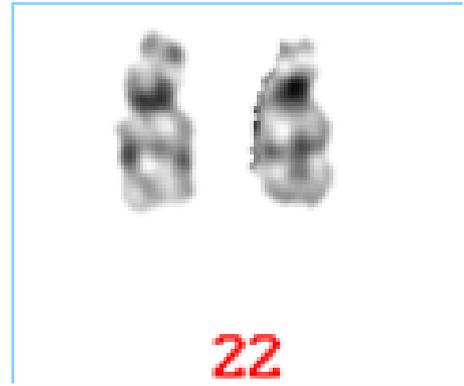
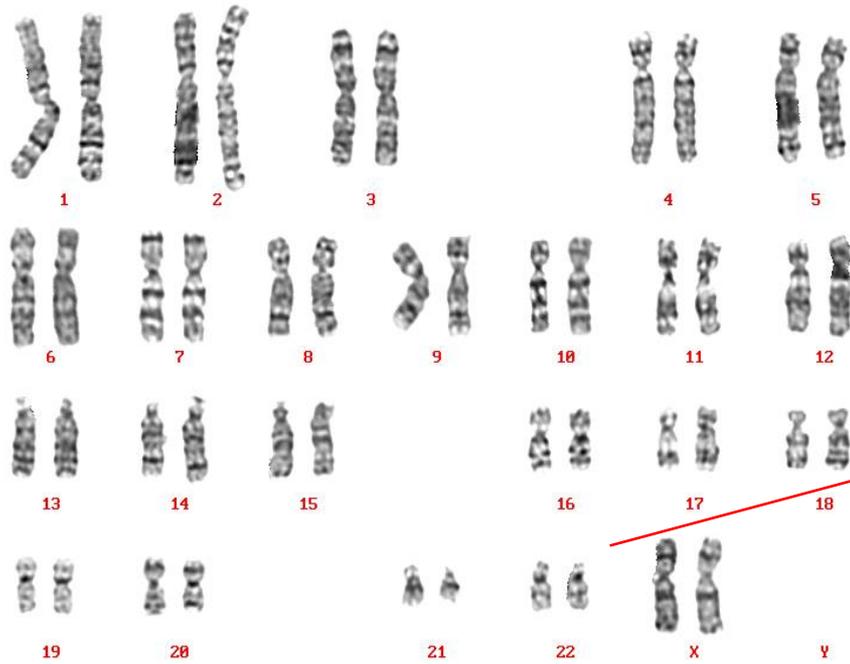
### Caratteristiche cliniche:

- Anomalie facciali
- Difetti cardiaci troncoconali:  
(tetralogia di Fallot, l'atresia polmonare, il ventricolo destro a doppia uscita, il tronco arterioso comune e le anomalie dell'arco aortico)
- Labiopalatoschisi
- Deficit immunitario
- Ipocalcemia neonatale
- Ritardo mentale

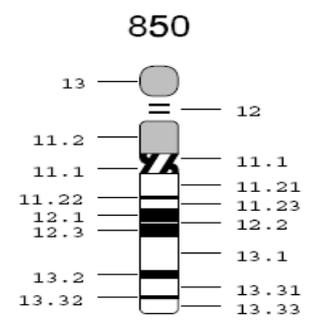
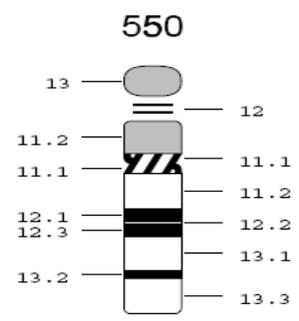
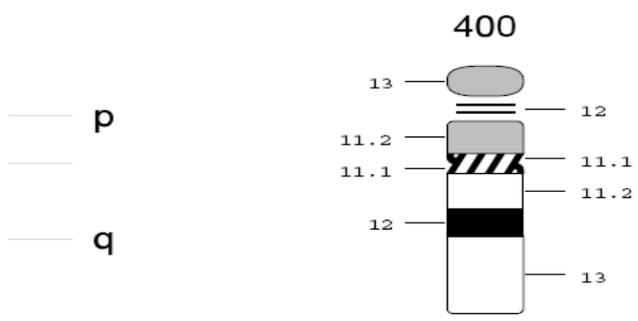


**Difetto genetico:** microdelezione 22q11.2



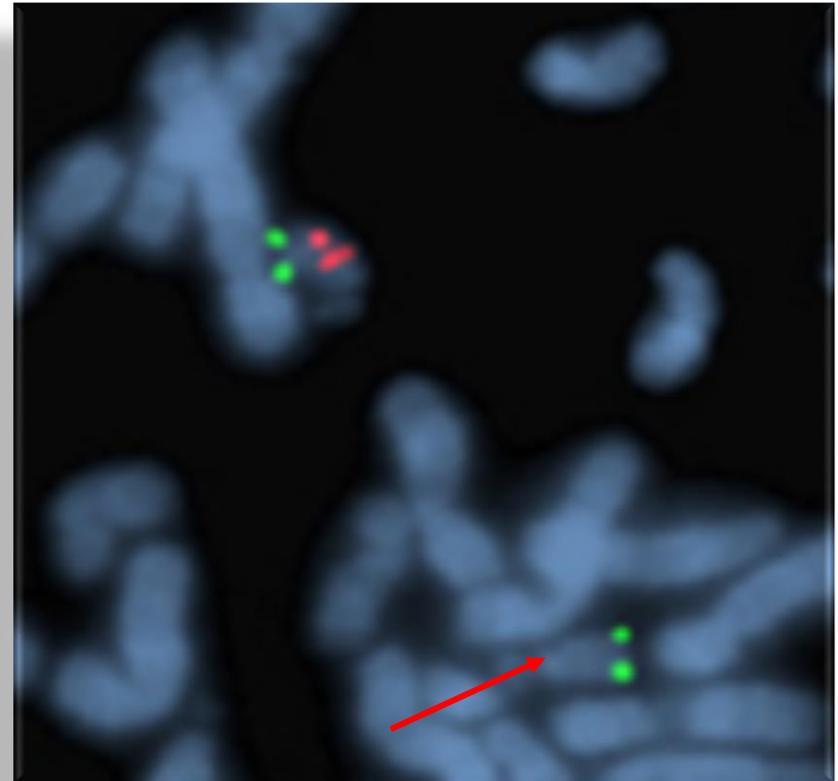
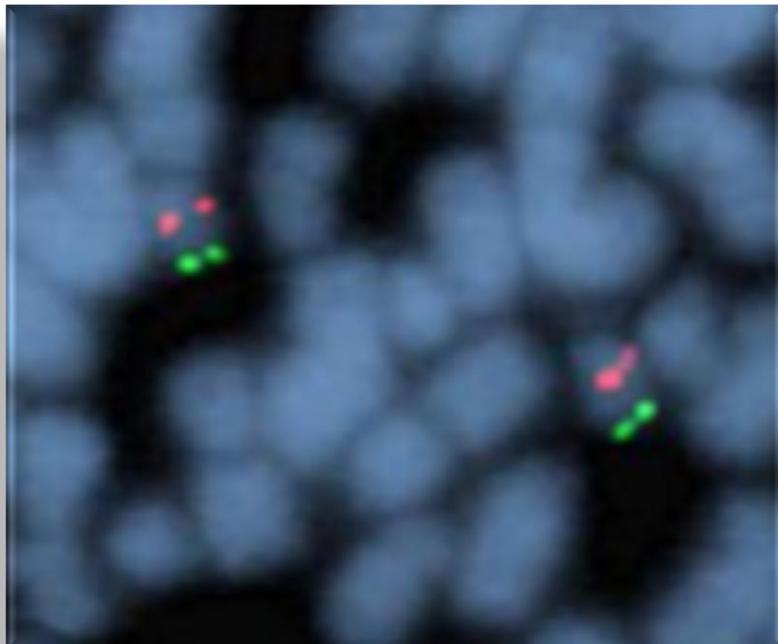
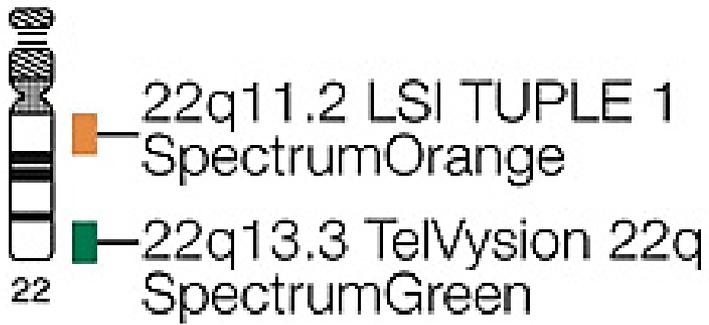


CHROMOSOME 22



# DiGeorge Syndrome

## Ideogram



## Sindrome da delezione 22q11.2

Diagnosi FISH 22q11.2 (pos 95% dei casi)

60% sporadici (RR <1%)

15-20% delezione familiare (RR 50%)



## piccolo marcatore sovranumerario (sSMC)

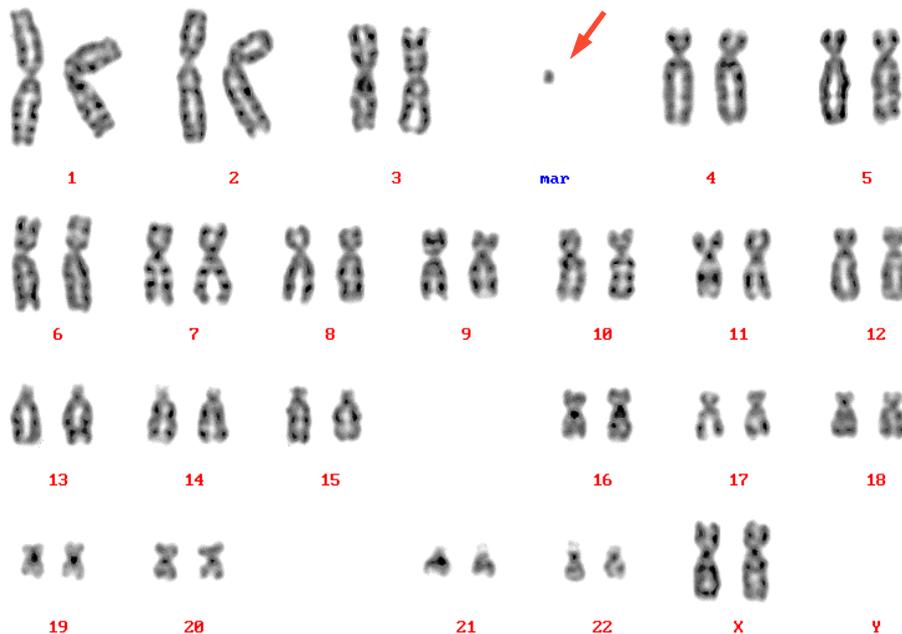
Un cromosoma strutturalmente anomalo non chiaramente identificabile mediante le tradizionali tecniche citogenetiche di bandeggio, di dimensioni uguali o minori rispetto ad un cromosoma 20 proveniente dalla stessa metafase

(Liehr, 2009)

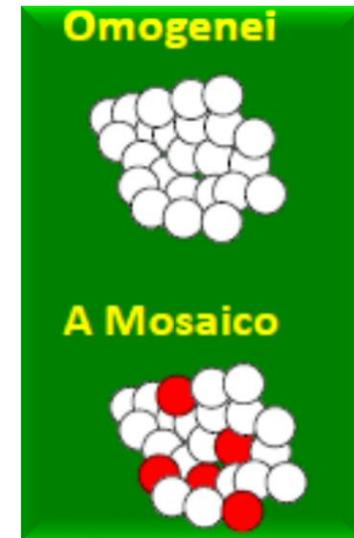
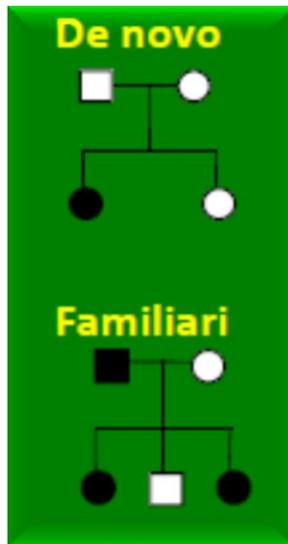


## cromosoma marker in DP

L'accertamento dell'origine cromosomica di un marker e la rapidità nell'identificazione sono di estrema importanza in **diagnosi prenatale** per poter stabilire la correlazione con eventuali effetti fenotipici



# marker cromosomici

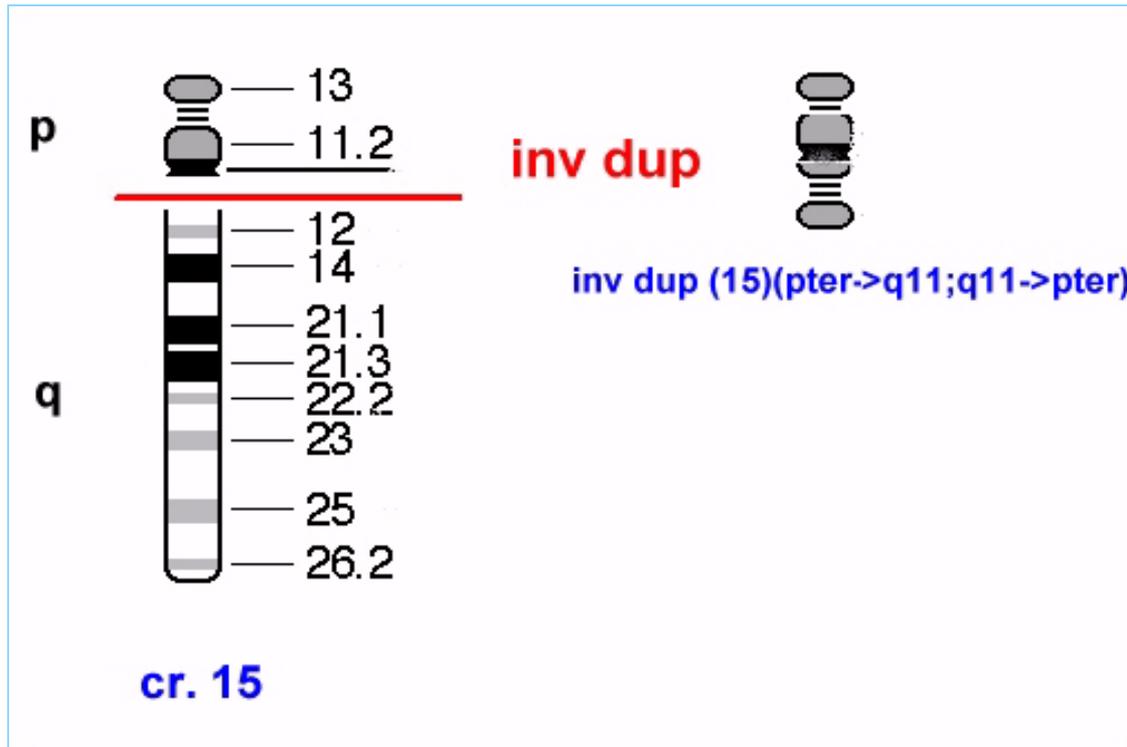


## frequenza % in funzione del tipo di marker

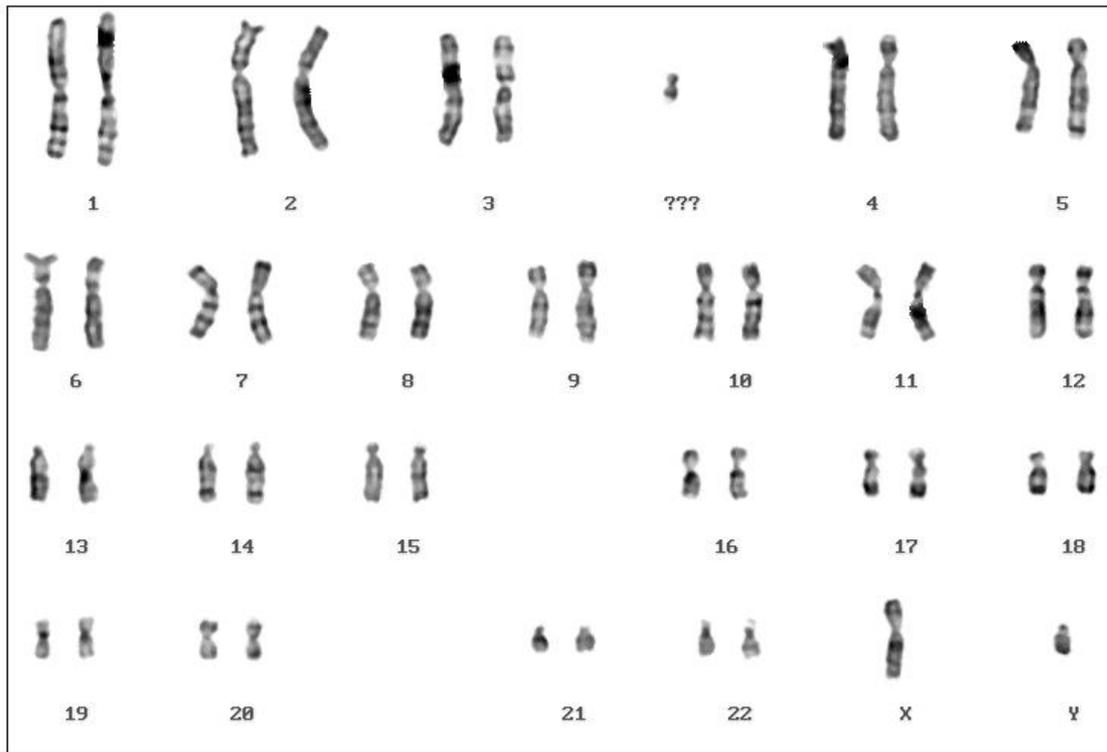
- ❑ Inv dup (15)  
ed altri non correlati a specifiche sindromi 61,4%
  
- ❑ Marker correlati a specifiche sindromi 33,8%
  - i(12p) - (S. Pallister-Killian) 11%
  - der(22)t(11;22) 10%
  - Inv dup(22) - (S. Cat Eye) 7%
  - i(18p) 6%
  
- ❑ Marker con neocentromeri 3,4%
  
- ❑ Marker multipli 1,4%



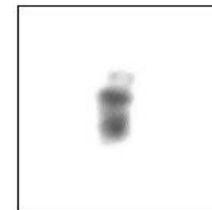
# inv dup (15)



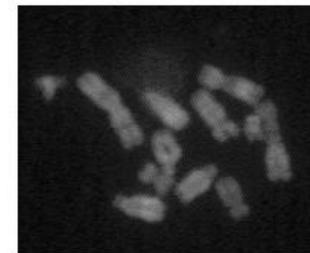
# caratterizzazione di marker cromosomici



47,XY,+mar (bande GTG)



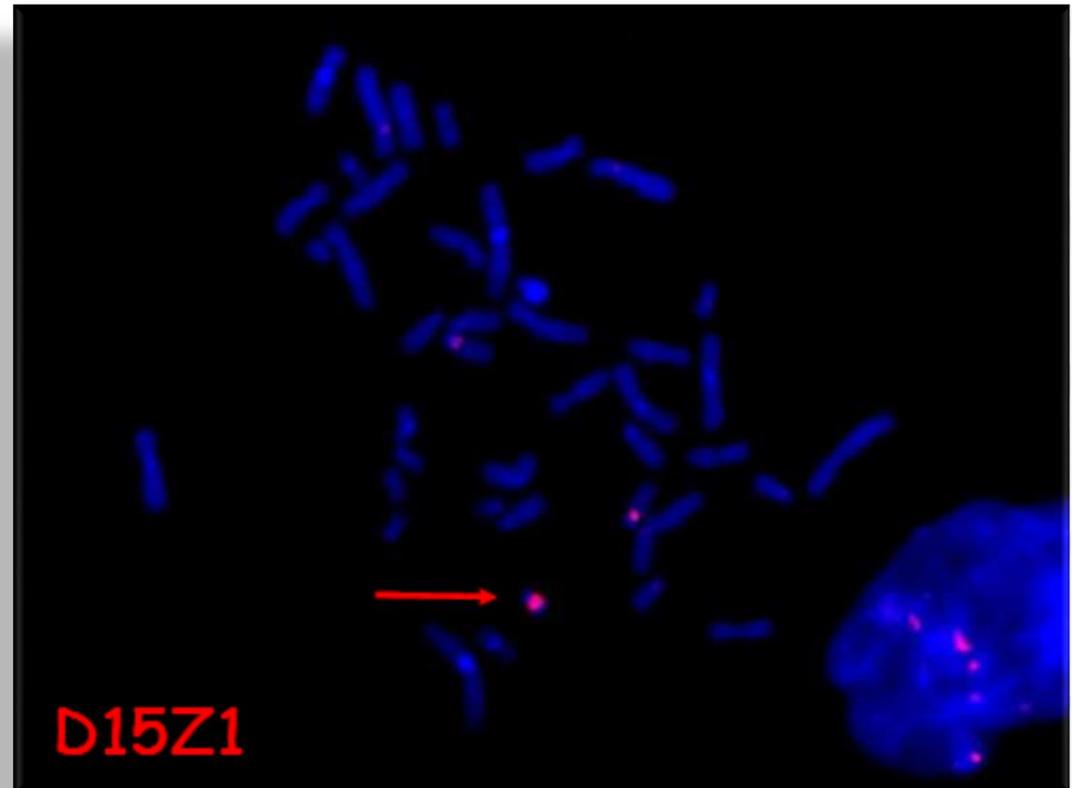
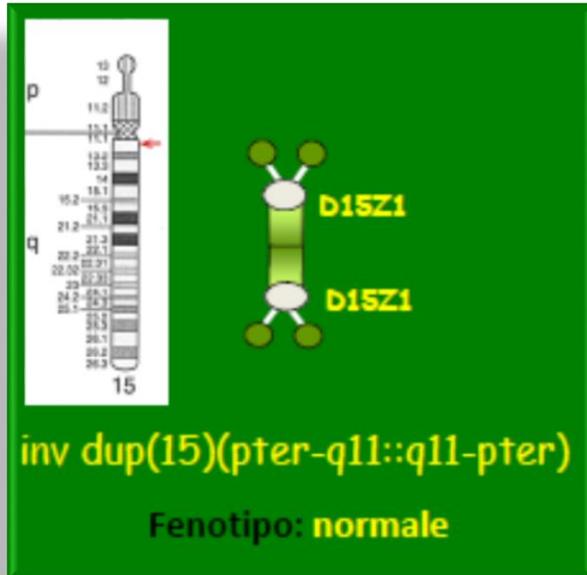
bande CBG



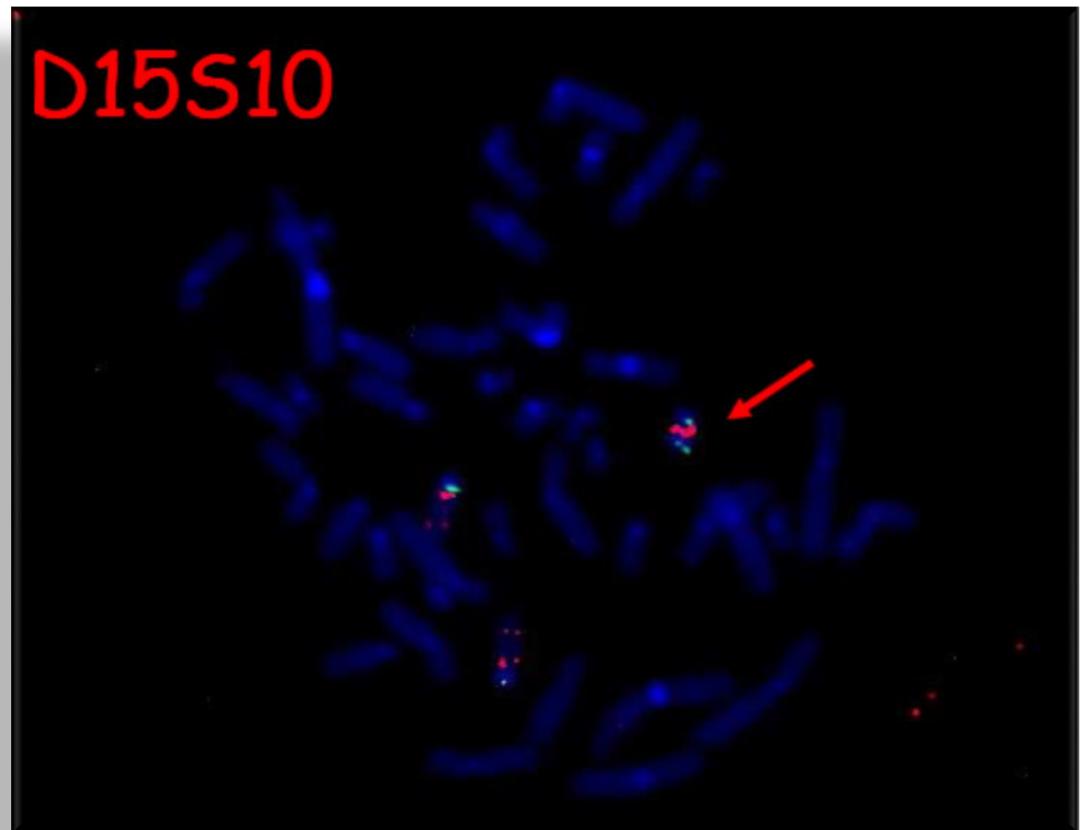
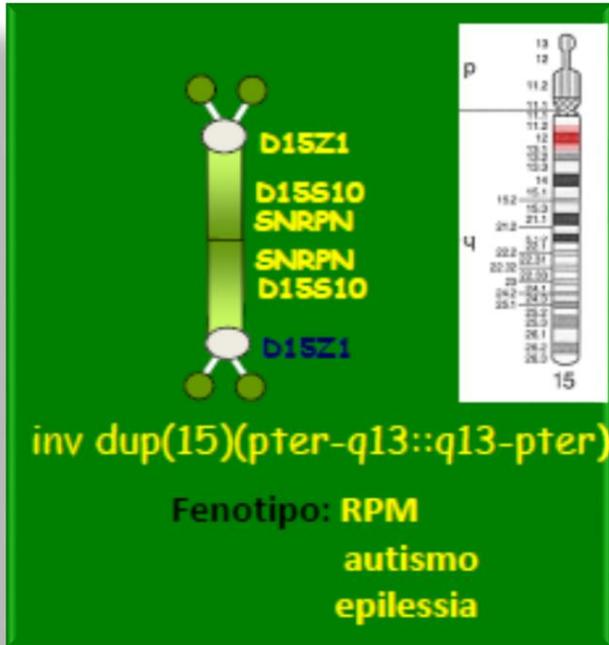
bande QFQ



# caratterizzazione di marker cromosomici Inv dup(15)



# caratterizzazione di marker cromosomici Inv dup(15)



## VANTAGGI

- \* rapidità
- \* identificazione di microdelezioni e riarrangiamenti complessi
- \* diagnosi su nuclei in interfase

## LIMITI

- \* costi
- \* diagnosi non completa



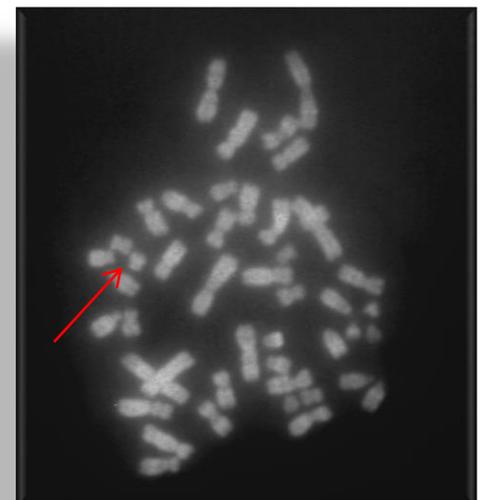
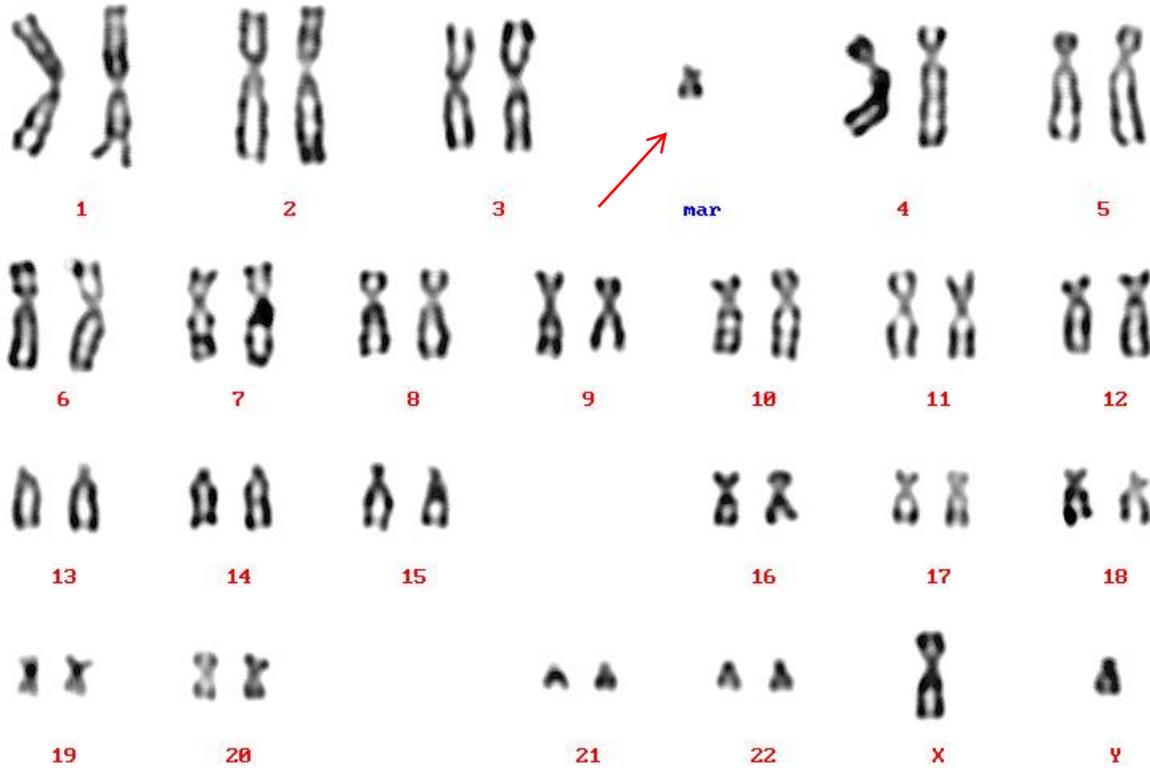
## diagnosi non completa

La FISH, nonostante sia di grande applicazione nella diagnosi clinica odierna, è necessariamente limitata dal fatto di essere una tecnica di **"indagine mirata"**

La sua applicazione consente solo di poter individuare mutazioni specifiche a livello di precisi loci cromosomici



# marker «de novo»



La tecnica **Array CGH** (Comparative Genomic Hybridization) ha consentito di definire il **marcatore come** un derivato del cromosoma 12 **con**

- trisomia per il braccio corto del cromosoma 12 (12p)
- tetrasomia per la regione 12q11;q12 (regione estesa per 6 Mb)

In letteratura tale alterazione cromosomica risulta associata ad un fenotipo patologico soprattutto dal punto di vista neurologico



# Grazie



Dr Luigi Antonio Greco

Servizio di Genetica ASL TA

Ospedale «San Marco» di Grottaglie (TA)

[greco.la@libero.it](mailto:greco.la@libero.it)