

ANOMALIE CROMOSOMICHE

Le anomalie cromosomiche

Più che andare a vedere il numero o la forma dei cromosomi, quello che ci interessa è capire se nel cromosoma del cariotipo il contenuto del materiale genetico è bilanciato o sbilanciato.

Bilanciato quando non c'è né perdita né acquisto di materiale genetico (fenotipo normale), viceversa **sbilanciato** quando si ha una perdita o un acquisto di materiale genetico (malformazioni e/o ritardo mentale).

Tanto più c'è uno sbilanciamento a livello del materiale ereditario, tanto più avremo una conseguenza a livello del fenotipo. Sbilanciamenti molto grandi non sono di solito compatibili con la vita mentre sbilanciamenti un po' più piccoli danno, comunque, delle anomalie oppure possono causare un aborto spontaneo.

Ci sono due casi di **anomalie cromosomiche**: del **numero** e della **struttura**. Le anomalie cromosomiche rappresentano la patologia che si riscontra più frequentemente al concepimento e nonostante ci sia una fortissima selezione naturale durante il proseguimento della gravidanza, la frequenza alla nascita è elevata circa l'1% delle nascite.

- **Del numero:**

- poliploidie (triploidie, tetraploidie)
- aneuploidie (trisomie, monosomie)
- mosaici

- **Della struttura:**

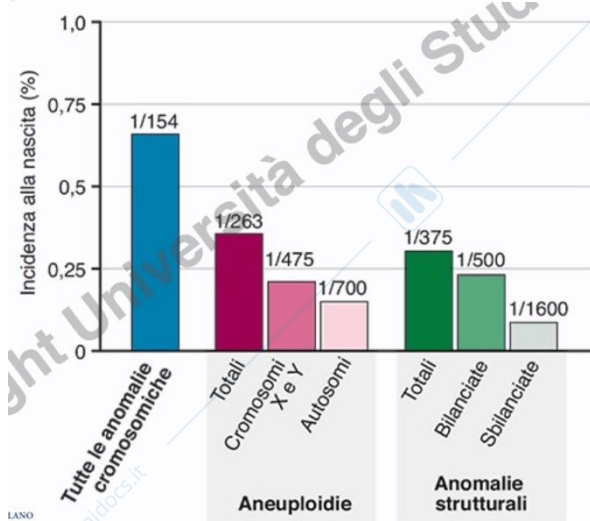
Sbilanciate

- delezioni
- duplicazioni
- isocromosomi
- cromosomi ad anello

Bilanciate

- traslocazioni (reciproche e robertsoniane)
- inversioni (paracentriche e pericentriche)

Casistiche di nati vivi



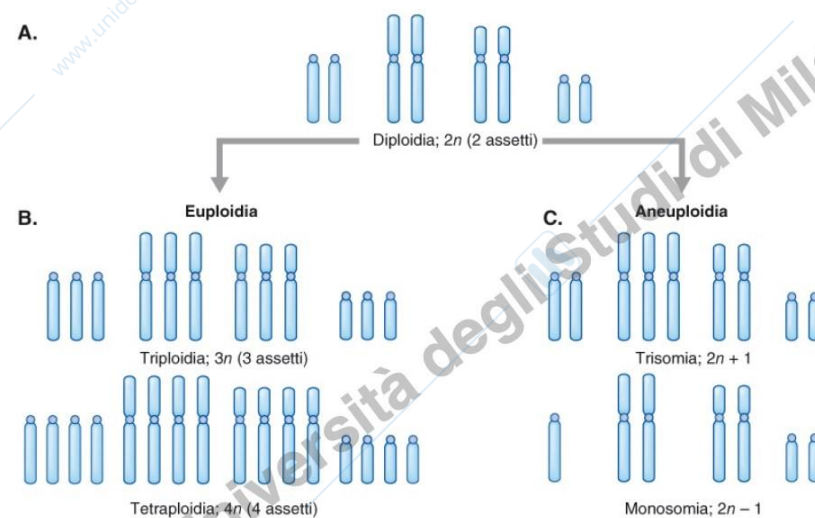
L'incidenza alla nascita per tutti nati vivi è intorno a 1 su 154. Le anomalie del numero sono riportate con un totale di 1 a 263 mentre quelle di struttura 1 a 375. La maggioranza coinvolgono i cromosomi X e Y mentre la minoranza riguarda gli autosomi. Per quanto riguarda le strutturali, le bilanciate sono molto di più mentre le sbilanciate sono 1/1600 nati. Le bilanciate danno di solito un fenotipo normale mentre quelle sbilanciate danno spesso origine ad aborti spontanei e quindi sono meno osservabili. Le anomalie dell'X e degli Y vengono sopportate meglio rispetto a quelle degli autosomi.

-La ploidia è il numero degli assetti cromosomici. Noi siamo diploidi perché abbiamo assetto cromosomico $2n$, i nostri cromosomi sono 23, noi ne abbiamo due copie quindi abbiamo 23 coppie di cromosomi del nostro cariotipo quindi questa situazione è una condizione di **euploidia** ovvero condizione in cui una cellula è caratterizzata da un numero di cromosomi corrispondente ad un multiplo esatto del corredo aploide.

Questo assetto può cambiare e si assiste alla **poliploidia** ovvero la presenza di tre o più assetti cromosomici ad esempio $3n$, $4n$. Le poliploidie le possiamo trovare ma non sono compatibili con la vita quindi le troviamo negli aborti spontanei.

Le **aneuploidie** invece sono le variazioni che riguardano solo uno o pochi cromosomi, quindi, sono quei cariotipi che non hanno un numero esatto ma possiamo avere un cromosoma in più o un cromosoma in meno ad esempio 45 o 47 cromosomi. La presenza di tre coppie di cromosomi è chiamata trisomia mentre quella di una sola coppia è chiamata monosomia.

Immagine per spiegare meglio il concetto



Esempio di un individuo con quattro cromosomi; in cima c'è l'assetto normale diploide $2n$.

Nel caso B abbiamo poliploidia per tre coppie per ogni cromosoma oppure quattro quindi tri o tetraploide.

Nel C invece osserviamo aneuploidia ovvero ad esempio $2n+1$ nel primo caso o $2n-1$ nel secondo caso.

Con **poliploidia** si intende cellule con un numero di cromosomi corrispondente ad un multiplo esatto del corredo aploide possiamo avere uno **zigote triploide $3n$** con 69 cromosomi oppure uno **tetraploide con $4n$** cioè 92 cromosomi. Di solito questi abortiscono durante il primo trimestre di

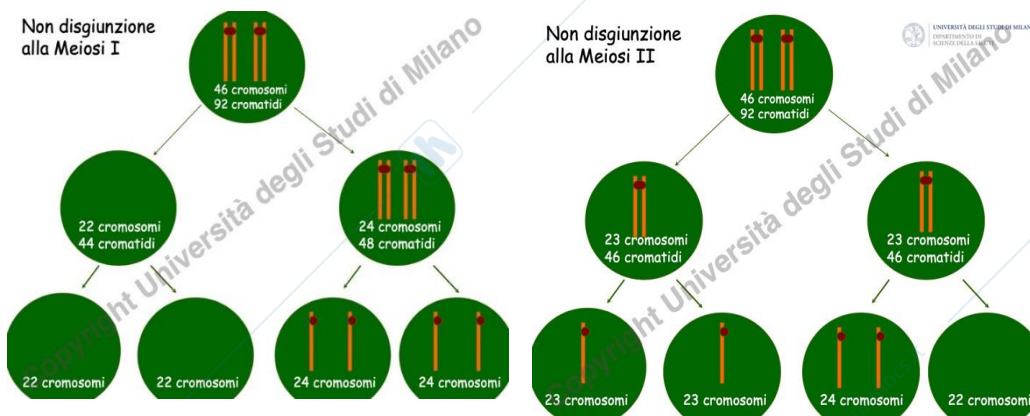
gravidanza. Queste anomalie si formano quando due spermatozoi arrivano esattamente nello stesso istante fecondando entrambi lo stesso oocita, da qui la formazione di un triploide. Nell' altro caso può succedere che non si completi la meiosi e nel nucleo della cellula maschile o femminile vengano mantenuti il doppio dei cromosomi e quindi anche in questo modo si ottiene triploidia.

La tetraploidia si ottiene invece quando si ha un errore nella meiosi: alla prima divisione meiotica, infatti, c'è un errore poiché si ha un'*endomitosi* ovvero vengono duplicati i propri cromosomi dunque diventa $4n$ senza che la cellula poi si divida.

La tetraploidia è molto meno frequente rispetto alle triploidie.

Le **aneuploidie**: si definiscono aneuploidi le cellule con cromosomi in più o in meno ma non equivalenti a un multiplo esatto del corredo aploide. Si parla ad esempio di trisomie, monosomie e marcatori sovranumerari. L'aneuploidia è un'anomalia alla base di un alterato sviluppo fetale che nella maggior parte dei casi vede l'aborto ma può arrivare anche alla nascita. La frequenza di nati vivi è dello 0,38%.

Il principale meccanismo all'origine di questa anomalia è la non disgiunzione cromosomica durante la meiosi, il rischio è correlato all'età materna. (la non disgiunzione è la mancata separazione dei cromosomi omologhi se avviene nella meiosi I o può riguardare la non separazione dei cromatidi fratelli se avviene nella meiosi II).



Se viene fecondato uno dei prodotti di queste meiosi avremo quindi o trisomie o monosomie. Le trisomie possono essere anche causate da problemi durante l'anafase, problemi nel legame col fuso meiotico.

Le aneuploidie degli autosomi compatibili con la sopravvivenza post-natale sono: la trisomia del cromosoma 18 che causa la sindrome di Edwards, la trisomia del cromosoma 13 che causa la sindrome di Patau e la trisomia 21. Tutte le altre, non è che non si formino, ma non arrivano alla nascita.

Cariotipo da ricordare: **47, XX, +21** bambina con **sindrome di Down**

La frequenza è di 1/850 nati vivi al concepimento, la frequenza è molto più elevata ma i 2/3 vengono abortiti spontaneamente e il 20% nascono morti. Tale frequenza risulta costante nelle diverse popolazioni del mondo, l'unico fattore che ne modifica la prevalenza è rappresentato dalla diffusione della diagnosi prenatale. L'incidenza è correlata con l'età



Sindrome di Down (1959)

materna. È la più frequente condizione, il 95% dei bambini con trisomia 21 sono dovuti ad errori durante la meiosi I.

Il 5% dei casi di trisomia è trasmesso da un genitore portatore di una traslocazione robertsoniana che coinvolge il cromosoma.

Le **caratteristiche fenotipiche** della sindrome di Down sono:

ipotonia (tono muscolare basso), mongolismo (corpo basso e tozzo e collo grosso), viso rotondo e piatto, macroglossia (ingrossamento lingua), taglio palpebrale obliquo, orecchie piccole, nuca piatta, cardiopatie congenite, microcefalia, ritardo psicomotorio.

(caratteristica che compare in tutte le malattie dovute a problemi con il numero dei cromosomi).

Cariotipo da ricordare: **47, XY, +18** bambino con **sindrome di Edwards**: frequenza alla nascita

1/8000 nati vivi, circa il 50% degli affetti muore entro il primo mese di vita e solo il 10% raggiunge l'anno. Circa il 95% degli zigoti è abortito spontaneamente.

Analogamente alla trisomia 21 è stata dimostrata una correlazione tra l'aneuploidia e l'età materna.



Sindrome di Edwards (1963)

Le caratteristiche fenotipiche della sindrome di Edward sono: orecchie faunesche, ritardo psicomotorio, micrognazia (mandibola più piccola rispetto alla mascella), difetti di chiusura del tubo neurale,

accavallamento delle dita, piede torto (ruotato verso l'interno), ipotonia, importanti malformazioni cardiache, renali, morte precoce,

Cariotipo da ricordare: **47, XX, +13** femmina con **sindrome di Patau**: frequenza alla nascita di

1/12000, le attese di vita sono analoghe a quelle osservate per la trisomia 18, circa il 97% delle trisomie 13 è abortito spontaneamente, il 90% ha trisomia libera, negli altri casi la trisomia è forma molto particolare trasmessa da un genitore portatore di una traslocazione robertsoniana coinvolgente il cromosoma 13.



Sindrome di Patau (1963)

Caratteristiche fenotipiche della sindrome di Patau:

gravi difetti del sistema nervoso centrale, ritardo psicomotorio, cardiopatia, morte precoce, labio-paltoschisi, microftalmia (malformazione dell'occhio), microcefalia, ciclopia, esadattilia.

Grafico che mostra la correlazione tra età della madre e possibilità di avere figli con trisomia 13, 21 e 18

Maternal Age	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13
15 - 19	1:1600	1:17000	1:33000
20 - 24	1:1400	1:14000	1:25000
25 - 29	1:1100	1:11000	1:20000
30 - 34	1:700	1:7100	1:14000
35 - 39	1:240	1:2400	1:4800
40 - 44	1:70	1:700	1:1600
45 - 49	1:20	1:650	1:1500

Le altre **sindromi** che andiamo a studiare sono quelle che riguardano gli **eterosomi** ovvero il cromosoma X e Y.

Due sindromi che andiamo a studiare sono: la **sindrome di Turner**, con cariotipo 45 X e la **sindrome di Klinefelter**, 47 XXY. Queste due malattie hanno aiutato a scoprire come venisse determinato il sesso nell'uomo. (Le Turner hanno un X ma non hanno un Y e sono femmine e Klinefelter hanno XX quindi potrebbero essere potenzialmente femmine ma avendo la Y effettivamente sono maschi).

Quando le aneuploidie coinvolgono i cromosomi del sesso di solito l'errore è nella spermatogenesi mentre negli autosomi era nell'ovogenesi. Quest'anomalia non è correlata con l'età materna.

Sindrome di Turner

Cariotipo 45, X (fenotipicamente femmine)

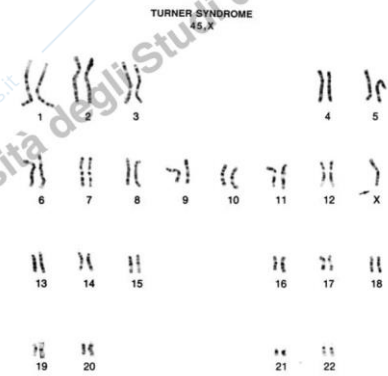
Frequenza alla nascita: 1:5000 – 1:10.000 femmine. Circa il 99% degli zigoti è abortito, la frequenza dei prodotti del concepimento 45, X è alta. Avere un cariotipo senza un cromosoma non è sopportato bene dal corpo, al concepimento o poco dopo vengono tutte abortite.

La diagnosi può essere fatta alla nascita per la presenza di cute in esubero sulla nuca, o può essere posta solo più tardi per bassa statura (inferiore a 140 cm), amenorrea primaria (non avranno le mestruazioni = sterili), collo a "tenda" (pterigio) [collo tozzo, capezzoli laterali, problemi di osteoporosi]. Presentano infantilismo dei caratteri sessuali secondari. Capacità cognitive/intellettive normali. Tessuto ovarico costituito da connettivo, caratteri sessuali poco sviluppati. (La somministrazione di ormoni sessuali migliora lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari) a sterili

Immagine del cariotipo di una bambina affetta da sindrome di Turner: possono avere problemi alle articolazioni, cardiopatie, ma niente a che vedere con i problemi che hanno sindrome dati dagli autosomi

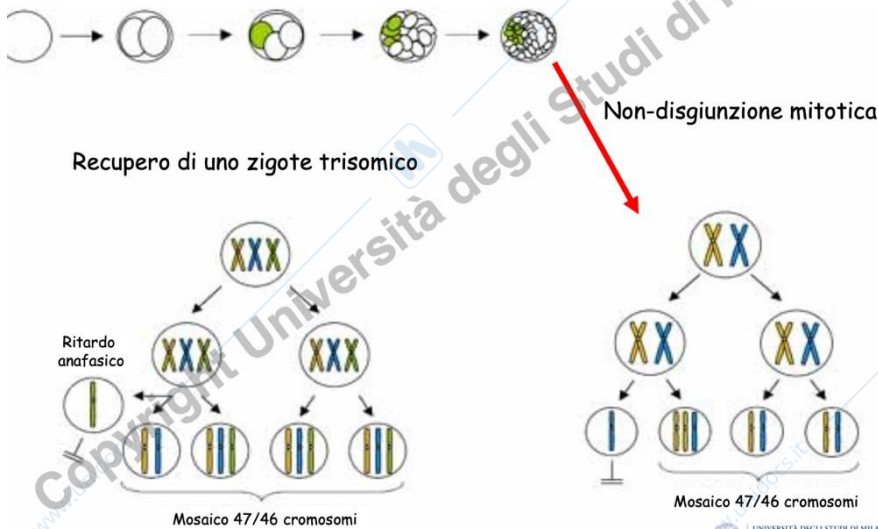


SINDROME di TURNER



Il mosaicismo: il mosaicismo è quando noi vediamo in uno stesso individuo due o più linee cellulari geneticamente diverse che derivano da un unico zigote. Di solito quando ci troviamo davanti un mosaicismo il fenotipo della malattia è meno grave. Questo perché si uniscono per l'appunto due linee germinali differenti e quindi l'errore è in parte coperto o si manifesta meno. Come si possono formare i mosaici? Di solito si formano o perché lo zigote trisomico, durante le divisioni fa degli errori e per un secondo errore si crea una linea normale (alla fine avremo un mosaico 47/46) a causa di una perdita di un cromosoma in anafase, oppure lo zigote è normale e avviene una non disgiunzione nella meiosi. La cellula monosomica di solito muore perché ha uno

svantaggio e rimane quella trisomica. Quindi avremo un po' di cellule con la trisomia e un po' di cellule normali che derivano da uno zigote di partenza senza nessun errore.



La sindrome di Klinefelter

Sono sempre maschi, il cariotipo è **47 XXY** e l'incidenza è molto più alta: 1/1000 maschi nati vivi. Questo cariotipo non viene abortito spontaneamente perché non dà troppo fastidio al fenotipo. Presentano ipogonadismo caratterizzato da bassi livelli di testosterone, testicoli di piccole dimensioni, azoospermia costante, può essere presente ginecomastia (ingrossamento del tessuto mammario), e si hanno capacità cognitive normali ma con QI verbale al limite inferiore del range di normalità.

La diagnosi di solito viene posta durante le indagini per infertilità, nel 50% dei casi l'errore è meiotico paterno. Di solito sono di statura molto alta e presentano il grasso localizzato in sedi di accumulo tipiche femminili, ad esempio sui fianchi.

Altri due casi tipici per che appaiono normali fenotipicamente, sono femmine con tre X quindi **47 XXX**. Frequenza alla nascita: 1:1000. Il fenotipo è normale, può essere presente raramente sterilità e irregolarità del ciclo. Le pazienti fertili hanno figli normali. Capacità cognitive/intellettive normali, ma con QI al limite inferiore del range di normalità e maschi con **47 XYY** Frequenza 1:1000. Non è associato ad un quadro clinico riconoscibile. La fertilità è normale. Capacità cognitive/intellettive normali, ma con QI verbale al limite inferiore del range di normalità.

Le *aneuploidie dei cromosomi sessuali* sono più compatibili con la vita rispetto a quelle che coinvolgono agli autosomi perché questi due cromosomi sono molto particolari: del cromosoma X è essenziale averne uno, esso contiene moltissimi geni, quasi 1000, importantissimi e che non riguardano la determinazione del sesso. Queste malattie sopra descritte sono sopportate grazie al concetto della **compensazione del dosaggio genico**, grazie al corpo di Barr. Questo consiste nell' inattivazione del cromosoma X quando essi sono in più di uno. Nel dosaggio viene di solito inattivato il 75% del cromosoma x ma viene mantenuto attivo il 25%. La maggior parte dei cromosomi Y è invece geneticamente inerte: è costituito da eterocromatina costitutiva, e in quantità di geni il cromosoma Y ne contiene molti meno rispetto all'X. Essi hanno la funzione di

determinare il sesso. È per questo che le anomalie del cromosoma Y sono sopportate bene, perché il cromosoma ha un'importanza relativa. La **nullisomia** del cromosoma X non permette lo sviluppo dell'embrione, anche in presenza del cromosoma Y

Le femmine, quindi, sono come un **mosaico funzionale**, alcune cellule avranno espressi gli alleli dell'X paterno e in altri l'X materno.

La frequenza delle anomalie cromosomiche è direttamente correlata con l'età materna e inversamente correlata con l'epoca gestazionale. Direttamente correlata con l'età materna perché: noi abbiamo che il 90% delle aneuploidie è di origine materna e il 10 di origine paterna e questo è dovuto alle caratteristiche peculiari della oogenesi.

I concepimenti anomali sono una proporzione molto alta: circa il 20-40% di embrioni al preimpianto sono anomali, durante la gravidanza questa frequenza cala perché c'è l'aborto spontaneo; molti di questi, infatti, non sono compatibili con la vita e quindi vengono eliminati. Il problema è proprio nella oogenesi perché al contrario della spermatogenesi, che è un processo continuo, la **meiosi femminile** inizia quando il feto femmina è in utero perché nell'ovaio inizia la meiosi intorno al terzo mese di gravidanza. 6-7 milioni di oogoni di partenza. Dopo la fase proliferativa molti oogoni degenerano e quelli che restano diventano oociti primari ed entrano in profase I. Durante la vita fetale e i primi anni di vita si ha una rapida diminuzione degli oociti primari. La diminuzione continua poi più lentamente fino alla pubertà dove il numero di oociti è ormai ridotto a 200.000-400.000. Esse sono già tutte cellule che hanno iniziato la meiosi I che stanno ferme fino al primo ciclo. A questo punto partono 2-3 follicoli che proseguono la meiosi; solo uno la finisce. A questo punto questo oocita secondario si ferma in metafase II e completa la sua meiosi solamente se fecondata, altrimenti degenera. Quindi un oocita che è fermo da 40 anni può subire dei danni che portano i cromosomi a non dividersi correttamente.

Grafico illustrativo in diversi momenti della gravidanza che illustra la frequenza della sindrome di Down in relazione con l'età della madre.

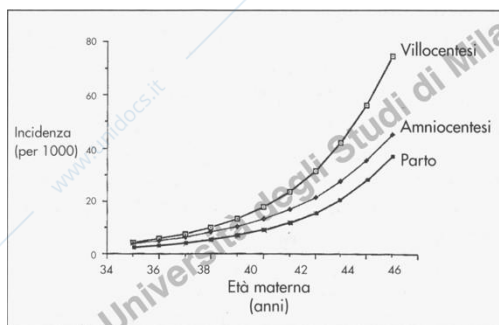


Figura XI.5 - Frequenze della sindrome di Down alla nascita, all'amniocentesi e alla villoscentesi in madri di diverse classi di età.

Grafico illustrativo del rischio di un qualunque sbilanciamento cromosomico in rapporto all'età materna alla nascita

Età materna	Rischio	Età materna	Rischio
15	1/1859	31	1/459
16	1/1789	32	1/392
17	1/1712	33	1/332
18	1/1631	34	1/278
19	1/1546	35	1/230
20	1/1456	36	1/172
21	1/1361	37	1/188
22	1/1264	38	1/153
23	1/1167	39	1/97
24	1/1070	40	1/76
25	1/972	41	1/59
26	1/876	42	1/45
27	1/784	43	1/34
28	1/695	44	1/25
29	1/611	45	1/19
30	1/532	46	1/14

Tabella VI.1 - Rischio di un qualunque sbilanciamento cromosomico in rapporto all'età materna alla nascita.

ANOMALIE CROMOSOMICHE DI STRUTTURA:

Le anomalie di struttura possono essere bilanciate o sbilanciate.

- **Delezioni** (quantità)
- **Duplicazioni** (quantità)
- **Inversioni** (disposizione)
- **Traslocazioni** (localizzazione)

Se abbiamo quantità di DNA in più o in meno abbiamo delle anomalie che saranno sbilanciate, in particolare avremo casi di delezioni o duplicazioni. Se invece rimane inalterata la quantità di DNA osserveremo casi di anomalie cromosomiche di struttura definite inversioni e traslocazioni.

Nelle inversioni abbiamo un cromosoma che si rompe, inverte la parte rotta, e si attacca invertito, e quindi non abbiamo più la disposizione corretta e ordinata dei geni. Mentre le traslocazioni avvengono tra cromosomi non omologhi che si scambiano reciprocamente le parti. I riarrangiamenti strutturali sono circa 1/375 alla nascita di cui i bilanciati sono circa 1/500 e non causano perdita o acquisto di frammenti cromosomici. Quasi sempre il fenotipo è normale mentre negli sbilanciati comportano perdita o acquisto di frammenti cromosomici il fenotipo è alterato o aborto.

Immagini di **delezione terminale**: un pezzo di cromosoma è andato perso e quindi avremo dei geni solo sul rispettivo omologo

Delezione terminale

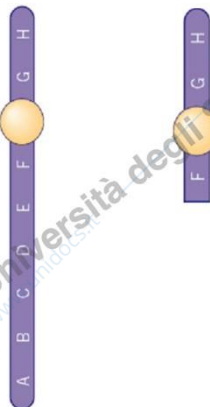
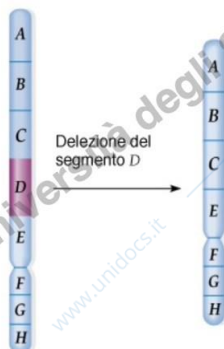


Immagine di **delezione interstiziale**

Delezione di un segmento cromosomico (in questo caso, D).

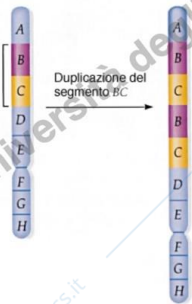


Viene portato via un pezzo di cromosoma interstiziale quindi avremo una monosomia per il tratto di cromosoma D.

Nel caso della **duplicazione** invece noi abbiamo che un pezzo di cromosoma si duplica e quindi

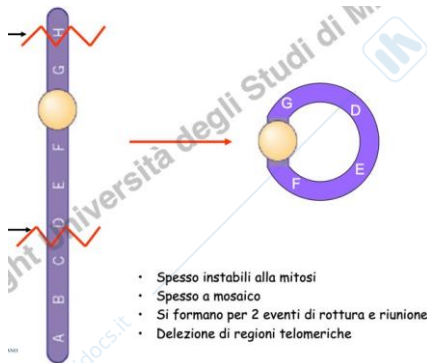
avremo due copie sullo stesso cromosoma quindi possiamo parlare di trisomia parziale

Duplicazione con ripetizione di un segmento cromosomico (in questo caso, BC).



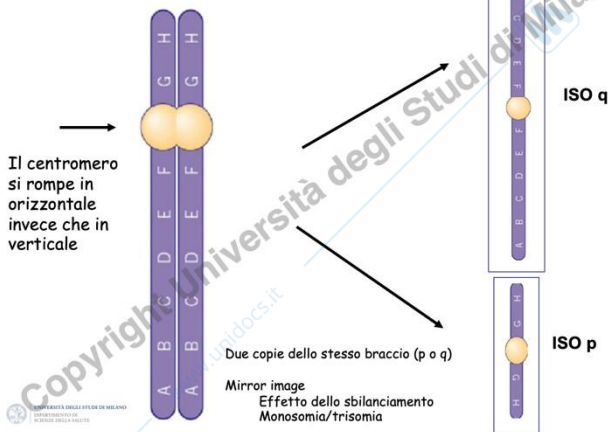
Queste delezioni e duplicazioni avvengono perché ci sono degli errori nel crossing over tra gli omologhi che non avvengono nello stesso punto e quindi si creano contemporaneamente delezioni e duplicazioni.

I **RING o cromosomi ad anello** si possono trovare quando il cromosoma si rompe ai due lati e tende ad unirsi a queste due estremità rotte. Vengono persi tratti del cromosoma



L'**isocromosoma** invece è una rottura anomala del centromero, invece che rompersi verticalmente si rompe orizzontalmente; si ottengono un braccio lungo chiamato "iso q" e un braccio corto "iso p".

Isocromosoma monocentrico



TRASLOCAZIONI: le traslocazioni sono alterazioni cromosomiche che determinano un cambiamento della posizione di segmenti cromosomici e sono di due tipi:

traslocazione reciproca bilanciata, ovvero tra due cromosomi che si scambiano tratti di DNA. Un pezzo di un cromosoma si attacca all'altro e viceversa, questo individuo sarà bilanciato perché non ha perso né guadagnato materiale genetico. Il problema compare quando questi cromosomi faranno i gameti, perché la presenza di due omologhi che non sono più tanto omologhi, creerà problemi alla meiosi.

L'altra **traslocazione** possibile è quella **robertsoniana** che è un tipo di traslocazione che avviene solo tra i cromosomi acrocentrici (13, 14, 15, 21, 22). Succede praticamente che fanno la fusione centrica ovvero si fondono i due bracci lunghi dei due cromosomi e i due bracci piccoli si fondono per fare un piccolo cromosoma che viene perso perché in realtà la fusione avviene senza il centromero. quindi si formerà aneuploidia.

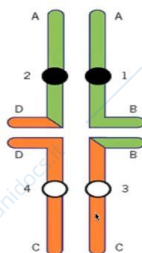
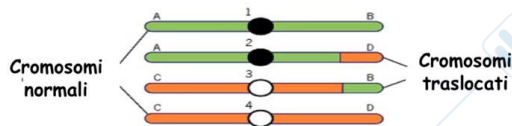
Non danno perdita di geni rilevanti perché essendo cromosomi acrocentrici hanno pochi geni e sono sequenze ripetute.

Traslocazione reciproca tra cromosoma 2 e cromosoma 17 (guarda foto)



TUDI DI MILANO **46,XX,t(2;17)(q21.3;q25.2)**

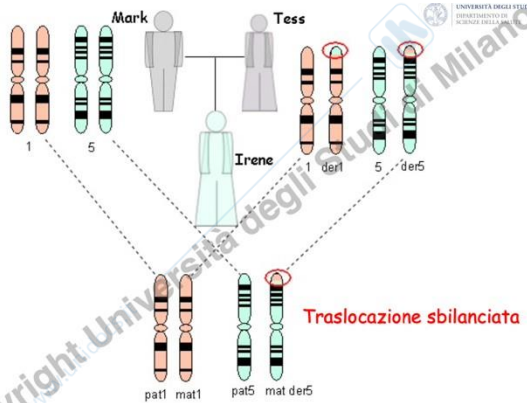
Il problema si ha durante la meiosi quando vengono fatti i gameti perché i due cromosomi omologhi cercano da appaiarsi in modo da avere tutte le regioni di omologia vicine e si appaiano con una struttura a croce.



Appaiamento dei cromosomi traslocati: struttura a croce

Essi durante la meiosi si divideranno a caso. La separazione errata degli omologhi durante la meiosi può dare origine a gameti sbagliati.

Esempio di un caso:



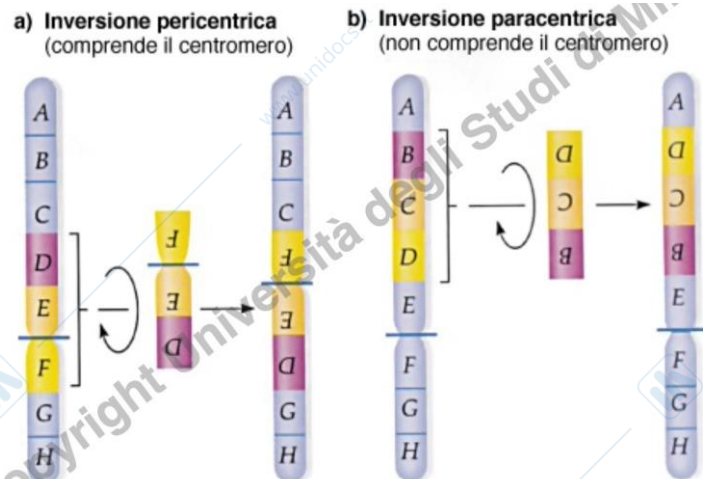
Abbiamo una traslocazione piccola. Sbilanciamenti non troppo grandi portano alla nascita di una bambina con gravi problemi. La mamma ha avuto una traslocazione tra l'1 e il 5 di una piccola parte telomerica. Durante la formazione dei gameti il padre ha dato un 1 normale e un 5 normale nello spermatozoo ma la madre nella cellula uovo ha avuto una segregazione non favorevole e nella cellula uovo sono finiti un 1 normale ma un 5 dell'altro cromosoma e quindi si ha una trisomia parziale di una regione e una monosomia parziale di tutti i geni della parte telomerica del 5 che hanno un grave effetto sul fenotipo.

Il fenotipo dipende dalle porzioni cromosomiche coinvolte. Può determinare aborto, morte in utero, nascita di bambino con malformazioni e ritardo mentale.

La più comune traslocazione robertsoniana nella nostra specie si ha tra il cromosoma 13 e il 14.

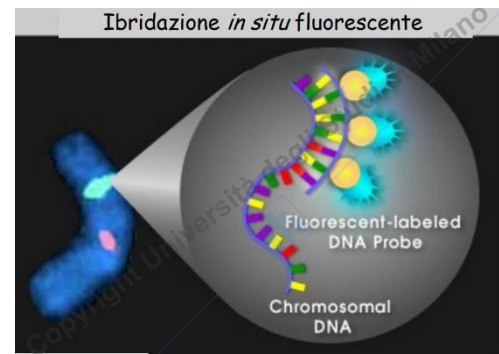
Le **inversioni**.

Nelle inversioni si ha la rottura di pezzi di cromosomi che si invertono per poi riattaccarsi invertiti al cromosoma. Se l'inversione include il centromero viene detta pericentrica e se non lo include viene detta paracentrica. I due cromosomi omologhi non saranno più omologhi perché l'ordine dei geni sui cromosomi non sarà più uguale quindi per appaiarsi alla meiosi si appaiono come anelli affinché riescano ad affiancarsi le parti omologhe dei cromosomi. Hanno fenotipo normale ma possono avere problemi alla meiosi perché non sempre va a buon fine. Possono verificarsi errori nella corretta separazione degli omologhi interessati dalla traslocazione o dall'inversione. Questi errori di segregazione degli omologhi portano alla formazione di gameti anomali con sbilanciamento del materiale ereditario. Ciò può causare problemi di infertilità, poliabortività.



La **citogenetica molecolare** è una di quelle tecniche che oggi ci consentono di studiare meglio le anomalie strutturali, in particolare le più pericolose che sono le piccole delezioni, ovvero piccole perdite di materiale genetico (che a volte a volte guardando il cromosoma sono difficilmente visibili).

La citogenetica molecolare è una via di mezzo tra le tecniche di citogenetica (l'analisi partendo dal cariotipo) e l'utilizzo di componenti molecolari, ossia piccole sonde costituite da piccole sequenze di DNA marcate di solito con dei cromosomi.



Nella citogenetica molecolare si parte comunque dal cariotipo, dopodiché sfruttiamo queste piccole sonde marcandole con colori diversi, denaturiamo poi il DNA del cromosoma e lo si fa ibridare con la sonda, la quale va a cercare la sua sequenza complementare (per esempio posso usare la sonda del gene dell'elastina per andare a vedere se il paziente lo ha o l'ha perso), a questo punto se sul cromosoma vi è ancora il gene la sonda si lega ad esso, se invece manca, è stato deletato. Se la sonda non si lega non vi è alcun segnale.

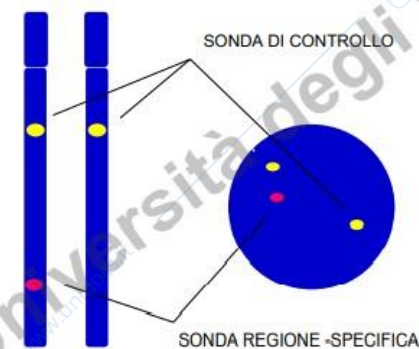
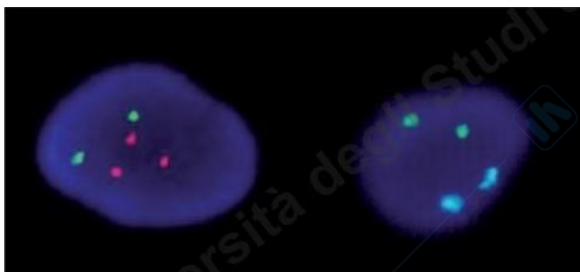
Solitamente si usa una **sonda di controllo** di un colore che si lega al centromero e un'altra sonda che è complementare alla sequenza che stiamo studiando. Questa tecnica si chiama **ibridazione in situ fluorescente**.

IBRIDAZIONE IN SITU FLUORESCENTE (FISH)

La **FISH** è una tecnica molto potente che consente di rilevare anomalie submicroscopiche anche in cellule che non si stanno dividendo (nuclei interfascici), non è più quindi necessaria la metafase, ma posso vedere la stessa informazione anche solo nel nucleo.

Le sonde possono essere di tutti i tipi e di tutti i colori possibili, possono riguardare un singolo gene o tutto il cromosoma (questi tipo di sonde si chiamano *painting* appunto perché colorano tutto il cromosoma, e si usano principalmente per studiare una traslocazione). Con le sonde centromeriche, esempio in figura, è possibile vedere se nei nuclei interfascici di alcuni

amniotici ci fosse una trisomia del cromosoma 21, e tale cromosoma è quello con il centromero rosso e in questo caso ne sono evidenti tre. Queste indagini vengono fatte entro il primo trimestre di gravidanza.



DELEZIONI

Le delezioni che possono essere studiate con la tecnica di FISH sono:

Terminali (ovvero della parte terminale del cromosoma):

- Cri du chat, 5p15 (pianto del gatto)
- Wolf-Hirschhorn, 4p36

Interstiziali (ovvero sono interne al cromosoma):

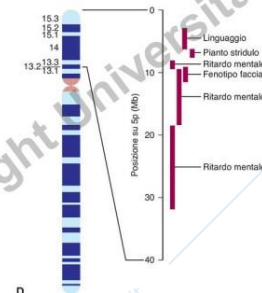
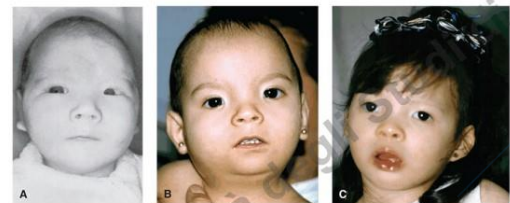
- Williams, 7q11.13
- Retinoblastoma, 13q14
- Prader-Willi, 15q11-q13
- Angelman, 15q11-q13
- DiGeorge, 22q11.2
- WAGR, 11p13

Sindrome di Cri du Chat

Tutte quante le delezioni sono gravi, poiché la perdita di materiale genetico è sopportata meno bene rispetto ad un acquisto di materiale genetico.

La sindrome del pianto del gatto è chiamata in questo modo perché i bambini neonati affetti da tale delezione invece che piangere, sembra quasi che miagolino in quanto possiedono un'anomalia della laringe. Hanno comunque un ritardo mentale e microcefalia, ma la cosa interessante è che in quasi tutti gli affetti vi sono delle caratteristiche fisiche comuni

La delezione in questa parte del 5, a seconda della grandezza della delezione troviamo nel fenotipo delle caratteristiche; per esempio, si è visto che se viene deleta la parte più terminale ci saranno anomalie del linguaggio, se invece viene eliminata quella sotto riscontrerà un pianto stridulo, se viene completamente tolta la parte 1-4 il soggetto avrà un ritardo mentale.



Sindrome di Di George o sindrome velo-cardio-facciale, delezione 22q11.2

Ipoplasia del timo e delle paratiroidi con cardiopatia congenita, lievi dismorfismi facciali, labio/palatoschisi, ovvero l'assenza del palato con il labbro leporino.

L'incidenza è tra le più alte per quanto riguarda le microdelezioni (1:5.000)

La delezione non è quasi mai visibile mediante citogenetica classica, nemmeno con bandeggio ad alta risoluzione.

L'indagine di laboratorio per evidenziarla è la FISH con sonde locus-specifiche in grado di evidenziarla in maniera inequivocabile



Analisi FISH eseguita con sonda a sequenza unica specifica per Di George Chromosome Region

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari