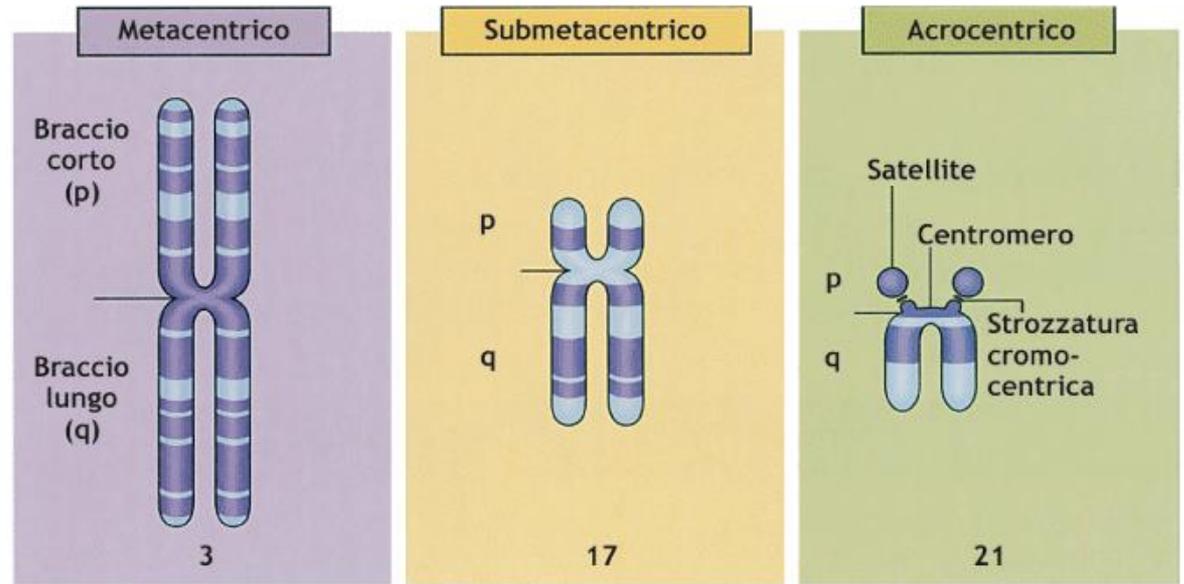
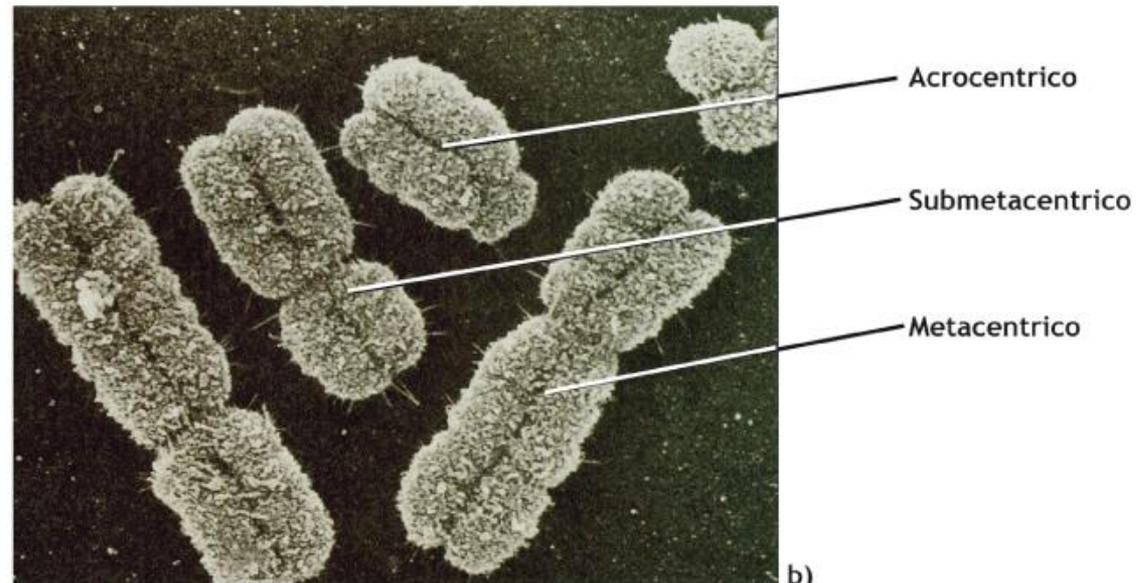


CITOGENETICA

CROMOSOMI



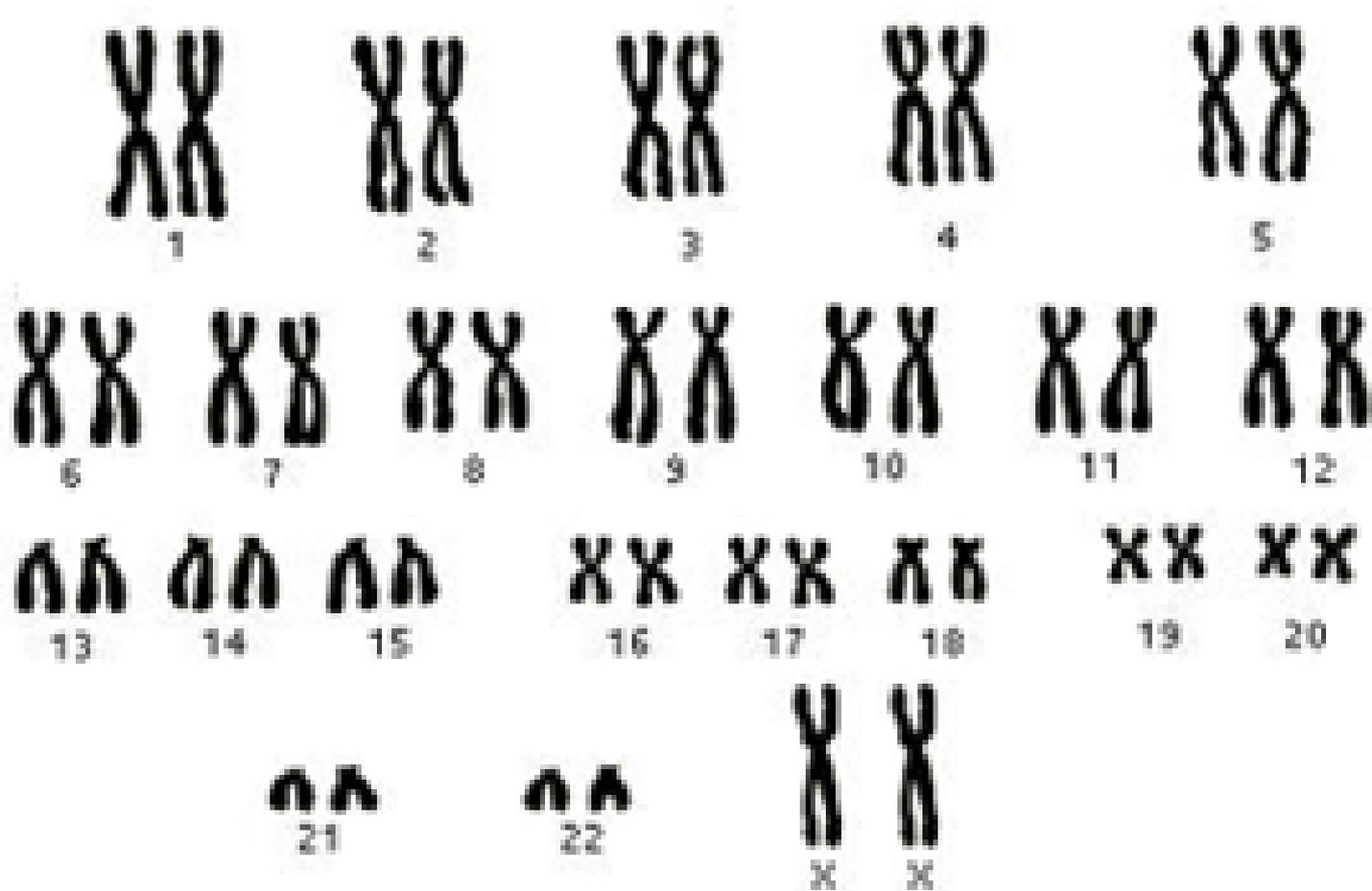
a)



b)

Figura 12.4 Classificazione generale dei cromosomi basata sulla posizione del centromero. (a) Rappresentazione schematica dei tre tipi di cromosoma; (b) immagine microscopica di una piastra metafase che mostra gli stessi tipi di cromosomi.

CARIOTIPO



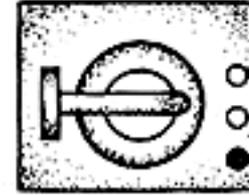
CARIOTIPO



Siringa con anticoagulanti



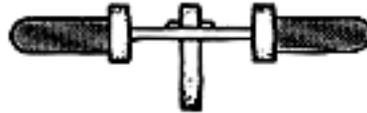
terreno nutritizio con
fitoemoagglutinina



incubazione a 37°C per 2-3 gg.
per far avvenire divisioni cellulari



Aggiunta di una soluzione
a bassa concentrazione salina
(gonfia le cellule e disperde i cromosomi)

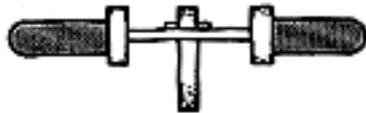


centrifugazione per raccogliere
le cellule e scarto del sovrnatante

1 ora e 30'



aggiunta di colchicina



Si pellettizzano le cellule



aggiunta di una miscela
di acido e alcool



si preleva una goccia
della sospensione



Si osservano i
cromosomi al
microscopio



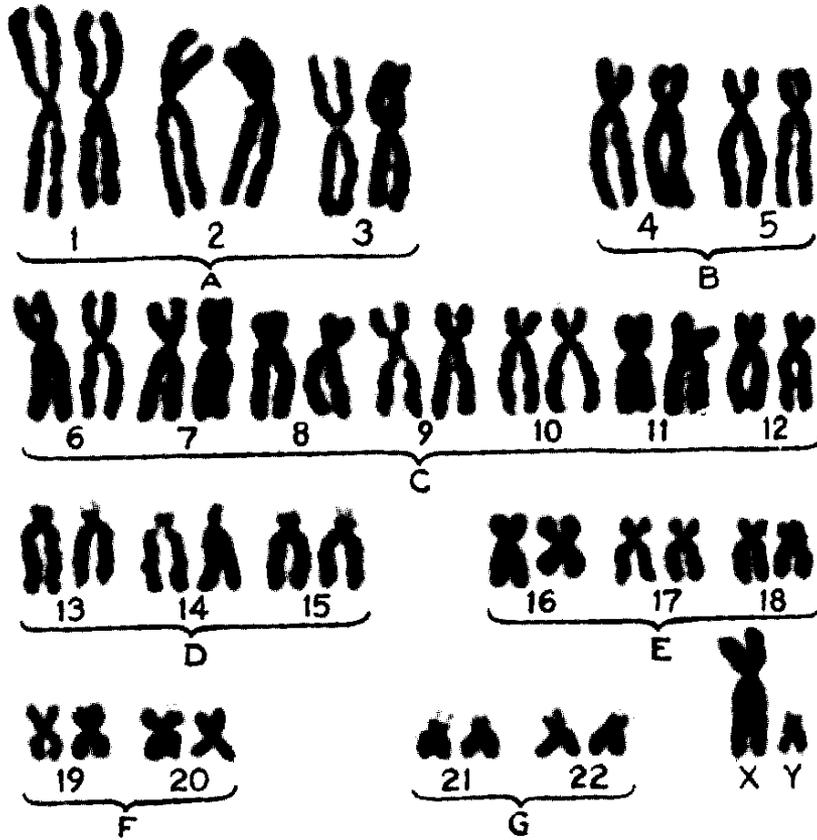
aggiunta di colorante



si sparge sul vetrino e si fa asciugare



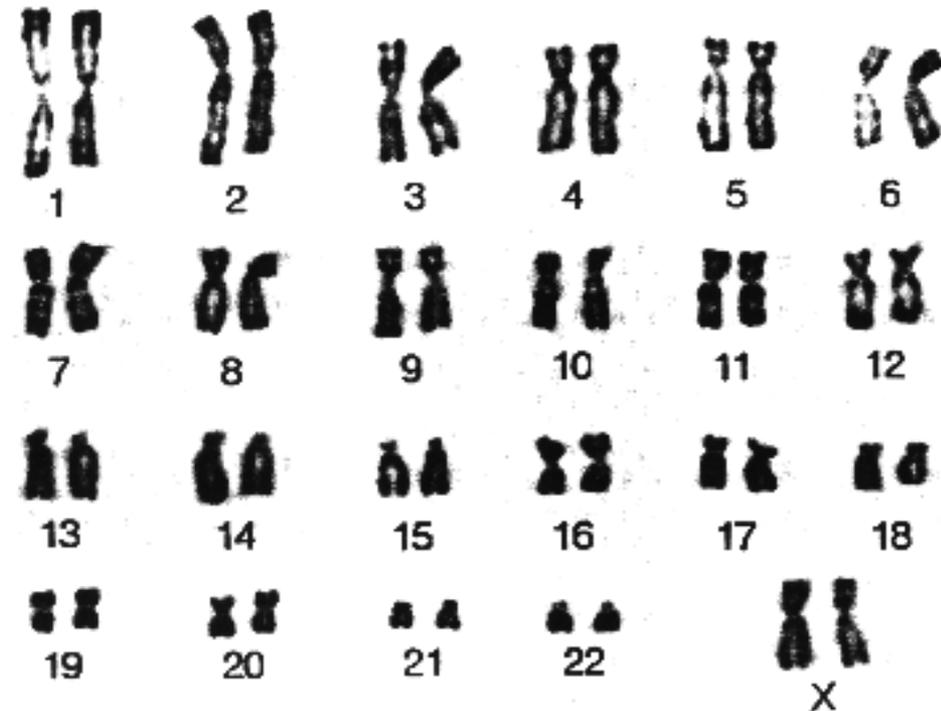
CARIOTIPO UMANO



46 cromosomi.

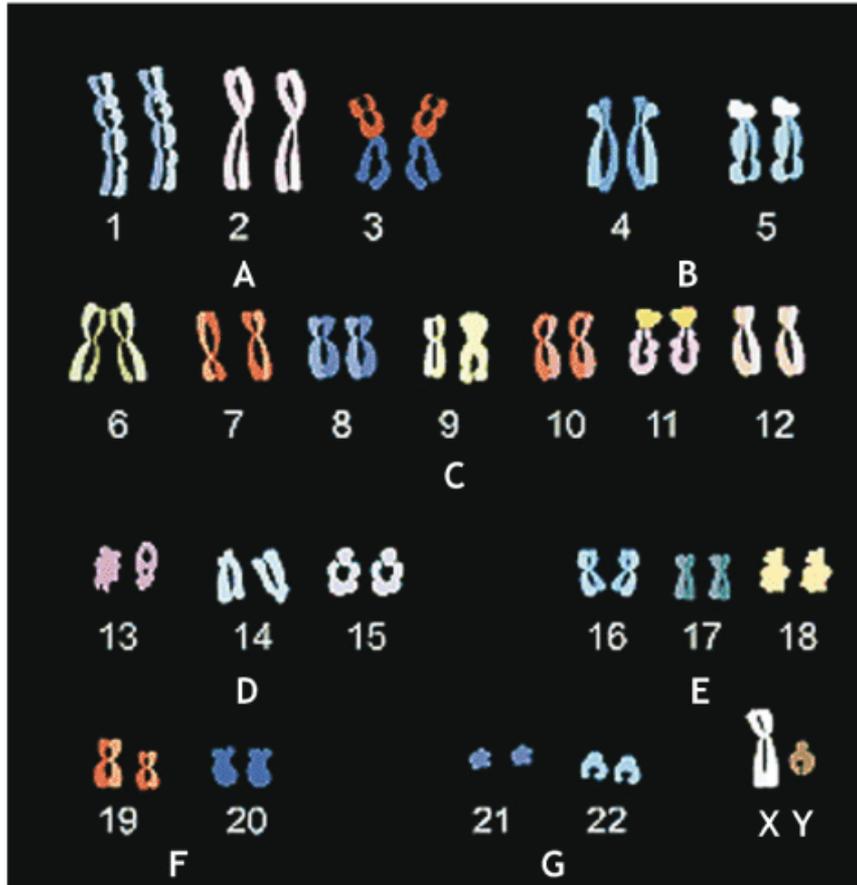
44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi
2 cromosomi sessuali

← Il cariotipo normale di un maschio



Il cariotipo normale di una femmina →

CARIOTIPO



a)



b)

Figura 12.1 Cariotipo. (a) Micrografia della piastra metafase di un individuo umano normale, di sesso maschile, con 46 cromosomi; (b) utilizzo di un software per la ricostruzione di un cariotogramma: i cromosomi omologhi vengono appaiati ed ordinati secondo la loro lunghezza.

CARIOTIPO

VILLOCENTESI

10° settimana

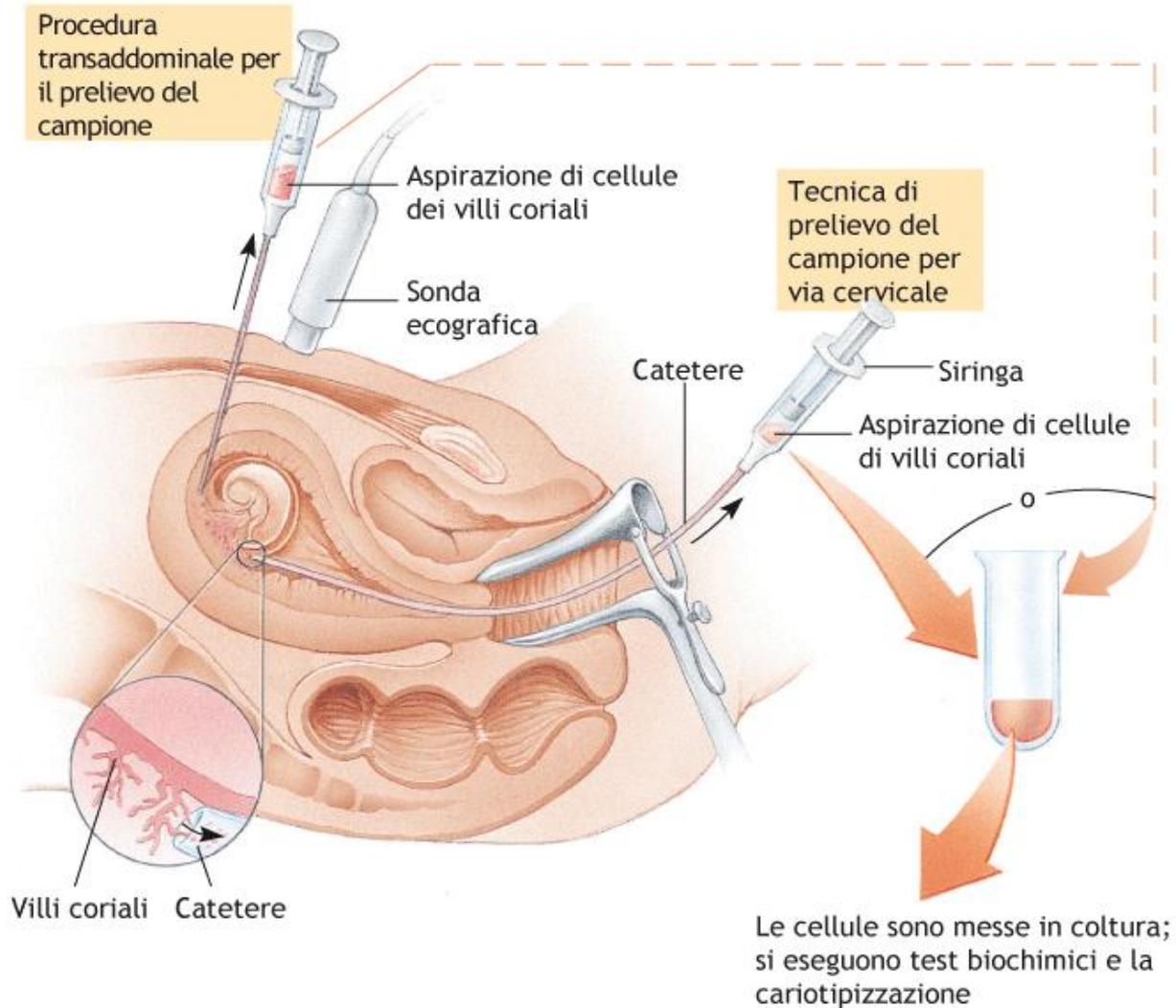


Figura 12.2 **Tecnica di prelievo dei villi coriali.** Attraverso la vagina viene introdotto in utero un catetere con il quale è possibile prelevare un campione di cellule fetali dal corion.

CARIOTIPO

AMNIOCENTESI

15°.18° settimana

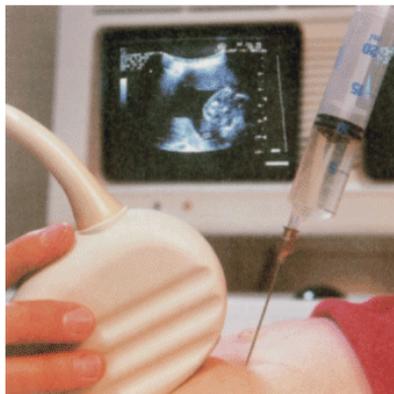
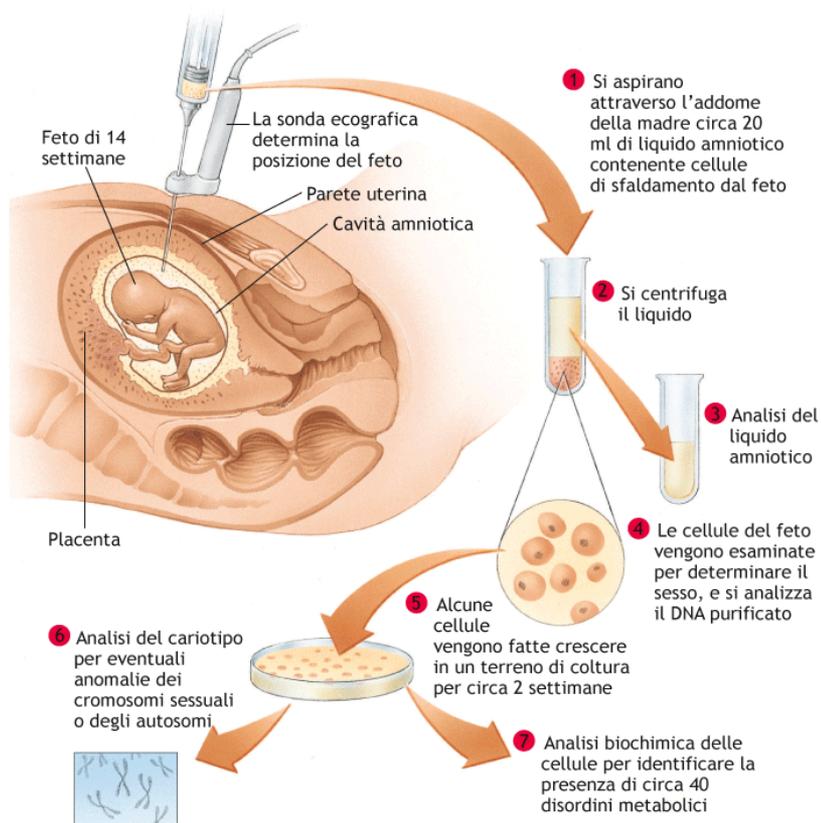
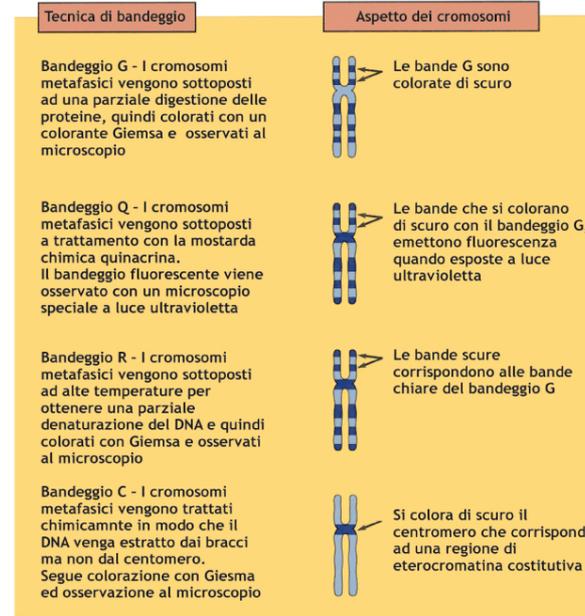
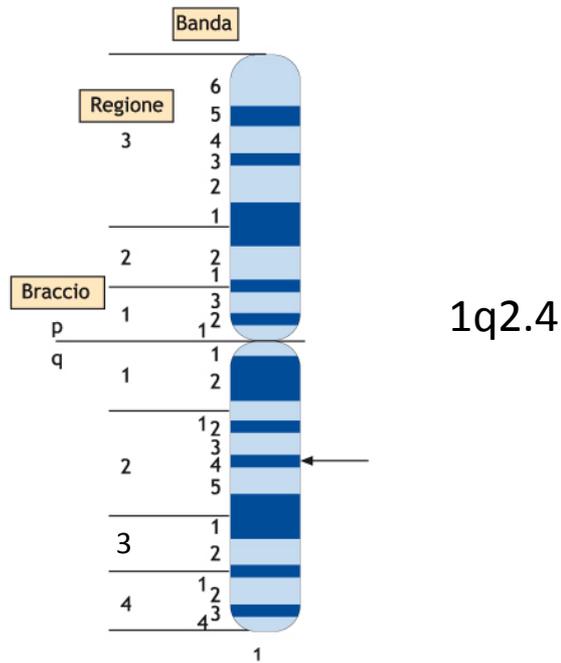


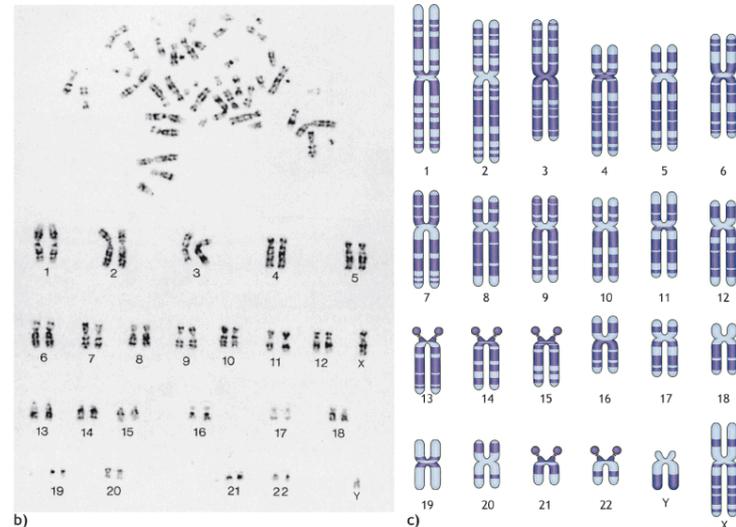
Figura 12.3 Amniocentesi. La procedura prevede l'inserimento di un ago, attraverso le pareti addominale ed uterina, con il quale è possibile aspirare un campione di liquido amniotico da cui si possono selezionare cellule fetali che, coltivate ed espanse opportunamente, consentiranno le analisi programmate.

CARIOGRAMMA



a)

Figura 12.6 Rappresentazione del cromosoma umano (n. 1). Si evidenziano centromero, braccio corto (p) e lungo (q), regioni e relative bande numerate; come esempio la freccia indica il locus 1q2.4 cioè posizionato sul cromosoma 1, braccio lungo, regione 2, banda 4.



b)

c)

Figura 12.5 Bandeggio dei cromosomi. (a) Rappresentazione delle usuali procedure di colorazione dei cromosomi per la preparazione dei cariotipi. (b) Cromosomi umani colorati con Giemsa: in evidenza le bande G. (c) Rappresentazione schematica dell'ideogramma con bande G.

La perdita o l'acquisizione di tratti di DNA sono apprezzabili con il cariotogramma se $\geq 6 \times 10^6$ pb

in alternativa.....

CITOGENETICA MOLECOLARE

FISH

Fino a 5.000 pb

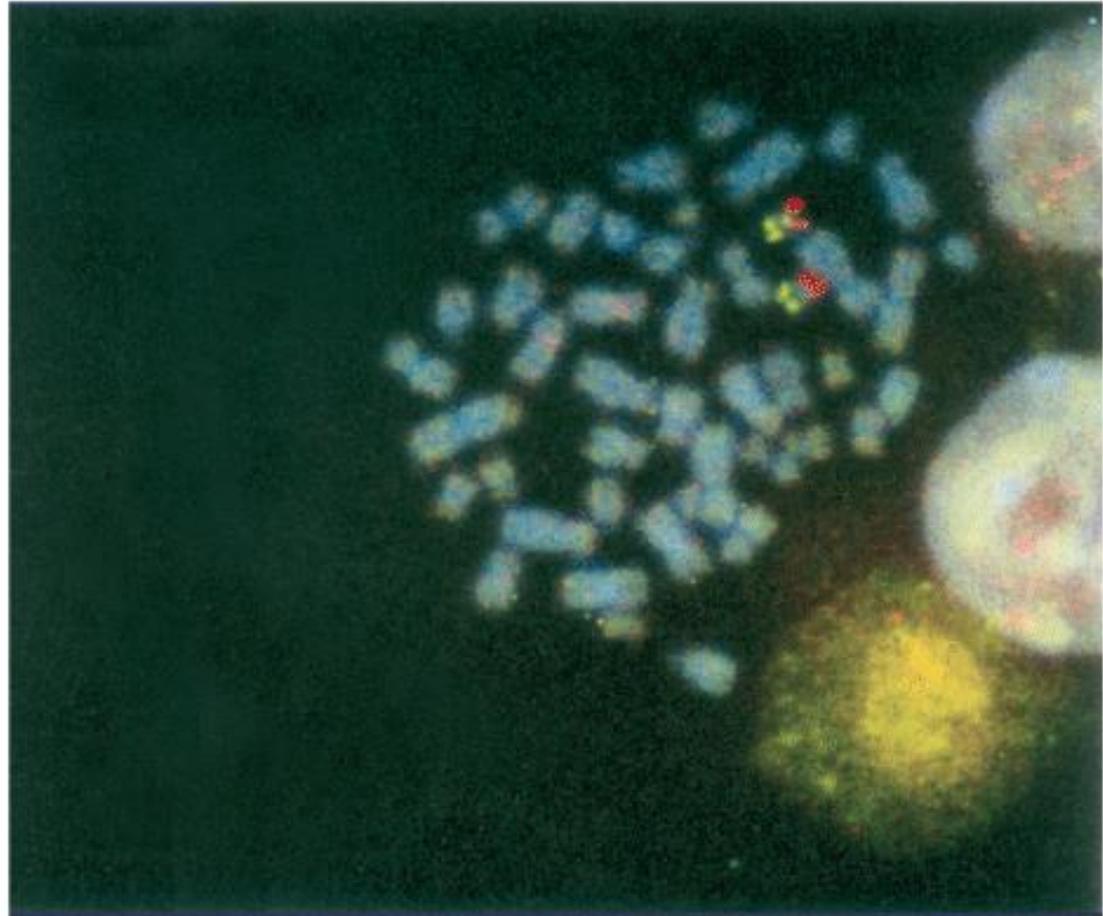


Figura I.10.2.1 Esempio di FISH su piastra metafasica trattata con sonde subtelomeriche specifiche per il braccio corto (spot verde) ed il braccio lungo (spot rosso) dei cromosomi n. 20. Per ciascun cromosoma è possibile individuare due segnali allineati dello stesso colore corrispondenti alle due regioni dei cromatidi fratelli.

Fluorescence *In Situ* Hybridisation (FISH)

probe



labelling



denaturation



target



hybridisation

visualisation



CITOGENETICA MOLECOLARE

FISH

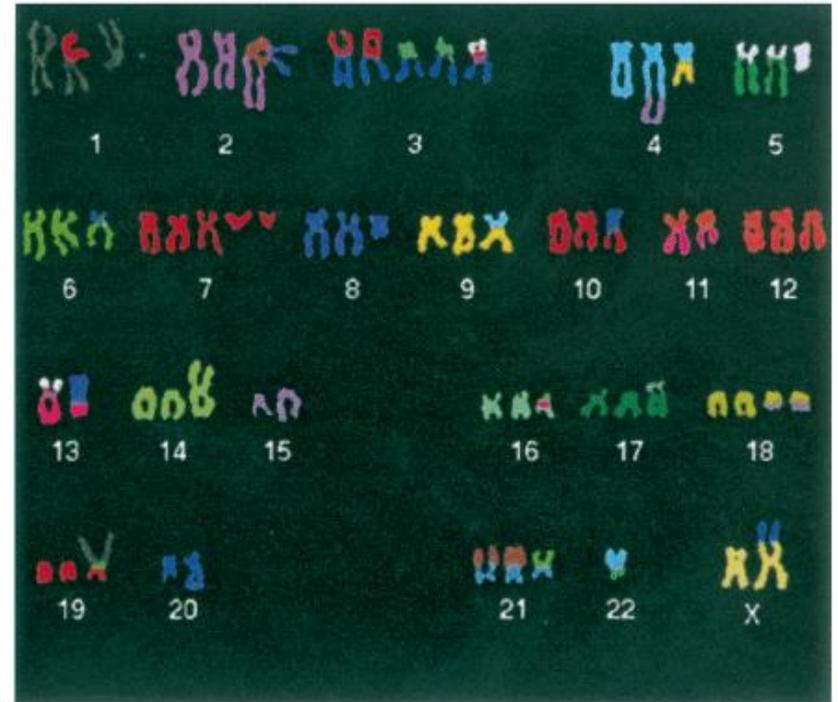
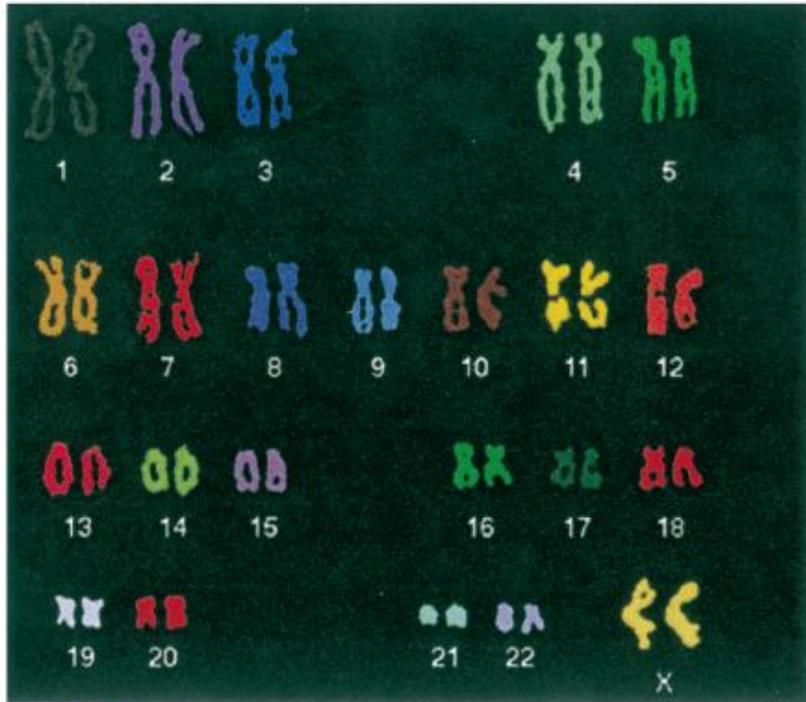
Sequenza unica	Per rivelare microdelezioni e traslocazioni
Centromerica	Per una rapida diagnosi prenatale su cellule in interfase
Telomerica	Per rivelare riarrangiamenti criptici delle regioni subtelomeriche
Intero cromosoma o "paints"	Per identificare materiale cromosomico di origine non ben definita

Tabella 1.10.5.1 Principali tipi di sonde usate nell'analisi dei cromosomi tramite FISH.

CITOGENETICA MOLECOLARE

M-FISH

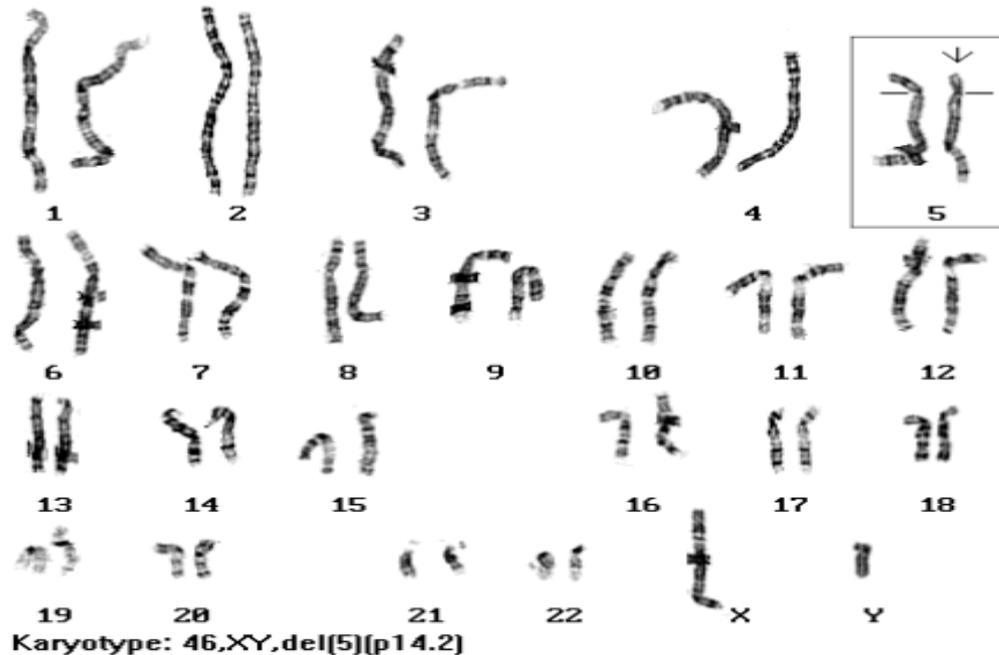
Multiple FISH



a) **Figura I.10.5.1 M-FISH.** Chromosome painting con cinque marcatori di diversi colori in una cellula normale (a) e in una tumorale (b) in cui sono facilmente individuabili traslocazioni e delezioni.

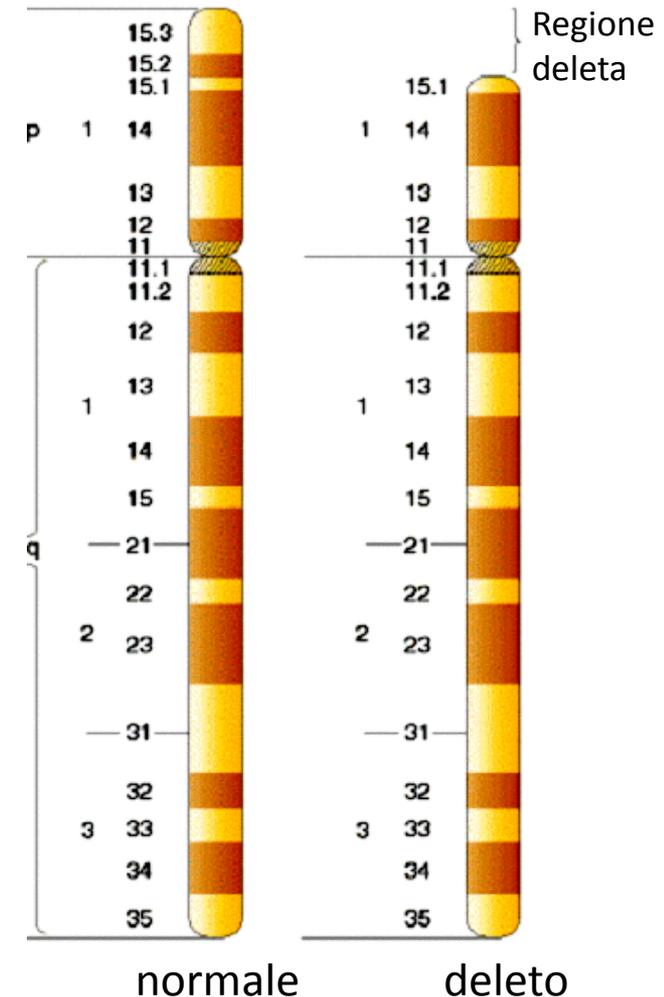
CARIOTIPO ANOMALO

Anomalie strutturali dei cromosomi

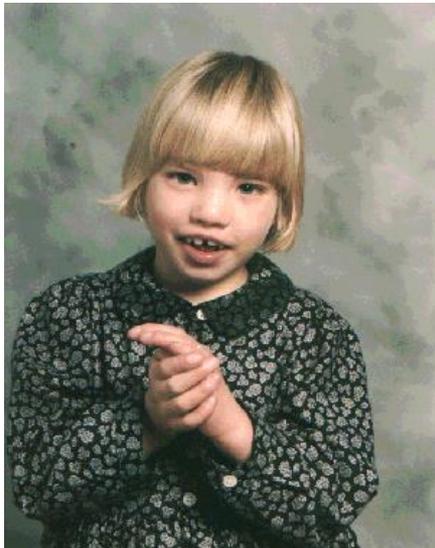


Sindrome di Lejeune o *cri du chat* (miagolio del gatto).

Delezione del cromosoma 5.



Il pianto del bambino affetto somiglia al miagolio di un gatto a causa di una malformazione alla laringe. Gli affetti sono in maggioranza di sesso femminile, probabilmente a causa di una maggiore mortalità dei maschi affetti. Gli affetti sono ritardati fisicamente e mentalmente, difetti cardiaci, cranio piccolo con orecchie malformate, strabismo ed altre anomalie. La condizione è molto rara.



CARIOTIPO ANOMALO

Anomalie di numero dei cromosomi

ANEUPLOIDIE

Cariotipo	Formula cromosomica	Sindrome clinica	Stima della frequenza alla nascita	Principali caratteristiche fenotipiche
47,+21 Trisomico	2n+1	Down	Da 1/1700 a 1/20 (in funzione dell'età della madre)	Mani larghe tozze con solco palmare scimmiesco, bassa statura, iperflessibilità delle giunture, ritardo mentale, testa larga e faccia rotonda, bocca aperta e lingua sporgente, taglio degli occhi obliquo.
47,+13 Trisomico	2n+1	Patau	1/10.000	Deficienza mentale e sordità, labbro e/o palato fessurato, polidattilia, anomalie cardiache, prominenza posteriore nel calcagno.
47,+18 Trisomico	2n+1	Edwards	Da 1/1650 a 1/600 (in funzione dell'età della madre)	Malformazioni congenite multiple di molti organi, impianto basso delle orecchie malformate, mandibola rientrante, naso e bocca piccola, sembianze da folletto, rene doppio e a ferro di cavallo, sterno breve. Il 90% muore entro i sei mesi.
45,X0 Monosomico	2n-1	Tumer	1/1200	Femmina con sviluppo sessuale ritardato, solitamente sterile, di bassa statura, pterigio del collo, anomalie cardiovascolari, udito debole.
47,XXY Trisomico	2n+1	Klinefelter	1/1000	Maschio sterile con testicoli piccoli, mammelle sviluppate, voce femminile, deficienza mentale, arti lunghi, linguaggio incoerente, possibile morte precoce.
48,XXXY	2n+2			
48,XXYY Tetrasomico	2n+2			
49,XXXXY Pentasico	2n+3			
50,XXXXXY Esasico	2n+4			
47,XXX Trisomico	2n+1	Triplo X	1/700	Femmina con genitali sottosviluppati e fertilità ridotta. Frequente ritardo mentale. Possibili disturbi del linguaggio.

Tabella 10.5 Alcune aneuploidie causate da non disgiunzione nella popolazione umana.

CARIOTIPO ANOMALO

Anomalie di numero dei cromosomi: AUTOSOMI

TRISOMIA 21

SINDROME DI DOWN

1:1700

1:20

47, +21

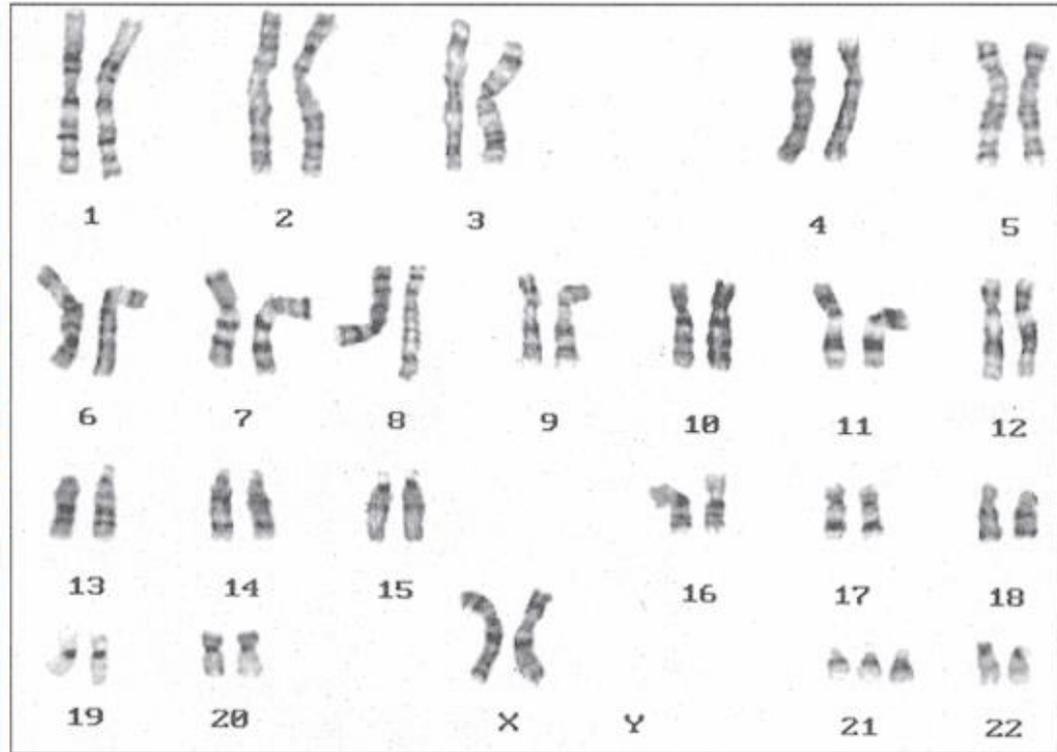


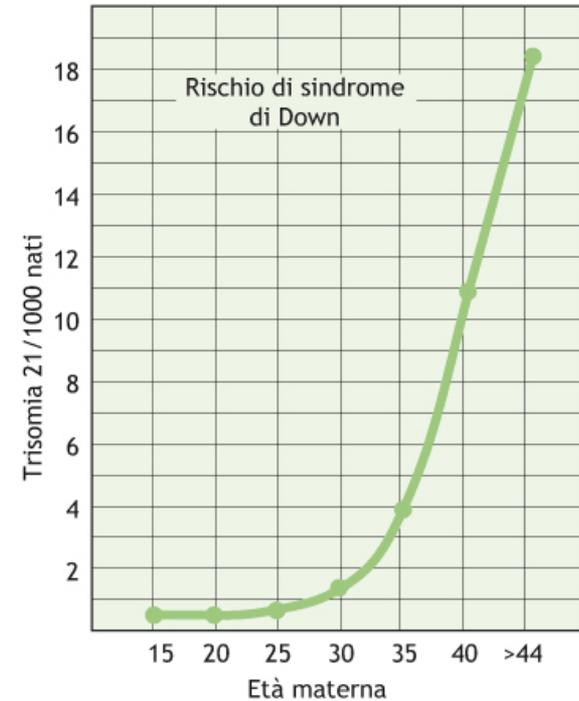
Figura 10.59 Bambina affetta dalla sindrome di Down e relativo cariotipo.

CARIOTIPO ANOMALO

Anomalie di numero dei cromosomi: AUTOSOMI

TRISOMIA 21

SINDROME DI DOWN



Età materna	Rischio di trisomia-21 nel figlio
16	7,7/10.000
27-34	4/10.000
35-39	29/10.000
40/44	100/10.000
45/47	333/10.000
Indipendentemente dall'età	14,3/10.000

Figura 10.60 Relazione fra età materna e sindrome di Down. (a) Il rischio è particolarmente elevato dopo i 35 anni di età. (b) Relazione tra età della madre e rischio di una trisomia-21.

CARIOTIPO ANOMALO

1:1650

1:600

Anomalie di numero dei cromosomi: AUTOSOMI

TRISOMIA 18

SINDROME DI EDWARDS

- Microcefalia
- Cranio allungato
- Orecchie e cavo orale malformati
- Ritardo mentale e motorio
- Encefalopatie
- Cardiopatie



47, +18

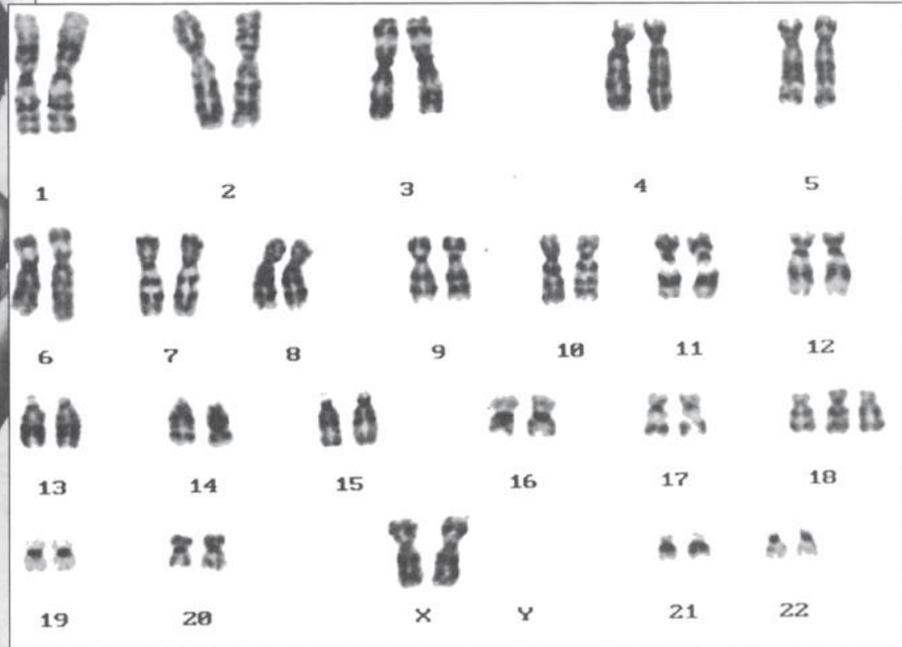
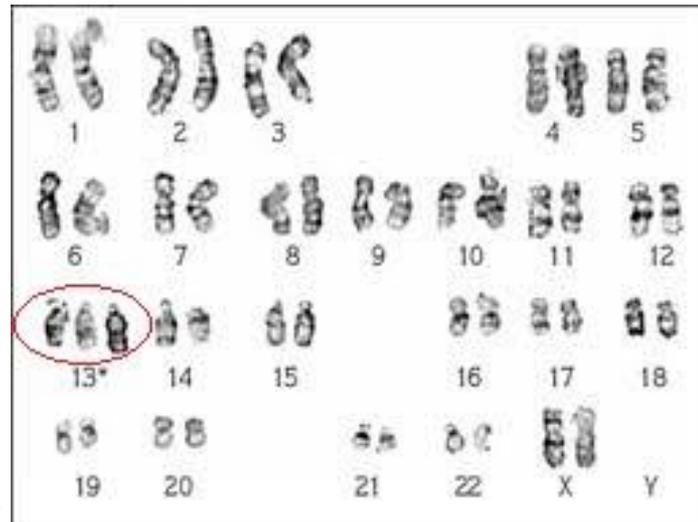


figura 10.61 Neonato con trisomia del cromosoma 18 e relativo cariotipo.



Figura 10.62 Neonato con trisomia del cromosoma 13 con schisi del labbro e del palato.



1:10.000

47, +13 TRISOMIA 13 SINDROME DI PATAU

- Microcefalia
- Occhi piccoli
- Orecchie e cavo orale malformati (labiopalatoschisi)
- Ritardo mentale e motoridita malformate, polidattilia
- Encefalopatie
- Difetti intestinali, cardiaci, renali, sordità

CARIOTIPO ANOMALO

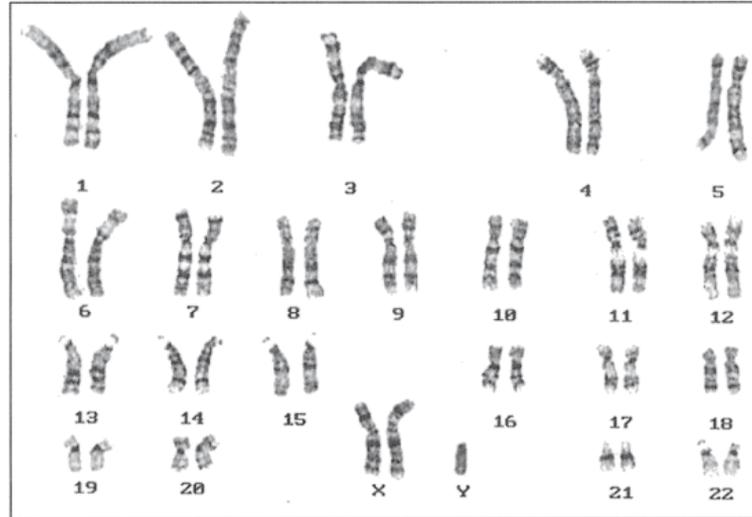
1:1000

Anomalie di numero dei cromosomi: SESSUALI

Sindrome di Klinefelter: XXY



Nei 2/3 dei casi la condizione è il risultato di una non-disgiunzione primaria nella madre che ha prodotto un uovo con due cromosomi X.



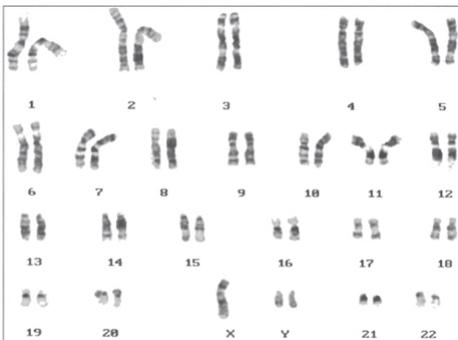
Maschio; tendenza alla statura alta; mancanza di maturazione sessuale, a volte c'è un certo ingrossamento del petto; associato frequentemente a ritardo mentale, sterile.

XXY: 47, XXY

Figura 10.63 Giovane con Sindrome di Klinefelter e relativo cariotipo. In alcuni casi questa sindrome è associata a sviluppo mammario anomalo (ginecomastia).

Sindrome dell'extra Y: XYY

1:950



XYY: 47, XYY

Figura 10.64 Cariotipo di un maschio XYY. Gli individui affetti sono di solito più alti del normale e alcuni, ma non tutti, possono presentare disturbi della personalità.

CARIOTIPO ANOMALO

1:1200

Anomalie di numero dei cromosomi: SESSUALI

Sindrome di Turner: XO

Femmina; statura bassa; a volte c'è un rialzamento della pelle fra il collo e le spalle; mancanza di maturazione sessuale; capacità mentali pressoché normali; sterile

Il 15-20% degli aborti spontanei sono XO.

Più dell'1% delle gravidanze accertate hanno assetto cromosomico XO e circa i 3/4 di queste sono provocate da spermatozoi anomali privi del cromosoma sessuale.

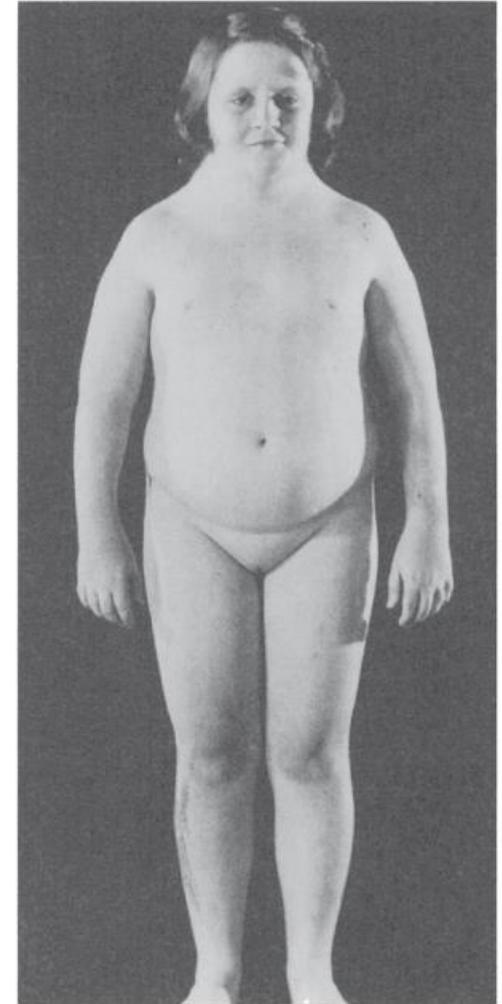
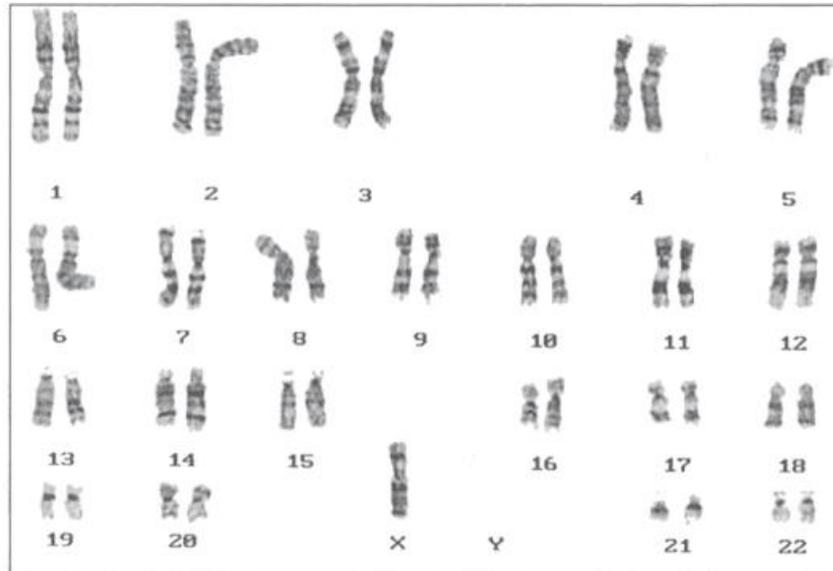


Figura 10.65 Giovane con sindrome di Turner e relativo cariotipo in cui si evidenzia la presenza di un solo cromosoma X. Gli individui affetti sono di solito più bassi del normale e sterili, alcuni, ma non tutti, possono presentare disturbi della personalità.