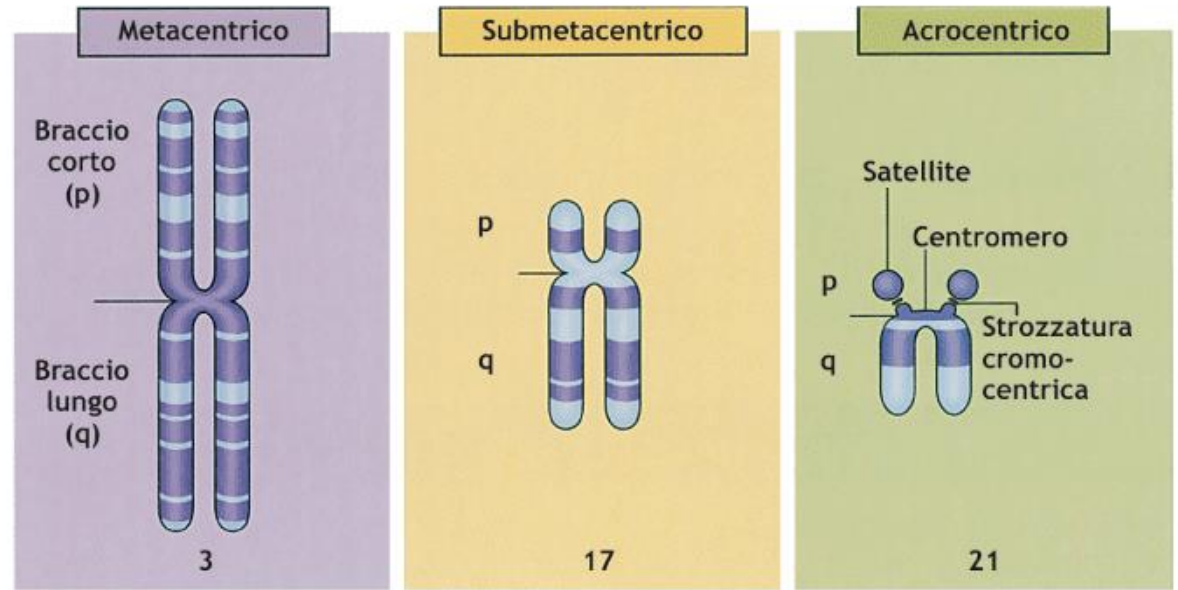
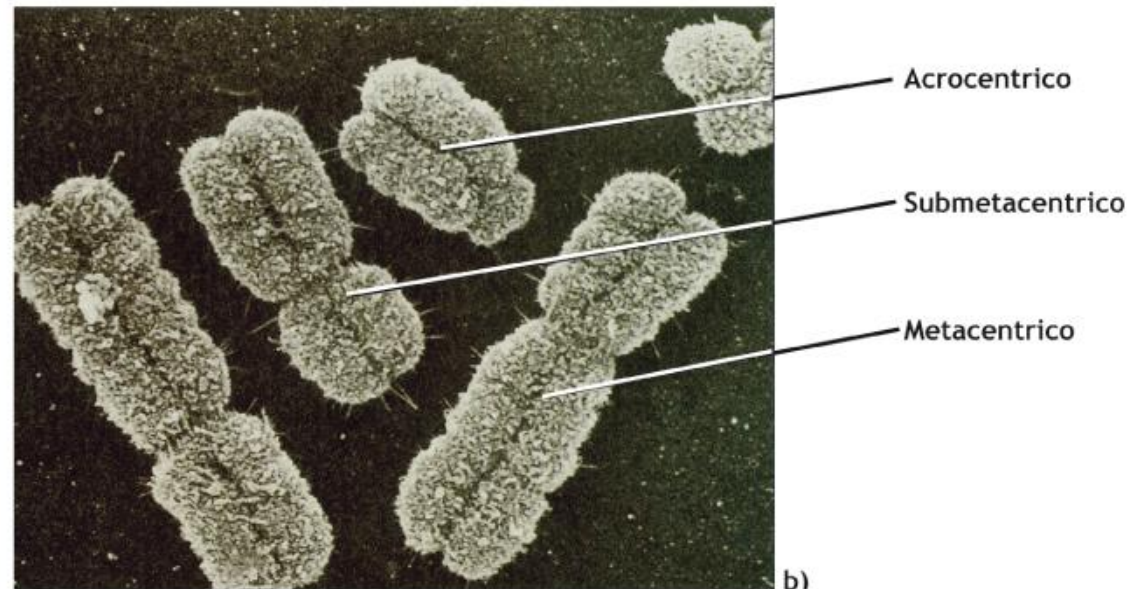


# CITOGENETICA

# CROMOSOMI



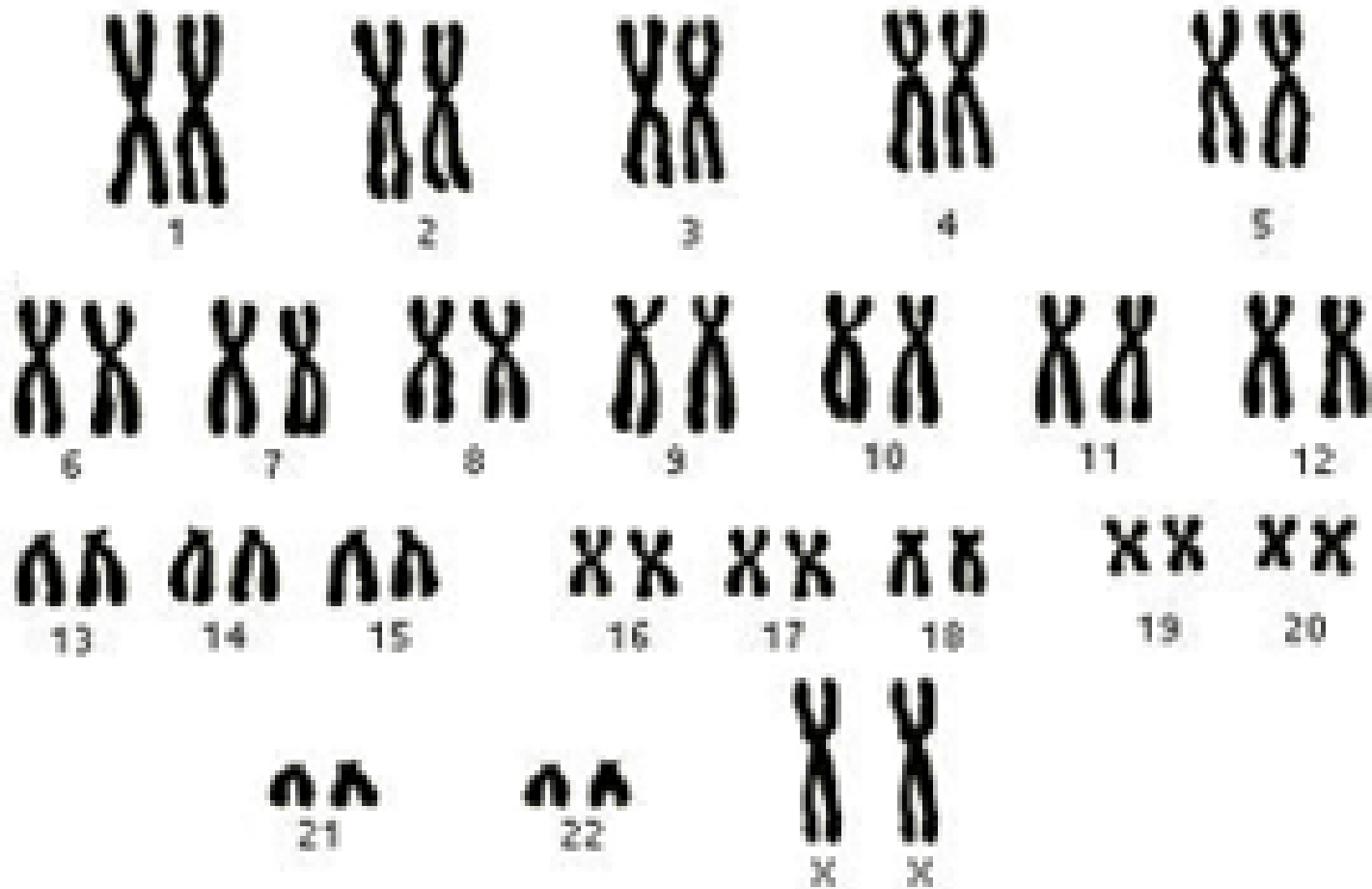
a)



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



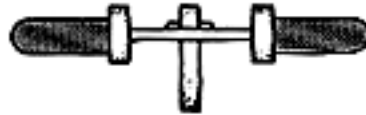
# CARIOTIPO



Siringa con anticoagulanti

terreno nutritizio con  
fitoemoagglutinina

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



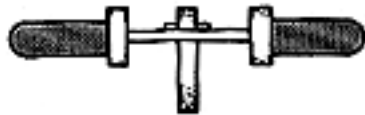
1 ora e 30'



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

centrifugazione per raccogliere  
le cellule e scarto del sovrantante

aggiunta di colchicina



Si pellettizzano le cellule

aggiunta di una miscela  
di acido e alcool

si preleva una goccia  
della sospensione



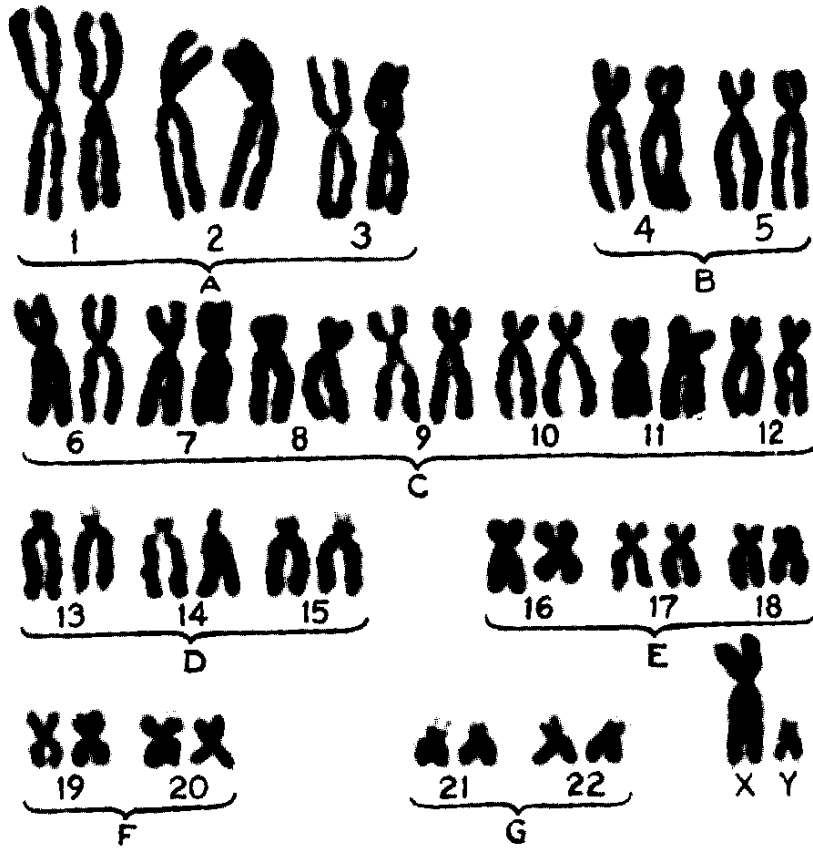
Si osservano i  
cromosomi al  
microscopio

aggiunta di colorante

si sparge sul vetrino e si fa asciugare



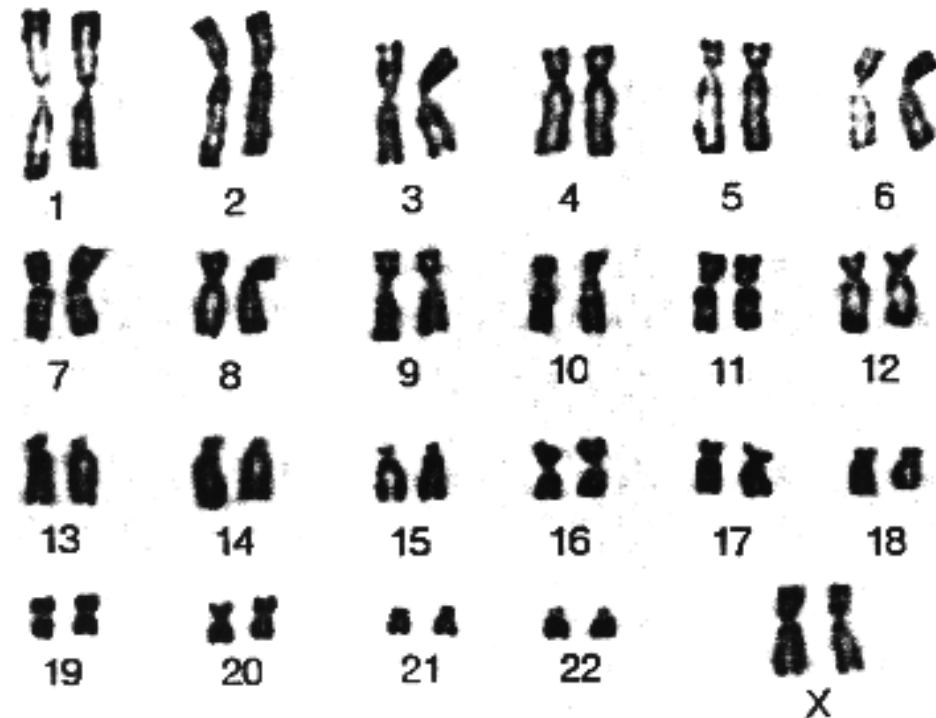
# CARIOTIPO UMANO



46 cromosomi.

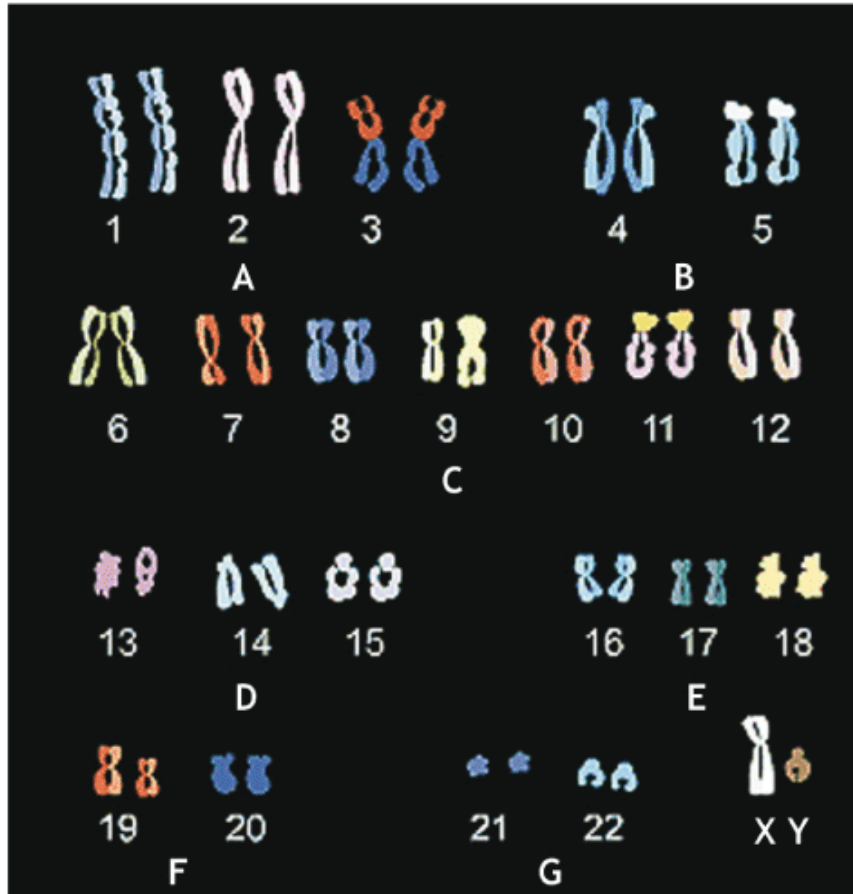
44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi  
2 cromosomi sessuali

← Il cariotipo normale di un maschio



Il cariotipo normale di una femmina →

# CARIOTIPO



a)



b)

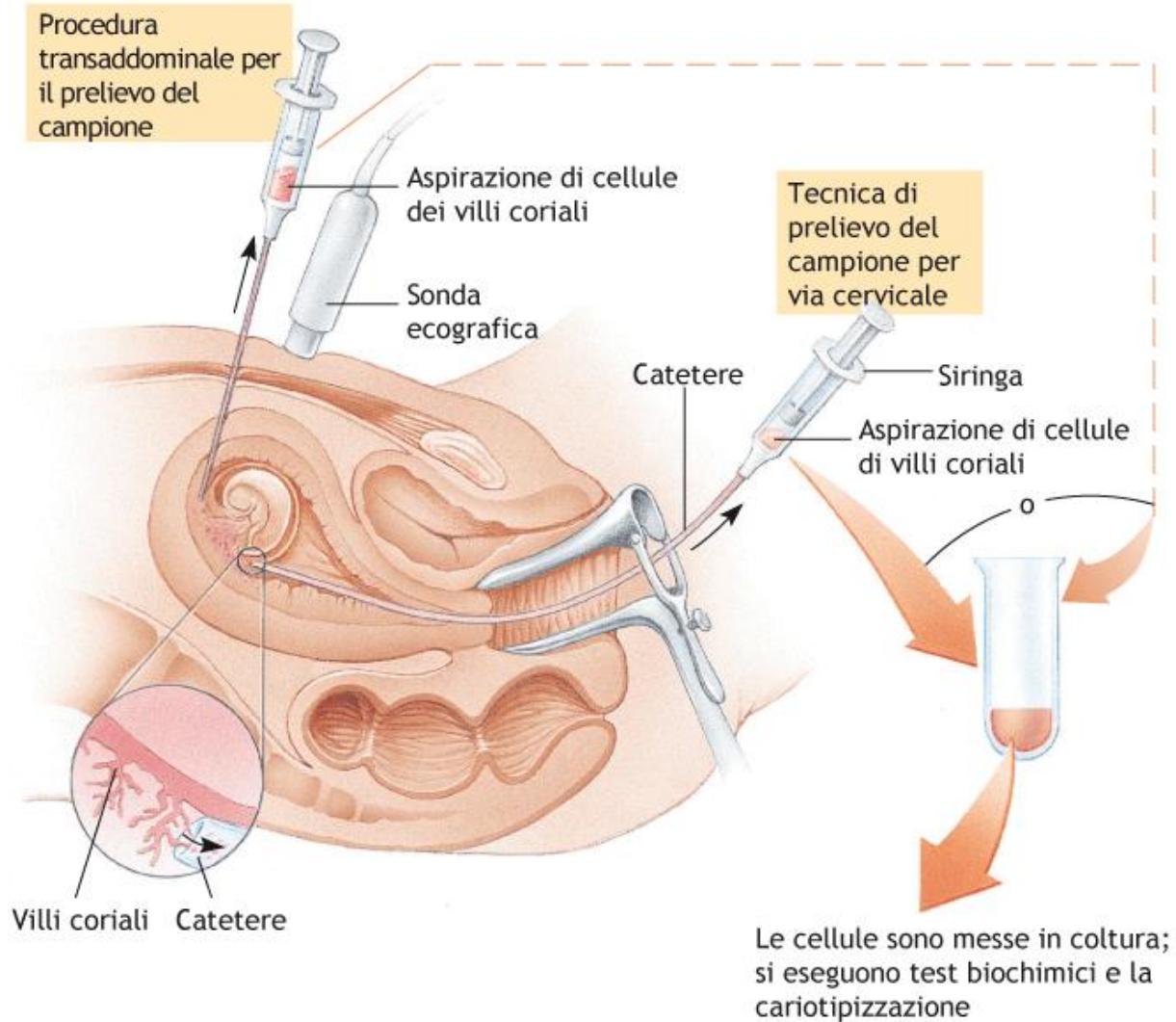
**Figura 12.1 Cariotipo.** (a) Micrografia della piastra metafasica di un individuo umano normale, di sesso maschile, con 46 cromosomi; (b) utilizzo di un software per la ricostruzione di un carigramma: i cromosomi omologhi vengono appaiati ed ordinati secondo la loro lunghezza.



# CARIOTIPO

## VILLOCENTESI

10° settimana

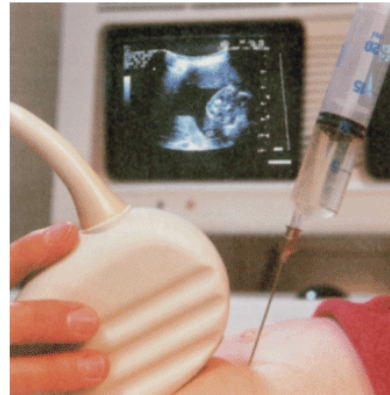
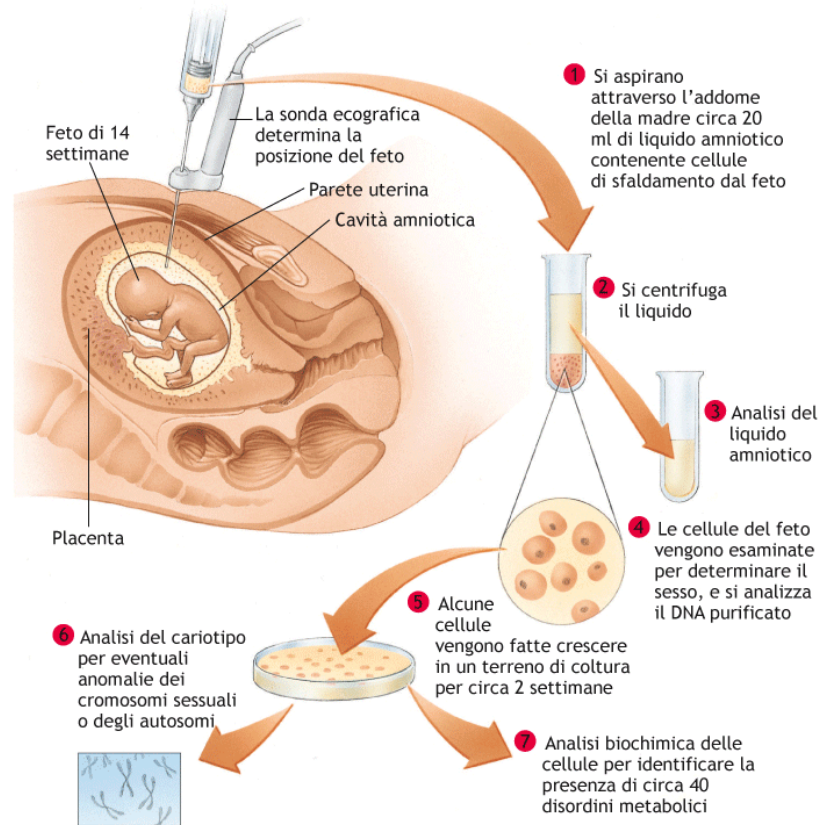


**Figura 12.2** **Tecnica di prelievo dei villi coriali.** Attraverso la vagina viene introdotto in utero un catetere con il quale è possibile prelevare un campione di cellule fetali dal corion.

# CARIOTIPO

## AMNIOCENTESI

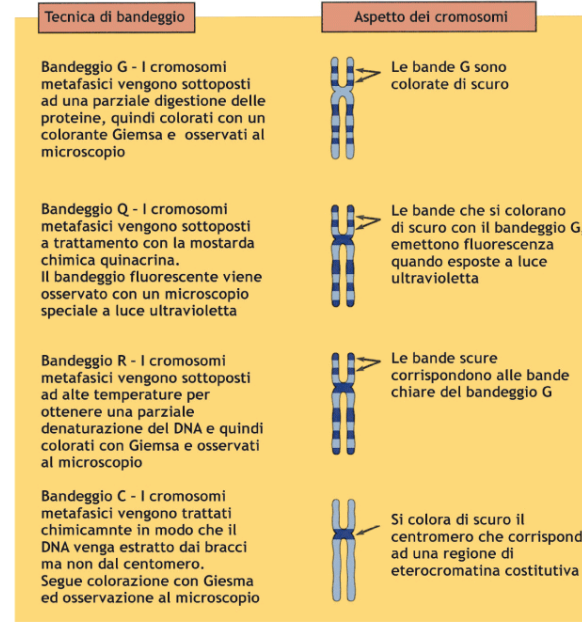
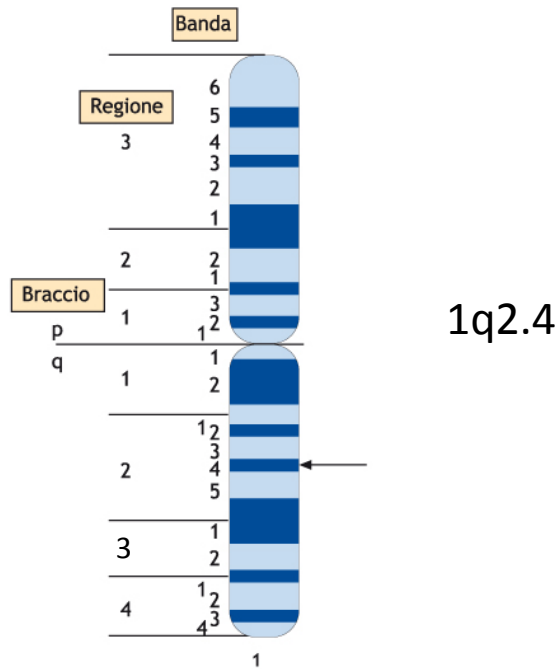
15°.18° settimana



**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.

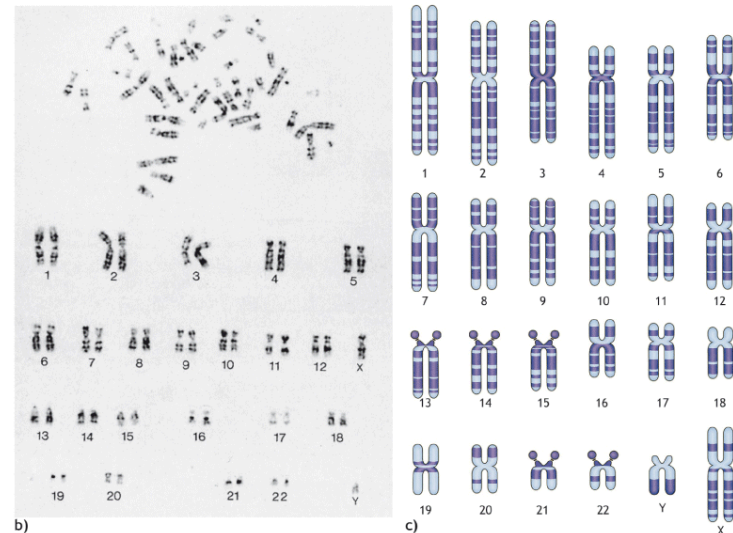


# CARIOGRAMMA



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.

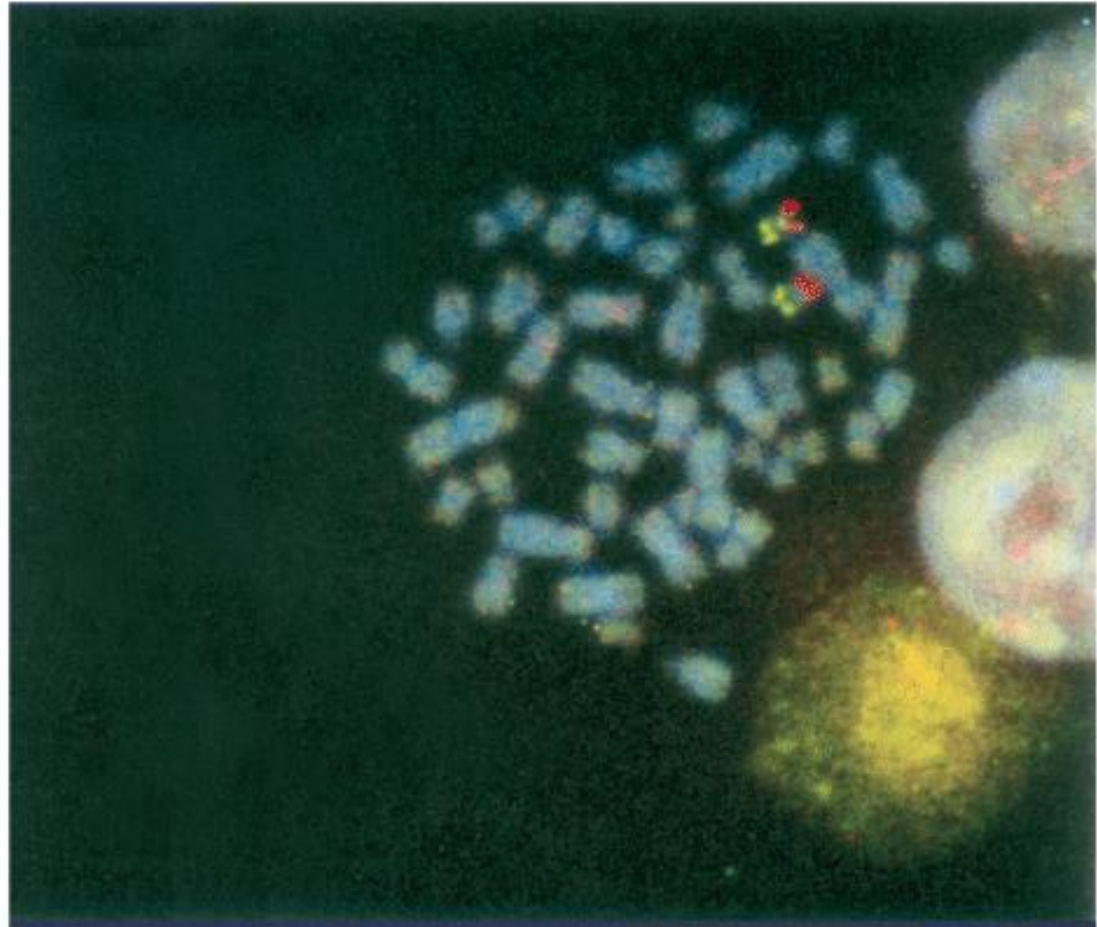
La perdita o l'acquisizione di tratti di DNA sono apprezzabili con il cariotogramma se  $\geq 6 \times 10^6$  pb

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

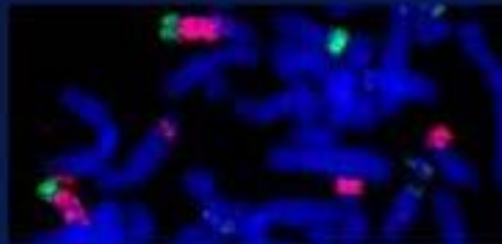


target



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

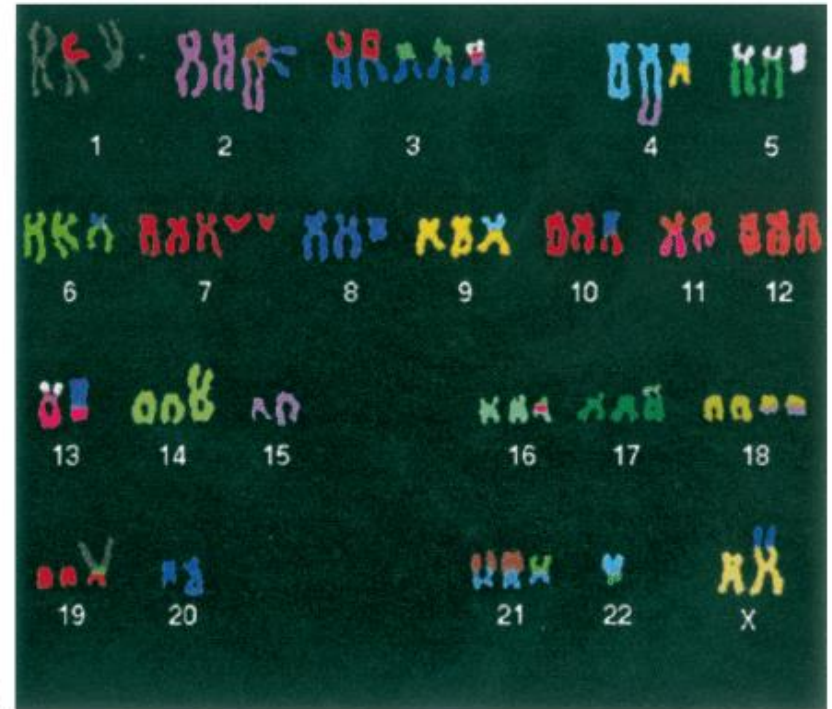
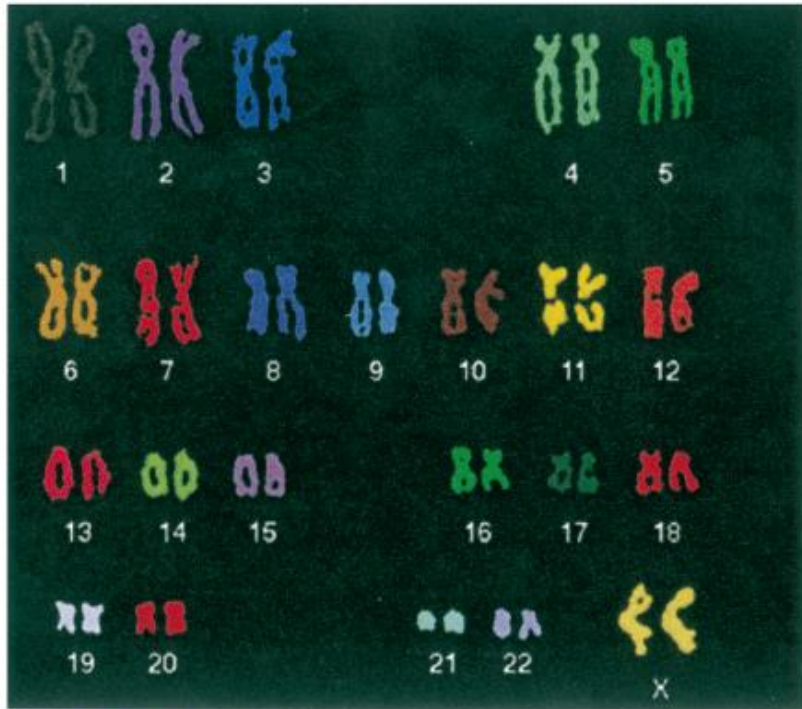
**Tabella 1.10.5.1** Principali tipi di sonde usate nell'analisi dei cromosomi tramite FISH.



# CITOGENETICA MOLECOLARE

## M-FISH

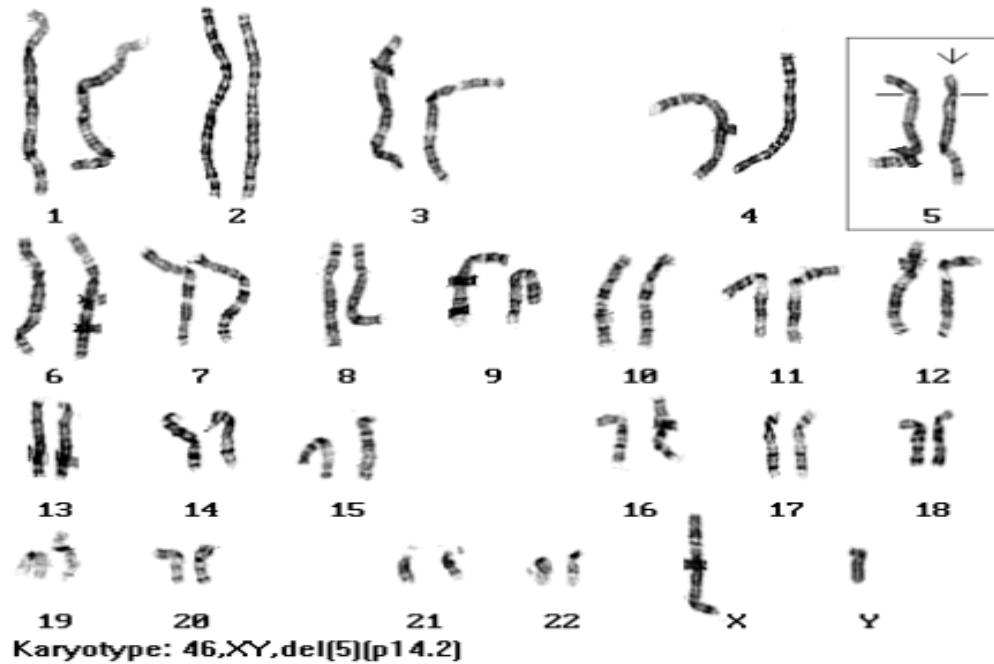
Multiple FISH



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.

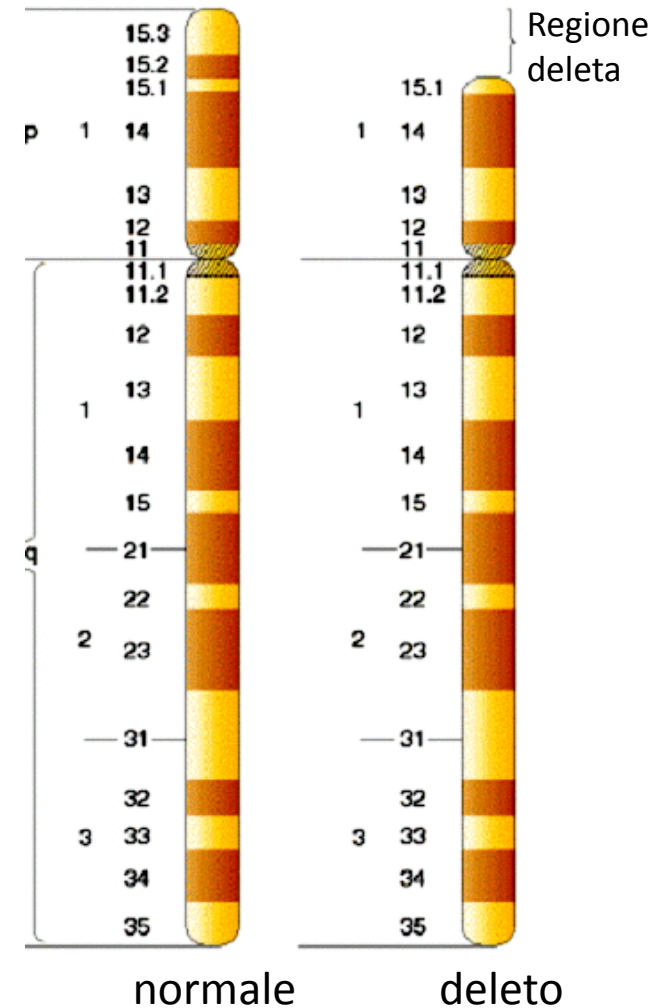
# CARIOTIPO ANOMALO

## Anomalie strutturali dei cromosomi

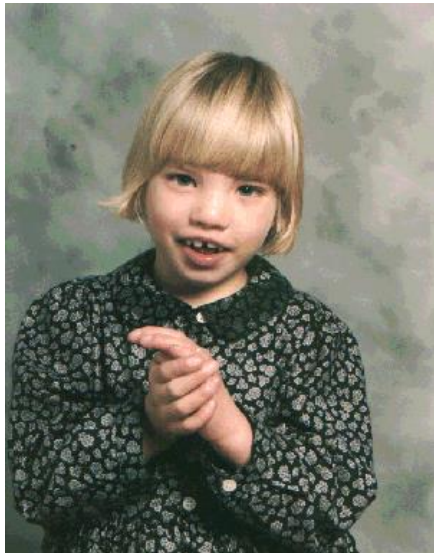


Sindrome di Lejeune o *cri du chat* (miagolio del gatto).

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,XXXXY	2n+2			
48,XXYY Tetrasomico	2n+2			
49,XXXXY Pentasomico	2n+3			
50,XXXXXY Esasomico	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

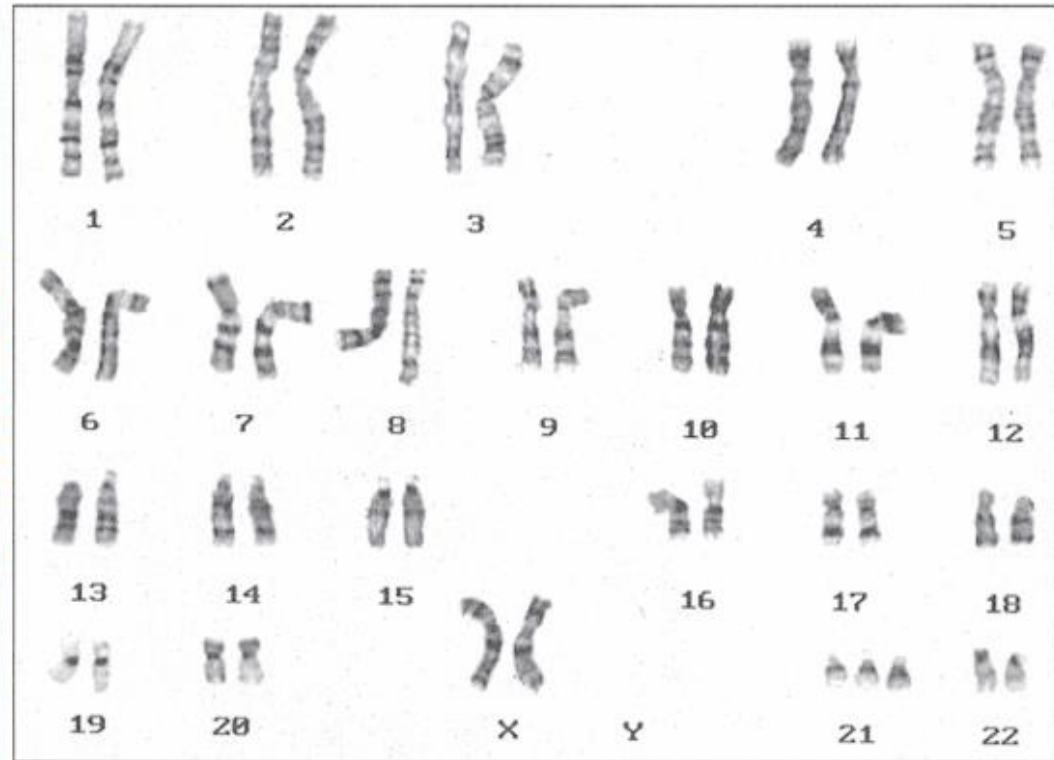
TRISOMIA 21

SINDROME DI DOWN

1:1700

1:20

47, +21



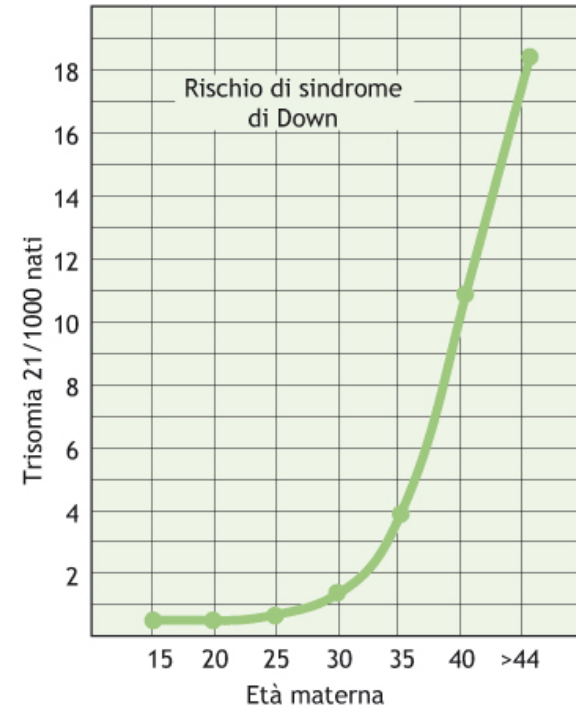
**Figura 10.59** Bambina affetta dalla sindrome di Down e relativo cariotipo.

# 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

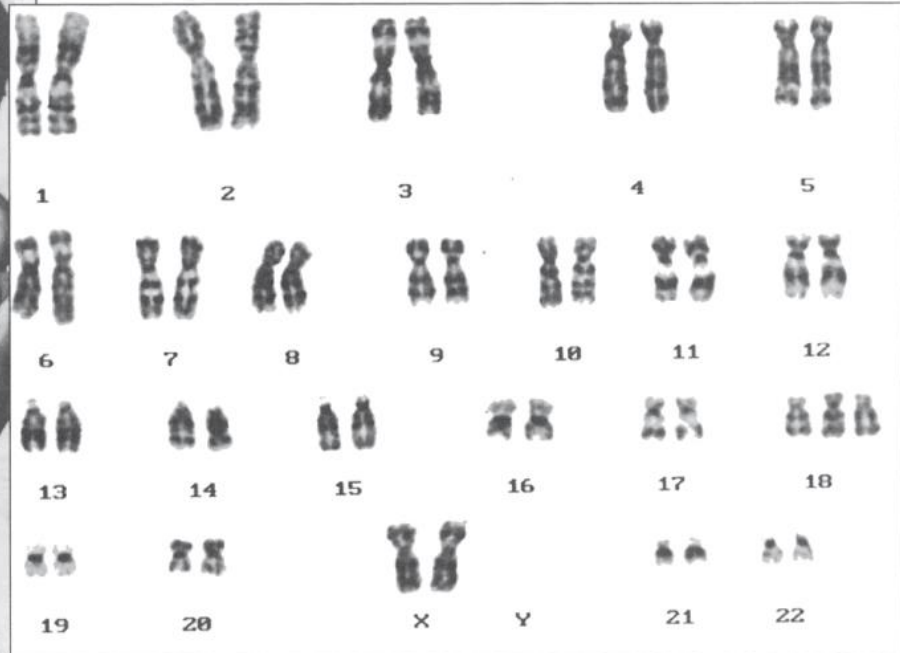
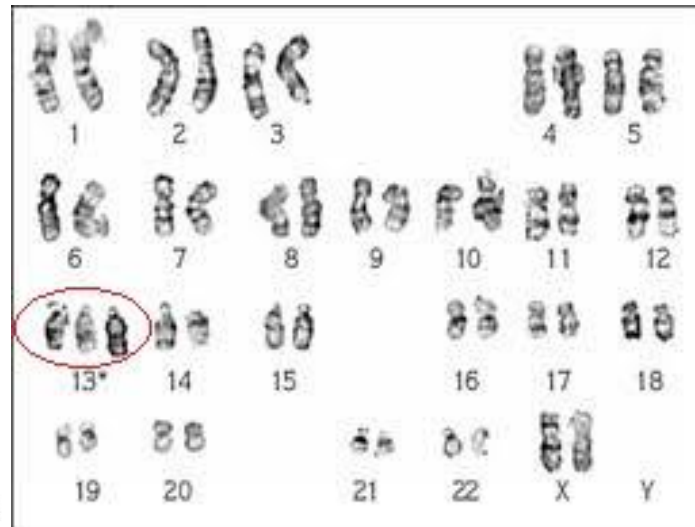


figura 10.61 Neonato con trisomia del cromosoma 18 e relativo cariotipo.



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

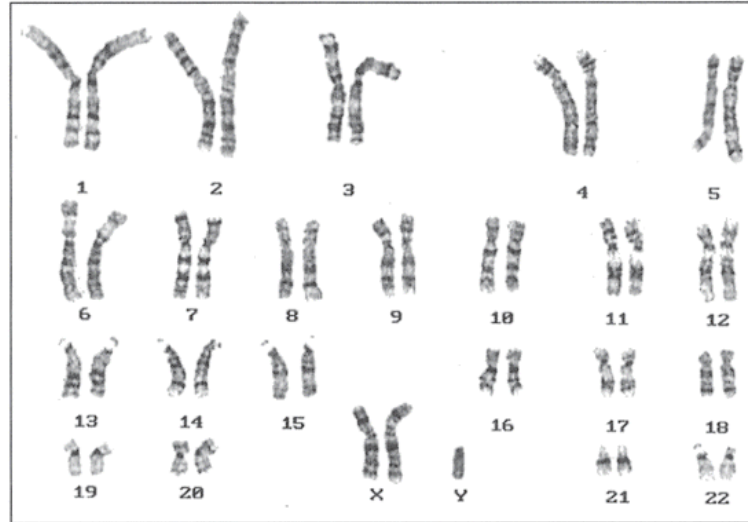
1:1000

## 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.



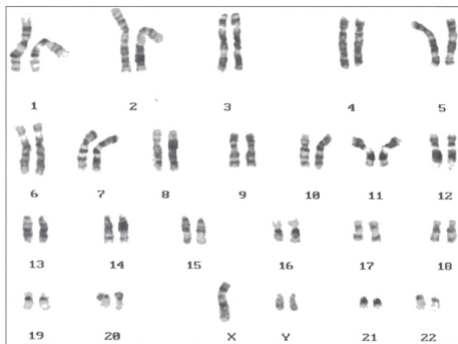
Maschio; tendenza alla statura alta; mancanza di maturazione sessuale, a volte c'è un certo ingrossamento del petto; associato frequentemente a ritardo mentale, sterile.

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

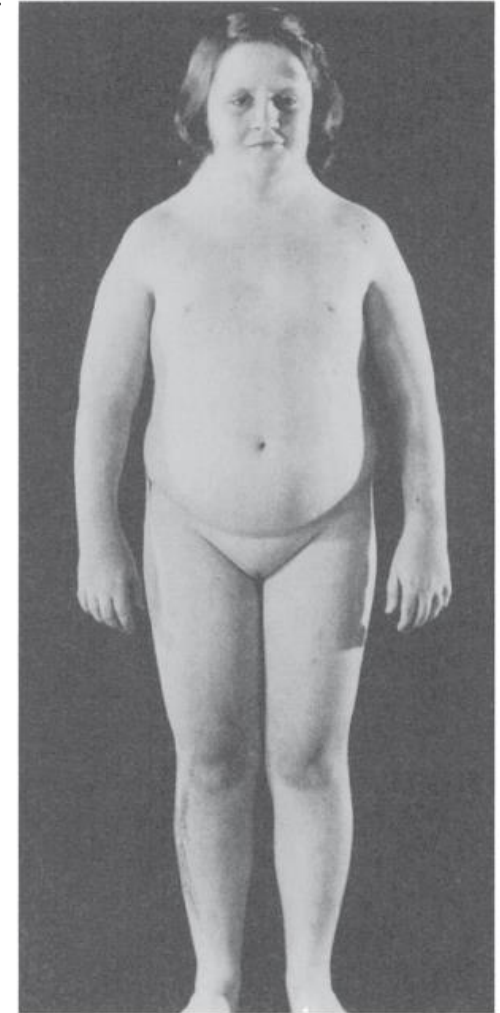
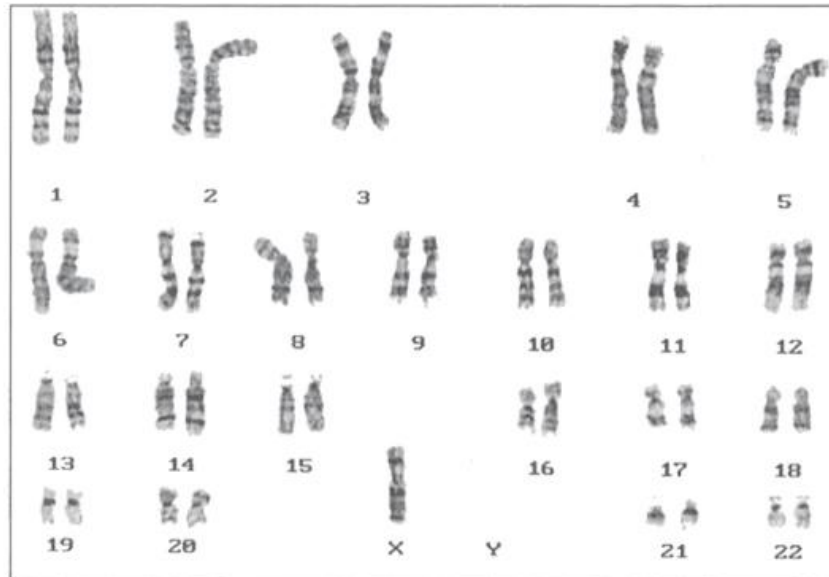
## Anomalie di numero dei cromosomi: SESSUALI

## 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.