



III Convegno Nazionale SITLaB  
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB  
Società Scientifica Italiana dei TSLB



## IL CARIOTIPO NON E' ANCORA MORTO

R. D' Ancona<sup>1</sup>, P. Del Fine<sup>1</sup>, A. Desiderio<sup>1</sup>, V. Palumbieri<sup>2</sup>, V. Carini<sup>3</sup>, D. Farci Santarcangeli<sup>4</sup>, G. Negri<sup>5</sup>, E. Gautiero<sup>6</sup>, A. Fiorella<sup>7</sup>, G. Amato<sup>8</sup>

1. Chieti – 2. Termoli – 3. Vasto – 4. Milano - 5. Ferrara - 6. Monza – 7. Foggia – 8. Napoli

### INTRODUZIONE

- Le tecnologie array-CGH e Next Generation Sequencing si sono rapidamente diffuse in tutto il campo medico e il cariotipo ha gradualmente perso il suo ruolo di primo piano tra i test genetici.
- Diverse linee guida internazionali raccomandano di iniziare con lo screening mediante a-CGH nel caso di bambino con disabilità intellettiva (ID) o disturbo dello spettro autistico.
- L'a-CGH aumenta il tasso diagnostico fino al 15 % in caso di disabilità intellettiva (ID) e se l'a-CGH è normale, l'esoma clinico (NGS) può evidenziare la causa della malattia in un altro 15 % dei casi.



### OBIETTIVI

- Confronto delle diverse tecniche diagnostiche genetiche in una paziente di 2 anni che presenta leggero ritardo nello sviluppo psicomotorio e ritardo nel linguaggio, trombocitopenia persistente, sindattilia, piede piatto e segno di Babinski positivo bilaterale, gravidanza decorsa normalmente, parto spontaneo, genitori sani non consanguinei.





III Convegno Nazionale SITLaB  
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

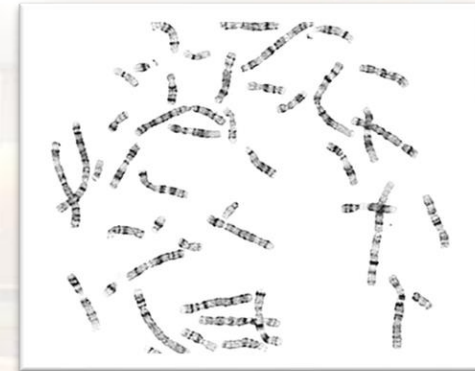
SITLaB  
Società Scientifica Italiana dei TSLB



## MATERIALI E METODI

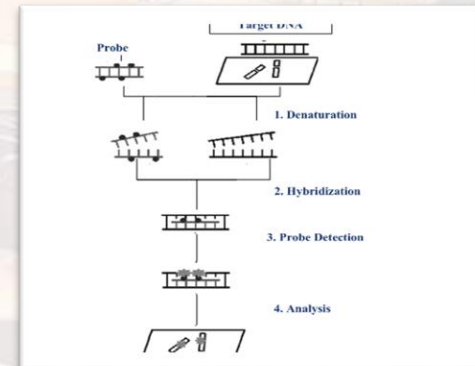
### CARIOTIPIZZAZIONE

- Semina delle cellule (sangue intero) in terreno di coltura a 37 °C, incubazione per 72 h a 37 °C, aggiunta di Colchicina 45 minuti prima del termine della coltura, analisi cromosomica (aggiunta e lavaggi con soluzione ipotonica e fissativo), spread su vetrino, colorazione Giemsa e infine osservazione ed acquisizione dei preparati metafasici tramite microscopio ottico.



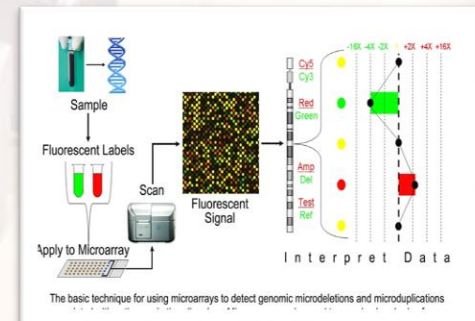
### FISH

- Scelta della sonda (probe) specifica per una sequenza di DNA marcata con composti fluorescenti, allestimento dei preparati cellulari/metafasici, denaturazione del DNA sia dei preparati sia della sonda (rottura dei legami a idrogeno delle basi azotate), ibridazione: appaiamento del DNA dei preparati con il DNA sonda, introdotto in eccesso, lavaggio della sonda in eccesso non ibridata e infine osservazione dei preparati con microscopio a fluorescenza.



### ARRAY – CGH

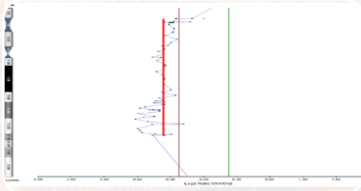
- Estrazione del DNA genomico da testare e marcatura con fluoroforo (es. Fluorescina), marcatura del DNA di controllo sano con un altro fluoroforo (es. Texas Red). Il DNA test e il DNA di controllo vengono coibridati (1:1) su una matrice su cui sono spottati frammenti di DNA genomico ben caratterizzati (sonde), la cui mappatura è nota. Le diverse intensità di fluorescenza vengono rilevate da uno scanner. Infine, l'analisi dei dati viene effettuata tramite un software apposito.



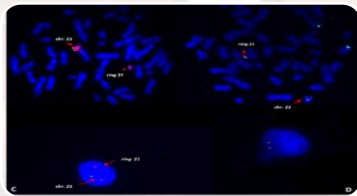


III Convegno Nazionale SITLaB  
7 - 8 giugno 2025 - Chieti

SITLaB  
Società Scientifica Italiana dei TSLB



- L'a-CGH evidenzia solamente la monosomia 21
- L'analisi citogenetica evidenzia un cariotipo 46,XX,r(21)(p11q22.2)(88%)/45,XX,-21(12%) su 100 metafasi studiate.



L'analisi in FISH evidenzia:

- r(21) (77%) e monosomia 21(23%) su 300 cellule studiate (linfociti in coltura) con punti di rottura a livello delle bande 21p11 e 21q22.2;
- r(21) (14%) e monosomia 21 (86%) su 300 cellule studiate (linfociti NON in coltura);
- r(21) (94%) e monosomia 21 (6%) su 300 cellule studiate (striscio buccale).

## CONCLUSIONI

- L'analisi citogenetica e in FISH su cellule in coltura da sangue periferico hanno mostrato un cariotipo a mosaico 46,XX,r(21)(88%)/45,XX,-21 (12%) con un basso livello di cellule monosomiche. L'a-CGH eseguito su cellule da sangue periferico NON in coltura (monosomia 21 all'86%) non è stato in grado di identificare l'anello r(21) e il mosaicismo. L'esecuzione del cariotipo rimane una tecnologia potente ed economica!

## BIBLIOGRAFIA

1. B. Dalla Piccola, Citologia diagnostica e citogenetica, Torino, USES, 1990
2. M. Clementi, Elementi di Genetica Medica, s.l., EdiSES, 2020, II edizione
3. L. Pasquier et al., Karyotype is not dead (yet!), European Journal Of Medical Genetics, 2016
4. <http://www.cumibio.unimi.it/scaricare/fish.pdf>
5. Dale Muzzey, Eric A. Evans, Caroline Lieber, Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling, at Springerlinks.com, Curr Genet Med Rep (2015) 3:158-165
6. L. Militti et al., A Mosaic Ring Chromosome 21 in a Patient with Mild Intellectual Disability not Evidenced by Array-Cgh, Genetic Syndromes & Gene Therapy, 2013, 4:11