

## Le caratteristiche biologiche delle cellule fetali e aneuploidie

Dott. A. Apicella; Dott.ssa S. Trimarco; Dott.ssa M. Chianese; Dott.ssa M. Melisi

U.O.C. Citogenetica e Citogenomica A.O.U. Federico II di Napoli, Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Trasfusionale A.O.U. Federico II di Napoli.

### INTRODUZIONE

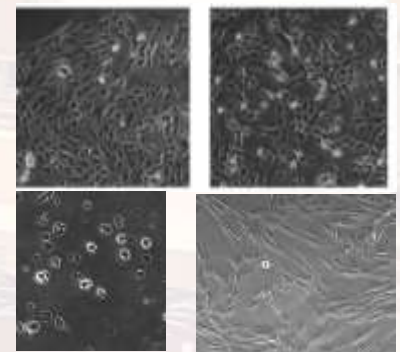
Le **colture cellulari** sono il **sistema in vitro** per eccellenza, rappresentato da cellule isolate da un tessuto primario di partenza, capaci di crescere in specifiche condizioni volte a **simulare l'ambiente in vivo**.

Nell'ambito della diagnostica, successivamente all'applicazione di tecniche di citogenetica sulle cellule provenienti da colture cellulari, è possibile eseguire l'analisi del cariotipo, ovvero l'assetto cromosomico delle cellule, volta a evidenziare la presenza di anomalie cromosomiche numeriche e/o strutturali. In ambito prenatale l'esame gold standard per diagnosticare le anomalie è l'analisi del cariotipo da cellule del liquido amniotico, le cui cellule di maggior interesse sono gli **amniociti**.

Popolazioni cellulari del liquido amniotico:

amniociti

fibroblasti



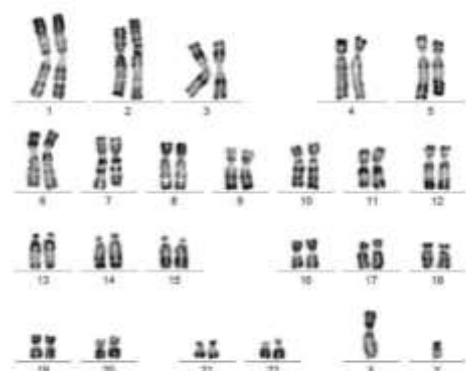
c. Endoteliali

c. staminali

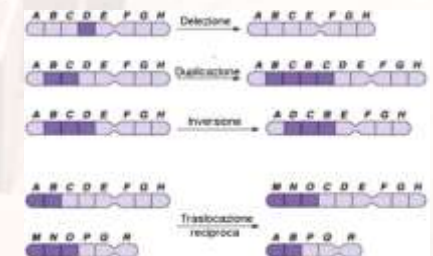
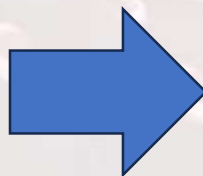
### ANOMALIE CROMOSOMICHE

**Numeriche:**  
Aneuploidie;  
Poliploidie.

**Strutturali:**  
Bilanciate;  
Sbilanciate.



Cariotipo normale



## SCOPO

L'obiettivo dello studio è quello di evidenziare come la presenza di aneuploidie provochi disordini della crescita cellulare in coltura, sia per quanto riguarda la velocità di crescita che il loro ordine di crescita.

Condizioni di esecuzione dell'esperimento:

- positività a test di screening prenatali (risultato = probabilità), quali il NIPT.

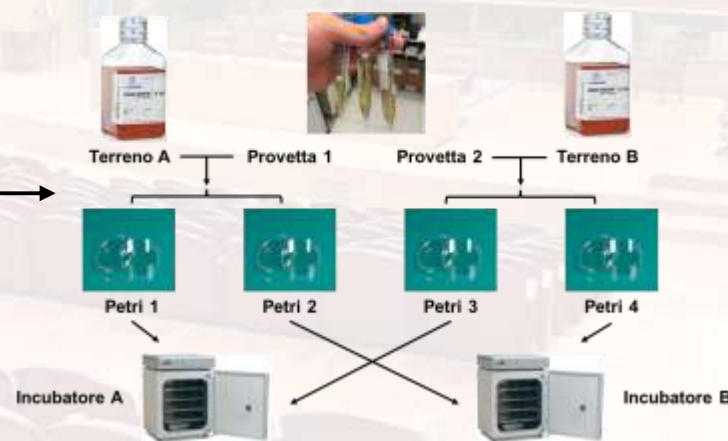
## MATERIALI E METODI

### AMNIOCENTESI

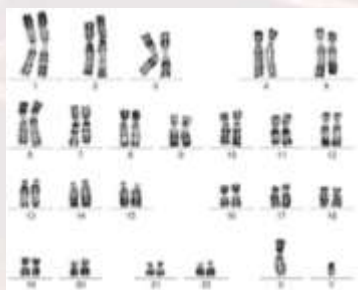
Positività  
al NIPT



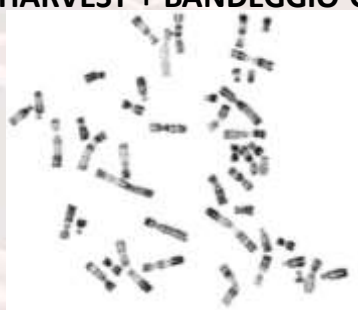
### COLTURA CROCIATA



### ANALISI CARIOTIPO



### HARVEST + BANDEGGIO G



**Harvest:** tecnica di citogenetica applicata per estrarre i cromosomi dalle cellule e fissarli su vetrino.

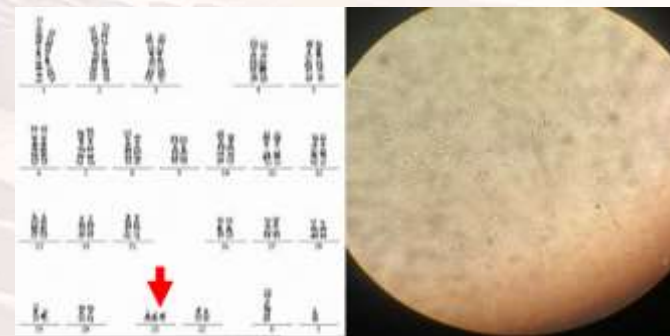
**BandeGGio G:** tecnica di citogenetica applicata per colorare i cromosomi e metterne in risalto le specifiche bande.

## RISULTATI

Per questo esperimento sono stati presi in considerazione campioni di liquido amniotico prelevati da 25 gestanti risultate positive al NIPT per trisomia 21. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

**20 cariotipi normali:** monitorando ogni giorno l'andamento della crescita delle cellule, in 20 colture si è osservato che queste sono cresciute in modo ordinato formando cloni cellulari confluenti in modo ottimale, che dopo circa 10 giorni dalla messa in coltura hanno permesso di applicare Harvest e Bandeggio G e quindi analizzare il cariotipo rilevatosi normale.

**5 cariotipi con aneuploidia:** monitorando ogni giorno l'andamento della crescita delle cellule, in 5 colture si è osservato che queste sono cresciute in modo disordinato, con morfologia irregolare, formando cloni cellulari che non hanno raggiunto la confluenza ottimale, che hanno portato ad applicare le metodiche Harvest e Bandeggio G tra gli 11 e i 20 giorni dalla messa in coltura. All'analisi del cariotipo delle cellule di queste colture è stata confermata la trisomia 21.



## CONCLUSIONI

In base ai risultati ottenuti, abbiamo evidenziato che le aneuploidie condizionano la crescita delle cellule in coltura rendendola più lenta e portando alla crescita di cellule morfologicamente irregolari.

## BIBLIOGRAFIA

- Introduzione alle colture cellulari di G. Luigi Mariottini
- Genetic Disorders and the Fetus; Diagnosis, Prevention, and Treatment. Third edition
- Current Protocols in Human Genetics (1994)