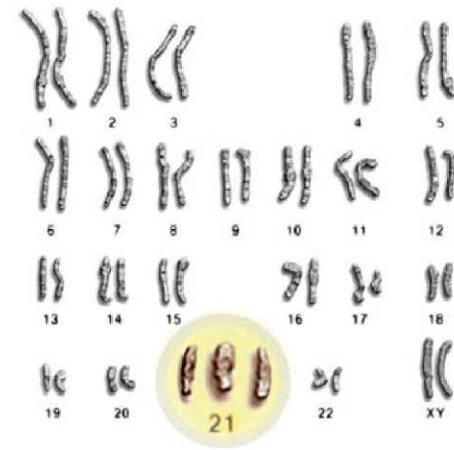


Il Cariotipo Tradizionale

La richiesta più frequente in diagnosi prenatale è rappresentata dallo studio del corredo cromosomico fetale mediante l'analisi del **cariotipo tradizionale**, al fine di evidenziare la presenza di eventuali anomalie cromosomiche, sia numeriche che strutturali.

L'approccio tradizionale comporta la coltura delle cellule fetali presenti nel liquido amniotico o nei villi coriali e la determinazione del cariotipo tramite l'analisi al microscopio dei cromosomi in metafase. Tale esame è caratterizzato da difficoltà tecniche e limiti diagnostici.



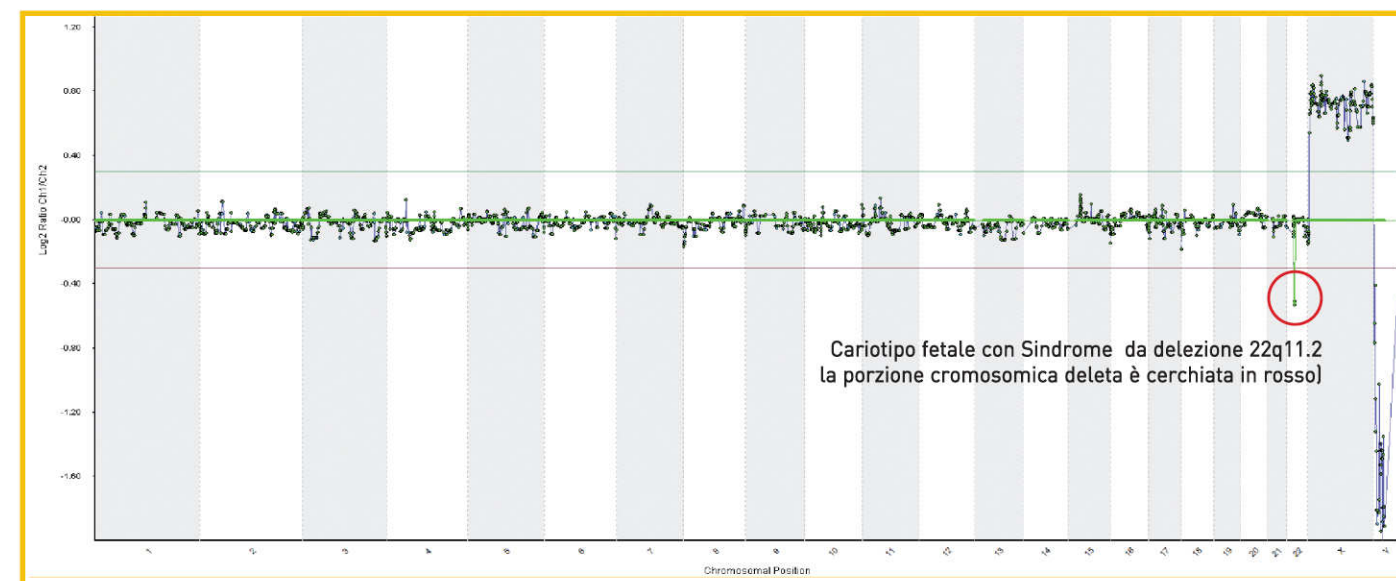
TEMPI LUNGI DI ATTESA PER I RISULTATI

Le colture cellulari impongono **lunghi tempi di attesa (15-20 giorni)**, necessari per lo sviluppo delle colonie di cellule fetali. Sebbene il nostro Centro offra la possibilità di ottenere una risposta rapida (24/48 ore) dalle aneuploidie cromosomiche più comuni (cromosomi 13, 18, 21, X e Y), mediante la tecnica molecolare avanzata di amplificazione genica **Quantitative Fluorescent - Polymerase Chain Reaction o QF-PCR**, i risultati sono **parziali** e comunque necessitano di una conferma dal cariotipo.

LIMITI DI ACCURATEZZA DELL'ESAME

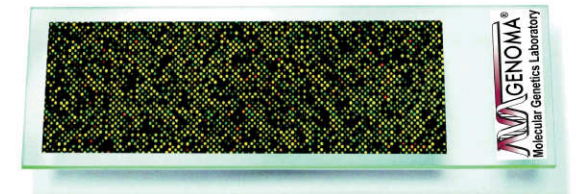
L'esame tradizionale del cariotipo, pur mettendo in evidenza le principali anomalie cromosomiche, presenta tuttavia dei limiti diagnostici, quali:

- **Limiti di risoluzione:** l'esame standard non riesce ad evidenziare le anomalie strutturali inferiori a 10-15 Mb. Quindi, le patologie derivanti da alterazioni cromosomiche submicroscopiche (microdelezioni o microduplicazioni), il più delle volte sfuggono alla diagnosi.
- **Necessità di approfondimenti diagnostici di 2° livello:** in alcuni casi si riscontrano anomalie cromosomiche particolari di cui non si conosce l'espressività fenotipica. Si tratta il più delle volte di piccole porzioni cromosomiche soprannumerarie (**markers**), oppure anomalie cromosomiche strutturali come **inversioni** o **traslocazioni**, apparentemente bilanciate. In questi casi si richiede l'indagine sui genitori al fine di accertare se in uno di loro sia presente la stessa anomalia. Qualora ci si trovasse di fronte a mutazioni "*de novo*", avvenute nel feto, non si riuscirebbe a stabilire se nelle suddette anomalie strutturali vi sia stata perdita (delezione) o guadagno (duplicazione) di materiale genetico.
- **Possibilità di artefatti "in vitro":** il più delle volte riferibili a pseudomosaicismi. Questo può avvenire nel 2-3% delle colture.



Il Cariotipo Molecolare (Array-CGH)

La citogenetica tradizionale, pur utilissima nell'individuare un gran numero di anomalie cromosomiche, numeriche e strutturali, è necessariamente limitata nelle sue possibilità diagnostiche dal potere di risoluzione del microscopio. Grazie ai recenti progressi della citogenetica molecolare è adesso possibile esaminare i cromosomi in maniera più approfondita ed accurata, utilizzando il cosiddetto **Cariotipo Molecolare**, procedura diagnostica che impiega una tecnica molecolare innovativa conosciuta come **array-CGH**.



RISULTATI IN SOLI 3 GIORNI

Impiegando una tecnica molecolare, che non necessita di coltura cellulare, con il Cariotipo Molecolare è possibile ottenere un'analisi cromosomica approfondita (risoluzione ~600 Kb) in soli **2-3 giorni**, a differenza dei 15-20 giorni necessari con la tecnica tradizionale, riducendo al minimo i tempi di attesa dei risultati.

Un vantaggio non trascurabile che consente di:

- Escludere una patologia cromosomica entro pochi giorni dal prelievo;
- Ridurre l'ansietà della gestante;
- Gestire in largo anticipo un'eventuale intervento terapeutico, in caso di risultato patologico.

ESAME APPROFONDITO DEI CROMOSOMI

Rispetto all'esame del cariotipo tradizionale, l'analisi molecolare dei cromosomi ha una risoluzione molto più elevata (~100 volte). Ciò consente di identificare anche patologie derivanti da alterazioni cromosomiche submicroscopiche, non evidenziate tramite il cariotipo tradizionale, aumentando sensibilmente l'**accuratezza** dell'esame.

Il cariotipo molecolare, infatti, consente di studiare anche un gruppo di **100 patologie** causate da **microdelezione / microduplicazione** cromosomica (es. **Sindrome di DiGeorge**, la **Sindrome di Williams**, la **Sindrome di Prader-Willi/Angelman**) ed oltre **150 geni** descritti nel database OMIM (vedi tabella).

Inoltre, nella fase terminale del processo analitico, grazie ad una sofisticata **analisi bioinformatica**, si ha la possibilità di definire con esattezza non solo la regione genomica alterata ma anche i geni in essa contenuti, permettendo così di verificare la patogenicità dell'anomalia cromosomica riscontrata e valutare le conseguenze cliniche.

Il cariotipo molecolare rappresenta anche la tecnica ideale di **approfondimento diagnostico** di 2° livello, eseguita per integrare l'analisi citogenetica prenatale tradizionale, ed è particolarmente indicato nei casi di:

- **difetti dello sviluppo e/o struttura fetale** evidenziati tramite ecografia (ritardo di crescita, malformazioni, translucenza nucale aumentata), riconducibili ad una patologia cromosomica, il cui cariotipo tradizionale è però risultato normale;
- **feto con anomalie cromosomiche** individuate attraverso l'analisi citogenetica tradizionale (riarrangiamenti sbilanciati, riarrangiamenti de novo apparentemente bilanciati e markers).

RISULTATO ASSICURATO

L'Array-CGH, essendo una metodica molecolare, non è soggetta al rischio di mancata crescita della coltura cellulare e, di conseguenza, di ripetizione del prelievo, garantendo un risultato in quasi il **100%** dei casi.

I **limiti** di tale tecnica in ambito prenatale sono rappresentati dall'impossibilità di identificare riarrangiamenti cromosomici bilanciati (non patologici) e i mosaicismi (cioè la presenza cioè di due linee cellulari con diverso assetto cromosomico) con una linea cellulare scarsamente rappresentata (inferiore al 10% circa).

