

Studio Medico Di Fraia





- 3** PRESENTAZIONE
- 4** LA NOSTRA STORIA
- 7** LO STAFF
- 9** IL SISTEMA DI QUALITÀ
- 10** I SERVIZI OFFERTI
- 13** I NOSTRI SERVIZI
- 22** DESCRIZIONE
E PREPARAZIONE ESAMI

P R E S E N T A Z I O N E

L'

alta specializzazione, competenza e professionalità

raggiunta nella diagnostica, pone lo Studio

Citopatologico del Dott. Pietro Di Fraia,

all'avanguardia, rendendolo "PUNTO DI

RIFERIMENTO" nel campo medico-diagnostico.

Nato nel 1985, lo STUDIO DOTT. PIETRO DI FRAIA

opera in qualità per esami ad alta tecnologia,

espletando principalmente attività di "service" di

citologia, istologia, microbiologia e biologia molecolare

di elevata specializzazione, con l'obiettivo di fornire un

servizio completo capace di soddisfare le più diverse

esigenze in campo diagnostico.

La professionalità e la puntualità nelle indagini

diagnostiche viene apprezzata da studi medici, enti e

strutture ospedaliere su tutto il territorio nazionale,

oltre a diverse collaborazioni in ambito europeo.

LA NOSTRA STORIA

Da oltre 30 anni, sono i numerosi traguardi raggiunti, a testimoniare la crescente qualità e competenza del nostro Centro, che punta sull'eccellenza diagnostica e del servizio, con una forte spinta verso la ricerca scientifica e l'innovazione tecnologica. Un percorso che ci ha visti protagonisti di un'espansione ed una crescita costanti, con la creazioni di strutture e acquisizioni di valore, attraverso risultati e riconoscimenti importanti. Lo Studio Dott. Pietro Di Fraia è stato fondato nel 1985, dal Citopatologo Pietro Di Fraia divenuto da subito un centro d'eccellenza nell'ambito della

citostopatologia e microbiologia.

Nel 2005, la struttura si specializza in analisi e ricerche di biologia molecolare nel campo diagnostico. Originariamente sorto in Via 29 Gennaio (Colleferro), nel 1995 si trasferisce in via Della Selva (Colleferro) ed infine, nel 2012 grazie agli enormi progressi fatti e al raggiungimento di oltre 500 collaborazioni lo Studio si trasferisce in Largo Biagio della Rosa, 1 (Colleferro) in una struttura all'avanguardia con una strumentazione al passo con le esigenze cliniche –diagnostiche ed un personale sempre aggiornato.

ARFA
VICINORISGLIATA



Prof. Dott. Pietro Di Fraia
Consorzio Cereale d. Roma
Analista - Patologia Cereale

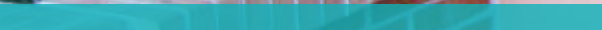
Centro studio per lo studio della:

- CITOLOGIA
- BIOLOGIA MOLECOLARE
- FITOLOGIA
- MICROBIOLOGIA

Indirizzo: Strada 4 (Piazzale) Roma (R)
and to deposit analysis of Prosa 1
TEL. 06 5121211 - FAX 06 5121219
www.prosa1roma.it

ARFA
VICINORISGLIATA

Prof. DI FRAIA PIETRO
Consorzio Cereale d. Roma
VICINORISGLIATA
TEL. 06 5121211 - FAX 06 5121219





LO STAFF

Il **Dott. Pietro Di Fraia**, Medico e Biologo e specializzato in Patologia clinica si perfeziona in Patologia Molecolare presso l'Università degli Studi di Roma "La Sapienza" ed entra a far parte del gruppo di ricerca del Prof. A. Vecchioni per circa 14 anni. Dal 1996 diventa consulente tecnico del Tribunale di Velletri (RM) nella categoria Patologia Clinica.

Lo studio si avvale della professionalità di operatori qualificati e specializzati composto da Biologi, Anatomopatologi, Tecnici di Laboratorio

e Personale qualificato nel settore amministrativo e nei processi di accettazione e trascrizione esami. Annualmente, inoltre, viene definito un Piano di formazione e addestramento del Personale che tiene conto delle esigenze di aggiornamento professionale.

Lo staff, preparato, gentile e disponibile, è la nostra più importante risorsa, ed è il punto di riferimento a cui potersi interfacciare per ottenere risposte, informazioni e chiarimenti.



IL SISTEMA DI QUALITÀ

Il sistema di qualità dello Studio Dott. Pietro Di Fraia garantisce una totale soddisfazione dei nostri interlocutori.

Lo Studio è certificato UNI EN ISO 9001:2008 e partecipa regolarmente a controlli di qualità esterni - affidati ad istituzioni riconosciute a livello internazionale.

La metodica di lavoro con sistema di Qualità Certificato UNI EN ISO 9001 valorizza la serietà

della professione svolta con il massimo della competenza e discrezione, elementi essenziali per la delicatezza delle informazioni trattate.



I SERVIZI OFFERTI

Il servizi offerti dallo studio iniziano dalla fornitura di tutto il materiale necessario per la raccolta dei campioni biologici:

- Tamponi per microbiologia
- Contenitori per la raccolta citologica ed istologica
- Apposite buste per contenere il campionamento ed annotare informazioni cliniche ed anagrafiche del paziente che verranno archiviate secondo le norme vigenti

In accordo con i Dottori, provvediamo al ritiro e trasporto dei campioni tramite collaboratori di

fiducia, in accordo con gli orari e le esigenze delle varie strutture.

Tutte le fasi, dall'arrivo fino alla compilazione della diagnosi finale vengono costantemente monitorate, seguendo una perfetta gestione dei protocolli, garantendo rapidità ed estrema precisione.

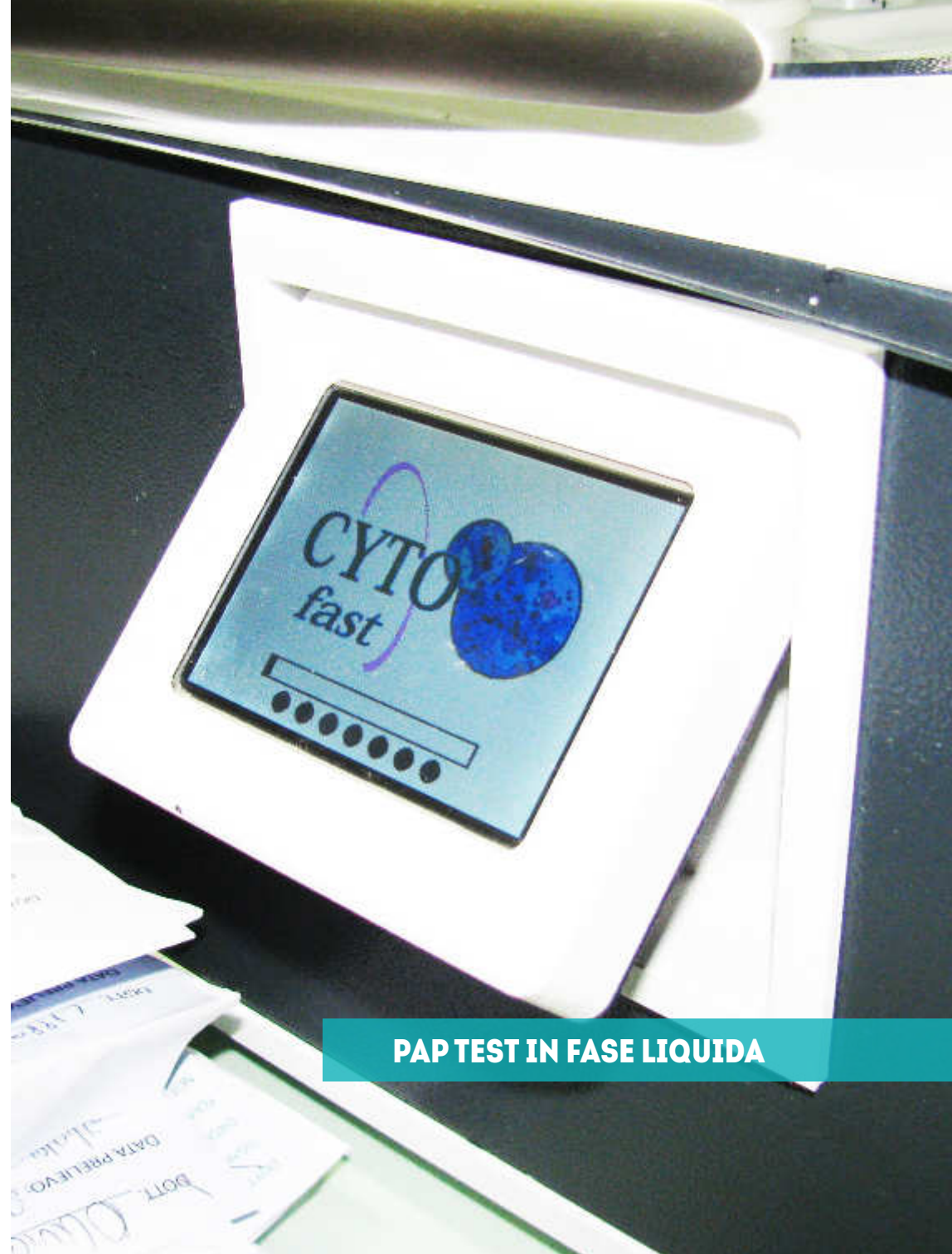
La continuità del flusso di lavoro permette una notevole ottimizzazione dei tempi, dal ritiro allo smistamento nei vari laboratori, dalla colorazione dei vetrini contenenti i campioni da

passare all'esame microscopico, fino alla consegna dei risultati.

La maggior parte degli strumenti è interfacciata con il Sistema Informatico gestionale in modo da ridurre al massimo la possibilità di errori post-analitici.

La refertazione viene fornita:

- In formato digitale mediante invio tramite PEC
- Su supporto cartaceo, presso lo studio dello specialista, direttamente dal nostro personale
- Inviata tramite posta prioritaria



PAP TEST IN FASE LIQUIDA



I NOSTRI SERVIZI

CITOPATOLOGIA

Lo studio del Dott. Pietro Di Fraia grazie alla propria esperienza nel campo della citologia vaginale e extravaginale abbinata all'utilizzo di strumentazione altamente professionale, offre un'attenta analisi dei campioni citopatologici, adottando criteri di citodiagnostica mediante lo studio e l'osservazione delle cellule sotto il profilo morfologico e funzionale, valutando, con l'ausilio delle varie tecniche, le alterazioni cellulari dei tessuti sottoposti ad esame al fine di identificare

eventuali entità morbose sia per le neoplasie che per malattie non neoplastiche.

I criteri propri della citologia si basano prettamente sulle caratteristiche morfologiche delle cellule dei rispettivi nuclei e dei citoplasmi: forme, colori, dimensioni e pattern di aggregazione vengono accuratamente valutati e confrontati al fine di fornire diagnosi sempre puntuali e basati sulle più recenti pubblicazioni medico-diagnostiche.

PAP TEST su Strato Sottile (Classificazione secondo Behtesda system 2001 con indice di maturazione

compreso o ASCUS: HSIL/LSIL)
PAP TEST su Fase Liquida (Classificazione secondo
Behtesda system 2001 con indice di maturazione
compreso o ASCUS: HSIL/LSIL)
PAP-TEST + HPV-Test (Sul Pap-Test verrà
effettuata la ricerca del Papillomavirus: HPV)
Ago Aspirato: Mammario o Tiroideo
Secrezione Mammella
Citologia Espettorato
Citologia del Liquido Seminale
Citologia Oculare
Citologia Gastrica
Citologia da Scraping Cutaneo/Mucosa
Citologia Urinaria

ISTOLOGIA

L'istologia studia la morfologia dei tessuti, e le

cellule che li compongono, sia da un punto di
vista morfologico che funzionale. Lo strumento
essenziale per l'istologia è il microscopio ottico,
che permette l'osservazione diretta dei tessuti che
si vogliono studiare. L'analisi istologica permette
l'individuazione di neoplasie e la conseguente
diagnosi. I campioni vengono lavorati e trattati
in vari modi, devono essere tagliati in strisce
sottilissime per permetterne l'osservazione in
controluce, possono essere colorati in vari modi
per facilitarne il riconoscimento e la distinzione
e vengono trattati in modo da prevenirne la
decomposizione per permetterne la conservazione
per analisi successive.

Biopsia (su tutti i Tipi di Tessuto)

Proteine P16 (su Esame Citologico o Istologico)

Tipizzazione virale HPV a partire da Biopsia





AutoCam M10-5

A10oskop 40

HBO 50

Microscopic images of cells on a slide.



Presso la nostra sede è presente una istoteca dove vengono conservati, secondo i termini di legge, tutti i vetrini e i blocchetti di paraffina analizzati.

MICROBIOLOGIA

La Microbiologia fornisce il supporto nella ricerca dei patogeni responsabili delle infezioni fornendo potenzialità diagnostiche atte a fornire, ove possibile, sia le indicazioni per la realizzazione di una terapia mirata delle malattie da infezione sia per la messa a punto di adeguate strategie di prevenzione.

L'individuazione dei microrganismi trattati mediante tecniche colturali permette la compilazione di precisi antibiogrammi ed antimicogrammi che eviteranno l'insorgenza di resistenze e faciliteranno il decorso della patologia.

Clamidia Trachomatis

Micoplasma

Ureaplasma

Trichomonas Vaginalis

Candida

Gonococco

Streptococco Beta Emolitico

Gardnerella

Herpes Simplex 2.

Salmonella

Germi Comuni (Gram – e Gram +)

Le ricerche possono essere effettuate sui seguenti campioni:

Tampone Vaginale

Tampone Cervicale

Tampone Uretrale

Tampone Rettale

Tampone da Ferita Cutanee

Tampone Oculare

Tampone Auricolare

BIOLOGIA MOLECOLARE

La struttura realizza servizi all'avanguardia nel campo delle analisi di Biologia Molecolare, con un particolare focus sulla medicina preventiva e predittiva.

Attraverso i nostri test sul DNA ricaviamo informazioni circa la componente ereditaria che predispone all'insorgenza di alcune patologie, mentre i nostri specialisti in genetica forense eseguono test di paternità e di identificazione umana.

Avvalendoci di ricercatori e professionisti dell'ambito clinico, proponiamo anche percorsi di

educazione alimentare e suggeriamo nuovi stili di vita per favorire il benessere e mantenere lo stato di salute della persona.

Lo Studio opera in stretta sinergia con il laboratorio spagnolo di Lorgen, una delle più autorevoli imprese di innovazione biotecnologica in Europa.

Microbiologia Molecolare

Tipizzazione HPV (da tampone, PAP-TEST su strato sottile o in fase liquida e biopsia): 18 ceppi ad alto rischio / 18 ceppi a basso rischio

mRNA HPV

Ricerca Clamidia in PCR (Tampone uretrale, vaginale e cervicale, urine e seme)

Ricerca Gonococco in PCR (Tampone uretrale, vaginale e cervicale, urine e seme)

Ricerca Micoplasma in PCR (Tampone uretrale,

vaginale e cervicale, urine e seme)

Ricerca Ureaplasma in PCR (Tampone uretrale,
vaginale e cervicale, urine e seme)

Ricerca Trichomonas in PCR (Tampone uretrale,
vaginale e cervicale, urine e seme)

Infettivologia Molecolare

CMV-DNA (Cytomegalovirus) Qualitativo

HBV-DNA Qualitativo /HBV-DNA Quantitativo

HCV-RNA Qualitativo

HIV-RNA Quantitativo

GINECOLOGIA OSTETRICA e FECONDAZIONE
ASSISTITA

Diagnosi Molecolare Di Fibrosi Cistica (55
Mutazioni)

Ricerca Delle Microdelezioni Del Cromosoma Y

STRs Cromosomi Sessuali

Tromboscreen (Fattore II,Fattore V Leiden:MTHFR
C677T-1298C e PAI 1)

Polimorfismi del Gene HLA-G

Studio Genetico Cariotipi

Cariotipo Costituzionale da Sangue Periferico

Cariotipo da Resti Abortivi

DIAGNOSI PRENATALE

Diagnosi Prenatale non Invasiva del Sesso Fetale
(Detesex®)

Diagnosi Prenatale per le Trisomie: cromosomi 21-
13-18 (HARMONY TEST®)

INTOLLERANZE ALIMENTARI

Predisposizione alla Celiachia

Intolleranza al Lattosio

CarboFat Gene Screen

Microarray Food 221





Oncologia Molecolare

BRCA1

BRCA2

PCA3

PATOLOGIE EMATOLOGICHE

Diagnosi Molecolare Di Emocromatosi (3 mutazioni)

Lo Studio è disponibile a valutare assieme al suo comitato scientifico nuovi pacchetti diagnostici utili allo specialista (quali la Cardiogenetica e Neurogenetica).

Inoltre, lo Studio è aperto a collaborazioni scientifiche per convalidare progetti di ricerca utili a pubblicazioni scientifiche.

DESCRIZIONE E PREPARAZIONE ESAMI

CITOLOGIA ESFOLIATIVA GINECOLOGICA PAP-TEST

La cervice uterina è la sede d'elezione per effettuare citologia esfoliativa per l'identificazione del carcinoma del collo dell'utero. Il PAP-TEST si effettua:

- a scopo diagnostico in pazienti sintomatiche,
- a scopo di screening in pazienti asintomatiche
- il materiale ottenuto con prelievo cervico-vaginale

può essere allestito per striscio direttamente sul vetrino.

PAP-TEST IN FASE LIQUIDA

La metodica consente di aumentare la sensibilità diagnostica. Questa campionatura permette:

- Allestimento in strato sottile
- Residuo di materiale per indagini supplementari

CITOLOGIA URINARIA

La citologia urinaria è un test alla ricerca di cellule anormali nelle urine. L'esame citologico urinario riveste un ruolo importante nella diagnosi, nello screening e nel follow-up delle neoplasie vescicali. Pertanto, l'esame citologico delle urine è un esame non invasivo per il paziente e gioca un ruolo importante in quei pazienti con pregressa storia clinica di neoplasia vescicale ed ha il compito di monitorare la progressione, le recidive o di valutare eventuali trattamenti;

CITOLOGIA ESPETTORATO

L'espettorato, è il secreto patologico delle ghiandole presenti nelle mucose respiratorie. L'analisi delle cellule contenute in esso possono facilitare la diagnosi di eventuali malattie ed è in grado di fornire importanti indicazioni sulla natura

dell'affezione respiratoria.

Inoltre, è possibile eseguire sul campione la ricerca di:

- Asbesto
- Siderociti
- Corpuscoli di polvere

CITOLOGIA LIQUIDO SEMINALE

L'esame del liquido seminale, o spermioγραμμα, è l'indagine di laboratorio fondamentale a cui deve essere sottoposto l'uomo con problemi di fertilità per una diagnosi certa ed affidabile.

È comunque da tenere presente l'alta variabilità dei risultati, per cui, in presenza di un esame anomalo, esso deve essere ripetuto a distanza di tempo: vi sono infatti dei fattori che possono alterare lo spermioγραμμα, quali l'assunzione di antibiotici, periodi di febbre alta precedenti l'esame, il



mRNA HPV

trasporto impreciso del seme al laboratorio. Lo spermogramma va eseguito dopo un'astinenza da 3 a 7 giorni.

GENOTIPIZZAZIONE DEL PAPILOMA VIRUS (HPV)

Il Papillomavirus umano (HPV) è una delle infezioni sessualmente trasmesse più frequenti ed ampiamente identificato come causa necessaria (ma non sufficiente) di carcinoma invasivo della cervice uterina.

Molti studi epidemiologici hanno messo ormai in evidenza come l' infezione da HPV sia il più importante fattore etiologico nello sviluppo di questo carcinoma . In particolare, tre tipi di Papillomavirus, HPV 16, 18 e 31, sembrano essere correlati con lo sviluppo del carcinoma della cervice. L'amplificazione diretta da campione mediante gli

strumenti di Biologia Molecolare è ancora una volta il metodo più veloce ed efficace per una diagnosi corretta che consente di eseguire poi i necessari e periodici accertamenti diagnostici sui soggetti a rischio. E' oggi infatti possibile identificare in tempi brevi da un campione che può essere sia una biopsia, da un tampone (anche faringeo) che un semplice PAP-TEST, non solo la presenza del virus ma la sua appartenenza ai vari tipi.

RNA MESSAGGERO (mRNA) ED HPV

Il tumore della cervice è caratterizzato da una overespressione della proteina E6/E7 dei ceppi HPV ad alto rischio e il numero di copie di HPV DNA non è direttamente proporzionale ai livelli di RNA di E6/E7, in quanto non tutte le copie di DNA virale sono trascrizionalmente attive. Il test dell'mRNA HPV possiede quindi un valore

predittivo positivo maggiore rispetto a quelli basati sul HPV DNA.

Questo test permette di avere tre informazioni essenziale per il ginecologo:

- Presenza di integrazione del Papillomavirus (necessaria per l'espressione di E6/E7 e quindi della trasformazione cellulare)
- Presenza dell'espressione oncogena del virus
- Presenza dell'RNA messaggero dei ceppi ad alto rischio.

CHLAMYDIA TRACHOMATIS

La Chlamydia Trachomatis é il principale agente eziologico di patologie a prevalente trasmissione sessuale quali: uretrite, vaginite.

LA DIAGNOSTICA CONVENZIONALE

Si basa sulla ricerca microscopica di “corpi

elementari” con tecniche di immunofluorescenza o mediante metodi indiretti immunoenzimatici (ELISA). Queste metodiche sono spesso inficcate dalla incostante presenza nel materiale patologico di quantità di microrganismo adeguate alla rilevazione.

LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE

Un netto incremento della specificità e soprattutto della sensibilità nella diagnosi di patologie Chlamydia-correlate é reso possibile dalla determinazione diretta del DNA di tale patogeno, mediante la tecnica di PCR. Per mezzo di tale metodica, infatti, é possibile individuare una specifica regione del genoma di Chlamydia trachomatis. permettendo una diagnosi precisa anche in quei campioni (urina, sangue) in cui il parassita può avere scarsa o nulla vitalità oppure

FoLabo
INSTRUMENTS

Only DNA Extraction



ASSICURARSI DI
AVER SPENTO GLI UV
PRIMA DI LAVORARE SOTTO CAPPA

STUDIO DOTT. DI FRAIA
RSPC
PIETRO DI FRAIA



LABORATORI



carica microbica molto bassa (secreti congiuntivali, liquidi seminali e sinoviali). Infatti, è proprio in questi casi che si determinano le condizioni cliniche sfavorevoli (latenza, asintomaticità e cronicizzazione), che sono alla base dell' elevata incidenza del contagio.

NEISSERIA GONORRHOEAE

La Gonorrea è un' infezione dovuta al batterio *Neisseria gonorrhoeae*. Si tratta di una delle più comuni infezioni batteriche a trasmissione. I sintomi sono molto più evidenti nei maschi, che presentano un' emissione mucopurulenta a livello dell' uretra (il dotto che porta l' urina dalla vescica all' esterno del corpo) con bruciore e frequente stimolo alla minzione. Può portare a epididimiti, ovvero l' infiammazioni dell' epididimo. Le infiammazioni pelviche si possono diffondere

dal tratto genitale inferiore coinvolgendo prima le tube di Fallopio e poi le ovaie. La conseguenza dell' infiammazione è spesso la sterilità.

MYCOPLASMA HOMINIS

Mycoplasma hominis è un microrganismo che popola il tratto genitourinario di alcuni uomini e donne, specie di quelli sessualmente attivi. La sua presenza in queste sedi può avere sia significato commensale (non crea alcuna sofferenza o disturbo) che patologico. In quest' ultimo caso, il *Mycoplasma hominis* è comunemente implicato nella genesi della vaginosi batterica e della malattia infiammatoria pelvica, insieme a *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Come tale, il *M. hominis* può causare infertilità, aborto spontaneo, endometriti, salpingiti, rottura precoce delle membrane, infezioni corion-

amniotiche e scarso sviluppo del neonato. Nel maschio può invece determinare infertilità, uretriti, prostatiti e pielonefriti. Dal momento che questo microrganismo viene spesso isolato insieme ad altri agenti infettivi, il suo grado di patogenicità è comunque incerto. Il trattamento utilizzato per debellare l'infezione da *Mycoplasma hominis* si avvale di antibiotici che interferiscono con la sintesi proteica, come l'azitromicina e la doxiciclina.

UREAPLASMA UREALYTICUM

L'*Ureaplasma urealyticum* è un mycoplasma del genere *Ureaplasma*. La colonizzazione vaginale in gravidanza da parte dell'*U. urealyticum* varia dal 40 all'80% in funzione di vari fattori. Sembrerebbe al momento attuale che la colonizzazione delle alte vie genitali femminili con l'*U. urealyticum* ed ancor più lo sviluppo di una malattia infettiva legata alla

sua presenza si associno a numerose complicanze della gravidanza e del periodo perinatale come aborto ricorrente, crioamnionite, parto pretermine, nascita di neonato di basso peso o di nato morto, malattia febbrile nel postpartum, mentre questo non avverrebbe in caso di semplice colonizzazione delle basse vie genitali.

LA DIAGNOSTICA CONVENZIONALE

La diagnosi di infezione da *U. urealyticum* è difficile per le caratteristiche biologiche dell'organismo. Sono necessari appositi terreni di coltura e quando non è possibile esaminare immediatamente il campione sono necessari particolari terreni di trasporto; inoltre la crescita può richiedere più giorni.

LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE

L'impiego della tecnica della Polymerase Chain

Reaction (PCR) elimina tutti i problemi degli esami colturali ed ha mostrato maggiore sensibilità; tale tecnica tuttavia nella diagnosi di infezione da *U. urealyticum* è per il momento limitata quasi esclusivamente al campo sperimentale.

CMVI: CMV-DNA (CYTOMEGALOVIRUS) QUALITATIVO

Il Citomegalovirus è ubiquitario, altamente specie-specifico e riconosce l'uomo come unico ospite. Il suo ciclo replicativo è diviso in tre fasi: molto precoce, precoce e tardiva. L'infezione da CMV è endemica in tutto il mondo. La prevalenza degli anticorpi aumenta con l'età con differenze legate in massima parte alle condizioni socioeconomiche, all'area geografica ed alla origine geografica; in genere la prevalenza di sieropositività (cioè la presenza di anticorpi specifici) è maggiore nei

paesi in via di sviluppo e nei ceti a più basso livello socioeconomico. Un'altra condizione a rischio aumentato di contagio è rappresentata dalla presenza in casa di bambini o dal lavoro in comunità infantili. Materiali che possono contagiare sono urine, secrezioni orofaringee, vaginali e cervicali, latte materno, lacrime e sangue. Si ha un'infezione primaria al primo contatto con il virus, mentre l'infezione ricorrente si verifica in soggetti già infettati o per riattivazione di ceppi endogeni latenti o per reinfezione con un nuovo ceppo.

HBV: HBV-DNA QUALITATIVO / HBV-DNA QUANTITATIVO

La diagnosi di infezione da Epatite b Virus avviene di solito mediante la ricerca nel siero dell'antigene di superficie Hbs Ag. Nelle epatiti acute o croniche

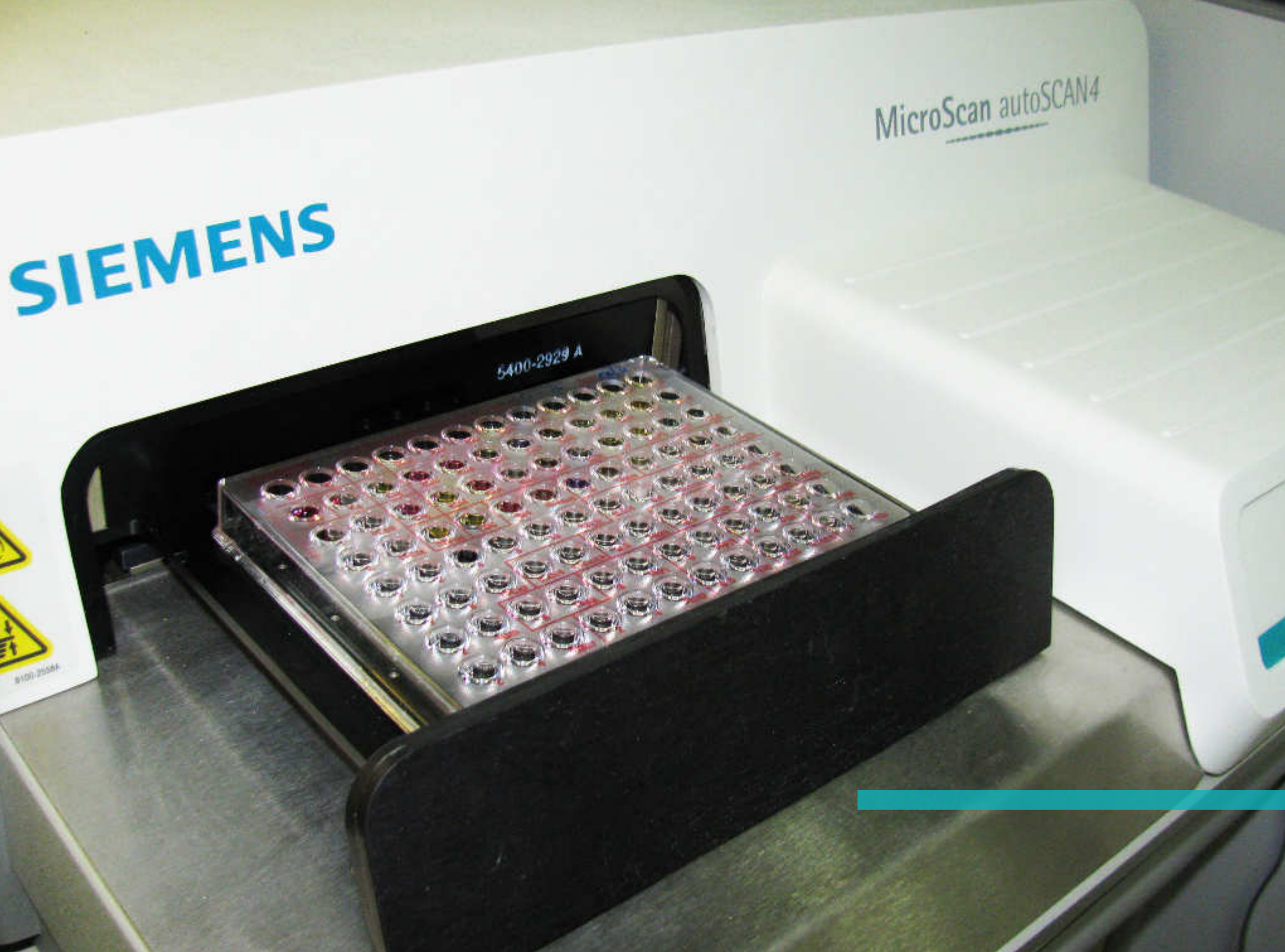
SIEMENS

MicroScan autoSCAN4

5400-2929 A



8100-200A



da HBV l' Hbs Ag rimane nel siero molto più a lungo rispetto al virus intatto. La ricerca diretta del genoma virale dell' HBV è quindi fondamentale, sia per monitorare i vari stadi durante la terapia antivirale, sia per diagnosticare l'infezione quando non è ancora evidenziabile la risposta anticorpale (periodo finestra). I portatori sani che sono positivi alla ricerca dell' HbsAg ma non sviluppano la malattia epatica, sono negativi alla ricerca del genoma dell' HBV.

HCV: HCV-RNA QUALITATIVO

Il virus dell'Epatite C (virus ad RNA) causa la maggior parte delle epatiti non A e non B. Tramite la trascrizione inversa e la successiva amplificazione, si può rilevare la presenza del virus nel siero o nelle biopsie epatiche. Ciò permette pertanto sia di rilevare la presenza del virus

quando ancora non è evidenziabile la risposta anticorpale (periodo finestra), sia di verificare l'effetto terapeutico della terapia interferonica od antivirale in genere (analisi quantitativa). Inoltre, in caso di soggetti con di alanina transaminasi (ALT) normali ed infezione cronica la ricerca del genoma virale è necessaria per sapere se il virus è inattivo (esame negativo) o se il virus pur replicandosi (esito positivo) non è stato in grado fino a quel momento di danneggiare il fegato in modo significativo. Il virus dell'HCV è altamente variabile. Fino ad oggi sono stati individuati nove tipi che si suddividono poi in molteplici sottotipi. In Italia sono diffusi soprattutto i sottotipi 1a, 1b, 2a, 2c, 3. Poiché esiste una stretta correlazione tra il genotipo del virus HCV e la risposta alla terapia interferonica, la conoscenza del sottotipo infettante risulta essere un dato fondamentale



DNA



MICROBIOLOGIA

per una corretta impostazione della terapia.

L'infezione da HCV è caratterizzata da un quadro clinico di lieve entità con un esordio insidioso con ittero e malessere; spesso la sintomatologia può essere anche completamente assente. Il 50% dei pazienti infettati sviluppa un'epatite cronica che può evolvere verso la cirrosi. Nei nati da madri che presentano anticorpi anti-HVC sono state osservate diverse modalità di presentazione dell'infezione: bambini con viremia transitoria, normali livelli sierici di transaminasi, assenza di Ab anti HCV; un quadro acuto con elevazione dei livelli sierici di transaminasi, presenza di Ab anti HCV e presenza di HCV-RNA nel sangue fino a 18 mesi; un quadro di epatite cronica asintomatica con valori sierici di transaminasi fluttuanti. Dal 1990, sono disponibili test sierologici, per la ricerca di Ab anti-HCV in soggetti con sospetta infezione perinatale. La

diagnosi viene confermata mediante la ricerca di HCV-RNA con la PCR, tale metodica sembra essere attualmente la più sensibile.

HIV: HIV-RNA QUANTITATIVO

L'HIV è ampiamente riconosciuto come l'agente causale dell'AIDS in cui la conseguenza principale dell'infezione è la deplezione della popolazione cellulare bersaglio che porta all'immunosoppressione ed alle infezioni opportunistiche. Il virus dell'HIV è un virus ad RNA , come tutti i retrovirus il genoma dell'HIV è costituito da tre geni fondamentali (gag, pol, env) racchiusi tra due sequenze non codificanti proteine, definite long terminal repeats (LTR). Su questa struttura base l'HIV possiede un corredo di geni addizionali a funzione regolatoria ed accessoria (tat, Nef, Vif, Vpr, Rey, U). Il recettore cellulare dell'HIV

è la molecola CD4, già nota agli immunologi prima dell'AIDS in quanto marker di membrana di un sottotipo di linfociti T a funzione helper/inducer. Una volta dentro la cellula l'RNA virale è convertito in molecole di DNA, tramite l'attivazione della trascrittasi inversa, che in parte si integrano nel genoma ospite ed in parte persistono in forma libera (provirus). Due specie di HIV sono in grado di infettare l'uomo: l'HIV-1 e HIV-2. HIV-1. Il virus HIV-1 è più virulento e facilmente trasmissibile ed è la causa della maggior parte delle infezioni da HIV a livello globale. Invece l' HIV 2 è meno facilmente trasmissibile ed è più facilmente riscontrabile nelle regioni Africane.

TROMBOFILIA GENETICA

Le trombofilie ereditarie (predisposizione genetica alla trombosi) sono un gruppo di patologie

caratterizzate dalla tendenza a soffrire di episodi trombotici. Si ha un evento trombotico, venoso o arterioso, quando il sangue (anche in piccole quantità) si coagula all'interno di un vaso sanguigno, aderisce alla sua parete e lo ostruisce in maniera parziale o completa, impedendo il flusso del sangue. Il coagulo prende il nome di trombo. Nella maggior parte dei casi si tratta di difetti o alterazioni di uno o più fattori della coagulazione del sangue. La coagulazione è un processo molto complesso che prevede l'intervento in successione di molti fattori (proteine) diversi. Si tratta di un evento a cascata, una specie di reazione a catena. I geni, oggi noti, di suscettibilità alla trombosi sono delle varianti geniche (mutazioni puntiformi ad un singolo nucleotide) che presentano una tale frequenza nella popolazione da essere considerate delle varianti polimorfiche. I geni in considerazione

Main Menu

Browse / New Experiments

Settings Menu

Tools Menu

Collect Results

Shortcut 1

Shortcut 2

Shortcut 3

Shortcut 4

Shortcut 5

Shortcut 6

Shortcut 7

Shortcut 8



2015-11-27 |

11:58 AM



StepOne Real-Time PCR System

sono quelli relativi al Fattore V di Leiden, al Fattore II della coagulazione (protrombina) ed il gene MTHFR (Metilentetraidrofolato reductasi). Altri geni sono stati associati a stati trombotici, tra i quali: Fattore XIII, Beta Fibrinogeno, PAI-1, HPA, HFE, APO E, APOB, ACE, AGT.

Lo studio delle varianti geniche di questi geni è indicata in:

- Soggetti con precedenti episodi di tromboembolismo venoso o trombosi arteriosa;
- Donne che intendono assumere contraccettivi orali;
- Donne con precedenti episodi di trombosi in gravidanza;
- Donne con poliabortività;
- Donne con precedente figlio con DTN (difetto tubo neurale);
- Gestanti con IUGR, tromboflebite o trombosi

placentare;

- Soggetti diabetici

GENE DEL FATTORE II (PROTROMBINA)

La protrombina o fattore II della coagulazione svolge un ruolo fondamentale nella cascata coagulativa in quanto la sua attivazione in trombina porta alla trasformazione del fibrinogeno in fibrina e quindi alla formazione del coagulo. È stata descritta una variante genetica comune nella regione non trascritta al 3' del gene che è associata ad elevati livelli di protrombina funzionale nel plasma e conseguente aumentato rischio di trombosi, specie di tipo venosa. Trattasi di una sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina) alla posizione 20210 (G20210A), una regione non trascritta del gene dalla parte del 3' che è sicuramente coinvolta nella regolazione genica

post-trascrizionale, quale la stabilità dell'RNA messaggero o con una maggiore efficienza di trascrizione del messaggero stesso. La frequenza genica della variante è bassa (1,0-1,5%) con una percentuale di eterozigoti del 2-3%. L'omozigosi è rara. Per gli eterozigoti c'è un rischio aumentato di 3 volte di sviluppare una trombosi venosa, di 5 volte per l'ictus ischemico, di 5 volte per infarto miocardico in donne giovani, di 1,5 volte per gli uomini, di 7 volte nei diabetici, di 10 volte per trombosi delle vene cerebrali e di 149 volte in donne che assumono contraccettivi orali.

GENE DEL FATTORE V (LEIDEN)

Il Fattore V attivato è un cofattore essenziale per l'attivazione della protrombina (fattore II) a trombina. Il suo effetto pro-coagulante è normalmente inibito dalla Proteina C attivata Una





REFERTAZIONE

mutazione del gene che codifica per il fattore V, a livello della tripletta nucleotidica che codifica per l'arginina in 506 (nucleotide 1691), con sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina), comporta la sostituzione dell'arginina con un altro aminoacido, la glutammina che impedisce il taglio da parte della Proteina C attivata. Ne consegue una resistenza alla proteina C attivata (APC) nei test di laboratorio ed una maggiore attività pro-coagulante del fattore V attivato che predispone alla trombosi. Tale variante G1691A è definita variante di Leiden (località in cui fu scoperta). I soggetti eterozigoti hanno un rischio 8 volte superiore di sviluppare una trombosi venosa, mentre gli omozigoti hanno un rischio pari ad 80 volte. Tale evento trombotico è favorito in presenza di altre condizioni predisponenti quali la gravidanza, l'assunzione

di contraccettivi orali (rischio aumentato di 30 volte negli eterozigoti e di alcune centinaia negli omozigoti), gli interventi chirurgici. In gravidanza una condizione genetica di eterozigosi per il Fattore Leiden è considerata predisponente all'aborto spontaneo, alla eclampsia, ai difetti placentari, alla Sindrome HELLP (emolisi, elevazione enzimi epatici, piastrinopenia). Tali manifestazioni sarebbero legate a trombosi delle arterie spirali uterine con conseguente inadeguata perfusione placentare. I soggetti portatori di mutazione del Fattore V di Leiden dovrebbero pertanto sottoporsi a profilassi anticoagulativa in corso di gravidanza o in funzione di interventi chirurgici ed evitare l'assunzione di contraccettivi orali.



AMMINISTRAZIONE

GENE MTHFR:

METILENTETRAIDROFOLATOREDUPTASI

La metilentetraidrofoloreduttasi (MTHFR) è un enzima coinvolto nella trasformazione del 5-10 metilentetraidrofolato in 5 metiltetraidrofolato che serve come donatore di metili per la rimetilazione della omocisteina a metionina tramite l'intervento della vitamina B12. Rare mutazioni (trasmesse con modalità autosomica recessiva) possono causare la deficienza grave di MTHFR con attività enzimatica inferiore al 20% e comparsa di omocisteinemia ed omocistinuria e bassi livelli plasmatici di acido folico. La sintomatologia clinica è grave con ritardo dello sviluppo psico-motorio e massivi fenomeni trombotici. Accanto alla deficienza grave di MTHFR è stato identificato un polimorfismo genetico comune, dovuto alla sostituzione di una C

(citosina) in T (timina) al nucleotide 677 (C677T), che causa una sostituzione di una alanina in valina nella proteina finale ed una riduzione dell'attività enzimatica della MTHFR pari al 50%. Tale variante comporta livelli elevati nel sangue di omocisteina specie dopo carico orale di metionina.

Recentemente, una seconda mutazione del gene MTHFR (A1298C) è stata associata ad una ridotta attività enzimatica (circa il 60% singolarmente; circa il 40% se presente in associazione alla mutazione C677T). Questa mutazione, in pazienti portatori della mutazione C677T, determina un aumento dei livelli ematici di omocisteina.

Livelli aumentati di omocisteina nel sangue sono oggi considerati fattore di rischio per malattia vascolare, (trombosi arteriosa) forse attraverso un meccanismo mediato dai gruppi sulfidrilici sulla

parete endoteliale dei vasi. Inoltre in condizioni di carenza alimentare di acido folico la variante termolabile della MTHFR porta a livelli molto bassi l'acido folico nel plasma ed è pertanto un fattore di rischio per i difetti del tubo neurale nelle donne in gravidanza. Condizioni di eterozigosi doppia, specie con la variante Leiden del fattore V o della variante 20210 della protrombina, possono aumentare il rischio relativo per il tromboembolismo venoso, già alto per la presenza dell'altra variante.

GENE DEL PAI-1

Il sistema fibrinolitico, meccanismo opposto a quello della coagulazione ed in equilibrio con esso in condizioni di normale flusso sanguigno, è basato sul plasminogeno, che è convertito in plasmina dall'attivatore del plasminogeno, sia del tipo tissutale (t-PA) che del tipo urochinasi

(u-PAI). L'inibitore-1 dell'attivatore del plasminogeno (PAI-1) è il maggiore inibitore del sistema fibrinolitico ed è prodotto da una varietà di cellule tra cui il fegato, le piastrine, le cellule endoteliali e quelle muscolari lisce delle pareti vasali. PAI-1 è un membro della famiglia SERPIN e si lega all'attivatore del plasminogeno tissutale (tPA) inibendone l'attivazione, con conseguente diminuita fibrinolisi. Elevati livelli di questo inibitore sono stati associati ad un maggior rischio trombotico, sia di tipo arterioso (infarto miocardico e malattia coronarica) che venoso (tromboembolismo), specie nei soggetti fumatori ed ipertesi. Il suo livello plasmatico è infatti aumentato dopo intervento chirurgico e comporta una riduzione dell'attività fibrinolitica che potrebbe giustificare l'ipercoagulabilità post-operatoria osservata. Inoltre il bilanciamento tra gli attivatori



TECNICO LABORATORIO



del plasminogeno ed il loro inibitore svolgerebbe un ruolo di primo piano nella formazione del trombo arterioso dopo la rottura di una placca ateromatosa. Elevati livelli di PAI-1 sono anche osservati in corso di sindrome plurimetabolica, in associazione con l'ipertensione, l'obesità, l'insulino-resistenza, gli elevati livelli di trigliceridi e le basse concentrazioni di lipoproteine ad alta densità (HDL). Il gene PAI-1 presenta un polimorfismo (SNP) di inserzione/delezione di una singola G (4G/5G) alla posizione -675 dal sito di inizio del gene, all'interno di una regione regolatoria al 5' (promotore). Il 26% della popolazione presenta un genotipo 4G/4G, il 50% è eterozigote (4G/5G) ed il 24% possiede un genotipo 5G/5G. L'allele 4G è stato associato ad un aumentato rischio trombotico, in quanto correlato ad un aumento dell'attività trascrizionale del gene e

quindi ad aumentati livelli plasmatici di PAI-1, che nella condizione di omozigosi 4G/4G sono il 25% più alti rispetto ai soggetti con genotipo 5G/5G. Si ritiene infatti che il promotore con la mutazione 4G sia in grado di legare solo un enhancer, mentre l'allele 5G sia in grado di legare sia un enhancer che un suppressor. Successivamente è stato dimostrato che il promotore di PAI-1 esibisce una risposta ai trigliceridi genotipo-specifica, con più alti livelli di PAI-1 nei soggetti con il genotipo 4G/4G in presenza di elevati livelli di trigliceridi. Infine, donne in corso di gravidanza con genotipo 4G/4G risultano avere una maggiore incidenza di complicanze della gravidanza ed al parto rispetto ai soggetti 5G/5G.

DIAGNOSI MOLECOLARE DI FIBROSI CISTICA

La fibrosi cistica è la malattia genetica più frequente nella popolazione italiana con un'incidenza compresa tra 1/2.730 e 1/3.170 nati vivi. Questa patologia è causata da mutazioni nel gene CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) che codifica per una proteina con funzione di canale ionico. È trasmessa con modalità autosomica recessiva (negli individui malati entrambe le copie del gene devono essere mutate) Il test genetico, tuttavia è l'unico modo per individuare lo stato di portatore sano all'interno di una famiglia, essendo i portatori di una sola copia del gene mutato asintomatici. Inoltre, l'analisi genetica può supportare la diagnosi clinica in tutti i casi in cui il test del sudore è negativo ma sono presenti

consistenti evidenze cliniche.

L'azoospermia ostruttiva causata da Assenza congenita dei vasi deferenti (CAVD) costituisce circa il 3% delle cause di infertilità maschile.

Di questi l'85% dei casi è dovuta alla presenza di mutazioni sul gene CFTR. Per questo motivo gli uomini con problemi di infertilità causata da azoospermia ostruttiva hanno un rischio molto maggiore rispetto alla popolazione generale di essere portatori di mutazioni sul gene CFTR.

MICRODELEZIONE DEL CROMOSOMA Y

Problemi di infertilità riguardano circa il 15% delle coppie in età riproduttiva e, nel 50% circa dei casi, è a carico del partner maschile. Negli ultimi anni è stato dimostrato che il 5-10% dei casi di oligo/azoospermia è imputabile a problemi genetici.

L'analisi genetica ha portato all'identificazione di microdelezioni di geni localizzati nei loci non polimorfici del gene AZF (Azoospermia Factor a,b,c), presenti in numero variabile e denominati STS (Sequenze Tagget Sites). Attualmente, con lo sviluppo delle tecniche di biologia molecolare, è possibile dimostrare la presenza, in pazienti oligo-azospermici, di microdelezioni del cromosoma Y, così piccole da non poter essere rilevate da un esame classico del cariotipo. Ciò riveste una particolare importanza soprattutto in quelle coppie che si affacciano alla procreazione assistita, per conoscere con più precisione la possibilità di trasmettere ad un figlio lo stesso problema di sterilità del padre. Il test per la ricerca delle Microdelezioni del Cromosoma Y consente di valutare se eventi di delezione hanno eliminato

sequenze normalmente presenti sul cromosoma Y e coinvolte nella regolazione della spermatogenesi nell'uomo.

CARIOTIPO MOLECOLARE

Abbina la possibilità di un'analisi del DNA, propria delle tecniche di biologia molecolare, con la struttura cromosomica il cui studio è oggetto della citogenetica classica.

L'esame del cariotipo consente di analizzare il corredo cromosomico di un individuo a partire da un semplice prelievo di sangue.

Questo esame è in grado di rivelare:

- La presenza di alterazioni di numero o di struttura dei cromosomi sessuali (cromosoma X, cromosoma Y) che possono essere associati a patologie dello sviluppo sessuale (sindrome di



Turner, sindrome di Klinefelter) normalmente causa di infertilità;

- La presenza di riarrangiamenti cromosomici bilanciati presenti in individui clinicamente sani, che possono essere la causa di infertilità o ridotta fertilità e generare poliabortività o nascita di bambini affetti da patologie cromosomiche.

L'analisi del cariotipo su sangue periferico è fortemente raccomandata durante il processo diagnostico, soprattutto nei soggetti con oligo- o azoospermia e prima della riproduzione in vitro.

L'analisi del cariotipo ai pazienti andrebbe eseguita:

- Con azoospermia o oligospermia
- Normospermici dopo un anno di tentativi infruttuosi per l'ottenimento di una gravidanza
- Consigliamo l'analisi del cariotipo alle pazienti femmina:

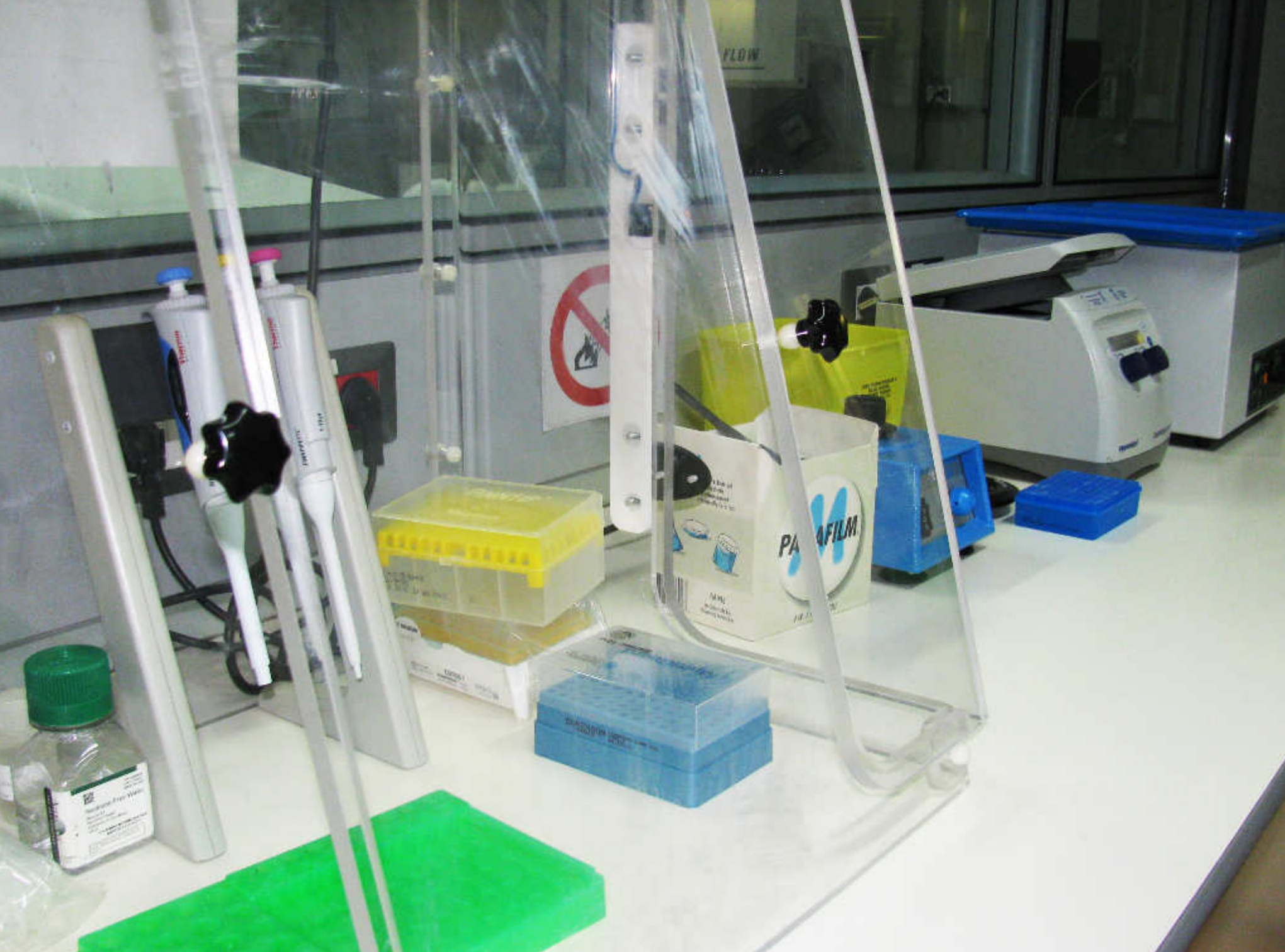
- Dopo un anno di tentativi infruttuosi per l'ottenimento di una gravidanza
- Con amenorrea primaria o secondaria
- Con insufficienza ovarica
- Con aborti ricorrenti

HLA-G

L'antigene HLA-G è una molecola non-classica HLA di classe I caratterizzata da un basso polimorfismo allelico, una ristretta distribuzione tessutale, un differente splicing dell'mRNA che genera sette isoforme proteiche e una possibile funzione biologica nell'induzione della tolleranza verso il "non self" ed antiinfiammatoria. Il gene HLA-G si trova sul cromosoma 6 (6p21.3) e mostra un basso polimorfismo allelico rispetto agli altri HLA di classe I, con 36 alleli descritti nella regione codificante.

Le regioni più polimorfiche del gene sono nella regione di regolazione 5' (5'UTR) e la regione 3' non tradotta (3'UTR) che possono contribuire alla regolazione dell'espressione di HLA-G. Un polimorfismo di inserzione/delezione di 14 bp in 3'UTR dell'esone 8 è stato correlato alla stabilità dell'mRNA e dalla quantità della proteina HLA-G. L'allele con un'inserzione di 14 bp è stato associato a livelli d'espressione di HLA-G più bassi rispetto all'allele con la delezione di 14bp. Diversamente dagli antigeni HLA di I classe, le sette isoforme HLA-G sono generate da splicing diversi del loro trascritto primario. Quattro di queste, HLA-G1 -G2, -G3 e -G4, sono forme legate alla membrana, mentre tre, HLA-G5, -G6 e -G7 sono molecole solubili. Le isoforme solubili contengono l'introne 4 che include un codone di stop ed anticipa l'arresto della traduzione

dell'mRNA prima del dominio transmembrana. Le isoforme maggiormente analizzate sono l'HLA-G1 di membrana e in forma solubile, ottenuta con taglio proteolitico, e la forma solubile HLA-G5. Nelle tecniche odierne di riproduzione in vitro, l'impianto dell'embrione rimane un evento complesso e poco conosciuto. La maggioranza degli embrioni trasferiti non si impianta (> 70%) e solo una minoranza (circa 14%) darà luogo ad una gravidanza a termine. Oggi la selezione dell'embrione da trasferire si basa per la maggior parte su criteri morfologici e di divisione cellulare. Articoli scientifici recenti hanno riportato l'importanza di alcune molecole nella regolazione dello sviluppo dell'embrione prima dell'impianto e sull'impianto stesso. Un possibile marker sembra essere la proteina sHLA-G (HLA-G solubile). sHLA-G è stata trovata nel supernatante



FLOW



PARAFILM

Small bottle label with text including '100%' and 'Sterile'.

di colture di embrioni umani ottenuti tramite IVF; in particolare uno studio eseguito su 101 pazienti ha dimostrato che la presenza di questa proteina secreta dall'embrione è un prerequisito obbligatorio, benché non da solo sufficiente, per l'istaurarsi e il procedere della gravidanza. Infatti, una gravidanza clinica è stata ottenuta solo se sHLA-G era presente nel supernatante dell'embrione in coltura al giorno del transfer. Inoltre, una scarsa espressione di sHLA-G da parte della madre, è stata associata con pre-eclampsia, aborti spontanei ricorrenti e fallimenti delle terapie IVF. La concentrazione della proteina sHLA-G rilasciata dall'embrione e anche quella prodotta dalla mamma dipende in gran parte dal genotipo del gene HLA-G. In particolar modo da alcune varianti che alterano l'espressione del gene e/o che causano una degradazione maggiore del

trascritto. Le differenze nella concentrazione di HLA-G sono quindi in buona parte determinabili dall'analisi del gene HLA-G. Nel quadro della diagnostica di infertilità di coppia, poiché il genotipo dell'embrione dipende sia dal padre che dalla madre, per stimare le potenzialità dell'embrione a produrre la proteina sHLA-G, l'analisi delle varianti sul gene HLA-G viene eseguita su entrambi i partners.

Il test dovrebbe essere eseguito nei seguenti casi:

- Indagine tramite test genetico molecolare della variante 3'UTR del/ins 14 bp sul gene HLA-G in caso di ripetuti fallimenti dei trattamenti IVF o di aborti spontanei ricorrenti idiopatici;
- In caso di inseminazione eterologa, analisi eseguita sulla paziente per la scelta di un donatore con genotipo HLA-G compatibile con al paziente.

L'analisi viene richiesta anche sui due partners

nelle seguenti situazioni:

- Ripetuti fallimenti della terapia IVF
- Aborti spontanei ricorrenti idiopatici

L'analisi viene proposta unicamente alla paziente in caso di:

- Inseminazione eterologa, per la scelta del donatore.

DIAGNOSI PRENATALE NON INVASIVA

DeteSex®

DeteSex® permette di conoscere il sesso fetale mediante un metodo sicuro per la gestante, poiché si tratta di una tecnica non invasiva ed attendibile, come confermano gli studi scientifici pubblicati. È noto che durante la gravidanza, soprattutto con l'avanzare delle settimane, nel sangue materno è presente il dna fetale. Con un piccolo campione

di sangue, mediante la tecnica Real-Time PCR, si identifica un frammento di dna del cromosoma y, rilevabile solo se il feto è di sesso maschile.

Se questo frammento non viene individuato il feto sarà, con altissima probabilità, di sesso femminile. Numerosi studi scientifici hanno dimostrato che la prova è molto precisa.

Anche se DeteSex® si può eseguire già dalla sesta

DeteSex®

analisi per la determinazione
precoce del sesso fetale



settimana di gravidanza, l'affidabilità della tecnica aumenta sensibilmente a partire dall'ottava. Già alla sesta settimana di gestazione la percentuale di corrispondenza tra il risultato della prova e il sesso constatato alla nascita è del 92%. A partire dalla settima-ottava, questa percentuale è superiore al 98%. Il test è rapido, semplice e sicuro e ha un ruolo fondamentale non solo per appagare la curiosità dei genitori ma soprattutto come importante strumento nella diagnosi precoce, non invasiva, di patologie legate ai cromosomi sessuali (emofilia, distrofia muscolare di Duchenne ecc.).

Harmony™ Test

Consiste in un'analisi prenatale che consente la ricerca delle Trisomie 21, 18, 13, di eventuali anomalie numeriche dei cromosomi X e Y e per

determinare il sesso del nascituro.

Il nuovo test, non invasivo, si effettua con un semplice prelievo sanguigno della mamma analizzando il DNA del feto che circola nei vasi dell'organismo materno, e può evitare il ricorso all'amniocentesi. Questo tipo di esame ha dimostrato un'affidabilità superiore al 99% nella rilevazione della trisomia 21, Sindrome di Down, con un tasso di falsi positivi pari allo 0,1%, inoltre l'indagine si estende anche alle Trisomie 18 e 13 con un'attendibilità inferiore.

Questo esame può analizzare anche la probabilità di eventuali altre anomalie, come le microdelezioni o quelle dei cromosomi sessuali, pur tuttavia, essendo minore l'attendibilità e per non incorrere in falsi positivi, si raccomanda di effettuare una valutazione in merito con il proprio ginecologo e

limitare l'indagine solo nei casi specifici.

L' Harmony™ Test, è un Test e non una diagnosi ed ha il vantaggio di non essere invasivo come la villocentesi o l'amniocentesi, ed è privo di rischi sia per la mamma che per il feto.

Presenta un elevatissimo tasso di affidabilità nella rilevazione della trisomia 21, è possibile utilizzarlo nei casi di parto gemellare e può essere effettuato a partire dalla decima settimana di gravidanza. E' possibile ricorrere all' Harmony™ Test anche in tutti quei casi in cui non sia stato possibile eseguire analoghi esami entro il primo trimestre di gravidanza.

Se il risultato del Test sarà negativo la gestante può essere tranquillizzata riguardo la Sindrome di Down (18,13) dato che le probabilità di questo evento saranno di circa 1<10000. Qualora il

risultato fosse positivo si renderà necessaria una conferma tramite villocentesi o amniocentesi.

In pochissimi casi, circa il 4%, il test non fornisce risposta o non restituisce un risultato chiaro, in tal caso il Test dovrà essere ripetuto partendo da un nuovo prelievo di sangue.

Per completezza di informazione bisogna tener conto che con i test non invasivi non è possibile diagnosticare alcune rare forme di Trisomia 21, 18 e 13 in quanto, queste forme di Trisomia sono causate dalla presenza in 3 copie di solo parte del cromosoma 21, 18 o 13 o dalla presenza di 3 cromosomi solo in una parte delle cellule del corpo (mosaicismo).

NUTRIZIONE

L'alimentazione ha un ruolo fondamentale nel



mantenere lo stato di salute degli uomini ed ha un impatto importante su diversi aspetti della nostra vita con notevoli risvolti psicologici e socio-culturali. I recenti progressi compiuti dalla genetica hanno permesso di ideare e mettere in opera uno schema di ricerca nutrizionale che sia ancora più aderente alle reali necessità dell'organismo. La genetica della nutrizione si compone di più settori di studio: la nutrigenomica, la nutrigenetica, l'epigenetica, la transcriptomica, la proteomica e la metabolomica. In particolare, la nutrigenetica studia le variazioni genetiche del organismo (polimorfismi) che sono alla base delle diverse risposte dei soggetti, alle sostanze presenti nel cibo. La nutrigenomica, invece indaga come le molecole contenute negli alimenti agiscono sull'espressione dei geni. Negli ultimi anni gli enormi sviluppi nel campo della genetica

hanno contribuito a scoprire le variazioni a livello del DNA che contribuiscono a causare malattie come diabete, ipercolesterolemia e intolleranze alimentari. Inoltre sono stati scoperti i ruoli di alcune importanti sostanze e le loro funzioni nel metabolismo umano, come ad esempio l'acido folico e la capacità antiossidante della Vitamina C. La Nutrigenetica è uno strumento innovativo in grado di fornire informazioni che permettono di modulare l'alimentazione e l'integrazione alimentare in modo personalizzato ed efficace rispetto alle caratteristiche genetiche individuali. Grazie alla Nutrigenetica, oggi è possibile elaborare diete alimentari su misura in base al corredo genetico di ciascun individuo. L'alimentazione e una dieta personalizzata sono i primi strumenti per conservare la salute e prevenire le malattie ereditabili geneticamente.

INTOLLERANZA AL LATTOSIO

Fino ad oggi per verificare l'intolleranza al lattosio veniva effettuato per lo più il Breath Test all'idrogeno (BTH). Questo tipo di test comporta un grande impegno temporale da parte del paziente, (circa 4 ore da trascorrere in clinica talvolta con manifestazioni gravose dopo l'ingestione del lattosio), ed una adeguata preparazione da parte dei pazienti nei giorni precedenti il test; nonostante questo, alcuni cibi, il fumo, patologie concomitanti, l'assunzione,

talvolta obbligata di certi farmaci, possono portare a risultati falsi positivi o negativi. Il test genetico risulta essere non invasivo e rapido presentando risultati certi circa il rischio di sviluppo dell'intolleranza al lattosio. Sono stati individuati nel gene della lattasi MCM6 (2q21), due differenti polimorfismi responsabili della persistenza enzimatica: C13910T A22018G. Nell'uomo, così come in tutti i mammiferi, i geni per la digestione del latte vengono silenziati subito dopo lo svezzamento. Queste mutazioni perciò



costituiscono un vantaggio selettivo grazie al quale chi le possiede mantiene attivo il gene della lattasi riuscendo ad assimilare il lattosio anche in età adulta, purtroppo solo un' esigua parte della nostra popolazione ne è portatrice, la maggior parte degli individui, infatti, risulta intolleranti al lattosio continuando inconsapevolmente ad assumerlo con conseguenze spesso difficili sulla propria salute.

INTOLLERANZA AL GLUTINE (TEST CELIACHIA)

La celiachia è una intolleranza permanente causata dall'ingestione del glutine, la frazione proteica presente in molti cereali (frumento, farro, kamut, orzo, avena, segale, spelta, triticale). La reazione di tipo autoimmune che ne consegue determina la distruzione dell'epitelio interno intestinale, con conseguente malassorbimento di

tutti i nutrienti. La malattia celiaca non guarisce: l'unica cura consiste quindi nell'adozione di una dieta rigorosa. L'incidenza di questa intolleranza in Italia è stimata in un soggetto ogni 100 persone. La vastissima gamma di sintomi rende però difficile la diagnosi, al punto che circa l'80% dei malati di celiachia, secondo stime recenti, non sono stati ancora diagnosticati.

L'intolleranza può comparire, in un periodo qualsiasi della vita, spesso dopo un evento stressante quale una gravidanza, un intervento chirurgico o una infezione intestinale. Non sempre la celiachia si manifesta in modo palese:

- la forma tipica presenta come sintomatologia un quadro classico di malassorbimento con diarrea, perdita di peso e carenze nutritive multiple;
- quella atipica si rivela tardivamente con sintomi prevalentemente estranei all'apparato digerente

(es. comuni disturbi quali crampi, debolezza muscolare, formicolii, emorragie, gonfiore alle caviglie, dolori ossei, facilità alle fratture, alterazioni cutanee, afte, disturbi psichici. Molto frequente è l'anemia da carenza di ferro ;

- quella silente ha come caratteristica l'assenza di sintomi eclatanti e quella potenziale (o latente) si evidenzia solo con esami specifici

DIAGNOSI E GENETICA

La variabilità dei sintomi e la frequenza di forme asintomatiche rendono difficile la diagnosi per Morbo Celiaco; il test genetico rappresenta uno strumento rapido e affidabile sia per soggetti sintomatici con diagnosi anticorpale dubbia sia che per individui con familiarità positiva. E' stata dimostrata una forte associazione tra la Celiachia e i geni del complesso di istocompatibilità HLA II

(eterodimeri DQ2,DQ8,DR4); il 90% dei celiaci è portatore dell'antigene DQ2, mentre nella maggior parte dei celiaci DQ2-negativi riscontriamo la positività per il DQ8. Gli stessi alleli sono osservati anche nel 25-30% dei familiari sani dei celiaci; infatti la presenza degli alleli HLA è un indicatore di predisposizione al morbo celiaco ed è essenziale. La conferma definitiva della diagnosi può essere data solo con la biopsia intestinale.

CARBOFAT GENE SCREEN

Il metabolismo funziona diversamente per ognuno di noi: ad alcuni una dieta ricca di carboidrati o di grassi fa perdere peso più velocemente, ad altri invece può rallentare il dimagrimento.

CarboFat Gene Screen analizza alcuni geni

responsabili del metabolismo dei grassi e di quello degli zuccheri.

CarboFat Gene Screen aiuta a raggiungere il peso forma poiché consente di individuare varianti del DNA che modulano la capacità individuale di metabolizzare i grassi ed carboidrati.

CarboFat Gene Screen da indicazioni precise sulla reazione del metabolismo di ciascun individuo a seconda della quantità e della qualità del cibo che ingeriamo. Questo test da indicazioni sulla reazione del nostro metabolismo a seconda dell'attività fisica svolta. Il tuo medico nutrizionista traduce le

informazioni contenute nei tuoi geni in un piano alimentare personalizzato, nel rispetto della salute e del benessere.

MICROARRAY 221 FOOD LABONCHIP (INTOLLERANZE ALIMENTARI)

Questo test, effettuato tramite un prelievo di sangue periferico, valuta la reazione diretta tra anticorpi IgG presenti nel siero, plasma o sangue intero del paziente, verso 221 antigeni alimentari analizzati in doppio comprendendo anche la valutazione della Gliadina e della Transglutaminasi.



ONCOLOGIA MOLECOLARE

PREDISPOSIZIONE GENETICA AL TUMORE DEL SENO

Il tumore della mammella rappresenta il tumore più frequente nella donna: nei Paesi industrializzati 7 donne su 100 sviluppano una neoplasia mammaria nell'arco della vita mentre il tumore dell'ovaio interessa circa il 2% delle donne. Nell'ambito di questi tumori è oggi possibile operare delle distinzioni: si parla infatti di tumori sporadici o familiari/ereditari. Il 75% circa dei tumori mammari è di tipo sporadico, cioè si sviluppa nella popolazione generale in assenza di familiarità ed è per lo più correlato a fattori ambientali. Il restante 25% dei tumori mammari è invece di tipo familiare o ereditario (la classificazione differisce in base alla numerosità,

grado di parentela o età di insorgenza di parenti affetti da neoplasia mammaria): il rischio di sviluppare tumori della mammella e/o dell'ovaio infatti è più elevato se altri membri della propria famiglia si sono ammalati di queste neoplasie.

Due geni sono responsabili di circa il 50% delle forme ereditarie di tumori della mammella e/o dell'ovaio:

- Gene BRCA1 presente sul cromosoma 17
- Gene BRCA2 presente sul cromosoma 13

Quando una persona eredita una mutazione a carico dei geni BRCA1 e/o BRCA2, possiede un aumentato rischio di sviluppare, nell'arco della sua vita, un tumore della mammella e/o ovaio:

- le donne che ereditano la mutazione a carico del gene BRCA1 hanno il 45-60% di probabilità di sviluppare un tumore della mammella, e il





20-40% di probabilità di sviluppare un tumore dell'ovaio nell'arco della loro vita;

- le donne che ereditano una mutazione a carico del gene BRCA2 hanno il 25-40% di probabilità di sviluppare un tumore della mammella e il 10-20% di probabilità per il tumore dell'ovaio.

Le mutazioni a carico di questi due geni, inoltre, in caso di pregresso tumore della mammella, aumentano il rischio di sviluppare un tumore dell'altra mammella. Non è detto però che tutte le donne portatrici di mutazione sviluppino un tumore, poiché l'alterazione di per sé non è sufficiente. Infatti, affinché la malattia insorga occorre che avvenga una seconda mutazione sull'allele sano. Pertanto, possono essere presenti, nell'ambito di una famiglia con tumore mammario/ tumore dell'ovaio ereditario, dei salti generazionali

che possono rendere difficile l'evidenza dell'ereditarietà. Oltre a BRCA1 e BRCA2 esistono anche altri geni, non ancora identificati, la cui alterazione può predisporre all'insorgenza di forme ereditarie di tali neoplasie.

PCA3: TUMORE DELLA PROSTATA

Il Prostate Cancer Gene 3 (PCA3) è un nuovo e promettente biomarcatore il cui utilizzo nella pratica clinica potrebbe migliorare la selezione dei pazienti con sospetto di carcinoma della prostata da sottoporre ad una seconda o terza biopsia della prostata. Il test PCA3 è un esame semplice che si effettua da un prelievo di urina. Valori alti di PCA3 aumentano la probabilità di una biopsia prostatica positiva, viceversa valori bassi indicano una ridotta probabilità di biopsia positiva.

DIAGNOSI MOLECOLARE DI EMOCROMATOSI

Ad oggi sono noti quattro tipi di emocromatosi ereditaria, di cui tre a trasmissione autosomica recessiva ed una a trasmissione dominante. Chi ne è affetto possiede una mutazione in entrambe le copie del gene HFE, ereditate una da ciascun genitore (soggetto omozigote mutato). Chi invece ha ereditato il gene mutato da uno soltanto dei due genitori (soggetto eterozigote), è portatore sano della malattia, senza magari manifestarla (almeno che questo stato non si associ ad un'altra malattia in grado di aumentare l'assorbimento del ferro, tale da richiedere terapia specifica). Le mutazioni più frequenti sono la sostituzione di una cisteina con una tirosina in posizione 282 (C282Y), identificata in più del 90% dei pazienti,

la sostituzione di una istidina con l'acido aspartico in posizione 63 (H63D) ed, infine, la sostituzione della serina con una cisteina in posizione 65 (S65C). In Italia, queste mutazioni sono presenti solo nel 65% dei pazienti, con marcate differenze a seconda dell'origine geografica dei soggetti e con un'incidenza più bassa nel Sud (30%), a dimostrazione di una marcata eterogeneità genetica della malattia nel nostro paese. Nelle persone affette da emocromatosi, entrambe le copie del gene HFE presentano mutazioni puntiformi. In particolare, la condizione di omozigosi per la mutazione C282Y (con una frequenza dal 60 al 90% a seconda delle popolazioni prese in esame) implica la diagnosi di emocromatosi genetica; la mutazione H63D, sempre in omozigosi, porta al caratteristico

fenotipo dell'emocromatosi, ma con un sovraccarico di ferro meno pronunciato e solo in presenza di altre concause, fra cui l'eccessiva assunzione di alcool, un'anemia emolitica concomitante o un trattamento prolungato con ferro. Generalmente la mutazione H63D ha conseguenze meno gravi sull'accumulo di ferro nell'organismo rispetto alla mutazione C282Y. La mutazione S65C, infine, è la più rara, appare essere associata ad una forma più lieve della patologia e, in Italia, è poco frequente. Altre mutazioni di HFE sono rare o presenti in aree geografiche specifiche, sono riscontrate spesso solo in un singolo paziente o in una singola famiglia e nella maggioranza dei casi sono associate in eterozigosi con la mutazione C282Y.

CONTATTI

Lo Studio è situato in Colferro, a 35 km da Roma, 30 km da Frosinone e vicinissimo al parco giochi di Valmontone

L.go Biagio della Rosa 1 00034 Colferro
(Roma) IT

Tel. 06.97.236.714

Fax. 06.97.232.191

www.studiodifraia.it

pietro.difraia@libero.it





L.go Biagio della Rosa, 1 - 00034 Colferro (Roma) IT
www.studiodifraia.it - P.I. 00199621004