

GENEADVISE

ADVISOR IN HUMAN GENETICS

THE WHITE BOOK

Copyright 2024 by Lamberto Camurri
Geneadvise srl
geneadvise@gmail.com
www.camurrilamberto.it

Printed by Amazon kdp. Amazon.com Inc.

No part of this book may be reproduced in any form, or
by any electronic, mechanical or other means, without
permission in writing from the publisher.
Text, photos, topos: archive Lamberto Camurri

GENEADVISE THE WHITE BOOK @2017-2024
2024 edition

Questo volume viene stampato su ordinazione. Ciò
consente risparmio di carta e assenza di stoccaggio e
possibili rifiuti.

GENEADVISE

ADVISOR IN HUMAN GENETICS

Geneadvise srl nasce dalla quarantennale esperienza del suo fondatore e legale rappresentante dr. Lamberto Camurri biologo specialista in genetica umana e genetica medica.

Geneadvise opera in campo sanitario, offre prestazioni di genetica medica contenute nei LEA (Livelli Essenziali di Assistenza) del Ministero della Salute, le prestazioni sono offerte a centri sanitari-medici autorizzati e accreditati al SSN e alla utenza diffusa.

La prestazione principale è la Consulenza di Genetica Umana e Genetica Medica che, leggendo la normativa professionale, prevede:

1 livello: l'informazione al paziente sul test che intende effettuare, la sua validità e i limiti delle tecniche e dei risultati oltre che le modalità di esecuzione.

Geneadvise srl was born from the forty years of experience of its founder and legal representative Dr. Lamberto Camurri biologist specialist in human genetics and medical genetics.

Geneadvise operates in the healthcare field, offers medical genetics services contained in the LEAs (Essential Levels of Assistance) of the Ministry of Health, the services are offered to authorized medical health centers accredited by the NHS and to widespread users.

The main service is Human Genetics and Medical Genetics Consultancy which, by reading the professional regulations, provides:

1 level: informing the patient about the test you intend to carry out, its validity and the limits of the techniques and results as well as the methods of execution.

2nd level: Evaluation of the requesting patient

2 livello: La valutazione del paziente richiedente e della famiglia se già è nota una diagnosi precisa. Il genetista decide se estendere specifiche indagini ad altri componenti della famiglia per poter valutare il rischio di ricorrenza in base alla patologia evidenziata.

La prescrizione dei test opportuni per la soluzione delle problematiche e dei quesiti posti.

Ulteriori conseguenti prestazioni sono la gestione dei test successivi alla consulenza nei campi:

Genetica medica prenatale,
Genetica medica preconcezionale o
postnatale
Genetica della nutrizione

L'esecuzione laboratoristica di questi test con le tecnologie moderne è definita "ad alto consumo di tempo e risorse" (time and resource consuming) e, secondo le indicazioni del Ministero della Salute e delle Società Scientifiche, va affidata a Laboratori ad Alta Specializzazione.

and family if a precise diagnosis is already known. The geneticist decides whether to extend specific investigations to other members of the family in order to evaluate the risk of recurrence based on the highlighted pathology.

The prescription of appropriate tests to resolve the problems and questions posed.

Further consequent services are the management of tests following consultancy in the fields:

Prenatal medical genetics,
Preconceptional or postnatal medical genetics
Genetics of nutrition

The laboratory execution of these tests with modern technologies is defined as "time and resource consuming" and, according to the indications of the Ministry of Health and Scientific Societies, must be entrusted to highly specialized laboratories.

CHI SIAMO

WHO WE ARE

A FAMILY TEAM

Lamberto Camurri, PhD,
Biologo, Medical Genetics Specialist
CEO, Project Leader, SIGU, ESHG, ASHG

Francesca Camurri, BS
Biologist
Project Assistant

Angela Godi Palmi, HSD
Executive Assistant

Giulia Camurri, BS
Political Scientist
Project Assistant

GENEADVISE
ADVISOR IN HUMAN GENETICS

GENETICA
MEDICA

PLURIGENTEST

DIAGNOSI
GENETICA
PRENATALE NIPT

PRENATALE
INVASIVA CVS AF

GENETICA
ONCOLOGICA

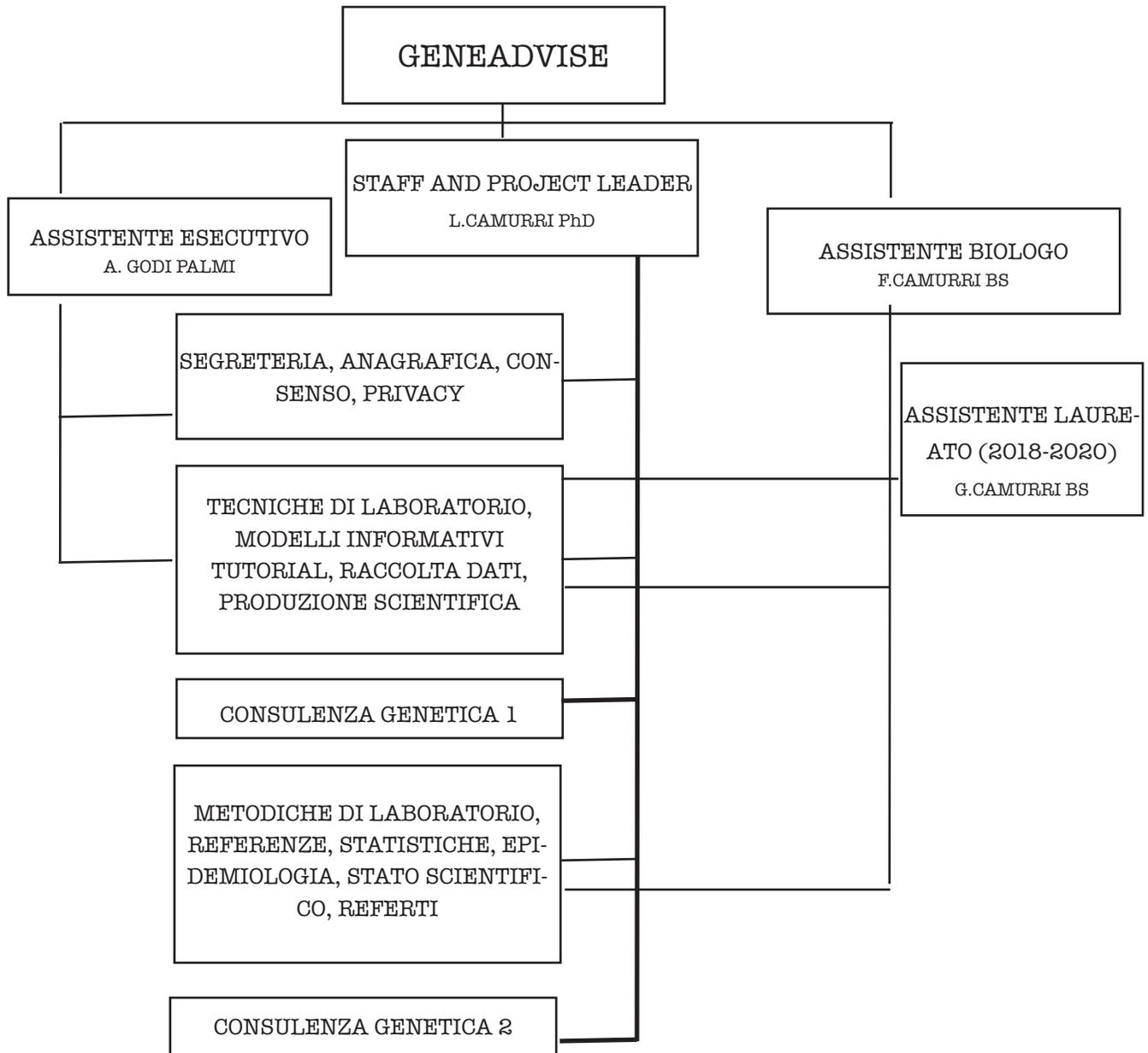
GENETICA
NUTRIZIONALE

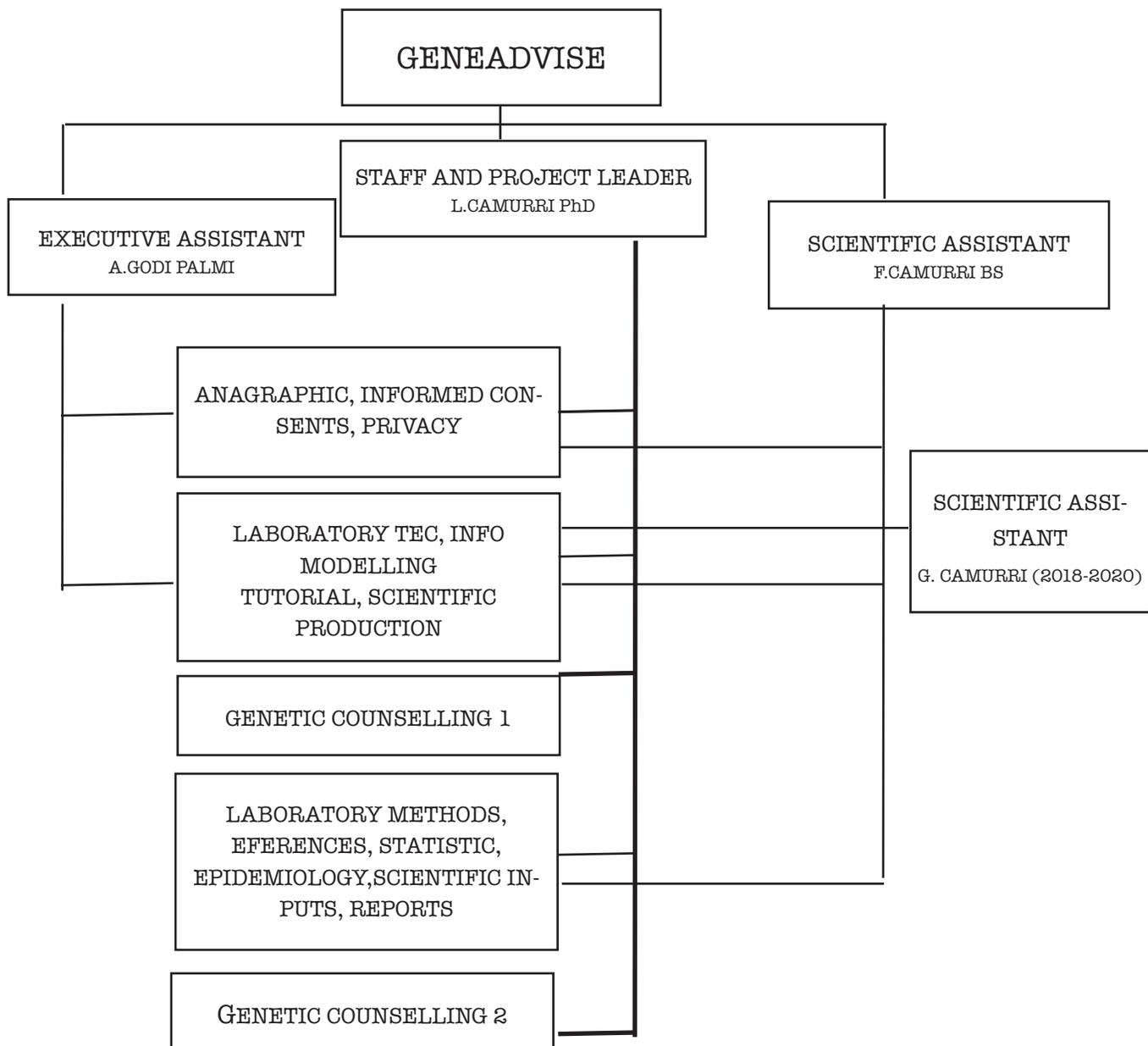
GENETICA
FORENSE

CHI SIAMO



GENEADVISE





I NUMERI

2013-2023

CONSULENZE GENETICHE	4510
PLURIGENTEST 1	
MALATTIE MENDELIANE	6161
PLURIGENTEST 2	
PRENATALE DNA FETALE	4505
PLURIGENTEST 3	
DIAGNOSI PRENATALE	
AMNIOCENTESI VILLOCENTESI	94
TOTALE	15270
MEDIA ANNUALE	1527

Lamberto Camurri, PhD, PM

Biologo, Specialista in Genetica Medica e Genetica Applicata

Fellow Sezione di Genetica, Dipartimento di Biomedicina, Università Torvergata, Roma

Via Rodolfo Morandi 3. 42020 Albinea RE. camurri@icloud.com

Laurea in Scienze Biologiche, Specialista in Citogenetica Umana, Specialista in Genetica Applicata

Trattamento dati sensibili GDPR 2017 - DLGS 196/03

CEO GENEADVISE srl Advisor in Human Genetics

Trattamento dati sensibili GDPR 2017 - DLGS 196/03

CURRICULUM

1974 Laurea in Scienze Biologiche con lode. Università degli Studi di Parma. Tesi: Biomassa e produzione del fitoplancton nel Lago Santo Parmense nella stagione delle acque aperte

1975 - 1993 Biologo presso il Laboratorio di Genetica USL 9 Reggio Emilia.

1976 Vincitore di assegno ministeriale PI di formazione scientifica e didattica (DM 20.7.74; GU 17.2.75)

1977 Membro Associazione Genetica Italiana

1977 Membro European Environmental Mutagen Society

1979 Funzioni di Coordinamento del Servizio di Genetica del Consorzio Intercomunale per i Servizi Sanitari di Reggio Emilia: presa d'atto del Presidente

1981 Relatore della Tesi di Laurea: Aberrazioni cromosomiche e Sister Chromatid Exchanges in lavoratori di industrie della vetroresina esposti a stirene. Candidata Susanna Codeluppi, Facoltà di Scienze Biologiche dell'Università degli Studi di Parma

1984 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Organizzazione Mondiale della Sanità. Appreciation about the original approach for the early trophoblast sampling for fetal diagnosis of hereditary diseases

(Apprezzamento per l'approccio originale al campionamento di trofoblasto per la diagnosi fetale di malattie ereditarie)

1985 - 1990 Consulente in Citogenetica Umana dell' USL 3 di Fiorenzuola d'Arda

1985 Incarico di Coordinamento del Laboratorio di Genetica dell'USL 9 di Reggio Emilia

1985 Iscrizione all'Ordine dei Biologi. Abilitazione alla professione di Biologo

1986 Membro del Comitato di Esperti della Regione Emilia Romagna per la stesura del progetto "Controllo delle Malattie Ereditarie e Congenite" del 2° Piano Sanitario Regionale

1986 Membro del Comitato Tecnico Scientifico istituito dalla Amministrazione Provinciale di Reggio Emilia causa la emergenza nucleare dopo l'incidente di Chernobyl

1986 Responsabile del progetto di ricerca della Regione Emilia Romagna: Indagine citogenetica sui lavoratori della Centrale Elettronucleare ENEL di Caorso esposti cronicamente a basse dosi di radiazioni ionizzanti

1986 WORLD HEALTH ORGANIZATION. Organizzazione Mondiale della Sanità. Compliments of the General Director for the research on fetal diagnosis of hereditary diseases (Complimenti del Direttore Generale circa la ricerca nel campo della diagnosi fetale di malattie ereditarie)

1987 Diploma di specializzazione in Citogenetica Umana con lode presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Pavia. Tesi: Riarrangiamenti cromosomici inattesi in diagnosi prenatale nel secondo trimestre

1987 Membro del Comitato Tecnico Scientifico istituito dall'USL 3 di Fiorenzuola d'Arda per l'esecuzione dell'Indagine Citogenetica sugli Effetti delle Basse Dosi di Radiazioni Ionizzanti

1989 American Journal of Medical Genetics potential reviewer

1989 Membro dell'American Society of Human Genetics

1990 Membro della Associazione Italiana di Citogenetica Umana

1991 Membro della European Society of Human Genetics

1991 Responsabile del Progetto di Ricerca Sanitaria Finalizzata della Regione Emilia Romagna: Mosaicismi cromosomici e riarrangiamenti cromosomici de novo: diagnosi prenatale, conferma citogenetica e follow up clinico

1992 Membro del Gruppo di Lavoro: Prevenzione e Cura delle Malattie Genetiche e Malformative costituito dalla Regione Emilia Romagna il 24.2.1992

1994 Diploma di Specializzazione in Genetica Applicata presso la facoltà di Scienze dell'Università di Bologna. Tesi: Diagnosi prenatale non invasiva delle malattie genetiche nel primo trimestre: DNA fetale da campioni uterini transcervicali.

1995 Membro della Associazione Italiana di Genetica Medica

1998 Membro della Società Italiana di Genetica Umana

2007 Direttore Scientifico Arcella Analisi Mediche Biolab Padova

2007 Contractor Silicon Biosystems spa - The Living Cell Company-Bologna. 2008 Contractor Research & Innovation spa -Padova. 2010 Contractor Laboratorio Mendel Genetica Medica - Modena.

2010 Contractor Rete Diagnostica Italiana Medical Genetics - Limena, Padova.

SCIENTIFIC REVIEWER: SAGE Hindawi Publishing Co., Clinical Genetics (Wiley), Pediatric Research (Nature Publishing Group), PlosONE org, Human Genomics (Springer-Nature)

ATTIVITA' PROFESSIONALE

1975-1993 Laboratorio di Genetica USL 9 Reggio Emilia: diagnostica citogenetica su sangue periferico, colture di liquido amniotico, villi coriali, fibroblasti, sangue fetale e altri tessuti. Diagnosi citogenetica su instabilità cromosomica, Sindrome di Fanconi, Atassia Teleangectasia, Sindrome di Bloom. Ricerca del cromosoma X fragile.

1989-1995 Laboratorio Privato Studio R. Palmer (Reggio Emilia) (attività non continuativa): diagnostica citogenetica su sangue periferico, colture di liquido amniotico, villi coriali, fibroblasti, sangue fetale e altri tessuti. Ricerca cromosoma X - fragile.

Consulente in citogenetica medica dell' Ospedale C. Poma di Mantova, Ospedale Olio Po, Ospedale di Suzzara, Ospedale di Carpi, Ospedale di Mirandola, Ospedale di Pavullo nel Frignano, Ospedale di Urbino, Ospedale Maternità di Bologna.

Dal 1993 al 2005 Consulente Citogenetica Medica Studio Dr. Bruno Brambati di Milano
Dal 1995 al 2010 Consulente Citogenetica Medica. Laboratorio Arcella Analisi Mediche, Padova
Dal 1998 al 2007 Consulente Genetica Medica. Laboratorio Biolab Tencarola, Padova
Dal 1996 al 2005 Direttore Genetica Medica Laboratorio HI-TECH srl, Parma e Padova. Dal 2010 al 2014 Consulente Citogenetica Medica e Direttore Laboratorio Mendel Genetica Medica Modena
Dal 2000 Consulente Citogenetica Medica della Sezione di Genetica - Dipartimento Biodiagnostica-Università degli Studi Torvergata di Roma
2009-2017 Coordinatore scientifico Settore Genetica Medica di Rete Diagnostica Italiana, Padova.
Dal 2013 Specialista in Genetica Medica presso Centro Palmer Reggio Emilia, Centro Medi Saluser Parma.

1975-2020. CYTOGENETIC CLINICAL CASES: 100.000 ANALISI CROMOSOMICHE PRENATALI

INVITED SPEAKER RELATORE SU INVITO

International Symposium on Sister Chromatid Exchanges. Brookhaven National Laboratory, Upton New York, 4-8 Dicembre 1983

Controversies in Perinatal Medicine. Università degli Studi di Perugia, 31 Maggio - 2 Giugno 1984

Workshop on Chorion Sampling. Università degli Studi di Perugia, Villa La Colombella, 3 Giugno 1984

Consiglio Nazionale delle Ricerche. Centro di Genetica Evoluzionistica. Seminario: Nuovi sviluppi nelle metodiche di diagnosi cromosomica prenatale precoce. Roma 2 luglio 1984

International Symposium on First Trimester Fetal Diagnosis. B.Brambati, M.Fraccaro, G.Simoni eds. Rapallo, 25-27 Ottobre 1984

International Course on Recent Advances in Perinatal Medicine. Ettore Majorana Centre for Scientific Culture, Erice 6-13 Dicembre 1984

Problemi e prospettive dei Servizi di Diagnosi Prenatale. Seminario di Aggiornamento. Istituto

Scientifico G. Gaslini, Genova, 22 Febbraio 1985

7th International Meeting on Prenatal Diagnosis and Fetal Treatment. Giessen, Germany 11-12 Settembre 1985

Meeting of the International Group on Fetoscopy organizzato da Academisch ziekenhuis rotterdam, Dr. Jahoda. Rotterdam 17-19 september 1986

Corso sulla Diagnosi Prenatale dei Difetti Congeniti. Clinica Ostetrica III dell'Università degli Studi di Milano. 15-17 Giugno 1987

Vita Domani. XXIX Congresso Nazionale AOGOI. Milano 29 Settembre - 1 Ottobre 1988

United States Environmental Protection Agency. Symposium on the "In situ evaluation of biological hazards of environmental pollutants". Chapel Hill North Carolina, December 5-7, 1988

Cattedra di Genetica della Facoltà di Scienze dell'Università degli Studi di Urbino. Seminario Scientifico: Citogenetica nelle Aberrazioni Y-specifiche. 3.5.1989

Corso Unificato di Genetica Medica per le Scuole di Specializzazione Medico Chirurgiche dell'Università degli Studi di Modena.

Seminario: Diagnosi Prenatale e Problemi Cromosomici Correlati. 12 Giugno 1990

5 Congresso FISME. Pseudomosaicismo e mosaicismo vero in diagnosi prenatale del 2° trimestre. Perugia 24 ottobre 1990

Corso Ufficiale di Patologia Neonatale. Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Parma. Seminario sulla Patologia Malformativa. Lezione: Diagnosi Citogenetica Prenatale: Relazione Cariotipo Fenotipo. 13.12.1990

Facoltà di Scienze dell'Università di Urbino. Cattedra di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche. Lezioni: Citogenetica umana e citogenetica medica. Urbino 2-4 Aprile 1992

Divisione di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale di Mantova. Conferenza: La prevenzione delle Malattie genetiche in gravidanza. HotelCristallo di Cerese, 8.5.1992

From Gametes to Embryo. VI International Conference on Early Prenatal Diagnosis of Genetic Diseases Milano 18-20 May 1992

Corso di Perfezionamento in Neonatologia e Puericoltura, Istituto di Puericoltura e Medicina Neona-

tale dell'Università di Parma. Lezione in: Diagnosi genetica Prenatale. Parma 23.4.1993.

Corso di Genetica Umana nel Corso di Laurea in Scienze Biologiche della Facoltà Scienze dell'Università di Parma. Lezione in: Nuovi metodi nella diagnosi prenatale delle malattie ereditarie. Parma 10.5.1993

Facoltà di Scienze dell'Università di Urbino. Cattedra di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche. Lezioni: Citogenetica umana e citogenetica medica. Urbino. 7-8 Aprile 1994.

Facoltà di Scienze dell'Università di Urbino. Cattedra di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche. Lezioni - esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Urbino 15 - 16 Marzo 1995.

Facoltà di Scienze dell'Università di Urbino. Cattedra di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche. Lezioni - esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Urbino 10 - 11 Aprile 1996.

Facoltà di Scienze dell'Università di Urbino. Cattedra di Genetica. Corso di Laurea in Scienze Biologiche. Lezioni - esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Urbino 20 Marzo 1997.

Università di Urbino. Diploma Universitario Biotecnologie Agro Industriali. 5° anno. esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Fano 23 Aprile 1997.

2 Congresso Nazionale SIGU. Selected Speaker. Trisomie e riarrangiamenti cromosomici del trofoblasto inconsistenti con il cariotipo fetale. Orvieto 1 Ottobre 1999

Università di Urbino. Diploma Universitario Biotecnologie Agro Industriali. 5° anno. esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Fano 2 Aprile 2000.

Università di Urbino. Diploma Universitario Biotecnologie Agro Industriali. 5° anno. esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Fano 15 marzo 2001.

Università di Urbino. Diploma Universitario Biotecnologie Agro Industriali. 5° anno. esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Fano 22 marzo 2002.

Università di Urbino. Diploma Universitario Biotecnologie Agro Industriali. 5° anno. esercitazioni: Metodi in Citogenetica. Fano 16 dicembre 2003

Università di Padova. Corso di Genetica Medica e Diagnosi Prenatale. Padova 31.1.2009.

CAM LABCO. Monza. Diagnosi Prenatale Non Invasiva. Corso ECM. Chairman. 22 settembre 2013.

Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese. Test Genetici: cosa fare? Diagnosi Prenatale non

Invasiva. Corso ECM. Relatore. Varese 9 dicembre 2013.

CC Villa Serena Genova. Diagnostica Prenatale. Test su DNA fetale in sangue materno: tecnica, limiti, consulenza. Corso ECM. Relatore. 24 Gennaio 2014.

CAM LABCO. Monza. NIPT. DNA fetale nel plasma materno: dai trials alla clinica. NIPT on field: esperienza sul campo. Corso ECM. Relatore. Monza 31 Marzo 2014.

SIGU Riunione scientifica congiunta: NIPT, potenzialità, limiti e proiezione futura. Round Table, invited discussant. Roma 1 Aprile 2014.

Gynepro Educational. Stato Attuale NIPT. Metodiche a Contronto. Corso ECM. Aggiornamenti in Campo Riproduttivo e Prenatale. Bologna 16 maggio 2014.

RDI Limena, Padova. Diagnosi Prenatale Non Invasiva. Test NIPY: Harmony Test. Prevenzione Preconcezionale, Diagnostica Predittiva non invasiva. Padova, 29 maggio 2014.

Università di Parma. NIPT. Corso ECM. Nuove Prospettive in Diagnosi Prenatale. Parma. 4 giugno 2014.

Università di Padova - DIMED, Corso di Perfezionamento Nuove Tecnologie in Medicina Molecolare. Test su DNA fetale in sangue materno. Padova 6 Novembre 2014.

Università di Padova Dalla Coppia Infertile al Bambino in Braccio. Diagnosi su DNA fetale circolante. Padova 22 aprile 2015.

Università di Padova - DIMED, Corso di Perfezionamento Nuove Tecnologie in Medicina Molecolare. Test su DNA fetale in sangue materno. Padova 29 ottobre 2015.

CAM LABCO. Monza. NIPT La nuova generazione. NIPT on field, esperienza sul campo. Monza 17 marzo 2016. CAM LABCO. Monza. NIPT La nuova generazione. NIPT on field, esperienza sul campo. Monza 10 Maggio 2016 (ECM)

FONDAZIONE SDN NAPOLI. Il Nuovo nella Diagnostica Prenatale e nella Prevenzione Femminile. NIPT on field, esperienza sul campo. Napoli 12 maggio 2016.

ROCHE ITALIA. Training aggiornamento su NIPT e Harmony test. Direzione Medical & Market Access. Monza 8 settembre 2016.

REFERENCES PUBBLICAZIONI INTERNAZIONALI (REFEREE)

- 1) L.CAMURRI et al (1983) Chromosomal aberrations and SCE in styrene exposed workers. *Mutation Research* 113,3/4,238
- 2) L.CAMURRI et al (1983) Chromosomal aberrations and SCE in workers exposed to styrene. *Mutation Research* 119,361
- 3) L.CAMURRI et al (1984) SCE in workers exposed to low doses of styrene. In: *Sister Chromatid Exchanges*, B p957, RR Tice and A. Hollaender ed. Plenum Press
- 4) G.Ghirardini, L.Camurri (1984) *Handhabungs-anweisung Chorionskop* 8980. Richard Wolf GmbH. Knittlingen ed. Deutschland
- 5) G.Ghirardini, L.CAMURRI, et al (1985) New endoscopic method for chorionic villi sampling and cytogenetical analysis. In: *Selected Topics in Perinatal Medicine*. EV Cosmi , GC Di Renzo eds; p297. CIC Roma
- 6) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1985) Chorionic villi sampling by means of a new endoscopic device. In *First Trimester Fetal Diagnosis*. M.Fraccaro et al ed. p 53. Springer Verlag
- 7) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1985) Simple and rapid control of chorion biopsy in first trimester antenatal diagnosis. *Clin.Exp.Obst.Gyn.*XII.1/2,43
- 8) L.CAMURRI et al (1985) Chromosome analysis of first trimester chorionic villi sampled by chorionscope. In *First Trimester Fetal Diagnosis*. M.Fraccaro et al ed. p 189. Springer Verlag
- 9) GL . Terzoli,...and L.CAMURRI (1985) Effect of incubation time and serum concentration on the number of mitosis in aspirated villi samples. In *First Trimester Fetal Diagnosis*. M.Fraccaro et al ed. p197. Springer Verlag
- 10) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1986) Vaginosonographic guided chorionic villi needle biopsy (transvaginal chorionic villi sampling). *Eur.J.Obst.Gynecol.Reprod.Biol.*23,315
- 11) L.CAMURRI,L.Caselli,E.Manenti (1988) True mosaicism and pseudo mosaicism in second trimester fetal karyotyping. A case of mosaic trisomy 8. *Prenatal Diagnosis* 8,168
- 12) L.CAMURRI, E.Manenti,C.Zanacca (1988) Mosaic trisomy 8 (lower than 1%) detected prena-

tally: first cytogenetic and clinical follow up. *Clinical Genetics* 34,391

13) L.CAMURRI, A.Ventura (1989) Choroid plexus cysts: a prenatal indication for fetal trisomy 18. *American Journal of Human Genetics*.45.4,A254

14)L.CAMURRI, A.Ventura (1989) Prospective study on trisomy 18 and fetal choroid plexus cysts. *Prenatal Diagnosis* 9,742

15)L.CAMURRI et al (1990) Prenatal identification of a short arm dicentric Y chromosome. *Cytogenetic and counselling. Clinical Genetics* 37,296

16) G.Croci, L.CAMURRI, F.Franchi (1990) A familial case of chromosome 16 variant. *Journal of Medical Genetics* 28,60

17) L.CAMURRI, A.Chiesi (1991) The phenotype in prenatally detected mosaics. A long term follow up on a case of low trisomy 8 mosaicism. *Clinical Genetics* 40,127

18) L.CAMURRI, A.Chiesi (1991) A three year follow up on a child with low level trisomy 8 mosaicism detected prenatally. *Prenatal Diagnosis* 11,59

19) L.CAMURRI, G.Croci, E.Manenti, M.Cantarelli, G.Novelli, M.Gennarelli, B.Dallapiccola (1991) Yq deletion map and AZF locus: the use of interval 6 and 7 probes to predict sterility in prenatally detected Yq rearrangements without 45,X mosaic. *American Journal of Human Genetics* 49,4,172

20) L.CAMURRI, M.Cantarelli (1991) Prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism on amniotic fluid and fetal blood: a problem for detection, biology and counselling. *American Journal of Human Genetics* 49,4,172

21) G.Ghirardini, L. CAMURRI (1991) Exocoelomic space, limb reduction, and CVS. *The Lancet*, Sept.14, vol 338, 695

22) L.CAMURRI, G. Ghirardini (1992) Trisomy 7 on chorionic villi, discrepancies and fetal karyotype. *Atti "From Gametes to Embryo"*, *Prenatal Diagnosis* 12, May Suppl. S59

23) G.Novelli, L.DeSantis, F.Sangiuolo, S.LoCicero, L.CAMURRI, M.Cantarelli, B.Dallapiccola (1992) Amplification and analysis of the OTC gene from single human oocytes. *Atti "From Gametes to Embryo"*, *Prenatal Diagnosis* 12, May Suppl. S 127

24) L.CAMURRI, A.Minelli, R.M.Avarello, et al. (1992) Inverted duplication and deletion of 8p: a

syndrome. American Journal of Human Genetics 51, Suppl.4, A76, 293

25) L. CAMURRI, G. Novelli, M. Gennarelli, M. Cantarelli, B. Dallapiccola (1993) Yq deletions and AZF locus: molecular analysis in two fetuses with non familial homogeneous Yq rearrangements. Genetic Counselling 4,3, 223-226

26) A. Minelli, G. Floridia, E. Rossi, M. Clementi, R. Tenconi, L. CAMURRI, et al (1993) D8S7 is consistently deleted in inverted duplications of the short arm of chromosome 8 (inv dup 8). Human Genetics 92, 391-396

27) L. CAMURRI (1994) Placental degeneration of chorion laeve in CVS confined chromosomal mosaicism. Am.J.Hum.Genet. 55,3 Suppl, A277

28) A. Massari, G. Novelli, ..., L. CAMURRI, ..., and B. Dallapiccola (1994) Fetal DNA from transcervical swabs: a route to non-invasive first-trimester prenatal diagnosis of mendelian diseases. Am.J.Hum.Genet. 55,3 Suppl, A278

29) S. Bonassi; A. Abbondandolo, L. CAMURRI, et al. (1995) Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of future cancer onset in humans? Preliminary results of an italian cohort study. Cancer Genetics and Cytogenetics 79: 133-135

30) S. Bonassi, C. Bolognesi, A. Abbondandolo, ..., L. CAMURRI, et al. (1995) Influence of sex on cytogenetic endpoints: evidence from a large human sample. Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention 4, 671-679.

31) A. Massari, G. Novelli, ..., L. CAMURRI, ...and B. Dallapiccola (1996). Non invasive early prenatal molecular diagnosis using retrieved transcervical trophoblast cells. Human Genetics, 97: 150-155.

32) L. CAMURRI, S. Guernieri, M. Baldi, et al. (1996). CVS. Chromosomal mosaicism in 10.000 consecutive cases. Am. J. Hum. Genet. 59, 4, A317.

33) G. Di Cola, P. Gallo, ... and L. CAMURRI (1996). PCR analysis of CGG trinucleotide repeat of FMR-1 gene in first trimester chorionic villi samples. Am. J. Hum. Genet. 59, 4, A320.

34) L. CAMURRI, L. Tului, F. Chiavazza, B. Brambati (1997). Effective chromosome analysis on second trimester chorionic villi. Am.J.Hum.Genet. 61,4, A149

35) B. Brambati, L. Tului, L. CAMURRI, S. Guercilena (2002). Early second trimester (13 to 20 weeks)

transabdominal chorionic villus sampling (TA-CVS): a safe and alternative method for both high and low risk populations. *Prenatal Diagnosis*. 22: 907-913

36) B.Brambati, L.Tului, L.CAMURRI, S.Guercilena (2004). First trimester fetal reduction to a singleton infant or twins: outcome in relation to the final number and karyotyping before reduction by transabdominal CVS. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 191:2035-40

37) Ballarati,L, CAMURRI,L,... Giardino,D, (2008)Prenatal diagnosis of trisomy 18 mosaicism: 24 new cases and review of the literature.*Am.J.Hum.Genet.* 83, A1045

38) Rotundo,E, Chiavazza F, CAMURRI L, Piantelli G, Verrotti C, Gizzo S, Nardelli GB. (2009) Significance of principal indications to the prenatal genetic diagnosis. *Fundamental Research (ISSN1812-7339)* , 71-73 (russian, english abstract).

39) Novelli A,CAMURRI L.Giardino D. (2012) Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetic working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012, 39, 384-388.

40) Novelli A,CAMURRI L.Giardino D. (2012) Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetic working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. Reply. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012, 39, 601-606.

41) Baroncini A,....CAMURRI L, Novelli A, Dallapiccola B, Chromosome microarray as first tier approach in low risk pregnancies: (...) *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014; 43:356-359. 57) PLOS ONE 2015 Reviewer Thank You. (2016) *PlosOne* 11(2):e0150341

42) PLOS ONE 2015 Reviewer Thank You. (2016) *PlosOne* 11(2):e0150341.

43) PLOS ONE 2016 Reviewer and Editorial Board Thank You. (2017) *Plos ONE* 12(3): e0174259. doi:10.1371/journal.p

44) Prefumo Fand L.CAMURRI (2019) The contingent use of cell-free DNA for prenatal screening*PlosOne* 14(6)1-12.e0218166.

REFERENCES PUBBLICAZIONI NAZIONALI E RELAZIONI / ABSTRACTS DI CONGRESSI

- 1) I.Ferrari, C.Bellavere, L.CAMURRI (1973) Ricerche invernali al Lago Santo Parmense. L'Ateneo Parmense, IX, 3, 1
- 2) I.Ferrari, L.CAMURRI (1973) Densità e biomassa dei popolamenti fitoplanctonici in un lago appenninico durante la copertura ghiacciata. Ist. Lombardo B107, 33
- 3) I.Ferrari, C.Bellavere, L.CAMURRI, M.Catellani (1974) Limnologia fisica e chimica e contenuti di clorofilla-A nel fitoplancton di un lago di montagna, il Lago Santo Parmense. Riv Idrobiol XIII 2.3, 1
- 4) I.Ferrari, C.Bellavere, L.CAMURRI (1974) Il lago d'alta quota come laboratorio naturale. Acqua e Aria, Ecologia 34, 50
- 5) I.Ferrari, C.Bellavere, L.CAMURRI, M.Catellani (1976) Ricerche limnologiche in un lago appenninico in condizioni di copertura ghiacciata. Giornale di Geologia. Serie 2. XL, 131
- 6) L.CAMURRI, I.Ferrari, M.Villani (1976) Biomassa e produzione del fitoplancton nel Lago Santo Parmense nella stagione delle acque aperte. Arch Oceanogr Limnol 18, 237
- 7) G.Croci, L.CAMURRI, et al. (1979) Trisomia 21 conseguente a segregazione 3:1. Descrizione di un caso. Atti IV Convegno Italiano di Citogenetica Medica. Palermo.
- 8) L.CAMURRI (1979) Tecniche di indagine della mutagenicità. In: Inquinamento da fitofarmaci e metalli pesanti. Ed. Amministrazione Provinciale di Reggio Emilia
- 9) E.Manenti, G.Croci, L.CAMURRI (1981) Individuazione di famiglie portatrici di alterazioni cromosomiche: un contributo alla prevenzione nelle gravidanze a rischio. Atti del Convegno: Prevenzione, Diagnosi Precoce, Riabilitazione. Reggio Emilia 28-30 Ottobre 1981. pp 86-90
- 10) L.CAMURRI et al. (1982) Monosomia parziale 13q. Descrizione di un caso. Atti 3° Convegno Nazionale Ostetrico Pediatrico. Salsomaggiore Terme 28-30 Ottobre 1980
- 11) G.Croci, L.CAMURRI et al (1982) Sindrome 8p-. Contributo alla definizione. Atti 3° Convegno Nazionale Ostetrico Pediatrico. Salsomaggiore Terme 28-30 Ottobre 1980
- 12) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1984) Endoscopic chorion biopsy: results of a new experience. Atti Early Prenatal Diagnosis: Present and Future. Napoli 12-13 Ottobre 1984
- 13) L.CAMURRI, S.Codeluppi (1984) Effetti citogenetici conseguenti all'esposizione a radiazioni ionizzanti a basse dosi in una centrale nucleare. Atti ABCD, AG Levis ed. Padova. p.78.

- 14) L.CAMURRI, S.Codeluppi, L.Scarduelli (1984) Aberrazioni cromosomiche e SCE in lavoratori occupazionalmente esposti a stirene. Atti ABCD, AG Levis ed, Padova. p.77.
- 15) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1985) Diagnosi prenatale nel primo trimestre: chorionscopia e biopsia del chorion. Medicina Fetale, p561, Carezza, Polvani, Salvadori ed
- 16) L.CAMURRI et al (1985) Occupational exposure to ionizing radiations: the project of cytogenetic survey on the workers of Caorso nuclear power plant. SITE Atti. 5, 655
- 17) L.CAMURRI, S.Codeluppi (1985) Aberrazioni cromosomiche e SCE in gruppi di lavoratori esposti a stirene. In: Esposizione Professionale a Stirene. Contributi Regione Emilia Romagna n.12, p.155
- 18) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1986) Anomalie del feto e del chorion associate a triploidia. In: Medicina Fetale. Carezza, Polvani, Salvadori eds, p 599
- 19) G.Ghirardini, L.CAMURRI et al (1986) Familiarità per aborto ripetuto da traslocazione 14;22. In: Medicina Fetale. Carezza, Polvani, Salvadori eds, p 603
- 20) L.CAMURRI (1986) Aberrazioni cromosomiche nei lavoratori della centrale elettronucleare ENEL di Caorso esposti cronicamente a basse dosi di radiazioni ionizzanti. In: Atti del Convegno di Presentazione dei Progetti. Programma Triennale di Ricerca Sanitaria Finalizzata della Regione Emilia Romagna. Bologna 1-3 luglio 1986
- 21) L.CAMURRI (1987) Aberrazioni cromosomiche nei lavoratori della centrale elettronucleare ENEL di Caorso esposti cronicamente a basse dosi di radiazioni ionizzanti. In: Atti della Prima Riunione Scientifica sullo Stato di Avanzamento delle Ricerche. Programma Triennale di Ricerca Sanitaria Finalizzata della Regione Emilia Romagna. Bologna 21-25 Settembre 1987
- 22) L.CAMURRI, L.Caselli, E.Manenti (1987) Mosaicismo Vero e Pseudo mosaicismo in Diagnosi Prenatale nel Secondo Trimestre. Un caso di trisomia 8 a mosaico. Atti Ass.Genet.Ital. XXXIII
- 23) L.CAMURRI et al (1988) Riarrangiamenti cromosomici strutturali in diagnosi prenatale nel secondo trimestre. In: Vita Domani. Confalonieri, Maffioli, Goisis eds, p 245. CIC Roma
- 24) L.CAMURRI, F.Ferri (1988) A cytogenetic survey on the workers in a nuclear plant. The protocol. Atti XVI International Congress of Genetics. Toronto 20-27 August 1988

- 25) L.CAMURRI et al (1989) 46,X,dicY(q11.2): studio citogenetico e molecolare di un caso identificato in epoca prenatale. In: Genetica e Ritardo Mentale. Atti IV Congresso FISME. p. 201-204 . Monduzzi Bologna
- 26) L.CAMURRI (1990) Lo studio genetico della sterilità umana. In: La sterilità umana. Cittadini, Gattuccio, La Sala, Palermo eds. p 528. CoFeSe Palermo
- 27) L.CAMURRI, G.Croci, E.Manenti et al (1991) Pseudomosaicismo e mosaicismo vero in diagnosi prenatale del 2° trimestre: una classificazione da rivedere. Atti V° Congresso Nazionale FISME. p 291-292.Monduzzi Bologna.
- 28) L.CAMURRI, G.Ghirardini, G.Tridenti et al. (1991) Prenatal diagnosis of sex chromosome mosaicisms: counselling and possible management. Annual Meeting ESHG, Leuven, Atti A1-198,77
- 29) G.Ghirardini, L.CAMURRI (1991) La selezione del sesso: dilemma etico e biologico della diagnosi prenatale nel primo trimestre di gravidanza. Lo Spallanzani 5,2,31-34
- 30) A.Minelli, R.M.Avarello, G.Floridia, F.Bernardi, R.Tenconi, M.Clementi, H.Hoeller, L.CAMURRI, C.Danesino, O.Zuffardi (1992) pSW50 demonstrates deletion of D8S7 in 5 cases of inv dup (8p). Atti European Society of Human Genetics. 24th Annual Meeting. Atti A200, p113
- 31) G.Croci, F.Franchi, L. CAMURRI, et al. (1992) Monosomia Parziale 8p: 4 nuovi casi. Pathologica 85, 1093, 75
- 32) G. Ghirardini e L. CAMURRI (1992) Anomalie degli arti da possibile embolizzazione dell'embrione durante la biopsia del chorion. Medicina Fetale pp467-471. Monduzzi ed.
- 33) G. Ghirardini e L. CAMURRI (1992) Il blighted ovum è blighted? Proposta di classificazione anatomopatologica della diagnosi ultrasonografica. Medicina Fetale pp655-658
- 34) L. CAMURRI (1993) Mosaicismi cromosomici e riarrangiamenti cromosomici de novo: diagnosi prenatale, conferma citogenetica e follow up clinico. Atti della Riunione di Presentazione dei Risultati parziali delle Ricerche Sanitarie Finalizzate. Regione Emilia Romagna. Bologna 28.4.1993
- 35) L. CAMURRI, G. Milani (1994). Diagnosi prenatale delle malattie genetiche oggi. Aggiornamenti in Ostetricia e Ginecologia Vol. I. M. Angiolillo, C. Caione, G. Milani eds. CoFeSe Palermo. pp 55-60.
- 36) A. Massari, G. Novelli,...,L. CAMURRI, et al. (1994) Utilizzazione delle cellule fetali desquamate

nel canale cervicale per la diagnosi prenatale non invasiva nel primo trimestre. Atti. IX Congresso Nazionale FISME, 65

37) L. CAMURRI, I. Roda, R. Galli, AL Vescovi (1994) Analisi cromosomica di cellule staminali progenitrici del sistema nervoso centrale embrionale umano. Atti. IX Congresso Nazionale FISME, 112

38) I. Roda, L. CAMURRI (1994) Degenerazione della placenta nel chorion laeve e mosaicismi cromosomici confinati al citotrofoblasto. Atti. IX Congresso Nazionale FISME, 197.

39) L. CAMURRI, G. Milani (1995). Diagnosi prenatale e genetica molecolare. Aggiornamenti in Ostetricia e Ginecologia Vol. II. M. Angiolillo, C. Caione, P. Amantea eds. CoFeSe Palermo. pp 143-147.

40) L. CAMURRI, S. Guernieri, et al (1996). CVS. 10.000 casi. Analisi del mosaicismo cromosomico. Atti, XI Congresso Nazionale FISME, 159.

41) G. Di Cola, P. Gallo, e L. CAMURRI (1996). Analisi PCR del trinucleotide ripetuto del gene FMR-1 nel trofoblasto di campioni di villi coriali nel primo trimestre di gravidanza. Atti, XI Congresso Nazionale FISME , 185.

42) S. Guernieri, T. Rizzuti, e L. CAMURRI (1996). Duplicazione e delezione coinvolgenti la banda 5p14 in linee di trofoblasto con feto affetto da sindrome da delezione 5p. Atti, XI Congresso Nazionale FISME, 214.

43) E. Lenzini, ..., L. CAMURRI,e F. Zacchello (1997). Discrepanza citogenetica su villi coriali: trisomia 17 e gemello acardico. Atti XII Congresso Nazionale FISME 137

44) F. Piccini, ..., L. Camurri, ..., O. Zuffardi (1999). Traslocazione (5;14) in un paziente con ritardo mentale lieve e pianto atipico. Atti 2 Congresso Nazionale SIGU 202

45) L. CAMURRI, M. Rinaldini, L. Tului, G. Milani, B. Brambati (1999). Trisomie e riarrangiamenti cromosomici del trofoblasto placentare inconsistenti con il cariotipo fetale. Atti 2 Congresso Nazionale SIGU 255

46) E. Baro, E. Lippi, G. Pregnolato, L. Visentin, B. Paiero, D. Giardino, L. CAMURRI (2002) Identificazione di cromosomi marker in epoca pediatrica. Atti 5 Congresso Nazionale SIGU 387

47) E. Lippi, G. Pregnolato, L. Visentin, I. Zanin, E. Baro, D. Giardino, L. CAMURRI (2002) Identifica-

- zione di cromosomi marker in diagnosi prenatale. Atti 5 Congresso Nazionale SIGU 388
- 48) G. Pregnotato, M. Rinaldini, E. Lippi, L. Visentin, L. CAMURRI (2002) Limiti alla diagnosi cromosomica di trisomia 18 su villi coriali. Atti 5 Congresso Nazionale SIGU 419
- 49) S. Gennari, AM Chiocca, K. Margotti, M. Biancolella, C. Ligas, L. CAMURRI, M. Bengala, F. Amati, G. Novelli (2005) Analisi delle delezioni delle regioni AZFa, AZFb, AZFc in 550 maschi infertili mediante utilizzo di PCR multiplex. Atti. 8 Congresso Nazionale SIGU
- 50) Giuseppe Novelli, Anna Maria Chiocca, Lamberto Camurri (2006) La riproduzione umana come paradigma evolutivo di specie. Atti XXI Convegno Medicina della Riproduzione. Abano Terme.
- 51) Ballarati L, Valtorta C, CAMURRI L, Lippi E, Finelli P, Larizza L, Giardino D (2006) Un caso di falso negativo in diagnosi prenatale con FISH interfascia. Atti IX Congresso Nazionale SIGU 27
- 52) Novelli, G, CAMURRI, L, Giardina, E. (2009) Fecondazione Medicalmente Assistita e Difetti di Imprinting. Atti XXIV Convegno Medicina della Riproduzione. Abano Terme
- 53) Dalprà, L, ... CAMURRI, L, et al. (2009). 1064 casi di mosaicismismo cromosomico vero diagnosticati dopo amniocentesi: risultati definitivi di 41 laboratori. Atti 12 Congresso Nazionale SIGU, 81
- 54) Rotundo, E, Chiavazza F, CAMURRI L, Piantelli G, Verrotti C, Gizzo S, Nardelli GB (2009). Indicazioni alla diagnosi genetica prenatale. Osservazioni su una casistica di 9594 casi. Rivista Italiana di Ostetricia e Ginecologia, 24, 142-148.
- 55) Turci, A, Racalbutto, E, Innocenti, A, CAMURRI, L, ... Sensi, A. (2011) Discrepanza CVSc vs CVSm per trisomia 21 da rescue inverso. Atti 14 Congresso Nazionale SIGU.
- 56) Cavani S, CAMURRI L, Novelli A. (2013) Linee Guida per la Diagnosi Citogenetica 2013. SIGU Editor ONLINE www.sigu.net.
- 57) Novelli A, CAMURRI L. Nuove Linee Guida per la Diagnosi Citogenetica (2013). Biologi Italiani, Dicembre.
- 58) Dagna Bricarelli F, CAMURRI L, S. Cavani, and 3 others (2014) Linee Guida Diagnosi Citogenetica: Note Operative Citogenetica Costituzionale 2013. SIGU editor online www.sigu.net.

Francesca Camurri, BS, PABiologo

- 1) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. DNA fetale in plasma Materno e Test Prenatali non Invasivi, 2018, Roche Symposia, Milano.
- 2) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. 2022. Genetics and personal medicine. Predictive and functional markers, report 2022.
- 3) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. Compendium: The implementation and impact of NIPT for Down Syndrome (...) Report 2023.
- 4) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. Gene-Persona. Model for interactive evaluation of genetic profiles. Report 2023.

Angela Godi Palmi, HSD, AA, EA
Assistente Amministrativo

- 1) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. DNA fetale in plasma Materno e Test Prenatali non Invasivi, 2018, Roche Symposia, Milano.
- 2) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. 2022. Genetics and personal medicine. Predictive and functional markers, report 2022.
- 3) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. Compendium: The implementation and impact of NIPT for Down Syndrome (...) Report 2023.
- 4) L.Camurri, F.Camurri, A.Godi Palmi. Gene-Persona. Model for interactive evaluation of genetic profiles. Report 2023.

LA STORIA

1983-2023. Quaranta anni fa riuscimmo a domare uno dei fenomeni più interessanti e promettenti della genetica riproduttiva. Un passo indietro: in quegli anni la lettura del genoma, il testo delle nostre informazioni genetiche, non era possibile, le parole ci erano precluse, riuscivamo a riconoscere i libri ove i testi erano scritti e, al massimo della bravura, il numero dei capitoli. I libri sono i cromosomi e i capitoli le cosiddette bande, dei tratteggi orizzontali di vario colore che contengono i geni. Col tempo e la ricerca clinica, ai libri e ai capitoli iniziammo a collegare varie malattie genetiche.

I cromosomi racchiudono tutte le informazioni genetiche, errori nei cromosomi causano spesso il blocco della vita dell'embrione, ma anche gravi malformazioni congenite compatibili con la vita.

Lo studio del corredo cromosomico è l'evento medico più importante delle prime 20 settimane di sviluppo del feto.

THE STORY

1983-2023. Forty years ago we managed to tame one of the most interesting and promising phenomena in reproductive genetics.

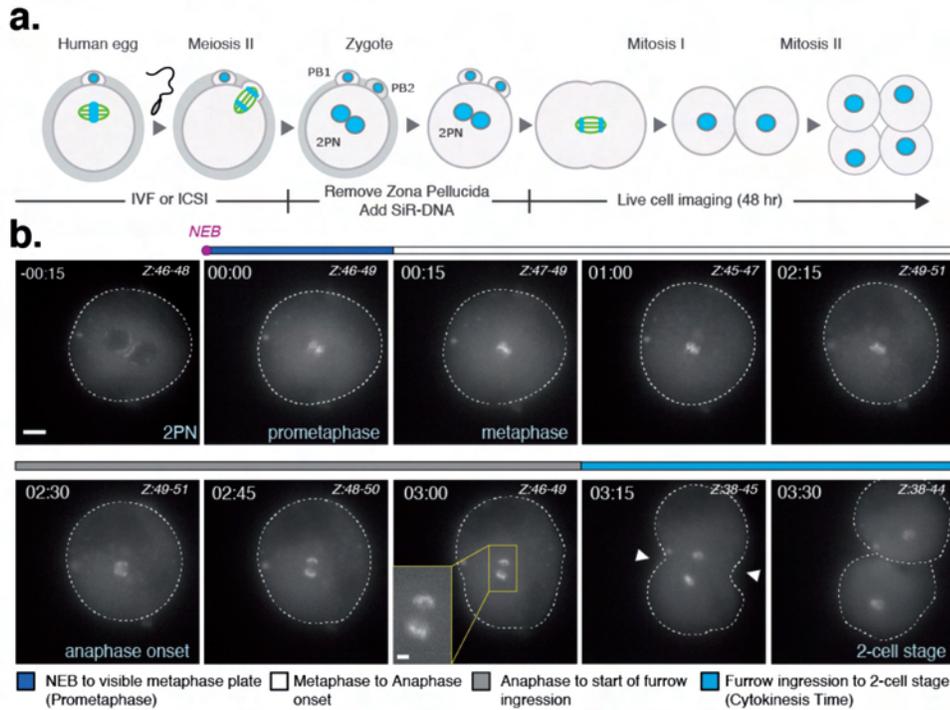
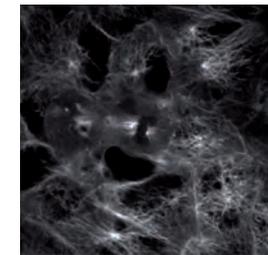
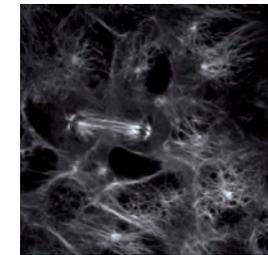
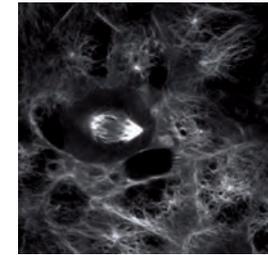
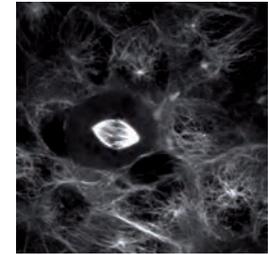
A step back: in those years, reading the genome, the text of our genetic information, was not possible, words were closed to us, we were able to recognize the books where the texts were written and, at our best, the number of chapters. The books are the chromosomes and the chapters are the so-called bands, horizontal lines of various colors that contain the genes. Over time and clinical research, we began to link various genetic diseases to the books and chapters.

Chromosomes contain all genetic information, errors in the chromosomes often cause the embryo's life to be blocked, but also serious congenital malformations compatible with life.

The study of the chromosomal complement is the most important medical event of the first 20 weeks of fetal development.

Domare i cromosomi non significa saperli modificare ma leggere. Nella prima cellula dell'embrione papà e mamma infilano una copia dei loro 23 cromosomi portando il totale a 46 e formando una nuova entità genetica. L'embrione cresce con la riproduzione delle cellule a partire dalla prima: da una due, da due quattro, poi otto, sedici e via a seguire. I cromosomi di ogni cellula successiva alla prima devono rimanere inalterati. La riproduzione della cellula segue un meccanismo sorprendente, difficile e critico, un errore nel numero o struttura dei cromosomi nei primi giorni dopo la fecondazione ha effetti generalmente importanti, la morte spontanea del feto o difetti nello sviluppo embrionale con menomazioni fisiche, psichiche, motorie. Modifiche occasionali dei cromosomi nei tessuti della vita adulta non hanno effetti significativi a meno che non interessino aree di codifica tumorale che innestano crescite incontrollate dei tessuti alterati.

A lato: I cromosomi nella riproduzione di una cellula
 Sotto: La prima divisione cellulare dopo la fecondazione col raddoppio e separazione dei cromosomi.



I cromosomi lavorano nella vita della cellula, dove i libri si aprono e le pagine, come dei piccoli lego, si incastrano e interagiscono con altre strutture per il funzionamento dell'organismo.

Poichè una funzione fondamentale della cellula è riprodursi affinché l'organismo cresca, quindi da una farne due, al momento della duplicazione i libri si compattano, raddoppiano e creano due cellule nuove. In quel momento i libri-cromosomi sono fermi, ben impacchettati, ed è lì che si offrono a noi che li catturiamo e blocchiamo per valutarli.

Il momento riproduttivo è necessario per studiare i cromosomi e le loro caratteristiche e ogni tessuto che si riproduce velocemente con un ciclo cellulare rapido è il benvenuto.

Il momento della riproduzione della cellula è anche il momento drammatico della vita: 46 cromosomi di una cellula diventano 92 per tornare a essere 46, uno per tipo, nelle due nuove cosiddette figlie.

Basta un attrito a causare l'irreparabile, due filamenti che si intrecciano nel dedalo di metri di DNA che fluttuano nella cellula

Chromosomes work in the life of the cell, where books open and pages, like small Legos, fit together and interact with other structures for the functioning of the organism.

Since a fundamental function of the cell is to reproduce itself so that the organism grows, therefore making two from one, at the moment of duplication the books compact, double and create two new cells. At that moment the book-chromosomes are still, well packaged, and it is there that they offer themselves to us who capture and block them to evaluate them.

Reproductive time is necessary to study chromosomes and their characteristics, and any tissue that reproduces quickly with a rapid cell cycle is welcome.

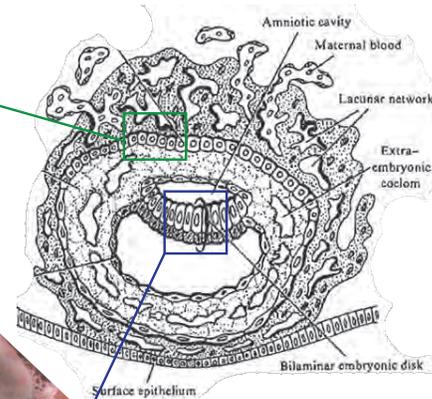
The moment of cell reproduction is also the dramatic moment of life: 46 chromosomes of a cell become 92 and become 46 again, one of each type, in the two new so-called daughters.

A friction is enough to cause the irreparable, two strands that intertwine in the maze of meters of DNA that fluctuate in the cell and 45 chromosomes will go one way and

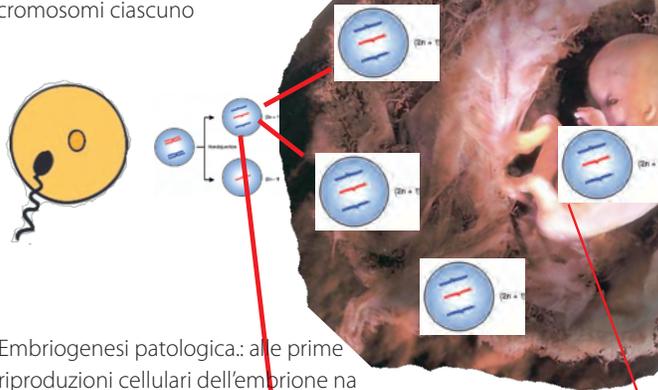
Placenta, villi coriali, citotrofoblasto:
nel reperto istologico le cellule rosse il
riproduzione continua



Sviluppo dell'embrione: 12 giorni dopo la
fecondazione il disco embrionale nasce
dalla blastocisti (quadro blu)

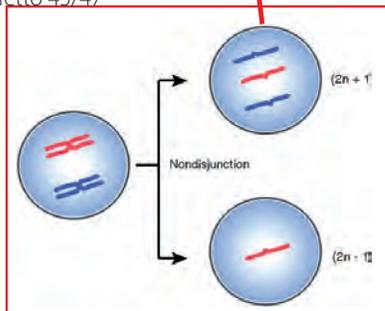


Fecondazione: spermatozoo
e ovocita si uniscono con 23
cromosomi ciascuno

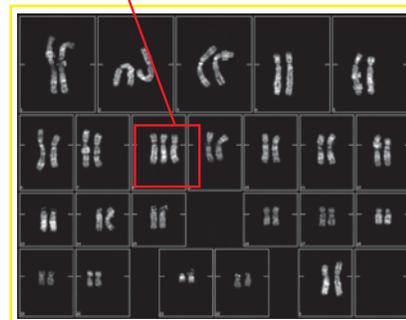


PLACENTA E CROMOSOMI

Embriogenesi patologica.: alle prime
riproduzioni cellulari dell'embrione na
coppia di cromosomi rimane unita con
effetto 45/47



Embriogenesi patologica.: la errata
disgiunzione dei cromosomi e
l'effetto 45/47 creano la trisomia del
cromosoma 8



e 45 cromosomi andranno da una parte e 47 dall'altra. Se questo errore capita al momento della fecondazione, l'embrione che ne deriverà avrà un genoma anomalo. Negli anni 80 iniziò la battaglia per domare i cromosomi, arrestarne la trasformazione e leggerli in un piccolo campione di tessuto fetale allo scopo di capire se l'embrione fosse partito bene.

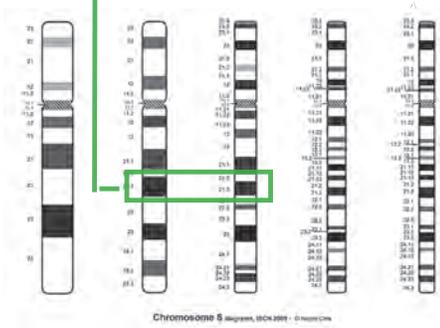
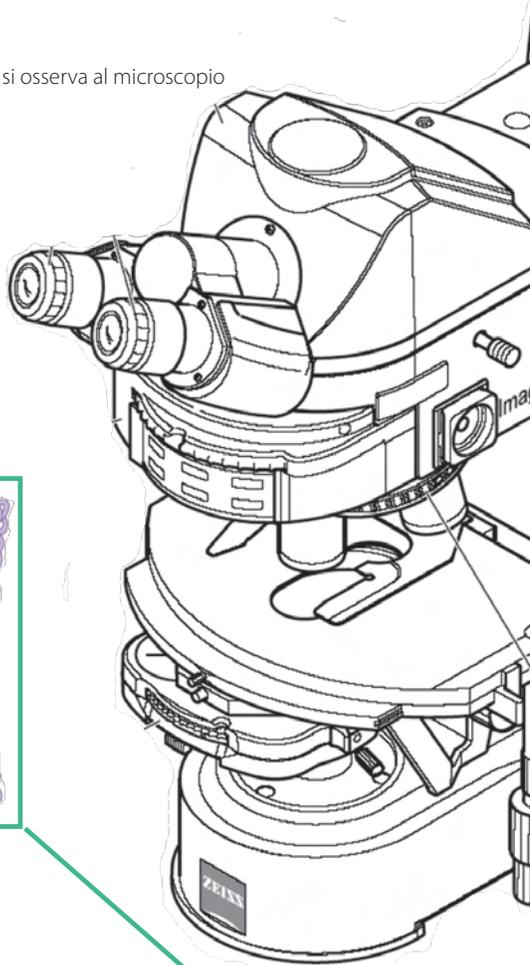
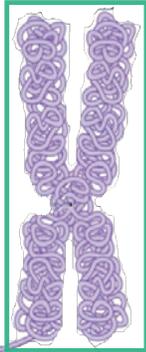
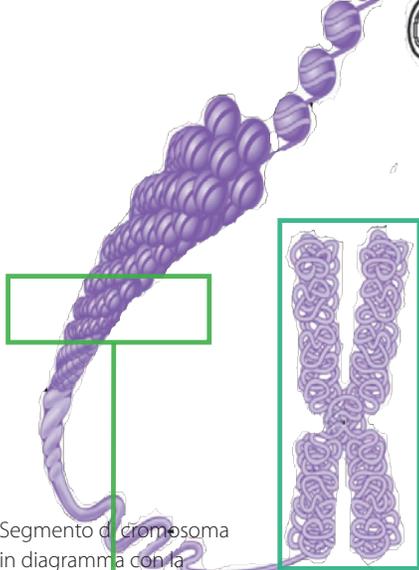
Spesso questi errori sono letali e l'embrione non prosegue il suo sviluppo, altre volte producono quadri patologici vari e complessi. Il bisogno di conoscere fu scientifico ma anche civile, unendo anime laiche e no, dal turbolento Bruno Brambati della Clinica Mangiagalli di Milano al gesuita Padre Angelo Serra dell'Ospedale Gemelli di Roma. Conoscere innanzitutto. Il big bang embrionale è un processo velocissimo di riproduzione cellulare e nei primi giorni di vita nulla fa pensare alla forma umana, anzi nei primi dieci giorni quelli che saranno feto e placenta non esistono proprio nella blastocisti; il genoma è nuovo, metà mamma e metà papà, ma sviluppa solo strati di cellule, gran parte delle quali produrranno la

47 the other. If this error occurs at the time of fertilization, the resulting embryo will have an anomalous genome.

In the 80s the battle began to tame the chromosomes, stop their transformation and read them in a small sample of fetal tissue in order to understand if the embryo had started well.

Often these errors are lethal and the embryo does not continue its development, other times they produce various and complex pathological pictures. The need to know was scientific but also civil, uniting secular and non-secular souls, from the turbulent Bruno Brambati of the Mangiagalli Clinic in Milan to the Jesuit Father Angelo Serra of the Gemelli Hospital in Rome. Know first.

The embryonic big bang is a very fast process of cellular reproduction and in the first days of life nothing suggests the human form, indeed in the first ten days what will be the fetus and placenta do not exist in the blastocyst; the genome is new, half mum and half dad, but it only develops layers of cells, most of which will produce the placenta while on day twelve a few cells will differentiate into a small cylinder, the



I cromosomi di una cellula al microscopio

placenta mentre al giorno dodici poche cellule si differenzieranno in un cilindretto, il disco embrionale, da cui l'embrione vero e proprio e forse la sua identità.

In tale quadro è facile capire che placenta e feto hanno geni e cromosomi uguali. La placenta avrebbe potuto essere dunque ottimo strumento per studiare la genetica fetale senza toccare l'embrione.

Nei primi anni 80 capimmo che un sottile tessuto placentare, il citotrofoblasto dei villi coriali esterni nella placenta, aveva le caratteristiche necessarie per lo studio: le sue cellule si riproducono spontaneamente e velocemente, carattere come abbiamo visto essenziale per bloccare i cromosomi e analizzarli.

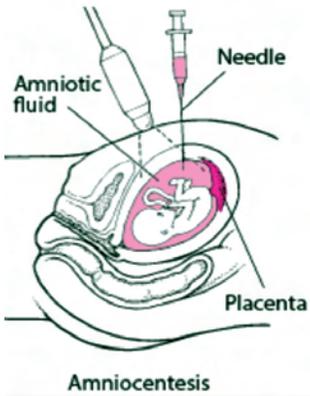
Il prelievo dei villi coriali fu relativamente semplice, Bruno Brambati e Giuseppe Ghirardini inventarono due strumenti, entrambi ad accesso transvaginale senza forare tessuti materni: un catetere di plastica a guida ecografica (Portex) e un endoscopio con fibra ottica e camera di raccolta del tessuto (Corionscopio). Bruno lavorava a Milano, Giuseppe a Montecchio Emilia dove iniziammo le sperimentazioni.

embryonic disc, from which the actual embryo perhaps his identity.

In this framework it is easy to understand that the placenta and fetus have the same genes and chromosomes. The placenta could therefore have been an excellent tool for studying fetal genetics without touching the embryo.

In the early 1980s we understood that a thin placental tissue, the cytotrophoblast of the external chorionic villi in the placenta, had the necessary characteristics for the study: its cells reproduce spontaneously and quickly, a characteristic, as we have seen, essential for blocking the chromosomes and analyzing them.

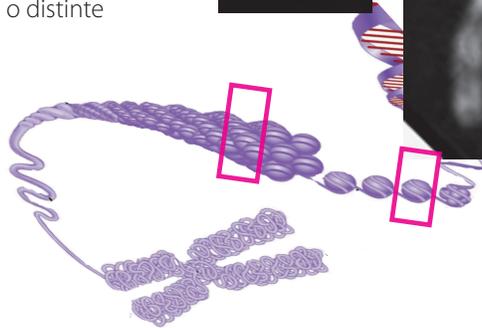
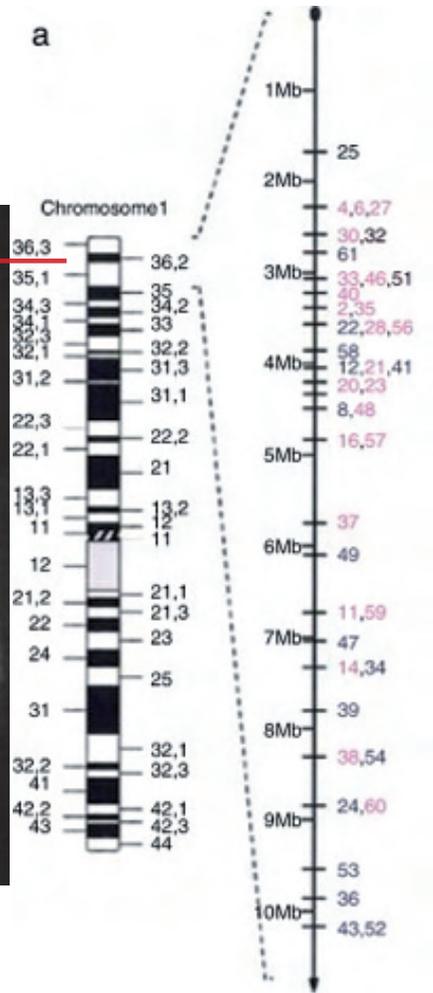
Chorionic villus sampling was relatively simple, Bruno Brambati and Giuseppe Ghirardini invented two instruments, both with transvaginal access without piercing maternal tissue: an ultrasound-guided plastic catheter (Portex) and an endoscope with optical fiber and tissue collection chamber (Chorionscope). Bruno worked in Milan, Giuseppe in Montecchio Emilia where we began the experiments. Joseph was fundamental in this story. He happened



Prelievo di liquido amniotico con tecnica transaddominale invasiva

Cromosoma numero 1 da linfociti di sangue. La regione 36.2 contiene 10 Mb di DNA. La sua perdita/delezione causa una malattia genetica

Cromosoma numero 1 da cellule di villo coriale della placenta. La regione 36.2 è inglobata nelle 34, 35, 36 e non è identificabile.



Cromosoma in avvolgimento nella divisione cellulare. Si raggomita in bande che possono essere compatte o distinte

CROMOSOMI E DIAGNOSI PRENATALE

Giuseppe fu fondamentale in questa storia. Capitò qualche anno prima nel nostro Laboratorio di Genetica del Servizio Sanitario, specialista in ostetricia, junior scientist in endoscopia e mi fu di grande stimolo per aprire gli occhi alla diagnosi genetica prenatale.

A Milano poi c'erano Giuseppe Simoni e Gianluigi Terzoli che per primi, pochi mesi prima del mio arrivo, erano riusciti a identificare sui villi coriali un feto affetto da trisomia 21, un cromosoma in più del normale che causa la sindrome di Down.

Questo fu lo scenario a Milano nella primavera del 1983 dove confluimmo con primi dati della nostra sperimentazione svolta con Giuseppe Ghirardini a Montecchio Emilia. A Milano il sodalizio con Gingio Terzoli divenne fortissimo.

Per domare i cromosomi del citotrofoblasto mettemmo in campo tutte le risorse inventive che riuscimmo a scovare. In quegli anni i cromosomi si guardavano al microscopio con ingrandimenti di 1000 volte il reale. Nella piccola cellula i metri di DNA, pur raccolti nel libro del cromosoma, stanno molto stretti e compatti rendendo

to be in our Health Service Genetics Laboratory a few years earlier, a specialist in obstetrics, a junior scientist in endoscopy and he was a great stimulus to open my eyes to prenatal genetic diagnosis.

Then in Milan there were Giuseppe Simoni and Gianluigi Terzoli who were the first to, a few months before my arrival, manage to identify on the chorionic villi a fetus affected by trisomy 21, one extra chromosome than normal which causes Down syndrome.

This was the scenario in Milan in the spring of 1983 where we came together with the first data from our experimentation carried out with Giuseppe Ghirardini in Montecchio Emilia. In Milan the partnership with Gingio Terzoli became very strong.

To study the cytotrophoblast chromosomes we used all the inventive resources we could find.

In those years the chromosomes were looked at under the microscope with enlargements of 1000 times the actual size. In the small cell, the meters of DNA, although collected in the book of the chromosome, are very narrow and compact, making it necessary for observation to dilate the cell

necessaria, per l'osservazione, una dilatazione della cellula e una separazione dei singoli elementi. La conta dei cromosomi riuscimmo ad ottenerla abbastanza facilmente, più difficile fu l'allineamento che consentisse di rilevare quelle bande chiare e scure che separavano gruppi di geni e rendevano più raffinata l'analisi come già si era riusciti con il liquido amniotico.

Liquido amniotico? È il liquido in cui nuota il feto e che raccoglie cellule che il feto elimina e di cui si possono studiare i cromosomi. Si preleva con un foro nella pancia della gestante che trapassa placenta e amnios. È una tecnica invasiva che si esegue tardi nella gravidanza dopo la 15a settimana e che fu introdotto negli anni '70 a scopo genetico. In quegli anni era già d'uso corrente ma le cellule amniotiche non si riproducono spontaneamente, hanno bisogno di lunga coltivazione in vitro per dare un risultato che si definisce verso la 19a settimana; col villo coriale avevamo la risposta a 11 settimane.

Se mettiamo da parte la legittima ricerca scientifica clinica sulla precocità della

and separate the individual elements. We managed to obtain the chromosome count quite easily, but the alignment that allowed us to detect those light and dark bands that separated groups of genes and made the analysis more refined was more difficult, as had already been achieved with the amniotic fluid.

Amniotic fluid? It is the liquid in which the fetus swims and which collects cells that the fetus eliminates and whose chromosomes can be studied. It is taken with a hole in the pregnant woman's belly that passes through the placenta and amnion. It is an invasive technique that is performed late in pregnancy after the 15th week and was introduced in the '70s for genetic purposes. In those years it was already in common use but amniotic cells do not reproduce spontaneously, they need long in vitro cultivation to give a result that is defined around the 19th week; with the chorionic villus we had the answer at 11 weeks.

If we put aside the legitimate clinical scientific research on the precociousness of knowledge, this precociousness plays an important role in managing the timing

conoscenza, tale precocità gioca un ruolo importante nella gestione delle tempistiche della gravidanza, delle ulteriori indagini, delle scelte.

La ricerca si sviluppò su vari filoni: migliorare le tecniche, comprendere i meccanismi, creare casistica in modo da verificare la accuratezza diagnostica e la sicurezza clinica per feto e gestante.

Un anno dopo ci ritrovammo a Rapallo, al Teatro delle Clarisse, sotto l'egida di Marco Fraccaro, somma guida e attento regista del Meeting sulla Diagnosi Prenatale nel Primo Trimestra di Gravidanza. Il Meeting ebbe due facce, quella genetica omogenea e coesa nei contributi delle sei diverse scuole che in quell'anno di tempo si erano evolute, l'altra ostetrica più spigolosa nel confronto sulle metodiche di prelievo. La storia avrebbe poi confermato la validità delle tecniche cromosomiche sul citotrofoblasto che avevamo inventato, mentre le tecniche di prelievo si sarebbero rivolte al metodo con il foro transaddominale analogo alla procedura dell'amniocentesi.

L'analisi diretta dei cromosomi del citotrofoblasto che nacque con noi a

of pregnancy, further investigations and choices.

The research developed along various lines: improving the techniques, understanding the mechanisms, creating case studies in order to verify the diagnostic accuracy and clinical safety for the fetus and pregnant woman.

A year later we found ourselves in Rapallo, at the Teatro delle Clarisse, under the aegis of Marco Fraccaro, supreme guide and attentive director of the Meeting on Prenatal Diagnosis in the First Trimester of Pregnancy. The Meeting had two sides, the genetic one homogeneous and cohesive in the contributions of the six different schools that had evolved in that year, the other obstetrics more angular in the comparison on the sampling methods. History would then confirm the validity of the chromosomal techniques on the cytotrophoblast that we had invented, while the sampling techniques would turn to the method with the transabdominal hole similar to the amniocentesis procedure.

The direct analysis of cytotrophoblast chromosomes that was born with us in

Milano e nel nord Italia rimase tecnica difficile e bisognosa di conoscenza della biologia placentare, di ottima manualità di laboratorio e inventiva.

Ciò rese il cammino tortuoso, la difficile condivisione creò ostacoli, l'esperienza clinica progredì, ma dovemmo calzare la corazza, lo scontro nel territorio fu duro, a attestati di interesse si opposero barriere oscure. Giuseppe alla fine cedette, io sgomitai poi feci la scelta.

Maneggiare con destrezza le colture cellulari è un dono, ci vuole feeling, come pure appoggiare la fronte al microscopio binoculare e sentire la testa dentro una sfera come nelle simulazioni tridimensionali. Le colture vivono, si colorano, prendono forme in base al loro benessere, subiscono il secco o l'acidità dell'aria, possono invecchiare precocemente e abbandonarti.

La biopsia placentare è un bene prezioso, va curato e perciò non ci fu domenica o natale o sera tardi che impedisse di portarle in laboratorio e accudirle nei termostati. Così per centomila.

1983 - 2023 è il periodo dove centomila analisi di quei cromosomi sono passate

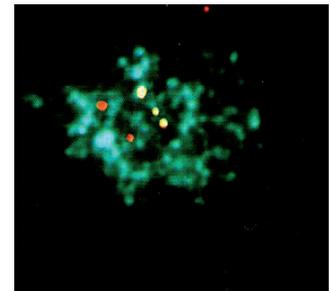
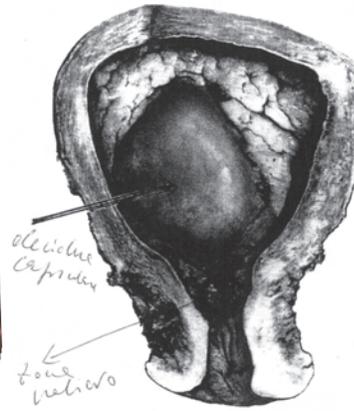
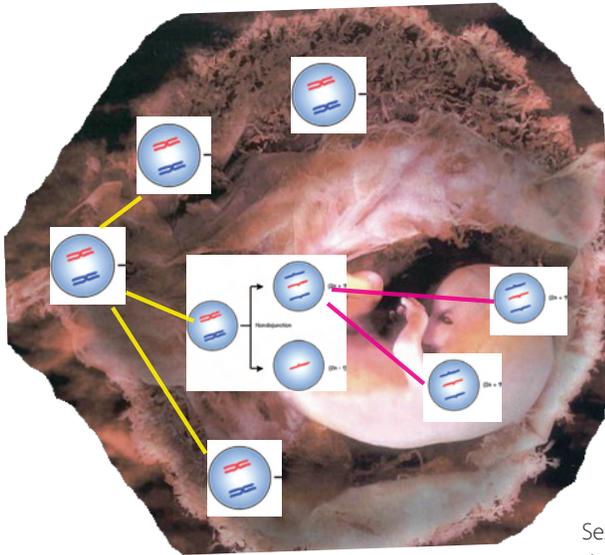
Milan and northern Italy remained a difficult technique and required knowledge of placental biology, excellent laboratory skills and inventiveness.

This made the path tortuous, the difficult sharing created obstacles, the clinical experience progressed, but we had to put on the armour, the clash in the territory was tough, certificates of interest were opposed by obscure barriers. Giuseppe finally gave in, I pushed aside then made the choice.

Handling cell cultures with dexterity is a gift, it takes feeling, as does leaning your forehead against the binocular microscope and feeling your head inside a sphere as in three-dimensional simulations. Cells live, they color, they take shapes based on their well-being, they suffer from the dryness or acidity of the air, they can age prematurely and abandon you.

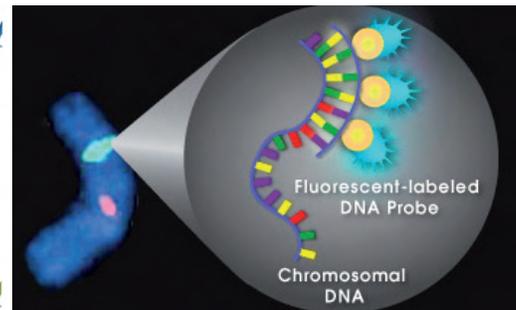
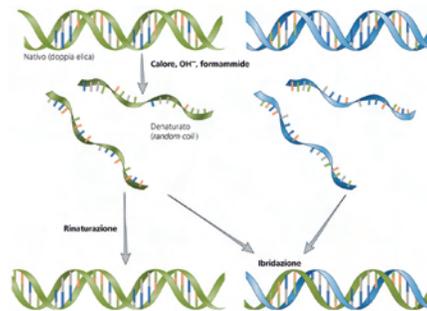
The placental biopsy is a precious asset, it must be taken care of and therefore there was no Sunday or Christmas or late evening that prevented us from taking them to the laboratory and looking after them in the thermostats. So for a hundred thousand.

1983-2023 is the period where one hundred



Non disgiunzione nei cromosomi di una cellula in blastocisti che produce placenta normale e il feto con 47 cromosomi. L'analisi sui villi della placenta indica la normalità mentre il feto ha l'anomalia dei 47 cromosomi.. Ciò produce un falso negativo.

Sezione anatomica che mostra placenta, decidua capsularis e vagina con l'area di raccolta delle cellule di citotrofoblasto. Immagine endoscopica della area di raccolta, cellula fetale con trisomia del cromosoma 21 (tre spot gialli).



Denaturazione del DNA e ricomposizione (ibridazione) con frammenti di DNA colorati

DIAGNOSI PRENATALE FISH

davanti a questi occhi, al microscopio, su stampe fotografiche, sul monitor del computer, e fra quelle ci furono le gestanti che dovetti contattare per approfondire, capire o informare di un evento, spiacevole ma anche no se il dubbio diagnostico avesse condotto a un finale positivo.

La corretta costruzione genetica dell'embrione è il passaggio fondamentale, il più importante delle prime venti settimane di sviluppo e lo stesso vale per gli strumenti medici che lo assistono e controllano.

Le prime due divisioni cellulari dopo la fecondazione sono il momento dove capitano il maggior numero di errori, si calcola che un caso su due incontri una non disgiunzione con 47 o 45 cromosomi con morte o gravi danni embrionali. Nella settimana successiva la frequenza di errore diminuisce; dopo la dodicesima giornata, allorchè feto e placenta si separano e affrontano vite indipendenti, eventuali non disgiunzioni sono per fortuna molto rare, perchè in tal caso la analisi della placenta non predice il feto. Capita meno

thousand analyzes of those chromosomes passed before these eyes, under the microscope, on photographic prints, on the computer monitor, and among those there were the pregnant women who I had to contact to find out more, understand or inform about an event, unpleasant but also not if the diagnostic doubt had led to a positive ending.

The correct genetic construction of the embryo is the fundamental step, the most important of the first twenty weeks of development and the same goes for the medical instruments that assist and control it.

The first two cell divisions after fertilization are the moment where the greatest number of errors occur, it is estimated that one in two cases encounters a non-disjunction with 47 or 45 chromosomes with death or serious embryonic damage. In the following week the error frequency decreases; after the twelfth day, when the fetus and placenta separate and face independent lives, any non-disjunctions are fortunately very rare, because in this case the analysis

di un caso su mille, ma capita.

I cromosomi in numero di 46 non sono l'unico fondamento per la salute fetale, danni importanti si verificano anche quando le interazioni fra i lunghi filamenti di DNA provocano perdite o raddoppio di tratti del codice. Si chiamano delezioni e duplicazioni. Questi errori sono sempre stati il cruccio del genetista, perchè possono essere troppo piccoli e sfuggire alla osservazione ottica del microscopio.

10-15 milioni di basi di DNA (Mb) sono il limite alla osservazione ma la pretesa di un confine esatto fu sempre esercizio aleatorio: il motivo sta nel fatto che le Mb non si vedono distese come un filo di lana ma solo quando si raggomitano nel percorso verso la divisione della cellula e questo percorso ha tempi e modi diversi da cellula a cellula, piccoli gomitoli si allineano o si uniscono a loro piacimento formando le bande. A volte le bande sono ben compatte col gomitolo stretto, altre più rade col gomitolo lasco causando diverse possibilità di lettura.

L'efficacia complessiva di una indagine si definisce accuratezza, un valore che

of the placenta does not predict the fetus. It happens less than one case in a thousand, but it happens.

The 46 chromosomes are not the only foundation for fetal health, significant damage also occurs when interactions between long strands of DNA cause the loss or doubling of sections of the code. They are called deletions and duplications. These errors have always been a worry for the geneticist, because they can be too small and escape the optical observation of the microscope.

10-15 million DNA bases (Mb) are the limit to observation but the demand for an exact boundary was always a random exercise: the reason lies in the fact that the Mb are not seen stretched out like a woolen thread but only when they curl up on the path towards the division of the cell and this path has different times and ways from cell to cell, small balls align or join together at will, forming bands. Sometimes the bands are very compact with a tight ball, other times more sparse with a loose ball, causing different reading possibilities.

The overall effectiveness of an investigation

combina le capacità di distinguere fra positivo (presenza di errore) o negativo (normalità) e si esprime in percentuali. I fattori in campo sono la rispondenza del campione di cellule analizzato rispetto al feto, poi la buona pratica del laboratorio frutto di capacità innate o acquisite dell'operatore.

L'analisi genetica fetale ha progredito molto negli anni recenti ma il fattore umano e quello biologico non hanno mai smesso di incidere sulla accuratezza: il limite microscopico di lettura del DNA è ancora di 10 milioni di basi di DNA, la placenta rappresenta biologicamente il feto al 99,8 per cento.

Questo lo sappiamo ora dopo tanti anni di lavoro e raccolta dati, ma all'inizio eravamo sulla punta del razzo: centomila campioni analizzati e quattro risposte non conformi sono state il bilancio del periodo, quindi una non conformità ogni 25 mila casi. Oggi sappiamo da altri studi che tale valore è corretto.

Tutta la nostra esperienza ha contribuito a formalizzare regole e comportamenti sfociati nella redazione di linee guida delle

is defined as accuracy, a value that combines the ability to distinguish between positive (presence of error) or negative (normality) and is expressed in percentages. The factors in the field are the correspondence of the sample of cells analyzed with respect to the fetus, then the good practice of the laboratory resulting from the innate or acquired skills of the operator.

Fetal genetic analysis has progressed a lot in recent years but the human and biological factors have never stopped affecting accuracy: the microscopic reading limit of DNA is still 10 million bases of DNA, the placenta biologically represents the fetus 99.8 percent.

We know this now after many years of work and data collection, but at the beginning we were on the tip of the rocket: one hundred thousand samples analyzed and four non-compliant responses were the balance of the period, therefore one non-compliance every 25 thousand cases. Today we know from other studies that this value is correct.

All our experience has contributed to formalizing rules and behaviors resulting

società scientifiche e dei ministeri, dacchè le pazienti hanno obbligo e cura di essere informate e sottoscrivere la comprensione dei limiti di accuratezza.

Nel corso degli anni tuttavia si è creato un paradosso: più le tecniche di analisi uscirono dalla sperimentazione e si attestarono su protocolli validati, minore fu l'accettazione da parte dell'utente di risultati non conformi alle aspettative.

Ci saremmo aspettati il contrario, invece il salire sul razzo della sperimentazione fu assai più motivante per i pazienti che non ricevere un dato consolidato con possibilità definite di non conformità.

Le quattro non conformità della nostra esperienza portarono a verifiche giuridiche ove i criteri di buona pratica e accuratezza furono confermati.

La discordanza cromosomica fra feto e placenta per mosaicismi cellulari, come a pagina a fronte, frutto di un errore nella riproduzione di una cellula avvenuto dopo l'origine dell'embrione era nota fin dal 1977, quando il Dr. Hook pubblicò una tabella probabilistica divenuta fondamentale: solo mosaicismi con la linea

in the drafting of guidelines of scientific societies and ministries, since patients have the obligation and care to be informed and to sign the understanding of the limits of accuracy.

Over the years, however, a paradox has arisen: the more the analysis techniques emerged from experimentation and settled on validated protocols, the less the user accepted results that did not conform to expectations.

We would have expected the opposite, but getting on the experimental rocket was much more motivating for patients than receiving consolidated data with defined possibilities of non-compliance.

The four non-conformities in our experience led to legal checks where the criteria of good practice and accuracy were confirmed.

The chromosomal discordance between fetus and placenta due to cellular mosaicism, as on the opposite page, the result of an error in the reproduction of a cell which occurred after the origin of the embryo, was known since 1977, when Dr. Hook published a probabilistic table which

cellulare sbagliata superiore al 30% hanno buona probabilità di essere intercettati alla analisi prenatale.

Il mosaicismo cromosomico e anomalie più piccole della visibilità al microscopio sono dunque i limiti della diagnosi cromosomica prenatale.

Ogni citogenetista ha la sua checklist nella scansione ottica del vetrino sotto le lenti: un quadro d'insieme percettivo che sfrutta la memoria visiva nell'incontro con qualche tratto d'immagine improprio, seguito dal controllo lineare delle bande di ciascuna coppia cromosomica.

La necessità di limitare la variabilità dovuta al fattore umano e al cromosoma stimolò la ricerca di metodi per marcare la struttura del DNA e leggerla con un automatismo.

Già dai primi anni 90 si lavorò molto per escludere l'occhio nel giudicare la struttura del cromosoma sfruttando un meccanismo naturale del funzionamento del DNA: i due rami della doppia elica che sono uniti a stampo si aprono durante la vita cellulare per ospitare l'incastro di altre molecole, DNA o RNA, utili al

became fundamental: only mosaicisms with the wrong cell line exceeding 30% have a good chance of being detected during prenatal analysis.

Chromosome mosaicism and smaller anomalies visible under the microscope are therefore the limits of prenatal chromosomal diagnosis.

Each cytogeneticist has his own checklist in the optical scanning of the slide under the lenses: a perceptive overview that exploits visual memory in the encounter with some inappropriate image feature, followed by the linear control of the bands of each chromosome pair.

The need to limit the variability due to the human factor and the chromosome stimulated the search for methods to mark the structure of DNA and read it automatically.

Already since the early 1990s a lot of work was done to exclude the eye in judging the structure of the chromosome by exploiting a natural mechanism of the functioning of DNA: the two branches of the double helix which are joined like a mold open during cellular life to accommodate the joint of

funzionamento. L'apertura fisiologica è causata da enzimi cellulari, ma anche altri fattori esterni come il calore aprono il DNA, tutto ciò si dice denaturazione.

La corsa al sequenziamento di tutto il genoma umano, cioè la lettura e l'interpretazione di tutto il DNA, iniziò a offrire conoscenza sulla corrispondenza fra DNA, geni o cromosomi e malattie.

La denaturazione artificiale del DNA servì ad aprire il cromosoma da indagare, metterlo a contatto con frammenti di DNA noti e corrispondenti a una regione specifica marcati con un colore luminoso.

Il trattamento contrario come il raffreddamento avrebbe poi ricostruito il cromosoma: brillante del colore se integro, buio se la regione riconoscibile dalla sequenza luminosa fosse mancata.

Tutto ciò rese l'analisi cromosomica indipendente dalla interpretazione soggettiva e dalle dimensioni del frammento coinvolto.

La analisi dei cromosomi con questa tecnica detta FISH (fluorescent in situ hybridization) prese piede già negli anni 90 sia per la analisi raffinata di piccole

other molecules, DNA or RNA, useful for functioning. The physiological opening is caused by cellular enzymes, but other external factors such as heat also open the DNA, all of which is called denaturation.

The race to sequence the entire human genome, that is, the reading and interpretation of all DNA, began to offer knowledge on the correspondence between DNA, genes or chromosomes and diseases. The artificial denaturation of DNA served to open the chromosome to be investigated, putting it in contact with known DNA fragments corresponding to a specific region marked with a bright color.

The opposite treatment such as cooling would then have reconstructed the chromosome: bright in color if intact, dark if the region recognizable by the light sequence was missing.

All this made the chromosomal analysis independent of the subjective interpretation and size of the fragment involved.

The analysis of chromosomes with this technique called FISH (fluorescent in situ hybridization) took hold already in the 1990s both for the refined analysis of

regioni di DNA fino ad allora non valutabili, sia per identificare interi cromosomi senza dover attendere la divisione cellulare che ricordiamo è elemento obbligatorio nella analisi ottica.

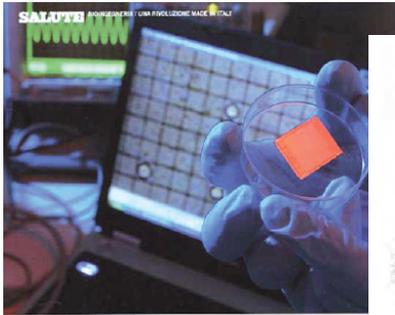
Questo sviluppo tecnologico fu affiancato dalla ricerca di un metodo per studiare la genetica del feto senza invasività, cioè senza forare pancia e amnios della gestante: l'attenzione fu posta su due tipi di cellule: i precursori dei globuli rossi fetali (eritroblasti) presenti nel sangue materno per la condivisione placentare del circolo sanguigno e le cellule placentari (citotrofoblasto, quello dei villi coriali ricordate?) che al termine del loro ciclo vitale cadono nella cavità uterina e si possono raccogliere con un semplice tampone da pap test.

Fummo subito della partita con la squadra che aumentava in numero e potenza. Fino alla fine degli anni 80 si fronteggiarono due scuole della citogenetica, quella di Pavia e Milano con Marco Fraccaro e Giuseppe Simoni con cui condivisi le ricerche sulla diagnosi prenatale, e quella di Urbino e Roma con Bruno Dallapiccola e Giuseppe

small regions of DNA which had not been evaluable until then, both to identify entire chromosomes without having to wait for cell division which we remember is a mandatory element in optical analysis.

This technological development was accompanied by the search for a method to study the genetics of the fetus without invasiveness, that is, without piercing the belly and amnion of the pregnant woman: attention was placed on two types of cells: the precursors of the fetal red blood cells (erythroblasts) present in the maternal blood for the placental sharing of the blood circulation and the placental cells (cytotrophoblast, the one from the chorionic villi remember?) which at the end of their life cycle fall into the uterine cavity and can be collected with a simple pap smear.

We were immediately in the game with the team increasing in number and power. Until the end of the 80s, two schools of cytogenetics faced each other, that of Pavia and Milan with Marco Fraccaro and Giuseppe Simoni with whom they shared research on prenatal diagnosis, and that of Urbino and Rome with Bruno Dallapiccola



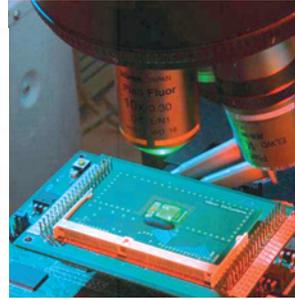
Dipartimento di Scienze Ginecologiche e della Riproduzione Umana
Scuola di Specializzazione in Ginecologie ed Ostetricia
Direttore: Ch. mo Prof. Antonio Ambrosini

Studio preliminare: la ricerca di cellule fetali nel sangue materno ed impiego del DEP-array

Relatore: Dott. Erich Coemi
Correlatore: Dott. Lamberto Camuri
Specializzanda: Dott.ssa Alessandra del Campo

Anno Accademico 2007/2008

Silicon Biosystem
DEP-Array.



DEPArray™ Enables the Isolation of Circulating Fetal Cells and their Molecular Analysis

> Detection and Sorting of fetal cells from maternal blood



Fetal cFRC (c-DEP-array (DEP) blue) isolated with DEPArray™ from peripheral blood of a pregnant woman

> Genetic Analysis



Silicon biosystems

More details on applications & molecular analysis protocols and methods available on request
© 2008 Silicon Biosystems Inc. p. 10

Un chip per leggere il Dna

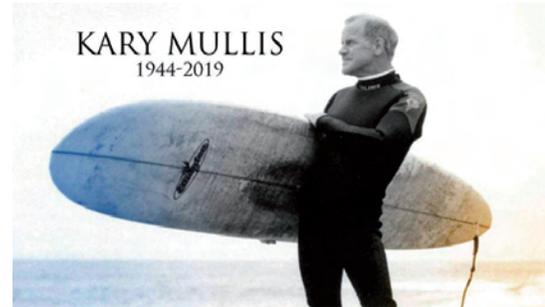
È un nanolaboratorio che analizza e manipola le cellule. Per fare diagnosi prenatali con un semplice prelievo del sangue materno

di Paola Emilia Ciccone

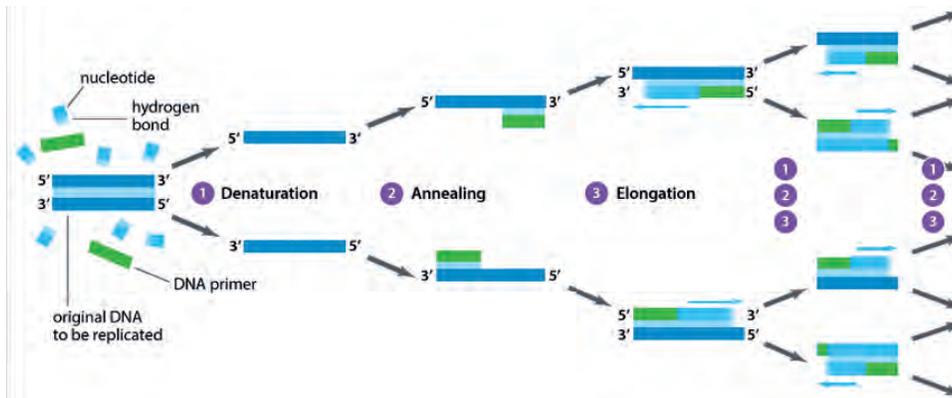
Il nanolaboratorio è un chip di silicio che analizza e manipola le cellule. Per fare diagnosi prenatali con un semplice prelievo del sangue materno

Il nanolaboratorio è un chip di silicio che analizza e manipola le cellule. Per fare diagnosi prenatali con un semplice prelievo del sangue materno

DEP ARRAY



Lo schema della PCR, reazione di polimerizzazione a catena del DNA



**PCR
POLIMERASE
CHAIN
REACTION**

Novelli. Milano realizzò lo sprint dello studio dei villi coriali, mentre a Urbino il giovane Novelli, di scuola biochimica, si tuffò nella genetica molecolare.

Lo andai a trovare la prima volta nel 1988 per approfondire un caso di piccola delezione di un cromosoma 8 con una tecnica molecolare di cui disponeva.

Nacquero grande amicizia e collaborazione e per me in quel momento scomparve la separazione fra le due scuole, base la prima, sviluppo la seconda.

La conoscenza ormai profonda della fisiologia placentare e del suo citotrofoblasto ci suggerì di cercare di recuperare le cellule morte del trofoblasto che in gravidanza si distaccano e scendono a fianco della decidua capsulare fino alla base dell'utero.

Giuseppe Ghirardini e Guido Milani da Mantova raccolsero campioni in pazienti gravide alla nona settimana che poi avrebbero eseguito l'amniocentesi per la analisi dei cromosomi.

L'utilizzo della tecnica FISH con le sue sonde luminose fu fondamentale e i risultati non si fecero aspettare a lungo scoprendo la prima anomalia fetale, un cromosoma

and Giuseppe Novelli. Milan achieved the sprint of the study of chorionic villi, while in Urbino the young Novelli, from a biochemical school, dove into molecular genetics.

I went to see him for the first time in 1988 to investigate a case of small deletion of chromosome 8 with a molecular technique he had at his disposal.

Great friendship and collaboration was born and for me at that moment the separation between the two schools disappeared, the first being basic, the second developing.

The now profound knowledge of the placental physiology and its cytotrophoblast suggested that we try to recover the dead cells of the trophoblast which detach during pregnancy and descend alongside the capsular decidua to the base of the uterus.

Giuseppe Ghirardini and Guido Milani from Mantua collected samples from pregnant patients at the ninth week who would then perform amniocentesis for chromosome analysis.

The use of the FISH technique with its light probes was fundamental and the results did not take long to discover, discovering the

21 di troppo (Trisomia 21, Sindrome di Down).

Fu un successo scientifico che uscì nel 1996 su Human Genetics, ma l'applicazione non si diffuse poichè all'eleganza sperimentale non si aggiunse ciò che ci serviva, automazione e riproducibilità.

L'altro tipo di cellule candidate a validare una tecnica non invasiva furono i precursori delle cellule ematiche fetali (eritroblasti) presenti nel sangue della gestante.

Con una grossa dote di colleghi ostetrici, Milano, Padova, Mantova, Parma, con cui collaborare, fu facile partecipare a nuovi studi di medicina fetale.

Giuseppe Giorgini, allora CEO di Silicon Biosystems di Bologna, cercava campioni ematici di pazienti gravide per sperimentare nella diagnostica fetale la tecnica DEP-Array che già era implementata in altre tipologie mediche come l'oncologia.

Fin dai primi anni 90 i tentativi di separare e studiare cellule ematiche fetali (eritroblasti) nel sangue materno sfruttarono metodi meccanici e magnetici

first fetal anomaly, an extra chromosome 21 (Trisomy 21, Down's Syndrome).

It was a scientific success that was published in 1996 in Human Genetics, but the application did not spread because what we needed, automation and reproducibility, was not added to the experimental elegance.

The other type of candidate cells to validate a non-invasive technique were the precursors of fetal blood cells (erythroblasts) present in the pregnant woman's blood.

With a large number of obstetrician colleagues, Milan, Padua, Mantua, Parma, to collaborate with, it was easy to participate in new fetal medicine studies.

Giuseppe Giorgini, then CEO of Silicon Biosystems of Bologna, was looking for blood samples from pregnant patients to experiment with the DEP-Array technique in fetal diagnostics, which was already implemented in other medical typologies such as oncology.

Since the early 1990s, attempts to separate and study fetal blood cells (erythroblasts) in maternal blood exploited mechanical and magnetic methods as well as fetal antigenic markers, and consumed a lot of time and

oltre a marcatori antigenici fetali, e consumarono tanto tempo e denaro.

Fu tutto vano perchè la teoria era paradossale: le cellule fetali sono minoranza nel sangue materno e difendono la loro integrità dal rigetto dall'ambiente estraneo nascondendo le loro caratteristiche antigeniche, in qualche modo si nascondono per non essere catturate.

Il DEP Array Lab on a Chip fu realizzato per separare le cellule scelte con una marcatura dal miscuglio del campione, e lo fa singolarmente sfruttando campi elettrici deboli che guidano la cellula in un labirinto fino a collocarle su un chip. La metodologia è raffinata ma anch'essa poco riproducibile su larga scala. Ci lavorammo fino al 2009, ne sortì una buona tesi di laurea. Ora il sistema DEP Array è di proprietà Menarini.

Nelle fasi concitate della caccia spietata agli eritroblasti fetali nel sangue di mamma nessuno si accorse che Dennis Lo nel 1997 intercettò frammenti di DNA col cromosoma Y che galleggiavano

money.

It was all in vain because the theory was paradoxical: fetal cells are a minority in the maternal blood and defend their integrity from rejection by the foreign environment by hiding their antigenic characteristics, in some way they hide so as not to be captured.

The DEP Array Lab on a Chip was designed to separate labeled cells from the sample mix, and does so individually using weak electric fields that guide the cell through a maze to place them on a chip. The methodology is refined but also not very reproducible on a large scale. We worked on it until 2009, and the result was a good degree thesis. The DEP Array system is now owned by Menarini.

In the excited phases of the ruthless hunt for fetal erythroblasts in the mother's blood, no one noticed that in 1997 Dennis Lo intercepted fragments of DNA with the Y chromosome that were floating freely in the plasma of pregnant patients, a suspension in the liquid phase, outside the fetal cell and its degraded nucleus.

liberamente nel plasma di pazienti gravide, una sospensione in fase liquida, fuori dalla cellula fetale e dal suo nucleo degradato.

Nel corso di tutti questi eventi, parallelamente, la cassetta degli attrezzi del genetista si andava arricchendo di strumenti rivoluzionari.

Giuseppe Novelli a Urbino, nel 1988 quando iniziai a frequentarne l'istituto, si cimentava manualmente con i termostati per la denaturazione del DNA: alternare il caldo e il freddo consente di denaturare e rinaturare il DNA e di realizzare la PCR (Reazione Polimerasica a Catena) inventata poco prima dal formidabile Kary Mullis, capace di danzare nudo nel campo della mente e di vincere il Nobel.

La versione originale della PCR sviluppata da Mullis utilizza cicli ripetuti di temperature elevate per separare i filamenti di DNA, che vengono poi copiati da un enzima, DNA polimerasi termostabile. Ripetere il ciclo molte volte porta ad un aumento esponenziale della quantità di DNA disponibile. In questo modo anche tracce di DNA possono essere amplificate

During all these events, in parallel, the geneticist's toolbox was enriched with revolutionary tools.

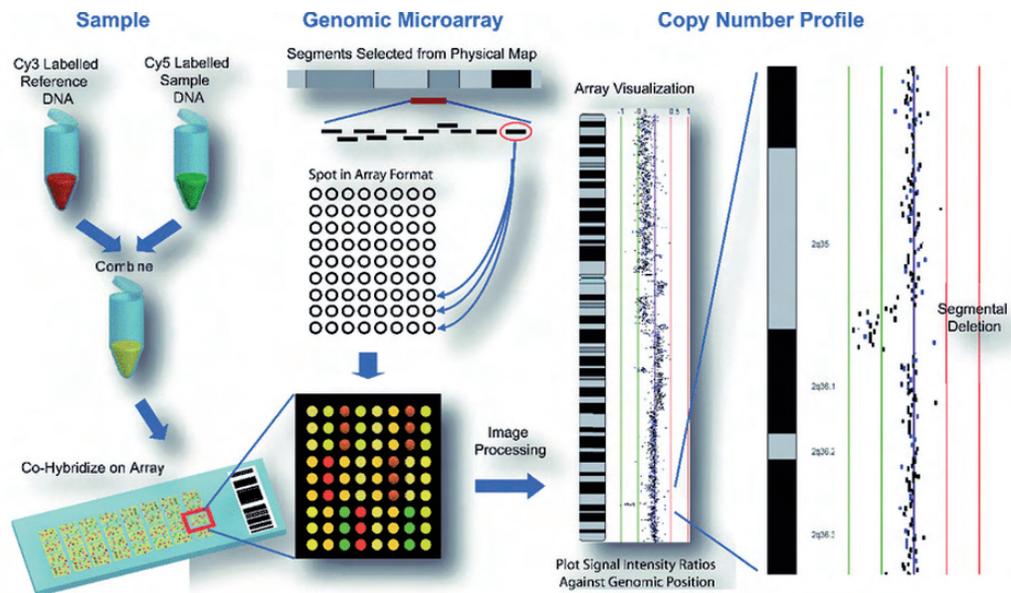
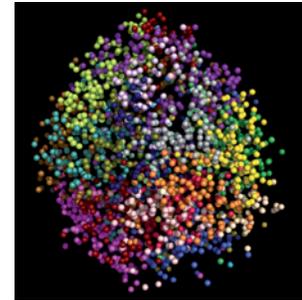
Giuseppe Novelli in Urbino, in 1988 when I started attending the institute, manually experimented with thermostats for the denaturation of DNA: alternating heat and cold allows the DNA to be denatured and renatured and to carry out the PCR (Polymerase Chain Reaction) invented shortly before by the formidable Kary Mullis, capable of dancing naked in the field of the mind and winning the Nobel.

The original version of PCR developed by Mullis uses repeated cycles of high temperatures to separate strands of DNA, which are then copied by an enzyme, thermostable DNA polymerase. Repeating the cycle many times leads to an exponential increase in the amount of available DNA. In this way even traces of DNA can be amplified in easily usable quantities.

The new genetics that was growing with the aim of reading the DNA in its text and not just the chapter titles needed large quantities of that DNA in every chemical reaction of each biological sample, which

Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011

A. NOVELLI¹, F. R. GRATI², L. BALLARATI³, L. BERNARDINI¹, D. BIZZOCO⁴, L. CAMURRI⁵, R. CASALONE⁶, L. CARDARELLI⁷, P. CAVALLI⁸, R. CICCONE⁹, M. CLEMENTI¹⁰, L. DALPRÀ¹¹, M. GENTILE¹², G. GELLI¹³, P. GRAMMATICO¹⁴, M. MALACARNE¹⁵, A. M. NARDONE¹⁶, V. PECILE¹⁷, G. SIMONI², O. ZUFFARDI⁹ and D. GIARDINO³



ARRAY-CGH

Nucleo di cellula. Ogni colore un cromosoma, ogni sfera la collocazione di un gene.
(Takei et al. Science/Nature 2022)

Lo schema della ibridazione con a-CGH, Comparative Genomic Hybridization

in quantità facilmente utilizzabili.

La nuova genetica che stava crescendo con l'obiettivo di leggere il DNA nel suo testo e non solo i titoli dei capitoli aveva bisogno di grandi quantità di quel DNA in ogni reazione chimica di ciascun campione biologico, cosa che in natura non c'è. Fino alla invenzione di Mullis i laboratori usavano integrare frammenti di DNA in virus che si riproducono velocemente, ma l'efficienza non era paragonabile.

Fu una rivoluzione che consentì il vero decollo del Progetto Genoma Umano, la missione internazionale di sequenziamento, decodifica e lettura del DNA di homo sapiens.

Nei primi anni 2000 il Consorzio Internazionale con Francis Collins e la Celera Genomics di Craig Venter raggiunsero l'obiettivo.

La cassetta degli attrezzi era diventata uno scrigno. Riepilogando: per tutti gli anni 80 lo strumento di analisi genetica fu l'analisi dei cromosomi al microscopio, capace di analizzare tutto il genoma ma con dettagli limitati.

In seguito la capacità di denaturare il

is not present in nature. Until Mullis's invention, laboratories used to integrate DNA fragments into viruses that reproduce quickly, but the efficiency was not comparable.

It was a revolution that allowed the real take-off of the Human Genome Project, the international mission of sequencing, decoding and reading the DNA of homo sapiens.

In the early 2000s the International Consortium with Francis Collins and Craig Venter's Celera Genomics achieved their goal.

The toolbox had become a treasure chest. In summary: throughout the 80s the genetic analysis tool was the analysis of chromosomes under the microscope, capable of analyzing the entire genome but with limited details.

Subsequently, the ability to denature DNA was added to the first mappings of genes in precise points of DNA which, appropriately cut, were connected to light probes that revealed the presence or absence of that region in the sample under analysis (FISH, fluorescent in situ hybridization). The

DNA si sommò alle prime mappature di geni in precisi punti di DNA che, tagliati opportunamente, si agganciavano a sonde luminose che ci rivelavano la presenza o l'assenza di quella regione nel campione in analisi (FISH, fluorescent in situ hybridization). L'arrivo della PCR di Kary Mullis consentì di applicare le tecniche di analisi del DNA su larga scala.

L'applicazione fu immediata nella diagnosi fetale per le malattie genetiche più frequenti: Fibrosi Cistica e le cosiddette sindromi da espansione, Sindrome dell'X fragile e Distrofia Miotonica. Non sono solo nomi, sono le più frequenti malattie ereditarie che affliggono homo sapiens.

Il completamento della sequenza del Genoma Umano consentì l'applicazione di queste tecniche a tutta la informazione genetica, cosicché l'analisi completa passò dai cromosomi al DNA. Si entrò così negli anni 2000.

La rivista Nature rappresentò il passaggio in modo semplice paragonando il genoma a un semaforo, con le luci che indicavano ciascun gene, verde o rosso, presente o assente, corretto o sbagliato.

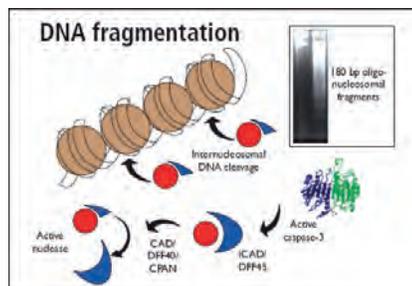
arrival of Kary Mullis' PCR allowed DNA analysis techniques to be applied on a large scale.

The application was immediate in fetal diagnosis for the most frequent genetic diseases: Cystic Fibrosis and the so-called expansion syndromes, Fragile X Syndrome and Myotonic Dystrophy. They are not just names, they are the most frequent hereditary diseases that afflict homo sapiens.

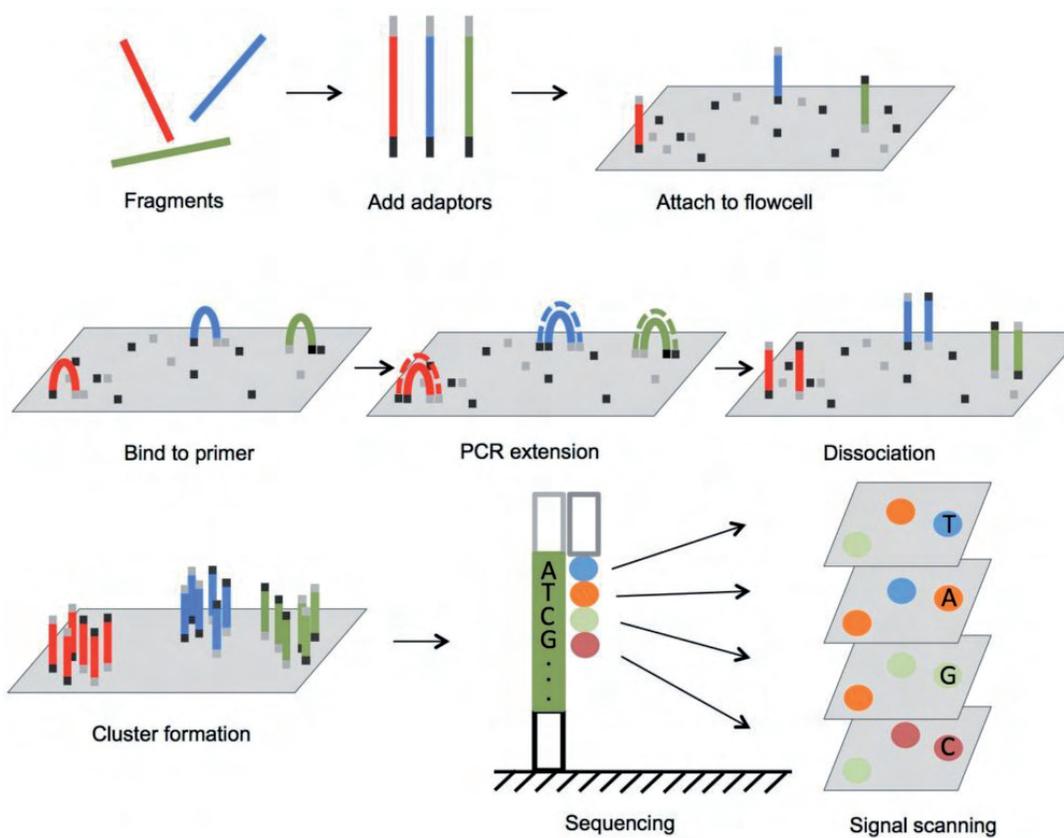
The completion of the sequence of the Human Genome allowed the application of these techniques to all genetic information, so that the complete analysis moved from chromosomes to DNA. Thus we entered the 2000s.

Nature magazine represented the transition simply by comparing the genome to a traffic light, with the lights indicating each gene, green or red, present or absent, correct or incorrect.

We are now experts in how lights attach to DNA, with denaturation and hybridization, and we have finally arrived at automation and reproducibility with a new technique, comparative genomic hybridization on



Frammentazione del DNA



NGS NEXT GENERATION SEQUENCING

Ormai siamo esperti nel come le luci si attaccano al DNA, con la denaturazione e la ibridazione, e finalmente si arrivò alla automazione e riproducibilità con una nuova tecnica, la ibridazione genomica comparativa su array: Array Comparative Genomic Hybridization (a-CGH).

Un DNA normale precostruito e il DNA del paziente da analizzare (genomic) vengono denaturati e marcati con colori diversi, poi mescolati (array) e fatti incontrare rinaturando (hybridization); le sequenze di DNA che si riconoscono avranno un colore, se non si riconoscono ne avranno uno diverso (comparative).

La non corrispondenza delle sequenze di DNA indica che nel DNA del paziente manca o vi è eccesso di DNA.

PCR e array-CGH offrirono automazione e riproducibilità e parimenti forte riduzione del fattore umano nella esecuzione delle analisi. L'adeguamento di mentalità e abitudini non fu immediato.

Scontri e mediazioni si protrassero per lungo tempo fra tradizionalisti e innovatori finché si arrivò a una posizione condivisa che legò la analisi cromosomica

arrays: Array Comparative Genomic Hybridization (a-CGH).

A pre-built normal DNA and the patient's DNA to be analyzed (genomic) are denatured and marked with different colors, then mixed (array) and brought together by renaturing (hybridization); the DNA sequences that are recognized will have a color, if they are not recognized they will have a different one (comparative).

Mismatched DNA sequences indicate that the patient's DNA is missing or excess DNA.

PCR and array-CGH offered automation and reproducibility and equally strong reduction of the human factor in the execution of the analyses. The adjustment of mentality and habits was not immediate.

Clashes and mediations continued for a long time between traditionalists and innovators until a shared position was reached which linked traditional chromosomal analysis to new techniques, a position specifically designed for prenatal diagnosis.

Many of us collaborated, under the wing of Bruno Dallapiccola and the coordination of Antonio Novelli, Giuseppe's junior brother.

tradizionale alle nuove tecniche, posizione specificamente progettata per la diagnosi prenatale.

Collaborammo in tanti, sotto l'ala di Bruno Dallapiccola e il coordinamento di Antonio Novelli, fratello junior di Giuseppe. La posizione ebbe risalto internazionale e, essendo la prima a firma istituzionale, divenne riferimento fondamentale.

Era una nostra certezza da tempo, quando andavamo dicendo che sarebbe bastato un a-CGH che eguagliasse la definizione dell'occhio al microscopio annullando soltanto il fattore umano e la variabilità del cromosoma.

La tecnica a-CGH fu come abbiamo visto una conseguenza del completamento del Progetto Genoma, il sequenziamento di tutto il profilo genetico di homo sapiens, un prodotto mirato a intercettare anomalie quantitative del DNA, cioè perdite o acquisto di porzioni (delezioni e duplicazioni).

Esiste però un altro grande campo dei difetti ereditari che comprendono circa 6000 malattie genetiche dove la quantità

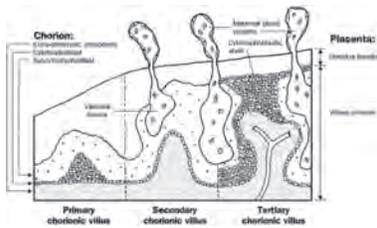
The position had international prominence and, being the first with an institutional signature, it became a fundamental reference.

It had been our certainty for some time, when we were saying that an a-CGH that would equal the definition of the eye under the microscope, canceling only the human factor and the variability of the chromosome, would be enough.

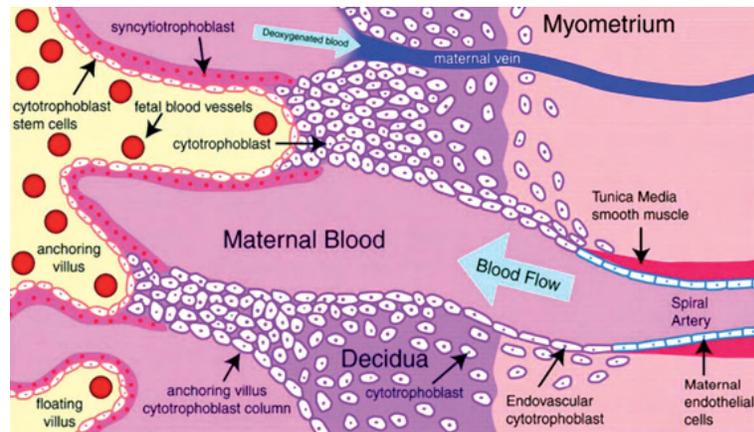
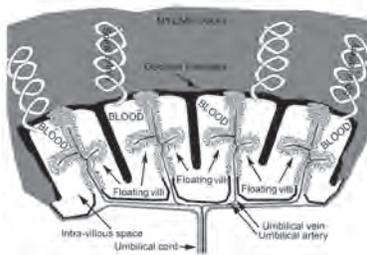
As we have seen, the a-CGH technique was a consequence of the completion of the Genome Project, the sequencing of the entire genetic profile of homo sapiens, a product aimed at intercepting quantitative DNA anomalies, i.e. loss or acquisition of portions (deletions and duplications).

However, there is another large field of hereditary defects which include around 6000 genetic diseases where the quantity of the DNA is correct, the error affects the quality, i.e. the spelling of the code, its writing.

Comparative hybridization is not useful in this sector, which requires methodical



Villi coriali della placenta: morfologia



Circolo sanguigno materno fetale: la connessione placentare

Circolo sanguigno materno fetale: anatomia della la connessione placentare



cffDNA NIPT CELL FREE FETAL DNA SANGUE MATERNO



del DNA è corretta, l'errore colpisce la qualità, cioè l'ortografia del codice, la sua scrittura.

La ibridazione comparativa non serve in questo settore per cui occorre la lettura metodica, il sequenziamento del DNA.

Anche questa seconda evenienza necessitò di una soluzione tecnologica, le tecniche di sequenziamento tradizionale operavano come la composizione a stampa ai tempi del piombo, lettere dopo lettere fuse e collocate nel testo; serviva la tastiera del computer.

L'esplosione della potenza bioinformatica venne in aiuto con una tecnologia che non a caso si definì sequenziamento di nuova generazione (NGS) e consentì il sequenziamento simultaneo di centinaia di milioni di molecole di DNA.

Il DNA del campione viene frammentato, i frammenti collegati a dei terminali adattatori per formare una biblioteca di frammenti, questi si collegano a dei giunti (primers) che attivano la moltiplicazione del DNA (primers), alla fine c'è il distacco dalla library e la formazione di gruppi omogenei (clusters) che affrontano il sequenziamento sul DNA di riferimento (template). I segnali colorati/fluorescenti

reading and DNA sequencing.

This second eventuality also required a technological solution, the traditional sequencing techniques operated like printed composition in the days of lead, letter after letter fused and placed in the text; the computer keyboard was needed.

The explosion of bioinformatics power came to the rescue with a technology that, not surprisingly, was called next generation sequencing (NGS) and allowed the simultaneous sequencing of hundreds of millions of DNA molecules.

The DNA of the sample is fragmented, the fragments connected to adapter terminals to form a library of fragments, these connect to joints (primers) which activate the multiplication of the DNA (primers), at the end there is detachment from the library and the formation of homogeneous groups (clusters) that face sequencing on the reference DNA (template). The colored/fluorescent signals that have marked the entire path are observed and processed by the automated bioinformatic system.

NGS can study regions of chromosomes, entire or individual chromosomes, as well as the entire genome.

che hanno marcato tutto il percorso vengono osservati e elaborati dal sistema bioinformatico automatizzato.

La NGS può studiare regioni di cromosomi, cromosomi interi o singoli geni, nonché tutto il genoma.

Cosa comporta tutto ciò? Basta un esempio: il rischio a priori di una coppia di avere un figlio affetto da Fibrosi Cistica, la più frequente malattia genetica grave ereditabile, è 1 su 2500 nati, dopo la analisi favorevole dei genitori in NGS, il rischio diventa 1 su 25 milioni, fattore 10 alla quarta. E così può essere per tutte le mutazioni del genoma con le relative patologie, anche se solitamente ci si tende a limitare lo studio a pannelli di 300 geni per un quadro predittivo efficace.

In un lasso di tempo breve si è passati da singole malattie ereditarie studiabili con efficacia attorno al 75% a gruppi di geni-malattia di centinaia di elementi con accuratezza del 99%.

Da sogno a realtà, ci sono voluti quarant'anni, ma passare da tre cromosomi

What does all this mean? Just one example: the a priori risk of a couple having a child affected by Cystic Fibrosis, the most frequent serious heritable genetic disease, is 1 in 2500 births, after a favorable analysis of the parents in NGS, the risk becomes 1 in 25 million, factor 10 to the fourth. And this can be the case for all mutations in the genome with the related pathologies, even if we usually tend to limit the study to panels of 300 genes for an effective predictive framework.

In a short space of time we have gone from single hereditary diseases that can be studied with an efficacy of around 75% to groups of disease genes of hundreds of elements with an accuracy of 99%.

From dream to reality, it took forty years, but going from three black and white chromosomes to the bright and colorful reading of the novel was an unexpected step, as was participating and accompanying all this with small actions.

In the meantime, the hunt for fetal DNA in

in bianco e nero alla luminosa e variopinta lettura del romanzo è stato un passo non scontato, come pure partecipare e accompagnare tutto ciò con piccole azioni.

Nel frattempo la caccia al DNA del feto nel sangue materno è continuata senza sosta. Riscopriamo dunque Dennis Lo e la sua osservazione del 1997 di frammenti di DNA di cromosoma Y, quindi fetale, galleggianti nel plasma della gestante.

Il DNA si trova solitamente dentro i nuclei delle cellule protetto da una membrana e integro nei suoi cromosomi; la frammentazione può avvenire con una manipolazione o per morte della cellula.

Due novità erano maturate dieci anni dopo la osservazione di Dennis Lo.

Il DNA fetale libero nel plasma aggira il problema delle cellule fetali integre che si difendono e nascondono la loro presenza.

Il DNA naturalmente frammentato per degenerazione è il substrato ideale per il sequenziamento NGS che così lo vuole.

Approfondendo la prima intuizione si vide che il plasma della madre in gravidanza, dopo la decima settimana, è

the mother's blood continued unabated.

Let us therefore rediscover Dennis Lo and his 1997 observation of fragments of Y chromosome DNA, therefore fetal, floating in the plasma of the pregnant woman.

DNA is usually found inside the nuclei of cells protected by a membrane and intact in its chromosomes; fragmentation can occur through manipulation or cell death.

Two innovations had developed ten years after Dennis Lo's observation.

Free fetal DNA in plasma circumvents the problem of intact fetal cells defending themselves and hiding their presence. DNA naturally fragmented by degeneration is the ideal substrate for NGS sequencing which requires it that way.

Exploring the first intuition, we saw that the plasma of the pregnant mother, after the tenth week, is rich in fragments of both the mother and the fetus and it was possible to apply sequencing on these. The traffic light turned green after the first diagnosis of trisomy 21 which was the incipit as for all the historical phases of prenatal diagnosis, in the 70s for the amniotic fluid, in 1983 for the chorionic villi, in 2012 for the maternal

ricco di frammenti sia di mamma che del feto e su questi si riuscì ad applicare il sequenziamento. Il semaforo girò al verde dopo la prima diagnosi di trisomia 21 che fu l'incipit come per tutte le fasi storiche della diagnosi prenatale, negli anni '70 per il liquido amniotico, nel 1983 per i villi coriali, nel 2012 per il sangue materno.

Con Antonio Novelli fummo decisi e rapidi nel voler sperimentare la metodica cosicchè, dopo vari approcci interlocutori, ci soffermammo sulla proposta americana offerta da Ariosa, azienda californiana proprietaria del test Harmony. Con il CAM di Monza di Andrea Buratti, Gianfranco Voglino di Torino e i nostri centri in Emilia, Roma e Padova, fummo la prima rete organica di analisi del DNA fetale su sangue materno.

Contrariamente alle ipotesi iniziali si realizzò anche che l'origine embriologica del DNA fetale viene da una nostra vecchia conoscenza, il citotrofoblasto placentare: nel corso dello sviluppo fetale il citotrofoblasto ricopre le pareti dei vasi sanguigni materni e così viene in contatto diretto col plasma della madre. Alla morte

blood.

With Antonio Novelli we were decisive and quick in wanting to experiment with the method so that, after various interlocutory approaches, we focused on the American proposal offered by Ariosa, the Californian company that owns the Harmony test. With Andrea Buratti's CAM in Monza, Gianfranco Voglino in Turin and our centers in Emilia, Rome and Padua, we were the first organic network for fetal DNA analysis on maternal blood.

Contrary to the initial hypotheses, it was also realized that the embryological origin of the fetal DNA comes from an old acquaintance of ours, the placental cytotrophoblast: during fetal development the cytotrophoblast covers the walls of the maternal blood vessels and thus comes into direct contact with the mother's plasma. When these cells die, cleavage causes the fetal placental DNA to flow into that plasma.

The Harmony test was immediately reproducible but needed scientific validation, both theoretical and clinical. For the second it took time, for the first our

di queste cellule, lo sfaldamento porta il DNA feto placentare a scorrere in quel plasma.

Il test Harmony fu da subito ben riproducibile ma aveva bisogno di validazione scientifica, sia teorica che clinica. Per la seconda ci voleva tempo, per la prima fu fondamentale la nostra esperienza nel campo della genetica della placenta e i suoi villi coriali.

I ginecologi californiani che dirigevano il progetto Harmony capitanati da Thomas Musci stavano raccogliendo la casistica necessaria al progetto NEXT che prevedeva il confronto fra i due test di screening, l'analisi sul DNA fetale nel plasma (cffDNA) e il più tradizionale Test Combinato, uno strumento otetrico basato su ecografia e parametri placentari.

Il potere predittivo dei due test, uno genetico e l'altro no, mostrò differenze enormi, 99,8% rispetto a 3,5%.

Così soddissatti non si chiesero il perché della differenza finché la nostra esperienza rivelò e dimostrò che il potere predittivo del cffDNA superiore al 99% è sovrapponibile a quello della analisi cromosomica dei

experience in the field of placental genetics and its chorionic villi was fundamental.

The Californian gynecologists who directed the Harmony project led by Thomas Musci were collecting the case studies necessary for the NEXT project which involved the comparison between the two screening tests, the analysis of fetal DNA in plasma (cffDNA) and the more traditional Combined Test, a otetric instrument based on ultrasound and placental parameters.

The predictive power of the two tests, one genetic and the other not, showed enormous differences, 99.8% versus 3.5%.

So satisfied, they did not ask themselves the reason for the difference until our experience revealed and demonstrated that the predictive power of cffDNA above 99% is comparable to that of the chromosomal analysis of the chorionic villi because in both cases the placental cytotrophoblast is concerned. Thomas Musci took notes and asked for a copy of the data.

From 1983 till now the heart of fetal genetics took root in the placenta and its chorionic villi, definitively taking the path of the non-invasive technique.

villi coriali perchè in entrambi trattasi si
citotrofoblasto placentare. Thomas Musci
prese appunti e chiese copia dei dati.

Dal 1983 ad oggi il cuore della genetica
fetale si radicò nella placenta e nei suoi
villi coriali prendendo definitivamente la
strada della tecnica non invasiva.

ATTIVITA'

PLURIGENTEST

Plurigentest è un brand scientifico indipendente per la informazione e proposta di test genetici di qualità nello screening e diagnosi di varianti genetiche coinvolte nei percorsi di genetica medica e umana.

Plurigentest is an independent scientific brand for the information and proposal of quality genetic tests in the screening and diagnosis of genetic variants involved in medical and human genetics pathways.



PluriGenTEST™

DIAGNOSI E SCREENING GENETICI -
PGT1: FIBROSI CISTICA - ATROFIA
MUSCOLARE SPINALE - FRAXA
SINDROME X FRAGILE - PANNELLI
MULTIPLI MALATTIE GENETICHE 300
GENI - PGT3: CARIOTIPO MOLECOLARE
- EASY CHIP - LA CITOGENETICA SI
EVOLVE - PGT2: NIPT DNA FETALE IN
SANGUE MATERNO - LE NUOVE LINEE
GUIDA MINISTERO DELLA SALUTE

DIAGNOSI E SCREENING GENETICI

Il **PluriGenTEST1** identifica su un campione di **sangue periferico** se uno o entrambi i genitori sono portatori eterozigoti di quattro tra le malattie monogeniche più frequenti della popolazione generale europea: **Fibrosi Cistica, Sindrome dell'X-Fragile, Atrofia Muscolare Spinale, Sordità Congenita non Sindromica**, Pannelli di malattie con tecnica NGS.

PluriGenTEST2 identifica su un campione di **sangue periferico**, con uso delle migliori tecniche NIPT (Non Invasive Prenatal Test) su DNA fetale presente nel sangue materno, la possibilità che il feto sia affetto dalle trisomie compatibili con la nascita, T21, T18, T13, ed eventualmente altre delezioni parziali cromosomiche rilevanti.

Il prelievo di **tessuti fetali** con tecniche invasive consente il controllo delle anomalie cromosomiche e delle malattie mendeliane per le quali un partner si è rivelato eterozigote. Le tecniche di array-CGH si sono aggiunte al cariotipo nella analisi genomica fetale.

PluriGenTEST3 offre, su un campione di **villi coriali o liquido amniotico**, il cariotipo molecolare a-CGH. Identifica numerose anomalie associate a sindromi da microdelezione o duplicazione ma riduce al minimo l'evidenza di piccole variazioni di significato sconosciuto. **DueinUno** combina efficacemente il cariotipo convenzionale e a.CGH per una analisi approvata dai dettami delle linee guida scientifiche italiane.

Le **malattie genetiche** rappresentano un gruppo eterogeneo di patologie che possono essere suddivise, sommariamente a seconda della loro eziologia, in due grandi categorie: **cromosomiche** (ad esempio la Sindrome di Down) e **monogeniche/mendeliane** (ad esempio la Fibrosi Cistica). Assieme alle cromosomopatie più note, ad esempio la Trisomia 21 o Sindrome di Down vi sono altre patologie altrettanto gravi e frequenti che appartengono al gruppo delle cosiddette malattie monogeniche/mendeliane quali: la sindrome dell'X-Fragile (2° causa di ritardo mentale su base genetica, seconda solo alla Sindrome di Down), l'Atrofia Muscolare Spinale (una delle più frequenti cause di patologia neuromuscolare di origine genetica), la Fibrosi Cistica (una tra le più frequenti malattie autosomiche recessive nel mondo occidentale) e l'ipoacusia neurosensoriale (le mutazioni del gene GJB2 sono la più comune causa di ipoacusia neurosensoriale su base genetica). Anche considerando esclusivamente queste quattro patologie emerge che il rischio per una coppia, qualsiasi sia l'età della donna, di avere un figlio

malato di una di queste malattie è pari a circa 1/1000. Anche il rischio delle principali patologia cromosomiche fetali è pari a circa 1/1000. **La indagine congiunta consente di identificare le patologie genetiche fetali che incidono nel 2/1000 dei nati.**

PLURIGENTEST 1

PLURIGENTEST 2

PLURIGENTEST 3

PLURIGENTEST 4

DOCUMENTI



OSPEDALE BAMBINO GESU' ROMA - OSPEDALE SAN PIETRO
FATEBENEFRAATELLI ROMA - UNIVERSITA' TORVERGATA GENETICA MEDICA -
LABORATORIO CASTALDO NAPOLI - OSPEDALE CRISTO RE ROMA - CENTRO
MEDISALUSER PARMA - LABORATORIO MENDEL MODENA - TECNOBIOS
EUROGENLAB BOLOGNA

per informazioni e eseguire i test
rivolgersi



PluriGenTEST™

www.plurigentest.it

PluriGenTEST™



PluriGenTEST™

SCREENING E
DIAGNOSI
GENETICA PRENATALE

MALATTIE MENDELIANE

NIPT DNA FETALE IN SANGUE MATERNO

PGT3oligo15 CARIOTIPO MOLECOLARE

FETAL2

PluriGenTEST™ 1

FIBROSI CISTICA

ATROFIA MUSCOLARE SPINALE

SORDITA' NEUROSENSORIALE

SINDROME X FRAGILE

Indagine preconcezionale e/o prenatale delle più frequenti malattie mendeliane

A chi si rivolge:

Alle coppie in fase preconcezionale o prenatale

Cosa studia:

Identifica se uno o entrambi i partners sono portatori eterozigoti (sani) di una delle malattie elencate

A cosa serve:

A programmare un controllo fetale della malattia con analisi genetica dopo prelievo di villi coriali o liquido amniotico

Come si esegue:

Un prelievo di sangue (5 ml) non a digiuno

Tempi di risposta:

10 giorni

PluriGenTEST™ 2

NIPT

Test Prenatale Non Invasivo
Analisi del DNA fetale nel sangue materno

TRISOMIA21, TRISOMIA18, TRISOMIA13

SESSO FETALE

ANOMALIE NUMERICHE X,Y

A chi si rivolge:

A donne in gravidanza dalla 10^a settimana

Cosa studia:

Valuta il rischio che il feto sia affetto dalle anomalie indicate con una affidabilità alta (99%)

A cosa serve:

A identificare una aumentata indicazione per controllo del cariotipo fetale con amniocentesi

Come si esegue:

Un prelievo di sangue (10-20ml) non a digiuno

Tempi di risposta:

11-14 giorni

PluriGenTEST™ 3

CARIOTIPO

Analisi del cariotipo
su villi coriali, liquido amniotico

PGT3oligo15

Microarray genomico di nuova generazione per il cariotipo molecolare.

Aumenta la sensibilità del cariotipo convenzionale, identifica anomalie submicroscopiche associate a malattie note comprese le subtelomeriche (estremità dei cromosomi) spesso associate a ritardo mentale

FETAL2

Riunisce in un solo test il cariotipo tradizionale e la tecnica oligoarray PGT3 per la più efficiente diagnosi genetica fetale disponibile

A chi si rivolgono:

Alle donne in gravidanza dalla 11^a settimana

A cosa servono:

A identificare anomalie cromosomiche fetali

Come si eseguono:

Un prelievo di tessuto fetale, villi coriali, liquido amniotico

Tempi di risposta:

PGT3oligo15 6 gg Cariotipo 14-21 gg

PluriGenTEST™



Poliambulatorio Privato
CENTRO PALMER S.r.l.



Società Italiana di Genetica Umana
Gruppo di Lavoro in Citogenetica SIGU

LINEE GUIDA PER LA DIAGNOSI CITOGENETICA 2013 a cura del Gruppo di Lavoro in Citogenetica SIGU

Hanno preso parte alla stesura:

Simona Cavani, Lamberto Camurri, Daniela Giardino, Francesca Romana Grati, Laura Bernardini, Adriano Angioni, Paola Battaglia, Rita Calzone, Laura Cardarelli, Massimo Carella, Sebastiano Caruso, Pietro Cavalli, Franca Dagna Bricarelli, Leda Dalprà, Domenico Dell'Edera, Francesca Forzano, Gianfranco Gelli, Mattia Gentile, Irene Giotti, Silvia Guarducci, Fortunato Lonardo, Michela Malacarne, Francesca Malvestiti, Giuseppina Marseglia, Barbara Minuti, Anna Montaldi, Lucia Nutini, Daniela Orteschi, Vanna Pecile, Chiara Pescucci, Maria Carla Pittalis, Elisa Savin, Lorenzo Sinibaldi, Romano Tenconi, Barbara Torres, Annalisa Vetro, Sara Zanchetti, Orsetta Zuffardi, Antonio Novelli.

La Sindrome X fragile (FRAX), Fibrosi Cistica, Atrofia Muscolare Spinale (SMA) sono le più frequenti malattie genetiche gravi che insorgono senza preavviso. Un prelievo di sangue materno basta per identificarle in gravidanza.

Fibrosi Cistica, Atrofia Muscolare Spinale e Sindrome dell'X Fragile sono malattie ereditarie gravi, ad alta frequenza, per la individuazione delle quali esiste la analisi del DNA dei genitori o potenziali genitori applicabile a tutta la popolazione con una accuratezza superiore al 90%: si analizza con un prelievo di sangue il DNA della madre o di entrambi i genitori per trovare la condizione di "eterozigote" o portatore sano.

In tal caso il rischio fetale di malattia sale al 25% e finanche al 70% per la Sindrome X Fragile. La villocentesi o l'amniocentesi verificheranno il reale stato del feto. La frequenza di queste malattie è alta, da 1/1300 a 1/2500 a 1/10000. La sopravvivenza va dal 2% a un anno di vita per la Atrofia Muscolare Spinale tipo 1, ma

Fragile X Syndrome (FRAX), Cystic Fibrosis, Spinal Muscular Atrophy (SMA) are the most frequent serious genetic diseases that arise without warning. A maternal blood sample is enough to identify them during pregnancy.

Cystic Fibrosis, Spinal Muscular Atrophy and Fragile analyzes the DNA of the mother or both parents with a blood sample to find the condition of "heterozygote" or healthy carrier.

In this case the fetal risk of disease rises to 25% and even to 70% for Fragile X Syndrome. Chorionic villus sampling or amniocentesis will verify the real state of the fetus. The frequency of these diseases is high, from 1/1300 to 1/2500 to 1/10000. Survival ranges from 2% at one year of life for Spinal Muscular Atrophy type 1, but for all others it ranges from 100% at 1 year up to 50% at 20 years.

The incidence of the three diseases is estimated at 1.5 per 1000 births, more frequent than trisomy 21 which is 1.4 per

per tutte le altre è di circa il 100% a 1 anno fino al 50% a 20 anni.

La incidenza delle tre malattie è stimata in 1,5 ogni 1000 nati, più frequente della trisomia 21 che è di 1,4 ogni 1000 nati. La sola identificazione di un portatore sano in famiglia fornisce inoltre informazioni preziose per altri componenti il ramo ereditario, precedenti figli, fratelli, ecc., mettendoli così nelle condizioni di monitorare il loro futuro riproduttivo.

6000 sono all'incirca le malattie genetiche che possono colpire il bambino nei primi tempi di vita.

Almeno uno dei genitori in questi casi è portatore sano senza saperlo. Alle malattie genetiche frequenti descritte se ne possono aggiungere molte altre, di varia gravità e frequenza, sempre a insorgenza precoce.

Le moderne tecniche di sequenziamento genetico (NGS) consentono di studiare grandi pannelli di geni che possono causare malattie trasmissibili al feto.

Anche qui un solo prelievo di sangue è necessario per lo studio completo.

1000 births. The mere identification of a healthy carrier in the family also provides valuable information for other members of the hereditary branch, previous children, siblings, etc., thus enabling them to monitor their reproductive future.

There are approximately 6000 genetic diseases that can affect the child in the early stages of life.

At least one of the parents in these cases is a healthy carrier without knowing it. To the frequent genetic diseases described, many others can be added, of varying severity and frequency, always with early onset.

Modern genetic sequencing (NGS) techniques make it possible to study large panels of genes that can cause diseases transmissible to the fetus.

Here too only one blood sample is necessary for the complete study.



MALATTIE GENETICHE
MENDELIANE - RICERCA DEI
PORTATORI ETEROZIGOTI -
INDAGINE
PRECONCEZIONALE E
PRENATALE - FIBROSI CISTICA
- ATROFIA MUSCOLARE
SPINALE - FRAXA SINDROME
X FRAGILE - SORDITA'
NEUROSENSORIALE

TEST GENETICI PRECONCEZIONALI E
PRENATALI NON INVASIVI

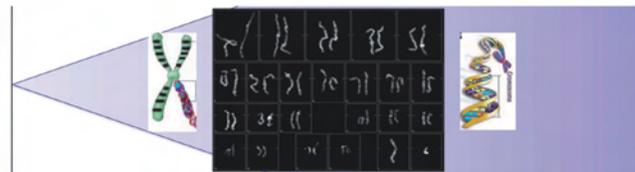
FIBROSI CISTICA

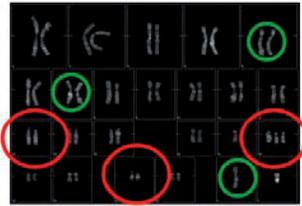
SMA ATROFIA MUSCOLARE SPINALE

CX SORDITA' NEUROSENSORIALE

FRAXA X FRAGILE

PANNELLI DI GENI NGS



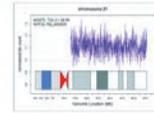


Ricerca su DNA **fetale**
Trisomie frequenti e gravi
Presenti dopo la 10^a settimana

PrenatalSafe
Harmony
PRENATAL TEST



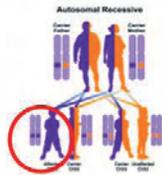
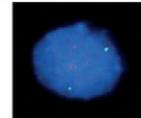
		Sopravvivenza.	
TRISOMIA 21	1/750	1a 88%	10a 82%
TRISOMIA 18	1/2000	1a 5%	1a 1%
TRISOMIA 13	1/5000	1a 10%	10a 0
XXX,X0,XXY,XY			



Malattie genetiche frequenti e gravi:
Ricerca su DNA **materno**

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

FIBROSI CISTICA	1/2500	40a 50%	
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE	1/10000	SMA1 2a 5%	SMA2 20* 70% SMA3 adulta
RITARDO MENTALE FRAXA	1/5000	adulta	



Ricerca portatori malattie mendeliane ereditarie

Fibrosi Cistica	port. 1/25	malati 1/2500	sensib. 90%
Ritardo mentale FRAXA	port. 1/260	1/1250M	99%
Atrofia Muscolare Spinale	port. 1/50	malati 1/10000	93%
	port. 1/40 ER	malati 1/6400	

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Rischio residuo feto affetto

	FC	SMA
????? / ?????	1/2500	1/10000
Neg 1 / ?????	1/10000	1/100 000
Neg 1 / Neg 1	1/40000	1/1 000 000

FC
Fibrosi Cistica



SMA
Atrofia Muscolare Spinale



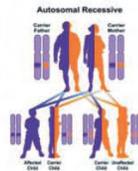
FRAXA
Ritardo Mentale



PluriGenTM TEST

ritardo mentale: IQ tra 20 e 70

- deficit di memoria a breve termine di informazioni complesse
- ritardo nel linguaggio
- deboli abilità visuo-spaziali
- ipersensibilità agli stimoli
- iperattività con deficit di attenzione
- comportamento autistico
- Macrocefalia con fronte, mento e orecchie sporgenti
- Macroorchidismo (<30ml) dopo la pubertà
- Anomalie connettivali: prolasso della mitrale, lassità articolare, piede piatto
- Disfunzioni ipotalamiche?



Ricerca portatori malattie mendeliane

Fibrosi Cistica	90% sensibilità (rischio residuo 1/95)
Atrofia muscolare spinale	93% sensibilità
Sordità NS	90% sensibilità (rischio residuo 1/350)
Ritardo mentale FRAXA	99% sensibilità

Probabilità feto affetto malattie mendeliane recessive

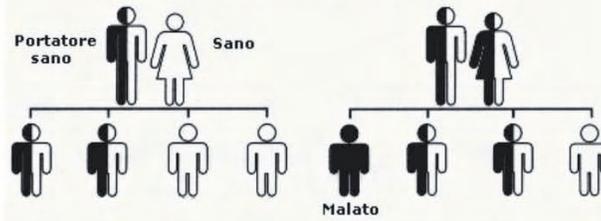
	Fibrosi Cistica	SMA
???? / ????	$(1/25 \times 1/25 \times 1/4) = 1/2500$	$(1/50 \times 1/50 \times 1/4) = 1/10000$
Neg / ????	$(1/25 \times 1/4 \times 1/25 \times 1/4) = 1/10000$	$(1/50 \times 1/10 \times 1/50 \times 1/4) = 1/100000$
Neg / Neg	$(1/25 \times 1/4 \times 1/25 \times 1/4 \times 1/4) = 1/40000$	$(1/50 \times 1/10 \times 1/50 \times 1/10 \times 1/4) = 1/1000000$
Etero / ???	$(1 \times 1/25 \times 1/4) = 1/1000$	$(1 \times 1/50 \times 1/4) = 1/2000$
Etero / Neg 1(75)	$(1 \times 1/25 \times 1/4 \times 1/4) = 1/4000$	Etero / Neg 1(93) $(1 \times 1/50 \times 1/12 \times 1/4) = 1/2400$
Etero / Neg 2(90)	$(1 \times 1/25 \times 1/10 \times 1/4) = 1/1000$	
Etero / Neg 3(95)	$(1 \times 1/25 \times 1/20 \times 1/4) = 1/2000$	
Etero / Neg 4(99)	$(1 \times 1/25 \times 1/100 \times 1/4) = 1/10000$	
Etero / Etero	$1/4$	$1/4$

Mutazioni: Neg 1(37), Neg3 (139-152), Neg4 (intero gene)

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

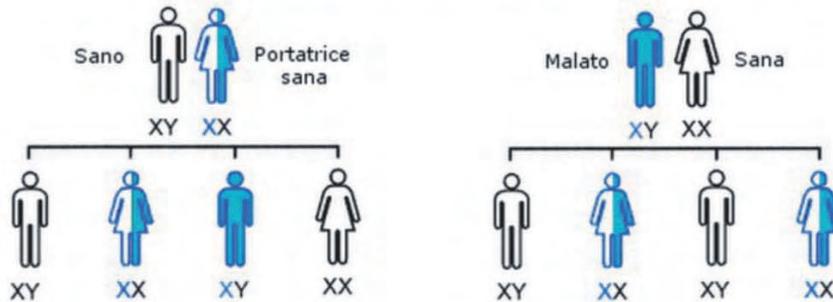
PluriGen^{EST}

Eredità autosomica recessiva



Eredità X-linked recessiva

MEDICINA ONLINE

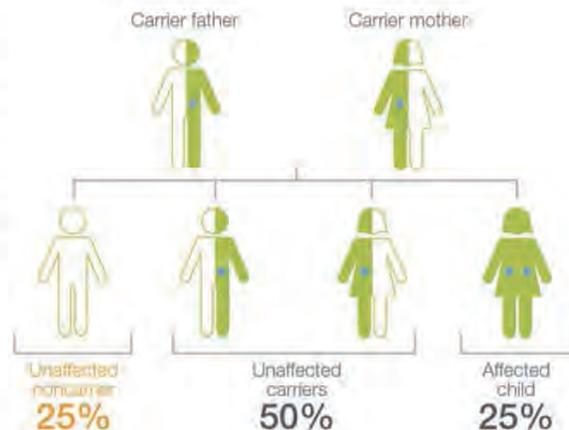


La genomica di nuova generazione

Negli ultimi anni, gli straordinari progressi conseguiti nel settore della genomica e delle biotecnologie hanno posto le basi per leggere e comprendere le informazioni contenute nel nostro DNA, il **genoma**. In particolare **le nuove tecnologie di sequenziamento, Next Generation Sequencing (NGS)**, ci permettono oggi di accedere alla sequenza del nostro DNA in modo più facile ed efficace, fornendo una valutazione approfondita dell'informazione genetica di ogni singolo individuo.

Ogni persona nasce, infatti, con caratteristiche genetiche che la differenziano dagli altri e che la rendono unica. Mentre la maggior parte delle differenze nella sequenza del DNA tra persone diverse è innocua, alcuni cambiamenti, definiti **mutazioni genetiche**, possono alterare la funzionalità genomica e rendere quella persona portatrice di una specifica malattia genetica trasmissibile ai propri figli.

I portatori di malattie genetiche sono tipicamente individui sani, completamente privi di sintomi ed inconsapevoli di essere a rischio di trasmettere tale "errore" del DNA ai figli.



Gene	OMIM Gene	Disease	OMIM Disease
ABCD1	300371	Adrenoleukodystrophy	300100
ABCC8	600509	Diabetes mellitus, noninsulin-dependent	125853
		Diabetes mellitus, permanent neonatal	606176
		Diabetes mellitus, transient neonatal 2	610374
		Hyperinsulinemic hypoglycemia, familial, 1	736450
		Hypoglycemia of infancy, leucine-sensitive	240800
ABCB11	603201	Cholestasis, benign recurrent intrahepatic, 2	605479
		Cholestasis, progressive familial intrahepatic 2	601847
ADAMTS2	604539	Ehlers-Danlos syndrome, dermatosparaxis type	225410
EVC	604831	Weyers acrofacial dysostosis	193530
ACADS	606885	Acyl-CoA dehydrogenase, short-chain, deficiency of	201470
ACADM	607008	Acyl-CoA dehydrogenase, medium chain, deficiency of	201450
EVC2	607261	Ellis-van Creveld syndrome	225500
ACAT1	607809	Alpha-methylacetoacetic aciduria	203750
ADA	608958	Adenosine deaminase deficiency, partial	102700
ACADVL	609575	VLCAD deficiency	201475
ACOX1	609751	Peroxisomal acyl-CoA oxidase deficiency	264470
AGL	610860	Glycogen storage disease IIIa	232400
ACAD9	611103	Mitochondrial complex I deficiency, nuclear type 20	611126
AGA	613228	Aspartylglucosaminuria	208400
		Severe combined immunodeficiency due to ADA deficiency	102700
		Glycogen storage disease IIIb	232400
AGPS	603051	Rhizomelic chondrodysplasia punctata, type 3	600121
AGXT	604285	Hyperoxaluria, primary, type 1	259900
AIRE	607358	Autoimmune polyendocrinopathy syndrome, type I, with or without reversible metaphyseal dysplasia	240300
ALDH3A2	609523	Sjogren-Larsson syndrome	270200
ALDOB	612724	Fructose intolerance, hereditary	229600
ALG6	604566	Congenital disorder of glycosylation, type Ic	603147

ALMS1	606844	Alstrom syndrome	203800
ALPL	171760	Hypophosphatasia, adult	146300
		Hypophosphatasia, childhood	241510
		Hypophosphatasia, infantile	241500
		Odontohypophosphatasia	146300
AMT	238310	Glycine encephalopathy	605899
AR	313700	Androgen insensitivity	300068
		Androgen insensitivity, partial, with or without breast cancer	312300
		Hypospadias I, X-linked	300633
		Spinal and bulbar muscular atrophy of Kennedy	313200
		Prostate cancer, susceptibility to	176807
ARG1	608313	Argininemia	207800
ARSA	607574	Metachromatic leukodystrophy	250100
ARSB	611542	Mucopolysaccharidosis type VI (Maroteaux-Lamy)	253200
ARSE	300180	Chondrodysplasia punctata, X-linked recessive	302950
ASL	608310	Argininosuccinic aciduria	207900
ASNS	108370	Asparagine synthetase deficiency	615574
ASPA	608034	Canavan disease	271900
ASS1	603470	Citrullinemia	215700
ATM	607585	Ataxia-telangiectasia	208900
		Lymphoma, B-cell non-Hodgkin, somatic	
		Lymphoma, mantle cell, somatic	
		T-cell prolymphocytic leukemia, somatic	
		Breast cancer, susceptibility to	114480
ATP6V1B1	192132	Renal tubular acidosis with deafness	267300
ATP7A	300011	Menkes disease	309400
		Occipital horn syndrome	304150
		Spinal muscular atrophy, distal, X-linked 3	300489
ATP7B	606882	Wilson disease	271900
ATRX	300032	Alpha-thalassemia myelodysplasia syndrome, somatic	300448
		Alpha-thalassemia/mental retardation syndrome	301040

		Mental retardation-hypotonic facies syndrome, X-linked	309580
BBS1	209901	Bardet-Biedl syndrome 1	209900
BBS10	610148	Bardet-Biedl syndrome 10	615987
BBS12	610683	Bardet-Biedl syndrome 12	615989
BBS2	606151	Bardet-Biedl syndrome 2	615981
		Retinitis pigmentosa 74	616562
BCHE	177400	Butyrylcholinesterase deficiency	617936
		Apnea, postanesthetic, susceptibility to, due to BCHE deficiency	617936
BCKDHA	608348	Maple syrup urine disease, type Ia	248600
BCKDHB	248611	Maple syrup urine disease, type Ib	248600
BCSI1	603647	Bjornstad syndrome	262000
		GRACILE syndrome	603358
		Leigh syndrome	256000
		Mitochondrial complex III deficiency, nuclear type 1	124000
BLM	604610	Bloom syndrome	210900
BSND	606412	Barter syndrome, type 4a	602522
		Sensorineural deafness with mild renal dysfunction	602522
BTD	608019	Biotinidase deficiency	253260
BTK	300300	Agammaglobulinemia, X-linked 1	300755
		Isolated growth hormone deficiency, type III, with agammaglobulinemia	307200
CAPN3	114240	Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal dominant 4	618129
		Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 1	253600
CBS	613381	Homocystinuria, B6-responsive and nonresponsive types	236200
		Thrombosis, hyperhomocysteinemic	236200
CC2D2A	612013	COACH syndrome	216360
		Joubert syndrome 9	612285
		Meckel syndrome 6	612284
CD40LG	300386	Immunodeficiency, X-linked, with hyper-IgM	308230
CDH23	605516	Deafness, autosomal recessive 12	601386
		Usher syndrome, type 1D	601067
		Usher syndrome, type 1D/F digenic	601067

		Pituitary adenoma 5, multiple types	617540
CEP290	610142	Bardet-Biedl syndrome 14	615991
		Joubert syndrome 5	610188
		Leber congenital amaurosis 10	611755
		Meckel syndrome 4	611134
		Senior-Loken syndrome 6	610189
CERKL	608381	Retinitis pigmentosa 26	608380
CFTR	602421	Congenital bilateral absence of vas deferens	277180
		Cystic fibrosis	219700
		Sweat chloride elevation without CF	
		Bronchiectasis with or without elevated sweat chloride 1, modifier of	211400
		Hypertrypsinemia, neonatal	
		Pancreatitis, hereditary	167800
CHM	300390	Choroideremia	303100
CHRNE	100725	Myasthenic syndrome, congenital, 4A, slow-channel	605809
		Myasthenic syndrome, congenital, 4B, fast-channel	616324
		Myasthenic syndrome, congenital, 4C, associated with acetylcholine receptor deficiency	608931
CLN3	607042	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 3	204200
CLN5	608102	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 5	256731
CLN6	606725	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 6	601780
		Ceroid lipofuscinosis, neuronal, Kufs type, adult onset	204300
CLN8	607837	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 8	600143
		Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 8, Northern epilepsy variant	610003
CLRN1	606397	Retinitis pigmentosa 61	614180
		Usher syndrome, type 3A	276902
CNGB3	605080	Achromatopsia 3	262300
		Macular degeneration, juvenile	248200
COL17A1	113811	Epidermolysis bullosa, junctional, localisata variant	226650
		Epidermolysis bullosa, junctional, non-Herlitz type	226650
		Epithelial recurrent erosion dystrophy	122400
COL4A3	120070	Alport syndrome 2, autosomal recessive	203780

		Alport syndrome 3, autosomal dominant	104200
		Hematuria, benign familial	141200
COL4A4	120131	Alport syndrome 2, autosomal recessive	203780
		Hematuria, familial benign	141200
COL4A5	303630	Alport syndrome 1, X-linked	301050
COL7A1	120120	EBD inversa	226600
		EBD, Bart type	132000
		EBD, localisata variant	
		Epidermolysis bullosa dystrophica, AD	131750
		Epidermolysis bullosa dystrophica, AR	226600
		Epidermolysis bullosa pruriginosa	604129
		Epidermolysis bullosa, pretibial	131850
		Toenail dystrophy, isolated	607522
CPS1	608807	Transient bullous of the newborn	131705
		Carbamoylphosphate synthetase I deficiency	237300
		Pulmonary hypertension, neonatal, susceptibility to	615371
		Venocclusive disease after bone marrow transplantation	
CPT1A	600528	CPT deficiency, hepatic, type IA	255120
CPT2	600650	CPT II deficiency, infantile	600649
		CPT II deficiency, lethal neonatal	608836
		CPT II deficiency, myopathic; stress-induced	255110
		Encephalopathy, acute, infection-induced, 4, susceptibility to	614212
CRB1	604210	Leber congenital amaurosis 8	613835
		Pigmented paravenous chorioretinal atrophy	172870
		Retinitis pigmentosa-12	600105
CRTAP	605497	Osteogenesis imperfecta, type VII	610682
CSTB	601145	Epilepsy, progressive myoclonic IA (Unverricht and Lundborg)	254800
CNTN	606272	Cystinosis, atypical nephropathic	219800
		Cystinosis, late-onset juvenile or adolescent nephropathic	219900
		Cystinosis, nephropathic	219800
		Cystinosis, ocular nonnephropathic	219750

CTSD	116840	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 10	610127
CTSK	601105	Pycnodysostosis	265800
CYP11B1	610613	Adrenal hyperplasia, congenital, due to 11-beta-hydroxylase deficiency	202010
		Aldosteronism, glucocorticoid-remediable	103900
CYP11B2	124080	Aldosterone to renin ratio raised	
		Hypoaldosteronism, congenital, due to CMO I deficiency	203400
		Hypoaldosteronism, congenital, due to CMO II deficiency	610600
		Low renin hypertension, susceptibility to	
CYP17A1	609300	17,20-lyase deficiency, isolated	202110
		17-alpha-hydroxylase/17,20-lyase deficiency	202110
CYP19A1	107910	Aromatase deficiency	613546
		Aromatase excess syndrome	139300
CYP11B1	601771	Anterior segment dysgenesis 6, multiple subtypes	617315
		Glaucoma 3A, primary open angle, congenital, juvenile, or adult onset	231300
CYP21A2	613815	Adrenal hyperplasia, congenital, due to 21-hydroxylase deficiency	201910
		Hyperandrogenism, nonclassic type, due to 21-hydroxylase deficiency	201910
CYP27A1	606530	Cerebrotendinous xanthomatosis	213700
DBT	248610	Maple syrup urine disease, type II	248600
DCLRE1C	605988	Omenn syndrome	603554
		Severe combined immunodeficiency, Athabaskan type	602450
DHCR7	602858	Smith-Lemli-Opitz syndrome	270400
DHDDS	608172	Congenital disorder of glycosylation, type 1bb	613861
		Developmental delay and seizures with or without movement abnormalities	617836
		Retinitis pigmentosa 59	613861
DKC1	300126	Dyskeratosis congenita, X-linked	305000
DL	238331	Dihydroliipoamide dehydrogenase deficiency	246900
DMD	300377	Becker muscular dystrophy	300376
		Cardiomyopathy, dilated, 3B	307045
		Duchenne muscular dystrophy	310200
DNAH5	603335	Ciliary dyskinesia, primary, 3, with or without situs inversus	608644

DNAI1	604366	Ciliary dyskinesia, primary, 1, with or without situs inversus	244400
DNAI2	605483	Ciliary dyskinesia, primary, 9, with or without situs inversus	612444
DOK7	610285	Fetal akinesia deformation sequence	208150
		Myasthenic syndrome, congenital, 10	254300
DPYD	612779	5-fluorouracil toxicity	274270
		Dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency	274270
DYSF	603009	Miyoshi muscular dystrophy 1	254130
		Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 2	253601
		Myopathy, distal, with anterior tibial onset	606768
EDA	300451	Ectodermal dysplasia 1, hypohidrotic, X-linked	305100
		Tooth agenesis, selective, X-linked 1	313500
EDAR	604095	Ectodermal dysplasia 10A, hypohidrotic/hair/nail type, autosomal dominant	129490
		Ectodermal dysplasia 10B, hypohidrotic/hair/tooth type, autosomal recessive	224900
		Hair morphology 1, hair thickness	612630
EIF2AK3	604032	Wolcott-Rallison syndrome	226980
EIF2B1	606686	Leukoencephalopathy with vanishing white matter	603896
EIF2B2	606454	Leukoencephalopathy with vanishing white matter Ovarioleukodystrophy	603896
EIF2B3	606273	Leukoencephalopathy with vanishing white matter	603896
EIF2B4	606687	Leukoencephalopathy with vanishing white matter	603896
		Ovarioleukodystrophy	603896
EIF2B5	603945	Leukoencephalopathy with vanishing white matter	603896
		Ovarioleukodystrophy	603896
EMD	300384	Emery-Dreifuss muscular dystrophy 1, X-linked	310300
ERCC6	609413	Cerebrooculofacioskeletal syndrome 1	214150
		Cockayne syndrome, type B	133540
		De Sanctis-Cacchione syndrome	278800
		Premature ovarian failure 11	616946
		UV-sensitive syndrome 1	600630
		Lung cancer, susceptibility to	211980
		Macular degeneration, age-related, susceptibility to, 5	613761

ERCC8	609412	Cockayne syndrome, type A	216400
		UV-sensitive syndrome 2	614621
ESCO2	609353	Roberts syndrome	268300
		SC phocomelia syndrome	269000
ETFA	608053	Glutaric acidemia IIA	231680
ETFB	130410	Glutaric acidemia IIB	231680
ETFDH	231675	Glutaric acidemia IIC	231680
ETHH1	608451	Ethylmalonic encephalopathy	602473
EVC2	607261	Ellis-van Creveld syndrome	223500
		Weyers acrofacial dysostosis	193530
EYS	612424	Retinitis pigmentosa 25	602772
F11	264900	Factor XI deficiency, autosomal dominant	612416
		Factor XI deficiency, autosomal recessive	612416
F8	300841	Hemophilia A	306700
F9	300746	Hemophilia B	306900
		Thrombophilia, X-linked, due to factor IX defect	300807
		Deep venous thrombosis, protection against	300807
FAH	613871	Warfarin sensitivity	122700
		Tyrosinemia, type I	276700
FANCA	607139	Fanconi anemia, complementation group A	227650
FANCC	613899	Fanconi anemia, complementation group C	227645
FANCG	602956	Fanconi anemia, complementation group G	614082
FH	136850	Fumarate deficiency	606812
		Leiomyomatosis and renal cell cancer	150800
FKRP	606596	Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 5	613153
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with or without mental retardation), type B, 5	606612
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 5	607155
FKTN	607440	Cardiomyopathy, dilated, 1X	611615
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 4	253800
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital without mental retardation), type B, 4	613152

		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 4	611588
FMR1	309550	Fragile X syndrome	300674
		Fragile X tremor/ataxia syndrome	300623
		Premature ovarian failure 1	311360
G6PC	613742	Glycogen storage disease Ia	232200
G6PD	305900	Hemolytic anemia, G6PD deficient (favism)	300908
		Resistance to malaria due to G6PD deficiency	611162
GAA	606800	Glycogen storage disease II	242300
GALC	606890	Krabbe disease	245200
GALK1	604313	Galactokinase deficiency with cataracts	230200
GALNS	612222	Mucopolysaccharidosis IVA	253000
GALT	606999	Galactosemia	230400
GAMT	601240	Cerebral creatine deficiency syndrome 2	612726
GBA	606463	Gaucher disease, perinatal lethal	608013
		Gaucher disease, type I	240800
		Gaucher disease, type II	230900
		Gaucher disease, type III	231000
		Gaucher disease, type IIIC	231005
		Lewy body dementia, susceptibility to	127750
		Parkinson disease, late-onset, susceptibility to	168600
GBE1	607830	Glycogen storage disease IV	232500
		Polyglucosan body disease, adult form	263570
GCDH	608801	Glutaricaciduria, type I	231670
GFM1	606639	Combined oxidative phosphorylation deficiency 1	609060
GJB1	304040	Charcot-Marie-Tooth neuropathy, X-linked dominant, 1	302800
GJB2	121011	Bart-Pumphrey syndrome	149200
		Deafness, autosomal dominant 3A	601544
		Deafness, autosomal recessive 1A	220290
		Hystrix-like ichthyosis with deafness	602540
		Keratitis-ichthyosis-deafness syndrome	148210
		Keratoderma, palmoplantar, with deafness	148350

		Vohwinkel syndrome	124500
GJB6	604418	Deafness, autosomal dominant 3B	612643
		Deafness, autosomal recessive 1B	612645
		Deafness, digenic GJB2/GJB6	220290
		Ectodermal dysplasia 2, Clouston type	129500
GLA	300644	Fabry disease	201800
		Fabry disease, cardiac variant	301500
GLB1	611458	GMI-gangliosidosis, type I	230500
		GMI-gangliosidosis, type II	230600
		GMI-gangliosidosis, type III	230650
		Mucopolysaccharidosis type IVB (Morquio)	253010
GLDC	248300	Glycine encephalopathy	605899
GLE1	603371	Congenital arthrogryposis with anterior horn cell disease	611890
		Lethal congenital contracture syndrome 1	253310
GNE	603824	Noraka myopathy	605820
		Sialuria	269921
GNPAT	602744	Rhizomelic chondrodysplasia punctata, type 2	222765
GNPTAB	607840	Mucopolidosis II alpha/beta	252500
		Mucopolidosis III alpha/beta	252600
GNS	607664	Mucopolysaccharidosis type IIID	252940
GP9	173315	Bernard-Soulier syndrome, type C	231200
GRHPR	604206	Hyperoxaluria, primary, type II	260000
GUSB	611499	Mucopolysaccharidosis VII	253220
HADHA	600890	Fatty liver, acute, of pregnancy	609016
		HELLP syndrome, maternal, of pregnancy	609016
		LCHAD deficiency	609016
		Trifunctional protein deficiency	609015
HADHB	143450	Trifunctional protein deficiency	609015
HAX1	605998	Neutropenia, severe congenital 3, autosomal recessive	610738
HBA1	141800	Erythrocytosis, 7	617981
		Heinz body anemias, alpha-	140700

		Hemoglobin H disease, nondeletional	613978
		Methemoglobinemia, alpha type	612973
		Thalassemias, alpha-	604131
HBA2	141850	Erythrocytosis 7	617981
		Heinz body anemia	140700
		Hemoglobin H disease, deletional and nondeletional	613978
		Thalassemia, alpha-	604131
HBB	141900	Delta-beta thalassemia	141749
		Erythrocytosis 6	617980
		Heinz body anemia	140700
		Hereditary persistence of fetal hemoglobin	141749
		Methemoglobinemia, beta type	617971
		Sickle cell anemia	603903
		Thalassemia, beta	613985
		Thalassemia-beta, dominant inclusion-body	603902
		Malaria, resistance to	611162
HEXA	606860	GM2-gangliosidosis, several forms	272800
		Tay-Sachs disease	272800
		Hex A pseudodeficiency	272800
HEXB	606873	Sandhoff disease, infantile, juvenile, and adult forms	268800
HFE	613609	Hemochromatosis	235200
		Transferrin serum level QTL2	614193
		Alzheimer disease, susceptibility to	104300
		Microvascular complications of diabetes 7	612635
		Porphyria cutanea tarda, susceptibility to	176100
		Porphyria variegata, susceptibility to	176200
HFE2	608374	Hemochromatosis, type 2A	602390
HGD	607474	Alkaptonuria	203500
HGSNAT	610453	Mucopolysaccharidosis type IIIC (Sanfilippo C)	252930
		Retinitis pigmentosa 73	616544
HLC5	609018	Holocarboxylase synthetase deficiency	253270

HMGCL	613898	HM3-CoA lyase deficiency	246450
HOGA1	612597	Hyperoxaluria, primary, type III	613616
HPS1	604982	Hermansky-Pudlak syndrome 1	203300
HPS3	606118	Hermansky-Pudlak syndrome 3	614072
HSD17B4	601860	D-bifunctional protein deficiency	261515
		Perrault syndrome 1	233400
HSD3B2	613800	Adrenal hyperplasia, congenital, due to 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 deficiency	201810
HYLS1	610693	Hydroletharus syndrome	236680
IDS	300823	Mucopolysaccharidosis II	309200
IDUA	252800	Mucopolysaccharidosis Ih	607014
		Mucopolysaccharidosis Ihs	607015
		Mucopolysaccharidosis Is	607016
IKBKAP	603722	Dysautonomia, familial	233900
IL2RG	308380	Combined immunodeficiency, X-linked, moderate	312863
		Severe combined immunodeficiency, X-linked	300490
ISPD	614631	Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 7	614643
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 7	616052
IVD	607036	Isovaleric acidemia	243500
KCNJ11	606937	Diabetes mellitus, transient neonatal, 3	610582
		Diabetes, permanent neonatal, with or without neurologic features	606176
		Hyperinsulinemic hypoglycemia, familial, 2	601820
		Maturity-onset diabetes of the young, type 13	616329
		Diabetes mellitus, type 2, susceptibility to	125853
L1CAM	308840	Corpus callosum, partial agenesis of	304100
		CRASH syndrome	303350
		Hydrocephalus due to aqueductal stenosis	307000
		Hydrocephalus with congenital idiopathic intestinal pseudoobstruction	307000
		Hydrocephalus with Hirschsprung disease	307000

		MASA syndrome	303350
LAMA2	156225	Muscular dystrophy, congenital, merosin deficient or partially deficient	607855
		Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 23	618138
LAMA3	600805	Epidermolysis bullosa, generalized atrophic benign	226650
		Epidermolysis bullosa, junctional, Herlitz type	226700
		Laryngoonychocutaneous syndrome	245660
LAMB3	150310	Amelogenesis imperfecta, type 1A	104530
		Epidermolysis bullosa, junctional, Herlitz type	226700
		Epidermolysis bullosa, junctional, non-Herlitz type	226650
LAMC2	150292	Epidermolysis bullosa, junctional, Herlitz type	226700
		Epidermolysis bullosa, junctional, non-Herlitz type	226650
LCA5	611408	Leber congenital amaurosis 5	604537
LHCGR	152790	Leydig cell adenoma, somatic, with precocious puberty	176410
		Leydig cell hypoplasia with hypergonadotropic hypogonadism	238320
		Leydig cell hypoplasia with pseudohermaphroditism	238320
		Luteinizing hormone resistance, female	238320
		Precocious puberty, male	176410
LHX3	600577	Pituitary hormone deficiency, combined, 3	221750
LIFR	151443	Stuve-Wiedemann syndrome/Schwartz-Jampel type 2 syndrome	601550
LIPA	613497	Cholesteryl ester storage disease	278000
		Wolman disease	278000
LIPH	607365	Hypotrichosis 7	604379
		Woolly hair, autosomal recessive 2 with or without hypotrichosis	604379
LOXHD1	613072	Deafness, autosomal recessive 77	613079
LPL	609708	Combined hyperlipidemia, familial	144250
		Lipoprotein lipase deficiency	238600
		High density lipoprotein cholesterol level QTL 11	
LRPPRC	607544	Leigh syndrome, French-Canadian type	220111

LYST	606897	Chediak-Higashi syndrome	214500
MAN2B1	609458	Mannosidosis, alpha-, types I and II	248500
MCCC1	609010	3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase 1 deficiency	210200
MCCC2	609014	3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase 2 deficiency	210210
MCOLN1	605248	Mucopolipidosis IV	252650
MECP2	300005	Encephalopathy, neonatal severe	300673
		Mental retardation, X-linked syndromic, Lubs type	300260
		Mental retardation, X-linked, syndromic 13	300055
		Rett syndrome	312750
		Rett syndrome, atypical	312750
		Rett syndrome, preserved speech variant	312750
		Autism susceptibility, X-linked 3	300496
MED17	603810	Microcephaly, postnatal progressive, with seizures and brain atrophy	613668
MEFV	608107	Familial Mediterranean fever, AD	134610
		Familial Mediterranean fever, AR	249100
MFSD8	611124	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 7	610951
		Macular dystrophy with central cone involvement	616170
MKS1	609883	Bardet-Biedl syndrome 13	615990
		Joubert syndrome 28	617121
		Meckel syndrome 1	249000
MLC1	605908	Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts	604004
MMAA	607481	Methylmalonic aciduria, vitamin B12-responsive	251100
MMAB	607568	Methylmalonic aciduria, vitamin B12-responsive, due to defect in synthesis of adenosylcobalamin, cblB complementation type	251110
MMACHC	609831	Methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type	277400
MMADHC	611935	Homocystinuria, cblD type, variant 1	277410
MPI	154550	Congenital disorder of glycosylation, type Ib	602579
MPL	159530	Myelofibrosis with myeloid metaplasia, somatic	254450
		Thrombocythemia 2	601977

		Thrombocytopenia, congenital amegakaryocytic	604498
MPV17	137960	Mitochondrial DNA depletion syndrome 6 (hepatocerebral type)	256810
MTHFR	607093	Homocystinuria due to MTHFR deficiency	236250
		Neural tube defects, susceptibility to	601634
		Schizophrenia, susceptibility to	181500
		Thromboembolism, susceptibility to	188050
		Vascular disease, susceptibility to	
MTM1	300415	Myotubular myopathy, X-linked	310400
MTTP	157147	Abetalipoproteinemia	200100
		Metabolic syndrome, protection against	605552
MUSK	601296	Fetal akinesia deformation sequence	208150
		Myasthenic syndrome, congenital, 9, associated with acetylcholine receptor deficiency	616325
		Methylmalonic aciduria, mut(0) type	251000
MUT	609058	Methylmalonic aciduria, mut(0) type	251000
MYO7A	276903	Deafness, autosomal dominant 11	601317
		Deafness, autosomal recessive 2	600060
		Usher syndrome, type 1B	276900
NAGLU	609701	Charcot-Marie-Tooth disease, axonal, type 2V	616491
		Mucopolysaccharidosis type IIIB (Sanfilippo B)	252920
NAGS	608300	N-acetylglutamate synthase deficiency	237310
NBN	602667	Aplastic anemia	609135
		Leukemia, acute lymphoblastic	613065
		Nijmegen breakage syndrome	251260
NDUFS6	603848	Mitochondrial complex I deficiency, nuclear type 9	618232
NEB	161650	Nemaline myopathy 2, autosomal recessive	256030
NPC1	607623	Niemann-Pick disease, type C1	257220
		Niemann-Pick disease, type D	257220
NPC2	601015	Niemann-pick disease, type C2	607625
NPH1	607100	Joubert syndrome 4	609583
		Nephronophthisis 1, juvenile	256100
		Senior-Loken syndrome-1	266900
NPHS1	602716	Nephrotic syndrome, type 1	256300

NPHS2	604766	Nephrotic syndrome, type 2	600995
NR2E3	604485	Enhanced S-cone syndrome	268100
		Retinitis pigmentosa 37	611131
NTRK1	191315	Insensitivity to pain, congenital, with anhidrosis	256800
		Medullary thyroid carcinoma, familial	155240
OCR1	300535	Dent disease 2	300555
		Lowe syndrome	309000
OPA3	606580	3-methylglutaconic aciduria, type III	258501
OTC	300461	Optic atrophy 3 with cataract	165300
PAH	612349	Ornithine transcarbamylase deficiency	311250
		Phenylketonuria	261600
PANK2	606157	Hyperphenylalaninemia, non-PKU mild	261600
		HARP syndrome	607236
PC	608786	Neurodegeneration with brain iron accumulation 1	234200
PCCA	232000	Pyruvate carboxylase deficiency	266150
PCCB	232050	Propionicacidemia	606054
		Propionicacidemia	606054
PCDH15	605514	Deafness, autosomal recessive 23	609533
		Usher syndrome, type 1D/F digenic	601067
		Usher syndrome, type 1F	602083
PDHA1	300502	Pyruvate dehydrogenase E1-alpha deficiency	312170
PDHB	179060	Pyruvate dehydrogenase E1-beta deficiency	614111
PEX1	602136	Heimler syndrome 1	234580
		Peroxisome biogenesis disorder 1A (Zellweger)	214100
		Peroxisome biogenesis disorder 1B (NALD/IRD)	601539
PEX10	602859	Peroxisome biogenesis disorder 6A (Zellweger)	614870
		Peroxisome biogenesis disorder 6B	614871
PEX12	601758	Peroxisome biogenesis disorder 3A (Zellweger)	614859
		Peroxisome biogenesis disorder 3B	266510
PEX2	170993	Peroxisome biogenesis disorder 5A (Zellweger)	614866
		Peroxisome biogenesis disorder 5B	614867

PEX26	608666	Peroxisome biogenesis disorder 7A (Zellweger)	614872
		Peroxisome biogenesis disorder 7B	614873
PEX6	601498	Heimler syndrome 2	616617
		Peroxisome biogenesis disorder 4A (Zellweger)	614862
		Peroxisome biogenesis disorder 4B	614863
PEX7	601757	Peroxisome biogenesis disorder 9B	614879
		Rhizomelic chondrodysplasia punctata, type 1	215100
PFKM	610681	Glycogen storage disease VII	232800
PHGDH	606879	Neu-Laxova syndrome 1	256520
		Phosphoglycerate dehydrogenase deficiency	601815
PKHD1	606702	Polycystic kidney disease 4, with or without hepatic disease	263200
PLA2G6	603604	Infantile neuroaxonal dystrophy 1	256600
		Neurodegeneration with brain iron accumulation 2B	610217
		Parkinson disease 14, autosomal recessive	612953
PMM2	601785	Congenital disorder of glycosylation, type Ia	212065
POLG	174763	Mitochondrial DNA depletion syndrome 4A (Alpers type)	203700
		Mitochondrial DNA depletion syndrome 4B (MNGIE type)	613662
		Mitochondrial recessive ataxia syndrome (includes SANDO and SCAE)	607459
		Progressive external ophthalmoplegia, autosomal dominant 1	157640
		Progressive external ophthalmoplegia, autosomal recessive 1	258450
POMGNT1	606822	Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 3	253280
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with mental retardation), type B, 3	613151
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 3	613157
		Retinitis pigmentosa 76	617123
POMT1	607423	Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 1	236670

		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with mental retardation), type B, 1	613155
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 1	609208
POMT2	607439	Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with brain and eye anomalies), type A, 2	613150
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (congenital with mental retardation), type B, 2	613156
		Muscular dystrophy-dystroglycanopathy (limb-girdle), type C, 2	613158
PPT1	600722	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 1	256730
PROP1	601538	Pituitary hormone deficiency, combined, 2	262600
PRPS1	311850	Aris syndrome	301835
		Charcot-Marie-Tooth disease, X-linked recessive, 5	311070
		Deafness, X-linked 1	304500
		Gout, PRPS-related	300661
PSAP	176801	Phosphoribosylpyrophosphate synthetase superactivity	300661
		Combined SAP deficiency	611721
		Gaucher disease, atypical	610539
		Krabbe disease, atypical	611722
		Metachromatic leukodystrophy due to SAP-b deficiency	249900
PTS	612719	Hyperphenylalaninemia, BH4-deficient, A	261640
PUS1	608109	Myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia 1	603462
PYGM	608455	McArdle disease	232600
RAB23	606144	Carpenter syndrome	201000
RAG1	179615	Alpha/beta T-cell lymphopenia with gamma/delta T-cell expansion, severe cytomegalovirus infection, and autoimmunity	609889
		Combined cellular and humoral immune defects with granulomas	233650
		Omenn syndrome	603554
		Severe combined immunodeficiency, B cell-negative	601457

RAG2	179616	Combined cellular and humoral immune defects with granulomas	233650
		Omenn syndrome	603554
		Severe combined immunodeficiency, B cell-negative	601457
RAPSN	601592	Fetal akinesia deformation sequence	208150
		Myasthenic syndrome, congenital, 11, associated with acetylcholine receptor deficiency	616326
RARS2	611524	Pontocerebellar hypoplasia, type 6	611523
RDH12	608830	Leber congenital amaurosis 13	612712
RMRP	157660	Anaxiotic dysplasia 1	607095
		Cartilage-hair hypoplasia	250250
		Metaphyseal dysplasia without hypotrichosis	250460
RPE65	180069	Leber congenital amaurosis 2	204100
		Retinitis pigmentosa 20	613704
RPGRIPL	610937	COACH syndrome	216360
		Joubert syndrome 7	611560
		Meckel syndrome 5	611561
RS1	300839	Retinoschisis	312700
SACS	604490	Spastic ataxia, Charlevoix-Saguenay type	270550
SAMHD1	606754	Chilblain lupus 2	614415
		Aicardi-Goutieres syndrome 5	612952
SBDS	607444	Shwachman-Diamond syndrome	260400
		Aplastic anemia, susceptibility to	609135
SEPSECS	613009	Pontocerebellar hypoplasia type 2D	613811
SERPINA1	107400	Emphysema due to AAT deficiency	613490
		Emphysema-cirrhosis, due to AAT deficiency	613490
		Hemorrhagic diathesis due to antithrombin Pittsburgh	613490
		Pulmonary disease, chronic obstructive, susceptibility to	606963
SGCA	600119	Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 3	608099
SGCB	600900	Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 4	604286
SGCG	608896	Muscular dystrophy, limb-girdle, autosomal recessive 5	253700
SGSH	605270	Mucopolysaccharidosis type IIIA (Sanfilippo A)	252900

SLC12A3	600968	Gitelman syndrome	263800
SLC12A6	604878	Agnesis of the corpus callosum with peripheral neuropathy	218000
SLC17A5	604322	Salla disease	604369
		Sialic acid storage disorder, infantile	269920
SLC22A5	603377	Carnitine deficiency, systemic primary	212140
SLC25A13	603859	Citrullinemia, adult-onset type II	603471
		Citrullinemia, type II, neonatal-onset	605814
SLC25A15	603861	Hyperornithinemia-hyperammonemia-homocitrullinemia syndrome	238970
SLC25A20	613698	Carnitine-acylcarnitine translocase deficiency	212138
SLC26A2	606718	Achondrogenesis Ib	600972
		Atelosteogenesis, type II	256050
		De la Chapelle dysplasia	256050
		Diastrophic dysplasia	222600
		Diastrophic dysplasia, broad bone-platyspondylic variant	222600
		Epiphyseal dysplasia, multiple, 4	226900
SLC26A4	605646	Deafness, autosomal recessive 4, with enlarged vestibular aqueduct	600791
		Pendred syndrome	274600
SLC37A4	602671	Glycogen storage disease Ib	232220
		Glycogen storage disease Ic	232240
SLC39A4	607059	Acrodermatitis enteropathica	201100
SLC4A11	610206	Corneal dystrophy, Fuchs endothelial, 4	613268
		Corneal endothelial dystrophy and perceptive deafness	217400
		Corneal endothelial dystrophy, autosomal recessive	217700
SLC6A8	300036	Cerebral creatine deficiency syndrome 1	300352
SMN1	600354	Spinal muscular atrophy-1	253300
		Spinal muscular atrophy-2	253550
		Spinal muscular atrophy-3	253400
		Spinal muscular atrophy-4	271150
SMPD1	607608	Niemann-Pick disease, type A	257200
STAR	600617	Lipoid adrenal hyperplasia	201710

SUMF1	607939	Multiple sulfatase deficiency	272200
TAT	613018	Tyrosinemia, type II	276600
TCIRG1	604592	Osteopetrosis, autosomal recessive 1	259700
TFR2	604720	Hemochromatosis, type 3	604250
TGM1	190195	Ichthyosis, congenital, autosomal recessive 1	242300
TH	191280	Segawa syndrome, recessive	605407
TMEM216	613277	Joubert syndrome 2	608091
		Meckel syndrome 2	603194
TPP1	607998	Ceroid lipofuscinosis, neuronal, 2	204500
		Spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 7	609270
TREX1	606609	Aicardi-Goutieres syndrome 1, dominant and recessive	225750
		Chilblain lupus	610448
		Vasculopathy, retinal, with cerebral leukodystrophy	192315
		Systemic lupus erythematosus, susceptibility to	152709
TRIM37	605073	Mulibrey nanism	253250
TSEN2	608753	Pontocerebellar hypoplasia type 2B	612389
TSEN34	608754	Pontocerebellar hypoplasia type 2C	612390
TSEN54	608755	Pontocerebellar hypoplasia type 5	610204
		Pontocerebellar hypoplasia type 2A	277470
		Pontocerebellar hypoplasia type 4	225753
TSFM	604723	Combined oxidative phosphorylation deficiency 3	610505
TSHB	188540	Hypothyroidism, congenital, nongoitrous 4	275100
TTC37	614589	Trichohepatoenteric syndrome 1	222470
TTPA	600415	Ataxia with isolated vitamin E deficiency	277460
TYMP	131222	Mitochondrial DNA depletion syndrome 1 (MNGIE type)	603041
TYR	606933	Albinism, oculocutaneous type IA	203100
		Albinism, oculocutaneous, type IB	606952
		Waardenburg syndrome/albinism, digenic	103470
		Skin/hair/eye pigmentation 3, blue/green eyes	601800
		Skin/hair/eye pigmentation 3, light/dark/freckling skin	601800
		Melanoma, cutaneous malignant, susceptibility to, 8	601800

UGT1A1	191740	Crigler-Najjar syndrome, type I	218800
		Crigler-Najjar syndrome, type II	606785
		Hyperbilirubinemia, familial transient neonatal	237900
		Bilirubin, serum level of, QTL1	601816
		Gilbert syndrome	143500
USH1C	605242	Deafness, autosomal recessive 18A	602092
		Usher syndrome, type 1C	276904
USH2A	608400	Retinitis pigmentosa 39	613809
		Usher syndrome, type 2A	276901
VPS13A	605978	Choreoacanthocytosis	200150
VPS13B	607817	Cohen syndrome	216550
VRK1	602168	Pontocerebellar hypoplasia type 1A	607596
WAS	300392	Neutropenia, severe congenital, X-linked	300299
		Thrombocytopenia, X-linked	313900
		Thrombocytopenia, X-linked, intermittent	313900
		Wiskott-Aldrich syndrome	301000
WNT10A	606268	Odontoonychodermal dysplasia	257980
		Schopf-Schulz-Passarge syndrome	224750
		Tooth agenesis, selective, 4	150400
XPA	611153	Xeroderma pigmentosum, group A	278700
XPC	613208	Xeroderma pigmentosum, group C	278720
ZFYVE26	612012	Spastic paraplegia 15, autosomal recessive	270700

PluriGen²TEST™

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis

Federico Prefumo^{1*}, Davide Paolini^{2,3*}, Giulia Speranza^{2,3}, Marilena Palmisano^{2,3}, Matteo Dionisi^{2,3}, Lamberto Camurri^{2,3}

1 ASST degli Spedali Civili di Brescia, Brescia, Italy, **2** Medical & Market Access Department, Roche Diagnostics, Monza, Italy, **3** Medi Saluser, Parma, Italy

* These authors contributed equally to this work.
† davide.paolini@roche.com



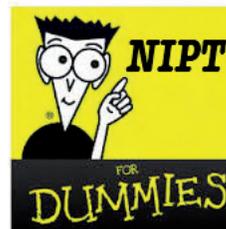
Abstract

Objective

Non-invasive prenatal testing (NIPT) based on cell-free fetal DNA (cffDNA) is highly accurate in the detection of common fetal autosomal trisomies. Aim of this project was to investigate short-term costs and clinical outcomes of the contingent use of cffDNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 within a national health service (NHS).

OPEN ACCESS

Citation: Prefumo F, Paolini D, Speranza G, Palmisano M, Dionisi M, Camurri L (2019) The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis. *PLoS ONE* 14(6): e0218166. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218166>



Poliambulatorio Privato
CENTRO PALMER S.r.l.

A partire dal primo trimestre di gravidanza è presente nel circolo ematico materno DNA libero di origine fetale (cffDNA, cell free fetal DNA), che può essere prelevato in maniera non-invasiva ed utilizzato per lo studio di alcune patologie fetali. Il DNA libero presente nel circolo materno origina dalla lisi di cellule materne e cellule placentari. A partire dalla V settimana di amenorrea il citotrofoblasto placentare si ancora alla decidua parietale uterina; le arterie spirali deciduali irrorano le lacune presenti tra la decidua e la placenta; il citotrofoblasto invade e tappezza le pareti delle arterie spirali e le rimodella. Il ricambio delle cellule del trofoblasto che tappezzano le pareti delle arterie spirali, mediato dalle citochine, libera il DNA. I frammenti di DNA fetale degradato hanno dimensioni di circa 180 bp (paia di basi) e sono sospesi nel plasma arterioso. Sebbene il cffDNA del trofoblasto sia già isolabile alla V settimana, solo a partire dalla X settimana la sua quantità è sufficiente per indagini diagnostiche. La sua percentuale varia tra 0 e 25%, con una media, a 12 settimane, del 12%. Anche l'apoptosi degli epitelii materni libera frammenti di DNA nel plasma che concorrono ad una commistione di DNA materno e fetale.

Starting from the first trimester of pregnancy, free DNA of fetal origin (cffDNA, cell free fetal DNA) is present in the maternal blood circulation, which can be collected in a non-invasive manner and used for the study of some fetal pathologies. The free DNA present in the maternal circulation originates from the lysis of maternal cells and placental cells. Starting from the fifth week of amenorrhea, the placental cytotrophoblast anchors itself to the uterine parietal decidua; the decidual spiral arteries supply the gaps between the decidua and the placenta; the cytotrophoblast invades and covers the walls of the spiral arteries and remodels them. The turnover of the trophoblast cells that line the walls of the spiral arteries, mediated by cytokines, releases the DNA. The degraded fetal DNA fragments are approximately 180 bp (base pairs) in size and are suspended in the arterial plasma. Although trophoblast cffDNA can already be isolated at the 5th week, only from the 10th week is its quantity sufficient for diagnostic investigations. Its percentage varies between 0 and 25%, with an average, at 12 weeks, of 12%. Apoptosis of maternal epithelia also releases DNA fragments into the plasma which contribute to a mixture

placentare. Il cfDNA scompare dalla circolazione materna poche ore dal parto, probabilmente attraverso l'escrezione renale. Si stima che i campioni ematici materni contengano, dopo la X settimana, circa 65.000 frammenti di 180 paia di basi del DNA del cromosoma 21. YMD Lo nel 1997 descrisse per primo la presenza del cromosoma Y nel plasma di alcune madri incinte di feti di sesso maschile, utilizzando l'analisi del cfDNA (cell free DNA). Le tecniche impiegate nell'analisi del cfDNA plasmatico si basano sulla digital PCR, Massively parallel shotgun sequencing (MPSS) dell'intero genoma o di sequenze bersaglio, SNP-based NGS, Digital analysis of selected regions (DANSR). L'analisi può perciò sequenziare i frammenti dell'intero genoma o selezionare solo i frammenti di alcuni cromosomi di interesse. La linea di sequenziamento (sequencing lane) è l'unità operativa del test; ogni linea può leggere 100 Gbasi di DNA (100 milioni di reads). L'applicazione di algoritmi dedicati permette di analizzare i frammenti di cfDNA ed è stata mirata alla previsione del rischio delle più comuni aneuploidie (cromosomi 21, 13 e 18 e cromosomi sessuali). Le tecniche attuali analizzano i frammenti cfDNA senza differenziare i

of maternal and feto-placental DNA. The cfDNA disappears from the maternal circulation a few hours after birth, probably through renal excretion. It is estimated that maternal blood samples contain, after the male, using cfDNA (cell free DNA) analysis. The techniques used in the analysis of plasma cfDNA are based on digital PCR, Massively parallel shotgun sequencing (MPSS) of the entire genome or target sequences, SNP-based NGS, Digital analysis of selected regions (DANSR). The analysis can therefore sequence fragments of the entire genome or select only fragments of some chromosomes of interest. The sequencing lane is the operational unit of the test; each line can read 100 Gbases of DNA (100 million reads). The application of dedicated algorithms allows the analysis of cfDNA fragments and was aimed at predicting the risk of the most common aneuploidies (chromosomes 21, 13 and 18 and sex chromosomes). Current techniques analyze cfDNA fragments without differentiating fragments of maternal origin from those of fetal origin, so as to allow substantial quantities of DNA to be available. These tests are defined as NIPT (Non Invasive Prenatal Test) and are considered "non-diagnostic" precisely because they are based

frammenti di origine materna da quelli di origine fetale, in modo da consentire di disporre di quantità consistenti di DNA. Questi test sono definiti NIPT (Non Invasive Prenatal Test) e sono considerati “non diagnostici” proprio perché basati su una commistione di DNA di diversa origine, materna e placentare. La specificità dei test su cffDNA, negli studi che hanno arruolato oltre 10.000 campioni, rivela una percentuale di falsi-positivi circa 1/5.000 e conferma la percentuale di discordanze fetoplacentari emersa dalle analisi cromosomiche effettuate sul citotrofoblasto. La percentuale di falsi-negativi nella popolazione afferente al test è <1/10.000 (sensibilità 99,9%) e conferma la percentuale di discordanze fetoplacentari emersa dalle analisi cromosomiche sul citotrofoblasto. Nel 2015 il Ministero della Salute ha emesso le Linee Guida (download il documento nella barra a sinistra) che definiscono la validazione degli obiettivi dell’indagine NIPT, i percorsi di scelta e prescrizione, nonché i modelli di consenso alla analisi da sottoporre alla donna.

on a mixture of DNA of different origins, maternal and placental. The specificity of the tests on cffDNA, in the studies that have enrolled over 10,000 samples, reveals a percentage of false-positives approximately 1/5,000 and confirms the percentage of fetoplacental discordances that emerged from the chromosomal analyzes carried out on the cytotrophoblast. The percentage of false-negatives in the test population is <1/10,000 (sensitivity 99.9%) and confirms the percentage of fetoplacental discordances that emerged from the chromosomal analyzes on the cytotrophoblast. In 2015 the Ministry of Health issued the Guidelines (download the document in the bar on the left) which define the validation of the objectives of the NIPT investigation, the choice and prescription paths, as well as the consent models for the analysis to be subjected to the woman. .

PROSPETTI
INFORMATIVI



SCREENING E DIAGNOSI GENETICA PRENATALE

DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO

ANALISI CROMOSOMICA: TRISOMIE 21, 18, 13
ANALISI DEL CARIOTIPO

MALATTIE GENETICHE

FIBROSI CISTICA (CF)
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE (SMA)
SINDROME X FRAGILE (FRAXA)
SORDITA' NEUROSENSORIALE

INFO 2017

Ogni 100 nascite si manifestano 2 casi di malformazioni congenite, 35 delle quali causate da errori cromosomici e 5 da mutazioni genetiche. Gli screening prenatali cercano di individuare questi errori prima della nascita.

Negli ultimi anni si sono sviluppate le tecniche non invasive che consentono gli screening senza accedere direttamente ai tessuti placentari o fetali, ma utilizzando un campione di sangue materno.

Il plasma materno della donna in gravidanza contiene il DNA del feto che arriva da cellule placentari (fetali). La analisi del DNA fetale si aggiunge alle analisi sul DNA materno consentendo così di indagare in modo non invasivo le maggiori cause delle anomalie congenite.

Il nostro centro ha seguito oltre 2000 pazienti nelle indagini sul DNA fetale nel sangue materno avvalendosi sempre dei test all'avanguardia nello sviluppo scientifico che la tecnologia ha rapidamente attuato.

DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO: ANALISICROMOSOMICA DELLE TRISOMIE E CARIOTIPO MOLECOLARE

Il test sul DNA fetale nel plasma materno indaga le anomalie cromosomiche più frequenti (trisomie 13, 18, 21 che già rientrano in linee guida ufficiali) e può ampliarsi al cariotipo intero su tutti i cromosomi.

La analisi non invasiva del DNA fetale ha una accuratezza attorno al 99%.

E' test di screening non statistico, è un esame diretto sul DNA, con diversi gradi di accuratezza; non è test diagnostico; il DNA fetale è mescolato a quello materno quindi in caso di anomalia riscontrata è bene un controllo con amniocentesi. La metodologia complessa, la presenza di DNA materno nel campione e discordanze feto-placentari possono essere causa di falsi positivi e falsi negativi.

Presso il nostro centro il test comprende il colloquio introduttivo col genetista che fornirà tutta la documentazione utile per la scelta personalizzata. Ogni analisi aggiuntiva che si renda necessaria è gratuita.

Altre info: www.plurigenest.it

MALATTIE GENETICHE: ANALISI DEL DNA MATERNO PER LE FREQUENTI MALATTIE EREDITARIE

Il prelievo di sangue materno consente anche di individuare nei genitori i casi di portatore sano di malattie genetiche molto frequenti e gravi, per le quali esiste la possibilità che il feto sia affetto. La diagnosi di portatore sano consente di pianificare la eventuale indagine fetale con villocentesi o amniocentesi.

Fibrosi Cistica (CF)

La Fibrosi Cistica è una malattia ereditaria caratterizzata dalla produzione di muco particolarmente denso, viscoso, che tende ad ostruire i bronchi ed i dotti del pancreas. La frequenza dei portatori sani è di circa 1 su 25. L'incidenza della malattia è di circa 1 su 2.500 nati vivi. La malattia si manifesta per lo più entro i primi anni di vita, danneggiando l'apparato respiratorio (con presenza di tosse persistente, bronchiti ricorrenti, sinusite, poliposi nasale) e disturbi digestivi (con difficoltà nella crescita). Allo stato attuale non si ottiene la guarigione e la durata media della vita è ridotta rispetto a quella della popolazione generale.

Atrofia Muscolare Spinale (SMA)

Le atrofie muscolari spinali (SMA) sono un gruppo di malattie ereditarie in cui vengono colpite le cellule nervose dei nervi diretti ai muscoli. I sintomi delle SMA si manifestano pertanto a livello dei muscoli volontari. I primi sintomi comprendono debolezza muscolare nei muscoli motori. Nei casi più gravi rende difficile la respirazione. I sensi e le percezioni sono normali, così come lo è l'attività intellettuale. La malattia ha un'incidenza di 1 su 10000 nati vivi e la frequenza dei portatori è di circa 1 su 50.

Sindrome X fragile (Sindrome di Martin Bell)

La sindrome della X fragile costituisce la forma più frequente di ritardo mentale ereditario. E' causata da una mutazione del gene FMR1 sul cromosoma X (mutazione FRAXA). Si ritiene che la prevalenza delle donne portatrici di premutazione nella popolazione generale sia pari a circa 1:260. Il ritardo mentale correlato con mutazioni del gene FMR1 nei maschi affetti è solitamente di grado medio o grave, nelle donne affette è solitamente di grado lieve.

Sordità congenita di tipo neurosensoriale bilaterale profondo

(mutazione 35delG nel gene GJB2 (connessina 26) e principale delezione nel gene GJB6 (connessina 30)). Le ipoacusie interessano circa il 4% della popolazione di età inferiore ai 45 anni e comprendono un vasto spettro di manifestazioni cliniche. Oltre il 60% delle sordità è di origine genetica, la rimanente parte è dovuta a cause di natura ambientale (infezioni durante la gravidanza, traumi, farmaci, etc.). La frequenza della mutazione 35delG in Italia è elevata (1/35 individui).

PluriGenTEST™

Harmony™
PRENATAL TEST

Roche

PrenatalSafe®

MD GENOMA

MALATTIE GENETICHE

La **Fibrosi Cistica** è una malattia comune in quanto interessa 1:2500 sia maschi che femmine, in genere è grave, presente dalla nascita. Si eredita dai genitori che sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani. A subire il maggiore danno sono i bronchi e i polmoni dove il muco tende a ristagnare, generando infezione e infiammazione che, nel tempo, portano all'insufficienza respiratoria. I danni coinvolgono anche il pancreas, l'intestino, il fegato. Severità e tipo di sintomi possono variare da persona a persona. La aspettativa mediana di vita è di 40 anni, cioè metà dei malati sopravvivono ai 40 anni.

In Italia c'è un portatore sano ogni 25 persone circa. Due portatori sani, a ogni gravidanza, hanno una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

L'**Atrofia Muscolare Spinale (SMA)** è una patologia neuromuscolare caratterizzata dalla progressiva morte delle cellule nervose del midollo spinale che impartiscono ai muscoli il comando di movimento; è molto invalidante e con aspettative di vita ridotte. La SMA colpisce circa 1:10.000 nati e costituisce la più comune causa genetica di morte infantile. Padre e

madre sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani e hanno il 25% di probabilità di trasmettere la malattia a ciascuno dei figli.

In Italia c'è un portatore sano ogni 50 persone circa. La coppia di portatori sani, a ogni gravidanza, ha una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

La **Sindrome X fragile (FRAX)** o Martin Bell è la forma più comune di ritardo mentale dopo la sindrome di Down, in quanto interessa 1:1250 maschi e 1:2000 femmine.

Si tratta di una malattia ereditaria causata dall'alterazione di un gene situato nel cromosoma X (ripetizioni basi CGG) solitamente della mamma che può essere trasmessa al feto.

I sintomi principali sono ritardo mentale medio (IQ fra 20 e 70) a volte con comportamento autistico,

La mamma può avere la pre-mutazione quindi essere portatrice sana e causare la malattia nel feto.

La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

PluriGenTEST™

 **MEDI SALUSER**
CENTRO MEDICO DIAGNOSTICO



SCREENING GENETICA PRENATALE

NIPT-DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO

TRISOMIE 21, 18, 13
CARIOTIPO (*)

MALATTIE GENETICHE

FIBROSI CISTICA
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE
(SMA)
RITARDO MENTALE FRAXA



INFO 2018

ANALISI CROMOSOMICA SU DNA FETALE IN SANGUE MATERNO - NIPT

Trisomia 21 Trisomia 13 Trisomia 18
Sesso fetale
Anomalie X/Y
Test Genomico Carlo

La diagnosi prenatale è una disciplina che vede l'impegno di vari specialisti di cui Medi Saluser può vantare un pool ampio e qualificato.

Un prelievo di sangue della gestante, a partire dalla decima settimana, permette di valutare il rischio di anomalie cromosomiche nel feto quali la trisomia 21, causa della sindrome di Down, la trisomia 13 causa della sindrome di Patau, la trisomia 18, responsabile della sindrome di Edwards, e il sesso fetale.

Queste tre anomalie raccolgono il 60% di quelle più frequenti che possono essere indagate senza tecniche invasive.

I nostri test rispondono alle Linee Guida del Ministero della Salute e della Società Italiana di Genetica Umana che hanno validato le metodologie di indagine delle aziende che applicano il sequenziamento del DNA, cioè la sua lettura.

*) Specialmente in caso di rischi genetici noti e anomalie ecografiche lo screening delle anomalie cromosomiche si può estendere a tutti i cromosomi ottenendo il cariotipo molecolare.

La accuratezza di queste analisi supera il 99% con valore predittivo positivo superiore al 70% (il test combinato ha il 3,3%).

Ogni campione viene valutato per la quantità di DNA fetale presente, nel raro caso la quantità non sia sufficiente si va alla ripetizione gratuita del prelievo (al Medi Saluser è inferiore allo 0,5%).

Il test sul Dna fetale nel plasma materno è quindi di altissima qualità, e la accuratezza è elevatissima, assai superiore al test combinato (translucenza nucale+bi-test).

Il test non è diagnostico in quanto il campione è un mix del DNA materno e fetale. Per questo non sostituisce l'analisi del cariotipo da amniocentesi e villocentesi.

La accuratezza del test si rafforza con la esecuzione della ecografia per la translucenza nucale e della ecografia premorfologica, riducendo così la frequenza di falsi negativi.

Metodiche: L'alta accuratezza e la certificazione ministeriale si ottengono con la lettura del DNA per sequenziamento (almeno 2000 letture).

HARMONY (Ariosa) elabora 2000 letture del DNA fetale con tecnica a.CGH. Ora è di proprietà Roche, focalizza le trisomie principali 21, 18, 13 e, opzionali, le aneuploidie X e Y. Definisce la frazione fetale.



PRENATALSAFE (Genoma, Roma) Elabora da 20000 a 60000 letture del DNA fetale con tecnica di sequenziamento totale del DNA fetale. Studia le trisomie principali 21, 18, 13 e, opzionali, le aneuploidie X e Y. Prenatalsafe Keryo analizza tutto il genoma (dup/del superiori



MALATTIE GENETICHE

La **Fibrosi Cistica** è una malattia comune in quanto interessa 1:2500 sia maschi che femmine. In genere è grave, presente dalla nascita. Si eredita dai genitori che sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani. A subire il maggiore danno sono i bronchi e i polmoni dove il muco tende a ristagnare, generando infezione e infiammazione che, nel tempo, portano all'insufficienza respiratoria. I danni coinvolgono anche il pancreas, l'intestino, il fegato. Severità e tipo di sintomi possono variare da persona a persona. La aspettativa mediana di vita è di 40 anni, cioè metà dei malati sopravvivono ai 40 anni.

In Italia c'è un portatore sano ogni 25 persone circa. Due portatori sani, a ogni gravidanza, hanno una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

L'**Atrofia Muscolare Spinale (SMA)** è una patologia neuromuscolare caratterizzata dalla progressiva morte delle cellule nervose del midollo spinale che impartiscono ai muscoli il comando di movimento; è molto invalidante e con aspettative di vita ridotte. La SMA colpisce circa 1:10.000 nati e costituisce la più comune causa genetica di morte infantile. Padre e

madre sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani e hanno il 25% di probabilità di trasmettere la malattia a ciascuno dei figli.

In Italia c'è un portatore sano ogni 50 persone circa. La coppia di portatori sani, a ogni gravidanza, ha una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

La **Sindrome X fragile (FRAX)** o Martin Bell è la forma più comune di ritardo mentale dopo la sindrome di Down, in quanto interessa 1:1250 maschi e 1:2000 femmine.

Si tratta di una malattia ereditaria causata dall'alterazione di un gene situato nel cromosoma X (ripetizioni basi CGG) solitamente della mamma che può essere trasmessa al feto.

I sintomi principali sono ritardo mentale medio (IQ fra 20 e 70) a volte con comportamento autistico.

La mamma può avere la pre-mutazione quindi essere portatrice sana e causare la malattia nel feto.

La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

PluriGenTEST™

 **MEDI SALUSER**
CENTRO MEDICO DIAGNOSTICO



SCREENING GENETICA PRENATALE

NIPT - DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO

TRISOMIE 21, 18, 13
(SESSO E FRAZIONE FETALE)
(*) CARIOTIPO

MALATTIE GENETICHE

FIBROSI CISTICA
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE
(SMA)
RITARDO MENTALE FRAXA

ANALISI CROMOSOMICA SU DNA FETALE IN SANGUE MATERNO - NIPT

L'alta accuratezza (LLGG ministeriali) si ottiene con la lettura del DNA per sequenziamento (almeno 2000 letture) e il calcolo della frazione di DNA fetale.

Trisomia 21 Trisomia 13 Trisomia 18
Sesso fetale
Anomalie X/Y
Test Genomico Cario

La diagnosi prenatale è una disciplina che vede l'impegno di vari specialisti di cui Medi Saluser può vantare un pool ampio e qualificato.

Un prelievo di sangue della gestante, a partire dalla decima settimana, permette di valutare il rischio di anomalie cromosomiche nel feto quali la trisomia 21, causa della sindrome di Down, la trisomia 13 causa della sindrome di Patau, la trisomia 18, responsabile della sindrome di Edwards, e il sesso fetale.

Queste tre anomalie raccolgono il 60% di quelle più frequenti che possono essere indagate senza tecniche invasive.

I nostri test rispondono alle Linee Guida del Ministero della Salute e della Società Italiana di Genetica Umana che raccomandano il sequenziamento del DNA, cioè la sua lettura e il calcolo della frazione fetale di DNA.

*) Specialmente in caso di rischi genetici noti e anomalie ecografiche lo screening delle anomalie cromosomiche si può estendere a tutti i cromosomi ottenendo il cariotipo molecolare.

La accuratezza di queste analisi supera il 99% con valore predittivo positivo superiore al 70% (il test combinato ha il 3,3%).

Ogni campione viene valutato per la quantità di DNA fetale presente, nel raro caso la quantità non sia sufficiente si va alla ripetizione gratuita del prelievo (al Medi Saluser è inferiore allo 0,5%).

Il test sul Dna fetale nel plasma materno è quindi di altissima qualità, e la accuratezza è elevatissima, assai superiore al test combinato (translucenza nucale+bi-test).

Il test non è diagnostico in quanto il campione è un mix del DNA materno e fetale. Per questo non sostituisce l'analisi del cariotipo da amniocentesi e villocentesi.

La accuratezza del test si rafforza con la esecuzione della ecografia per la translucenza nucale e della ecografia premorfologica, riducendo così la frequenza di falsi negativi.

Metodiche: L'alta accuratezza (LLGG ministeriali) si ottiene con la lettura del DNA per sequenziamento (almeno 2000 letture) e il calcolo della frazione di DNA fetale.

HARMONY (Ariosa) elabora 2000 letture del DNA fetale con tecnica a.CGH. Ora è di proprietà Roche, focalizza le trisomie principali 21, 18, 13 e, opzionali, le aneuploidie X e Y. Definisce la frazione fetale.



PRENATALSAFE (Genoma, Roma) Elabora da 20000 a 60000 letture del DNA fetale con tecnica di sequenziamento totale del DNA fetale. Studia le trisomie principali 21, 18, 13 e, opzionali, le aneuploidie X e Y. Prenatalsafe Karyo analizza tutto il genoma (dup/del superiori a 10Mb). Definisce la frazione fetale.



MALATTIE GENETICHE

La Fibrosi Cistica è una malattia comune in quanto interessa 1:2500 sia maschi che femmine, in genere è grave, presente dalla nascita. Si eredita dai genitori che sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani. A subire il maggiore danno sono i bronchi e i polmoni dove il muco tende a ristagnare, generando infezione e infiammazione che, nel tempo, portano all'insufficienza respiratoria. I danni coinvolgono anche il pancreas, l'intestino, il fegato. Severità e tipo di sintomi possono variare da persona a persona. La aspettativa mediana di vita è di 40 anni, cioè metà dei malati sopravvivono ai 40 anni.

In Italia c'è un portatore sano ogni 25 persone circa. Due portatori sani, a ogni gravidanza, hanno una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

L'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) è una patologia neuromuscolare caratterizzata dalla progressiva morte delle cellule nervose del midollo spinale che impartiscono ai muscoli il comando di movimento; è molto invalidante e con aspettative di vita ridotte. La SMA colpisce circa 1:10.000 nati e costituisce la più comune causa genetica di morte infantile. Padre e

madre sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani e hanno il 25% di probabilità di trasmettere la malattia a ciascuno dei figli.

In Italia c'è un portatore sano ogni 50 persone circa. La coppia di portatori sani, a ogni gravidanza, ha una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

La Sindrome X fragile (FRAX) o Martin Bell è la forma più comune di ritardo mentale dopo la sindrome di Down, in quanto interessa 1:1250 maschi e 1:2000 femmine.

Si tratta di una malattia ereditaria causata dall'alterazione di un gene situato nel cromosoma X (ripetizioni basi CGG) solitamente della mamma che può essere trasmessa al feto.

I sintomi principali sono ritardo mentale medio (IQ fra 20 e 70) a volte con comportamento autistico.

La mamma può avere la pre-mutazione quindi essere portatrice sana e causare la malattia nel feto.

La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

PluriGenTEST™



SCREENING GENETICA PRENATALE

NIPT - DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO

TRISOMIE 21, 18, 13, SESSO
CARIOTIPO

MALATTIE GENETICHE

FIBROSI CISTICA
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE
(SMA)
RITARDO MENTALE FRAXA



INFO 2022

ANALISI CROMOSOMICA SU DNA FETALE IN SANGUE MATERNO - NIPT

Trisomia 21 Trisomia 13 Trisomia 18

Sesso fetale

Cariotipo molecolare (analisi del numero e struttura di tutti i cromosomi)

La diagnosi genetica prenatale è una disciplina che vede l'impegno di vari specialisti di cui Medi Saluser può vantare un pool ampio e qualificato.

Un prelievo di sangue della gestante, a partire dalla decima settimana, permette di valutare il rischio di anomalie cromosomiche nel feto quali la **trisomia 21**, causa della sindrome di Down, la **trisomia 13** causa della sindrome di Patau, la **trisomia 18**, responsabile della sindrome di Edwards, e il sesso fetale.

Queste tre anomalie raccolgono il 60% di quelle più frequenti che possono essere indagate senza tecniche invasive. La accuratezza di queste analisi supera il 99% con valore predittivo positivo fra 80 e 99% (il test combinato ha il 3,3%). Se necessario l'indagine si amplia con la analisi completa del cariotipo, cioè tutti i cromosomi nel loro numero e struttura, delezioni e duplicazioni del DNA.

La accuratezza della analisi delle anomalie di

struttura supera il 99% con valore predittivo positivo superiore al 60% (il test combinato ha il 3,3%).

I nostri test rispondono alle Linee Guida del Ministero della Salute e della Società Italiana di Genetica Umana che raccomandano il sequenziamento del DNA con almeno 8 milioni di letture e il calcolo della frazione fetale di DNA.

Ogni campione viene valutato per la quantità di DNA fetale presente, nel raro caso la quantità non sia sufficiente si va alla ripetizione gratuita del prelievo (al Medi Saluser è inferiore allo 0,5%).

Il test sul Dna fetale nel plasma materno è quindi di altissima qualità, e la accuratezza è elevatissima, assai superiore al test combinato (translucenza nucale+bi-test).

Il test non è diagnostico in quanto il campione è un mix del DNA materno e fetale. Per questo non sostituisce l'analisi del cariotipo da amniocentesi e villocentesi.

La accuratezza del test si rafforza con la esecuzione della ecografia per la translucenza nucale e della ecografia premorfologica, riducendo così la frequenza di falsi negativi.



Il cariotipo completo con in evidenza i cromosomi 13, 18, 21. La prevalenza delle trisomie 13,21,18 è 3/1000 nati, delle anomalie di tutto il cariotipo è 5/1000 nati

Casi di Anomalie Cromosomiche	No. gravidanzai ED	Validazione clinica	NIPT DNA Sangue materno			Prevalence of Live-Born Children (10,000)	
			TP	FP	FN	Accuratezza	Accuratezza
Totale	4,4						
13,18,21	3,3	Casi > 70000	99,9	99,9	99,9	99,9	99,96-99,97
XXXXXXYYXX	0,8	Casi > 70000	99,9	99,9	100	100	100
Anomalie > 10000	0,4	Casi > 70000	99,9	99,9	100	100	100



Accuratezza della analisi cromosomica su DNA fetale in sangue materno: trisomie, cariotipo su tutti i cromosomi. La accuratezza è uguale alla analisi diretta sui villi coriali (villocentesi) e leggermente inferiore al liquido amniotico (amniocentesi) poiché DNA fetale e villo usano tessuto placentare mentre amniocentesi usa cellule fetali.

MALATTIE GENETICHE

La Fibrosi Cistica è una malattia comune in quanto interessa 1:2500 sia maschi che femmine, in genere è grave, presente dalla nascita. Si eredita dai genitori che sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani. A subire il maggiore danno sono i bronchi e i polmoni dove il muco tende a ristagnare, generando infezione e infiammazione che, nel tempo, portano all'insufficienza respiratoria. I danni coinvolgono anche il pancreas, l'intestino, il fegato. Severità e tipo di sintomi possono variare da persona a persona. La aspettativa mediana di vita è di 40 anni, cioè metà dei malati sopravvivono ai 40 anni.

In Italia c'è un portatore sano ogni 25 persone circa. Due portatori sani, a ogni gravidanza, hanno una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

L'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) è una patologia neuromuscolare caratterizzata dalla progressiva morte delle cellule nervose del midollo spinale che impartiscono ai muscoli il comando di movimento; è molto invalidante e con aspettative di vita ridotte. La SMA colpisce circa 1:10.000 nati e costituisce la più comune causa genetica di morte infantile. Padre e

madre sono, quasi sempre senza saperlo, portatori sani e hanno il 25% di probabilità di trasmettere la malattia a ciascuno dei figli.

In Italia c'è un portatore sano ogni 50 persone circa. La coppia di portatori sani, a ogni gravidanza, ha una probabilità su quattro di avere un figlio malato. La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

La Sindrome X fragile (FRAX) o Martin Bell è la forma più comune di ritardo mentale dopo la sindrome di Down, in quanto interessa 1:1250 maschi e 1:2000 femmine.

Si tratta di una malattia ereditaria causata dall'alterazione di un gene situato nel cromosoma X (ripetizioni basi CGG) solitamente della mamma che può essere trasmessa al feto.

I sintomi principali sono ritardo mentale medio (IQ fra 20 e 70) a volte con comportamento autistico,

La mamma può avere la pre-mutazione quindi essere portatrice sana e causare la malattia nel feto.

La analisi fetale si esegue con prelievo di villi coriali o liquido amniotico.

PluriGenTEST™

 **MEDI SALUSER**
CENTRO MEDICO DIAGNOSTICO



SCREENING GENETICA PRENATALE

NIPT - DNA FETALE NEL PLASMA MATERNO

TRISOMIE 21, 18, 13, sesso
CARIOTIPO

MALATTIE GENETICHE

FIBROSI CISTICA
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE
(SMA)
RITARDO MENTALE FRAXA

GENESCREEN



INFO 2024

ANALISI CROMOSOMICA SU DNA FETALE IN SANGUE MATERNO - NIPT

Trisomia 21 Trisomia 13 Trisomia 18

Sesso fetale

Cariotipo molecolare (analisi del numero e struttura di tutti i cromosomi)

La diagnosi genetica prenatale è una disciplina che vede l'impegno di vari specialisti qualificati del Centro Medi Saluser.

Un prelievo di sangue della gestante, a partire dalla decima settimana di gravidanza, permette di analizzare tutti i 46 cromosomi (Cariotipo Molecolare) del feto e valutare il rischio di anomalie cromosomiche quali la **trisomia 21**, causa della sindrome di Down, la **trisomia 13** causa della sindrome di Patau, la **trisomia 18**, responsabile della sindrome di Edwards, il sesso fetale e tutte le anomalie degli altri cromosomi (X,Y,delezioni e duplicazioni).

Queste analisi si pongono gli stessi obiettivi delle analisi eseguite con tecniche invasive.

La accuratezza di queste analisi supera il 99% con valore predittivo positivo fra 80 e 99%.

I nostri test rispondono alle Linee Guida del Ministero della Salute e della Società Italiana di Genetica Umana che raccomandano il

sequenziamento del DNA con almeno 8 milioni di letture e il calcolo della frazione fetale di DNA.

Il test PRENATALEASY - PRENATASAFE si basa sulla validata tecnica Illumina-Veriseq2 di sequenziamento completo del genoma con tecniche di nuova generazione (NGS) implementata da un algoritmo supplementare per le Delezioni Cromosomiche e la Frazione Fetale.

Infatti ogni campione viene valutato per la quantità di DNA fetale presente, nel raro caso la quantità non sia sufficiente si va alla ripetizione gratuita del prelievo.

Il test PRENATALEASY - PRENATASAFE è l'unico ad essere stato confrontato con l'analisi del liquido amniotico (amniocentesi)

in termini di accuratezza su 72000 casi italiani consecutivi. I falsi positivi per tutte le anomalie cromosomiche (trisomie, cromosomi X e Y, delezioni) sono circa 1/5000 (si neutralizzano col controllo in amniocentesi), i falsi negativi circa 1/25000.

Questi dati diretti rendono trasparente l'accuratezza del test PRENATALEASY - PRENATASAFE.

Il test non è diagnostico in quanto il campione è un mix del DNA materno e fetale.

La accuratezza del test si rafforza con la esecuzione della ecografia per la translucenza nucale e della ecografia premorfologica, riducendo così la frequenza di falsi negativi.

T21,18,13	Falsi + 12	Falsi - 3	72000
Geni X e Y	Falsi + 17	Falsi - 1	72000
Delezioni	Falsi + 16	Falsi - 1	72000

Falsi positivi = anomalie che non c'è
Falsi negativi = tutto bene ma non è vero

Gruppo di lavoro Conuni-2015

Accuratezza della analisi cromosomica su DNA fetale in sangue materno: trisomie, cariotipo su tutti i cromosomi. La accuratezza è uguale alla analisi diretta sui villi coriali (villocentesi) e leggermente inferiore al liquido amniotico (amniocentesi) poiché DNA fetale e villo usano tessuto placentare mentre amniocentesi usa cellule fetali.

DIAGNOSI GENETICA PRENATALE NON INVASIVA
DNA FETALE LIBERO CIRCOLANTE IN SANGUE MATERNO cffNIPT

RICERCA E APPLICAZIONE CLINICA DAL 2013

RELAZIONI SU INVITO

CAM LABCO. Monza. Diagnosi Prenatale Non Invasiva. Corso ECM. Chairman. 22 settembre 2013.

Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese. Test Genetici: cosa fere? Diagnosi Prenatale non Invasiva. Corso ECM. Relatore. Varese 9 dicembre 2013.

CC Villa Serena Genova. Diagnostica Prenatale. Test su DNA fetale in sangue materno: tecnica, limiti, consulenza. Corso ECM. Relatore. 24 Gennaio 2014.

CAM LABCO. Monza. NIPT. DNA fetale nel plasma materno: dai trials alla clinica. NIPT on field: esperienza sul campo. Corso ECM. Relatore. Monza 31 Marzo 2014.

SIGU Riunione scientifica congiunta: NIPT, potenzialità, limiti e proiezione futura. Round Table, invited discussant. Roma 1 Aprile 2014.

Gynepro Educational. Stato Attuale NIPT. Metodiche a Contronto. Corso ECM. Aggiornamenti in Campo Riproduttivo e Prenatale. Bologna 16 maggio 2014.

RDI Limena, Padova. Diagnosi Prenatale Non Invasiva. Test NIPY: Harmony Test. Prevenzione Preconcezionale, Diagnostica Preditiva non invasiva. Padova, 29 maggio 2014.

Università di Parma. NIPT. Corso ECM. Nuove Prospettive in Diagnosi Prenatale. Parma. 4 giugno 2014.

Università di Padova - DIMED, Corso di Perfezionamento Nuove Tecnologie in Medicina Molecolare. Test su DNA fetale in sangue materno. Padova 6 Novembre 2014.

Università di Padova Dalla Coppia Infertile al Bambino in Braccio. Diagnosi su DNA fetale circolante. Padova 22 aprile 2015.

Università di Padova - DIMED, Corso di Perfezionamento Nuove Tecnologie in Medicina Molecolare. Test su DNA fetale in sangue materno. Padova 29 ottobre 2015.

CAM LABCO. Monza. NIPT La nuova generazione. NIPT on field, esperienza sul campo. Monza 17 marzo 2016.

CAM LABCO. Monza. NIPT La nuova generazione. NIPT on field, esperienza sul campo. Monza 10 Maggio 2016 (ECM)

FONDAZIONE SDN NAPOLI. Il Nuovo nella Diagnostica Prenatale e nella Prevenzione Femminile. NIPT on field, esperienza sul campo. Napoli 12 maggio 2016.

ROCHE ITALIA. Training aggiornamento su NIPT e Harmony test. Direzione Medical & Market Access. Monza 8 settembre 2016.

cfDNA INSIDE. PRIMA EDIZIONE 2017.
AGGIORNAMENTI 2020 - 2023

cffDNA inside

DNA fetale in plasma materno e Test Prenatali non Invasivi

Biologia, embriologia, genetica, test a confronto, epidemiologia, predittività, ontologia.

GENEADVISE SRL

Lamberto Camurri PhD

Centro Medico MediSaluser Parma, Mendel Genetica Medica Modena.

Fellow Genetica Medica Università Torvergata Roma

Francesca Camurri BS, Angela Godi Palmi



2017

cffDNA inside

Why?

NIPT: Non Invasive Prenatal Test

Birth
Defects



DIAGNOSTICI MUTAZIONI MENDELIANE

PluriGenTEST™

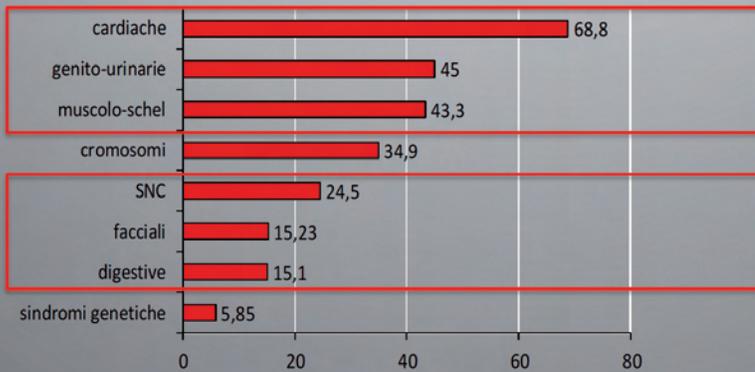


cffDNA inside

NIPT: Non Invasive Prenatal Test

DIAGNOSTICI ECOGRAFIA

Birth
Defects



cffDNA inside

NIPT: Non Invasive Prenatal Test

Birth
Defects

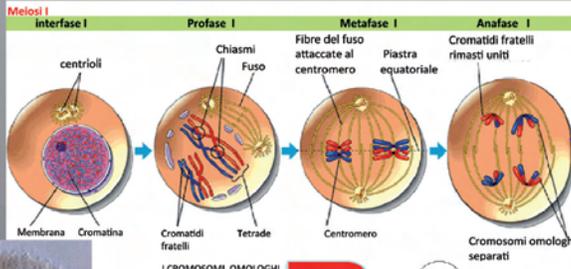
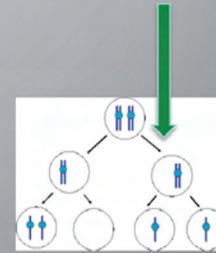
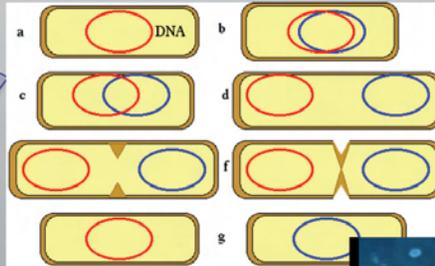


NON DIAGNOSTICI CROMOSOMI



cffDNA inside

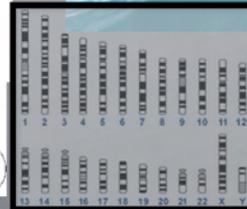
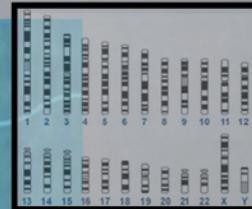
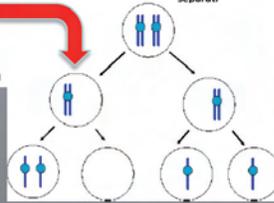
Fecondazione
E sviluppo
Embrionale
Divisione
Cellulare



I CROMOSOMI OMOLOGHI
SI APPAIANO E SI SCAMBIANO
DEI SEGMENTI
SNAPS - APPAIAMENTO
DEI CROMOSOMI OMOLOGHI
E FORMAZIONE DELLE TETRADE



Non disgiunzione



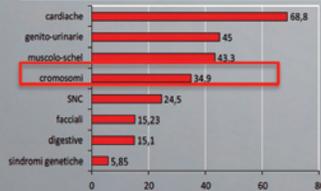
Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

cffDNA inside

NIPT: Non Invasive Prenatal Test

**Birth
Defects**

NON DIAGNOSTICI CROMOSOMI



TEST COMBINATO (NT + PAPP + β HCG)

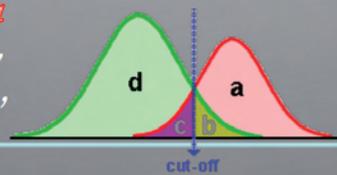
INDIRETTO

ELABORAZIONE STATISTICA DI PARAMETRI NON GENETICI

TEST DI SCREENING

MIGLIORA SENSIBILITA'

PEGGIORA SPECIFICITA'



	M+	M-
T+	a	b
T-	c	d

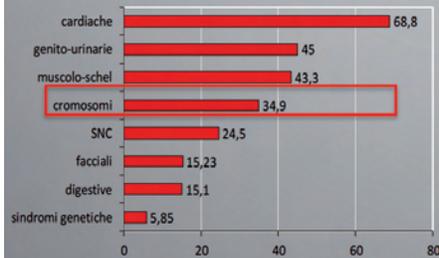
$$Se = a / (a+c)$$
$$Sp = d / (d+b)$$

cffDNA inside

NIPT: Non Invasive Prenatal Test

NON DIAGNOSTICI CROMOSOMI

**Birth
Defects**



TEST ANOMALIE CROMOSOMICHE cffDNA
TEST DIRETTO (non statistico)
MIGLIORA SENSIBILITA'
MIGLIORA SPECIFICITA'

Confronto fra NIPT DNA fetale e FTS screening primo trimestre

	<i>cffDNA</i>	<i>FTS</i>
<i>DETECTION RATE</i>	<i>36/36 (100%)</i>	<i>28/36 (77.8%)</i>
<i>FALSE POSITIVE RATE</i>	<i>9/15050 (0.06%)</i>	<i>818/15050 (5.4%)</i>



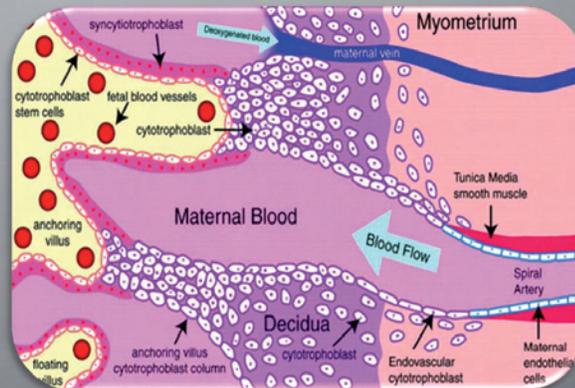
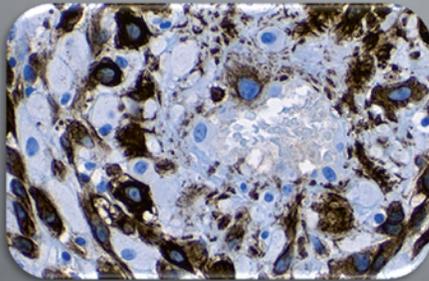
cffDNA inside



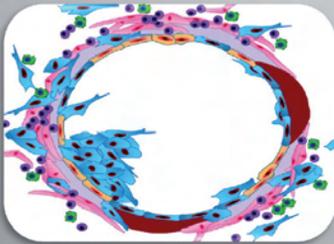
TEST ANOMALIE CROMOSOMICHE *cffDNA* **TEST DIRETTO**

*IL DNA FETALE LIBERO NEL PLASMA
ORIGINA DAL TROFOBLASTO
PLACENTARE*

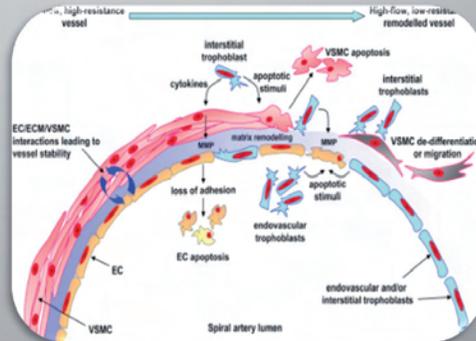
Placenta, miometrio, arterie spirali,
citotrofoblasto



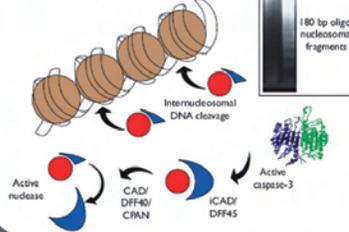
cffDNA inside



Rimodellamento, apoptosi competitiva,
frammenti DNA



DNA fragmentation



ACCACGAT
GGA
CTGG
CGATTTAACT
...ACCACGATTTAACTGGA...

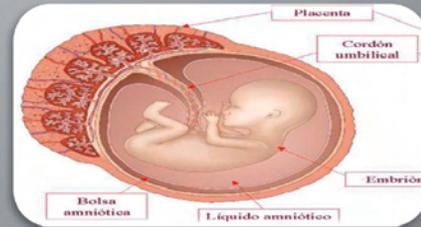
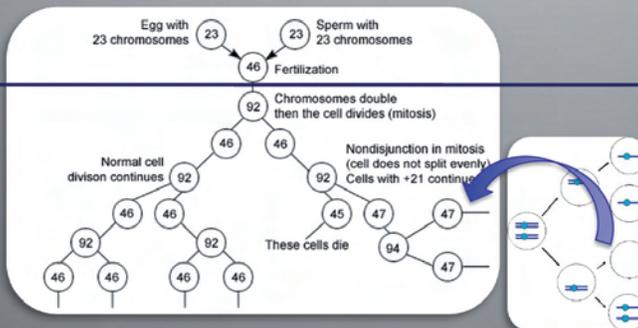
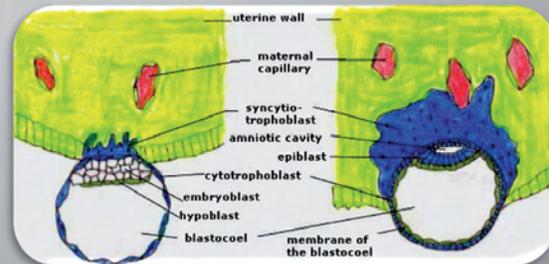
Frammenti di DNA
sequenziati

Genoma di riferimento

Placenta

Embriologia:

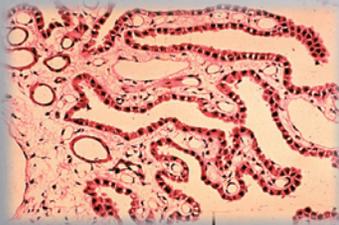
Alla 10^a giornata la placenta si separa dall'embrione: ha il genotipo del feto. Solo se una non disgiunzione cromosomica avviene dopo la separazione si crea discordanza feto-placentare.



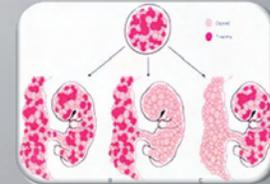
E' il limite di tutte le tecniche cromosomiche applicate alla placenta.

cffDNA inside

cytotrophoblast



DIAGNOSI



		Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13
CVS trophoblast	False positive rate/specificity	0.08%	0.06%	0.2%
62000 cases*	False negative Population rate	0.02%	0.01%	NS
	False negative/sensitivity	0.74%	1.59%	1.4%
cffDNA total 2013-2015	False positive rate/specificity	0.09%	0.13%	0.3%
	False negative Population rate	0.08%	0.06-0.12%	0.18-0.36%
	False neg. /detection rate	0.8%	3.7%	9%

Why?

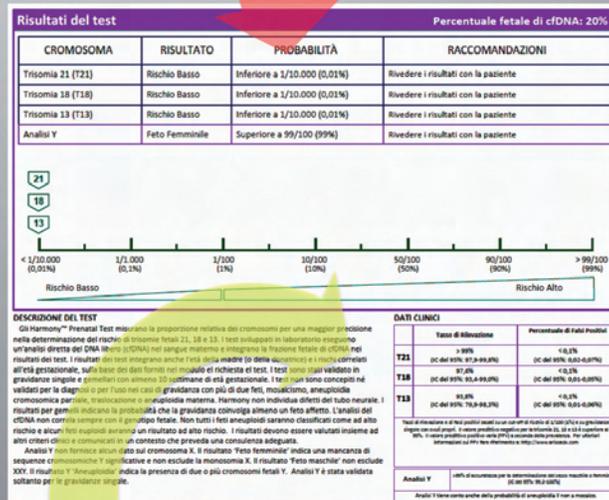


NON DIAGNOSI

cffDNA inside

Errata previsione di aneuploidia nel cffDNA ha doppia origine:

1. Non disgiunzione post divergenza feto - placentare: **sensibilità e specificità clinica.**
1. Caratteristiche del campione influenzano la NGS e l'elaborazione: **sensibilità e specificità del test**



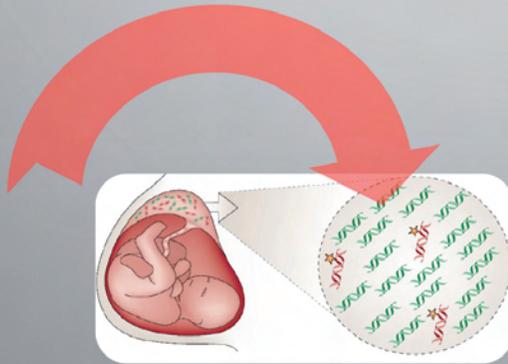
cffDNA inside



Le tecniche in uso analizzano il cfDNA totale, senza differenziare quello fetale da quello materno.

Trattandosi, di fatto, di **indagini basate su una commistione di DNA materno e placentare**, il test su cfDNA non è un test diagnostico

cffDNA inside



Le tecniche in uso analizzano il cfDNA totale, senza differenziare quello fetale da quello materno.

Trattandosi, di fatto, di **indagini basate su una commistione di DNA materno e placentare**, il test su cfDNA non è un test diagnostico

#21 fragments Test chromosome



Fetal cfDNA

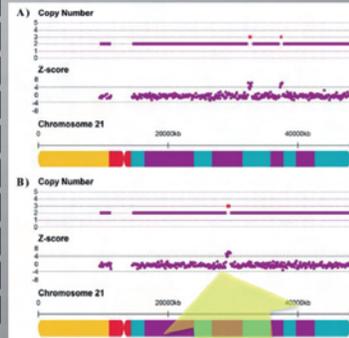


Figure 3. Detection of maternal copy number variations (CNVs)

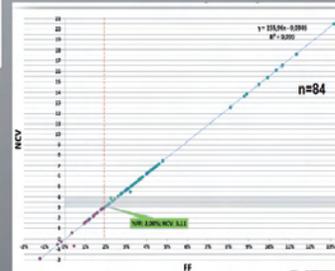
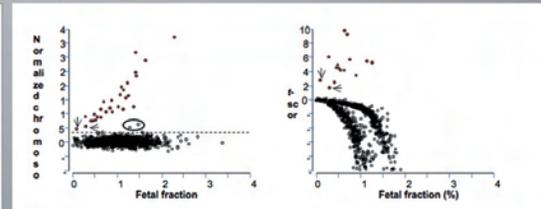
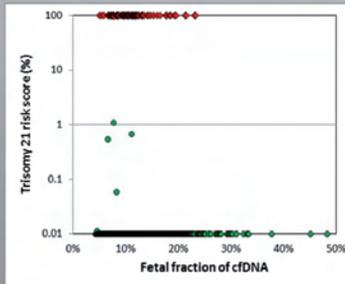


cffDNA inside



Il valore della FF viene.....non viene inserito nell'algoritmo

Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2%	1.01
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20



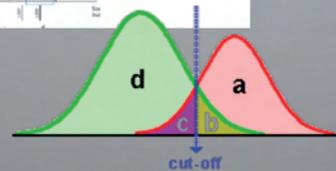
DNA fetale \leftrightarrow DNA materno.

Le tecniche in uso analizzano il cfDNA totale, senza separare quello fetale da quello materno.

Il calcolo della FF viene eseguito con SNP, X-CNV, #Y, DNA fragment size

cffDNA inside

		Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13
CVS trophoblast	False positive rate/specificity	0.08%	0.06%	0.2%
52000 cases*	False negative Population rate	0.02%		N/A
	False negative/sensitivity	0.74%	1.59%	0.74%
NIPT total 2013-2015	False positive rate/specificity	0.09%	0.13%	0.13%
	False negative Population rate	0.08%	0.08-0.12%	0.18-0.36%
	False neg. /detection rate	0.8%	3.7%	9%



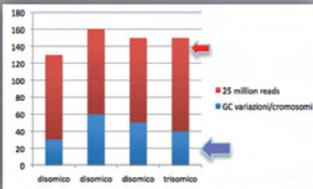
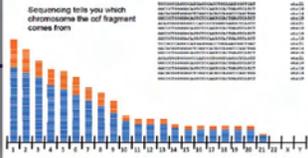
	M+	M-
T+	a	b
T-	c	d

$$Se = a / (a+c)$$

$$Sp = d / (d+b)$$

Ogni test sul DNA del citotrofoblasto ha una sensibilità e specificità (nel confronto placenta<>feto) clinica fissa. Il test su cffDNA aggiunge una sensibilità e specificità derivanti dal rapporto cffDNA/maternalDNA. Aumentando il cut off meno FP e più FN, viceversa diminuendolo.

Principles of Fetal Trisomy 21 Testing From a Maternal Blood Sample Using DNA Sequencing



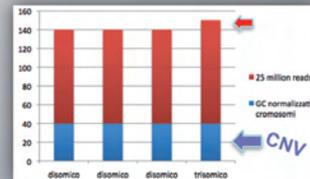
Metodologia

La cattura del DNA fetale: sequenziare il genoma

Coverage e profondità.

Il sequenziamento di nuova generazione NGS massivo completo del genoma umano può essere eseguito a diverse profondità di lettura. L'alta risoluzione prevede 60M (milioni) di letture, la media fra 15M e 30M, per individuare piccole aneuploidie o differenze di basi. Da 1M a 8M la risoluzione è più bassa per la ricerca di grosse smomalie numeriche.

Paired end sequencing e assenza di PCR rendono il sequenziamento più stabile e affidabile.



NO PCR



Highly Sensitive Analysis Workflow

Maintained accuracy, fetal fraction range estimate

Paired-end sequencing provides additional information

- Stronger alignment
- Fragment size

Used to improve analytical capability of the system and regain performance at higher multiplexing levels

More information | Maintained accuracy

Paired End Sequencing

More information, maintained accuracy

Fragment length

CGCTAGAAG GAAGTCGGC

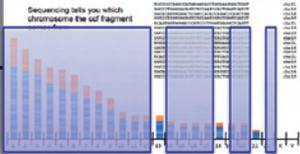
ATTTCGCGGATCTCCGGTCGACTGCAGACCTTCAGCGGCATATATCGCTAGCATACCGTTATAC

← Human Genome →

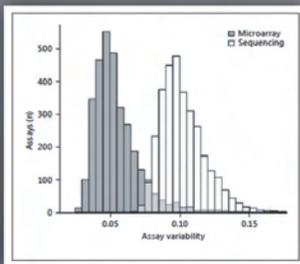
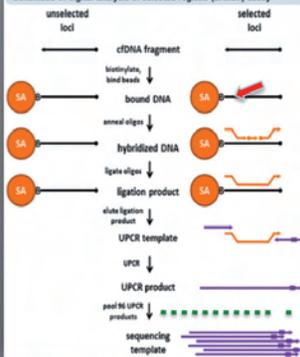
Alignment
80% accuracy
2 x 36 bp

Fragment Size
determination

Principles of Fetal Trisomy 21 Testing From a Maternal Blood Sample Using DNA Sequencing



Schematic of digital analysis of selected regions (DANSR) assay



Metodologia. La cattura del DNA fetale: sequenziare solo i cromosomi 21, 18, 13

Per identificare una trisomia 21 (o 13 o 18) è possibile selezionare i frammenti di DNA dei cromosomi, eliminando il resto del genoma.

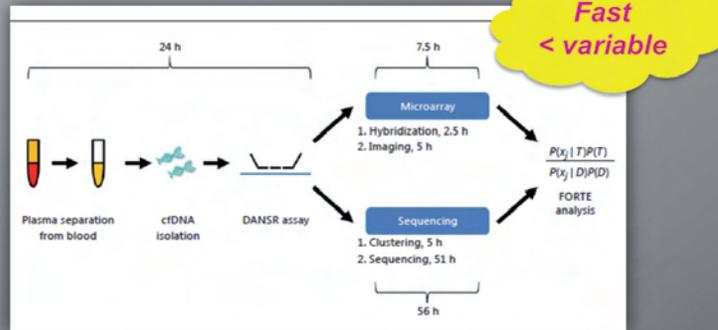
DANSR (*Ariosa Harmony*)

1. Sequencing: Eseguo il sequenziamento (*high multiplexed*) selettivo dei frammenti di DNA solo dei cromosomi 21, 18, 13 (*clustering, sequencing*).
2. Microarrays: Eseguo la analisi su piattaforma array (*hybridization, imaging*). Riduce la variabilità fra campioni.

La selezione dei frammenti avviene ibridando sonde fluorescenti a: **576 marcatori STR non polimorfici dei cromosomi (21, 18, 13)** per la ricerca delle trisomie **192 marcatori STR polimorfici di cromosomi fra 1 e 12** per definire la frazione fetale di ciascun campione.

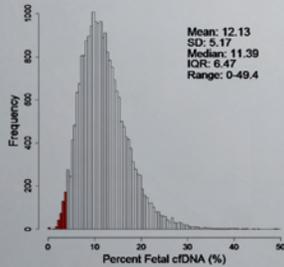
Solo i frammenti agganciati alle sonde fluorescenti verranno sequenziati per il dosaggio e la elaborazione.

La profondità di sequenziamento è bassa, 1M di letture per tre cromosomi, che equivale a 8M di Un whole genome sequencing



Metodologia.

La quantità del DNA fetale, frazione fetale



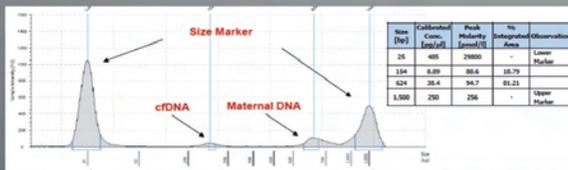
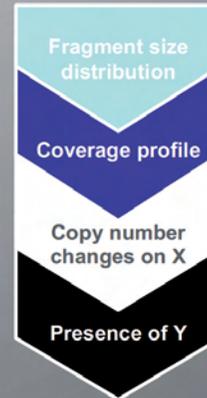
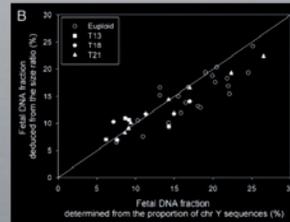
La frazione fetale minima di ciascun cromosoma per poter identificare una trisomia è il 4%. Con questa percentuale il rapporto di letture di sequenze fra un feto normale e uno trisomico è 1,02, che è il rapporto minimo per identificare la trisomia. I metodi si basano su polimorfismi SNP, dimensione dei frammenti di DNA, CNV, cromosoma Y.

SNP (DANSR)

ABRSJA5517	Maternal (buffy coat)	A/C	G/G	C/T	A/T	A/A	A/G	C/T	CC	A/C	A/G
	Fetal (cfDNA)					A/G			C/C		

Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2%	1.01
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20

Fragment size, #X CNV & #Y (Tscore)

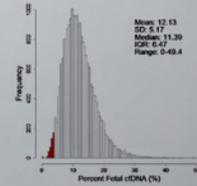


Metodologia.

La quantità del DNA fetale, frazione fetale

Fetal fraction and Expected ratio for trisomy

Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2%	1.01
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20



Fetal fraction and test failure

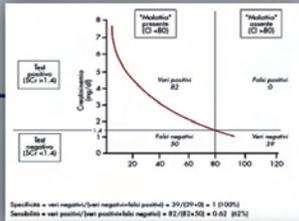
Cases	1300
Successful 1 st tier	1286
Successful 2nd tier	8
Low DNA	7
High variance	1
Double fail	4 outcome ok
Low DNA / FIV ovoid.	1
High variance / obese	2
No repeat	2
Go to cvs > karyo ok	1
IUD	1

Fetal fraction and gestation weeks

Mean weeks	12,34
Mean fetal fraction	11,5%



Metodologia. Calcolo della compatibilità con aneuploidie



Il test calcola il rapporto di verosimiglianza fra le probabilità che i campioni contenuti in una linea di sequenza siano disomici o trisomici: esempi

MPSS SAFeR (Illumina 2015)

Algoritmo per definire il valore soglia di possibile trisomia basato su: **One sample set**

- 1) ipotesi binaria positivo-negativo con t-Student (z-score) e Likelihood Odds Ratio (rapporto di verosimiglianza).
- 2) fattore di normalizzazione di sequenza CNV.
- 3) Variazioni di corsa fra le varie linee di sequenziamento corrette con un algoritmo z-score.
- 4) Definizione di un valore soglia per la trisomia (valore di z-score fra 3 e 4)

DANSR - FORTE (Ariosa Harmony) - 2013

Algoritmo per definire il valore soglia di rischio trisomia basato su: **Multiple sample set**

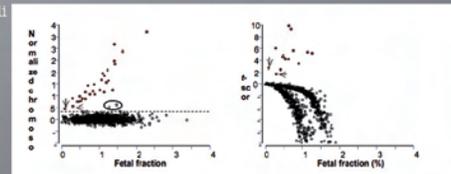
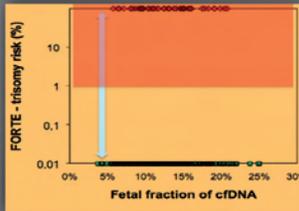
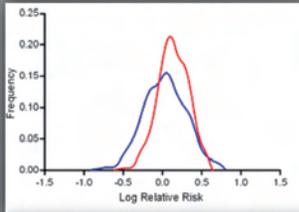
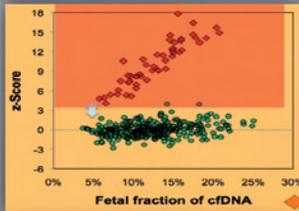
Il calcolo su campioni multipli è reso possibile dalle piccole dimensioni dei blocchi di lettura di sequenza (1 milione di reads) che consente l'analisi in una linea di sequenza di 96 campioni che vengono paragonati fra loro.

- 1) ipotesi percentuale con Odds ratio (rapporto di verosimiglianza) fra modelli disomico/trisomico, (curve normali di distribuzione)
- 2) Calcolo della frazione fetale
- 3) Montecarlo Simulation che inserisce anche età materna e epoca gestazionale nel calcolo dell'algoritmo FORTE.

T-SCORE (Labco Neobona/Illumina) - 2015

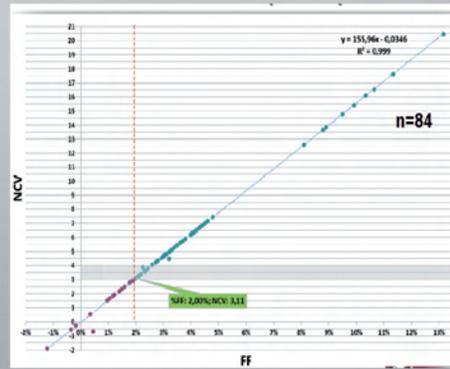
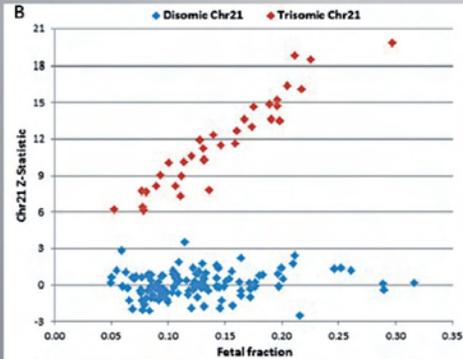
Algoritmo composto z-score like

- 1) Calcolo frazione fetale
- 2) Distribuzione frammenti per dimensione
- 3) Confronto batch-campioni / profondità di sequenza

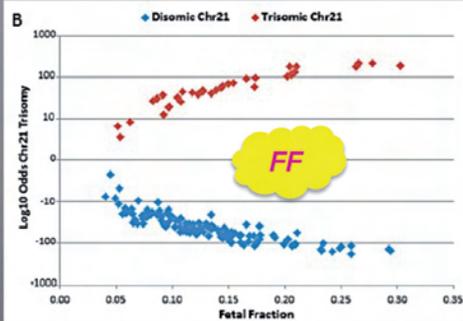


cffDNA inside

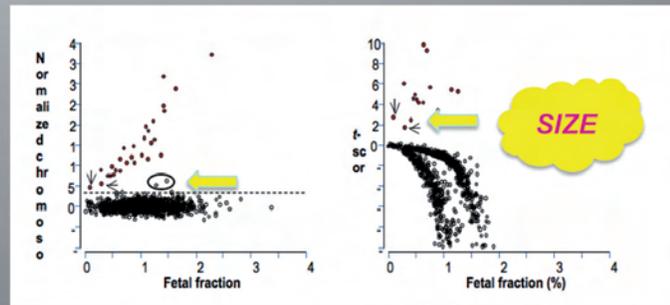
Calcolo della compatibilità con aneuploidie



Illumina
SAlFeR



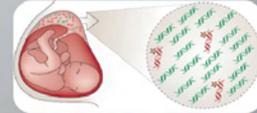
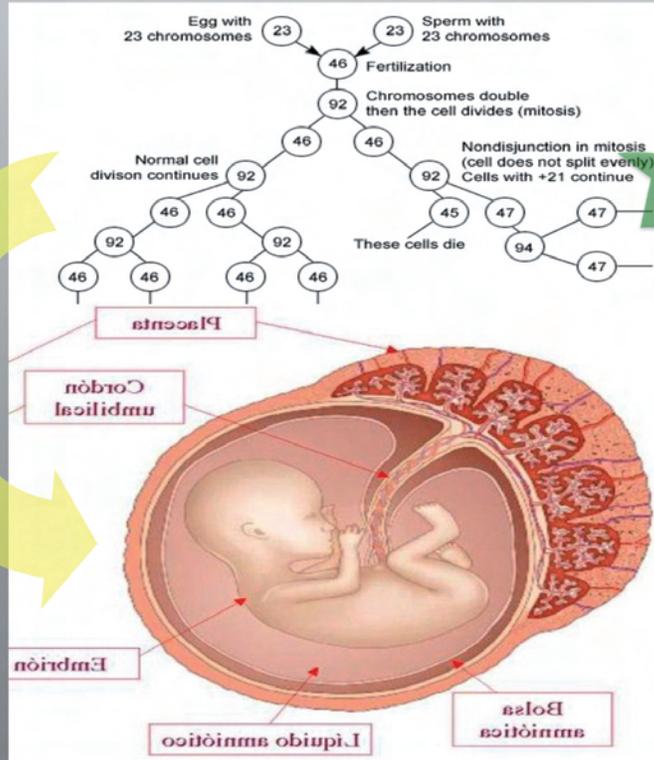
Ariosa FORTE



Illumina T-Score (NeoBona)

cffDNA inside

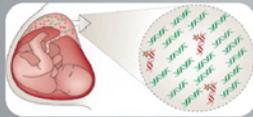
Limiti biologici, non disgiunzione tardiva



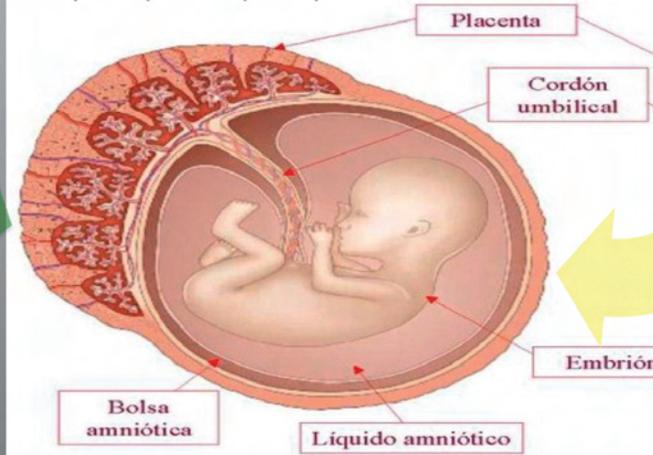
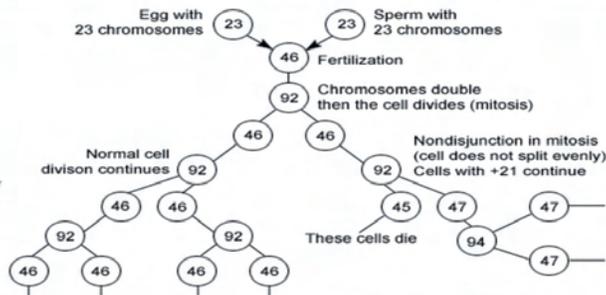
**FALSO
POSITIVO**

cffDNA inside

Limiti biologici, non disgiunzione tardiva

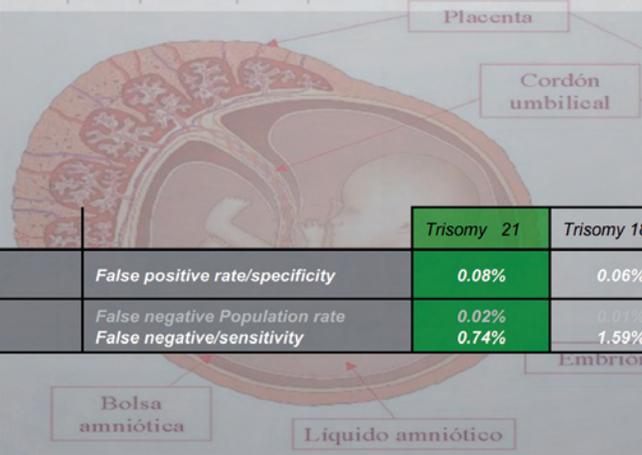
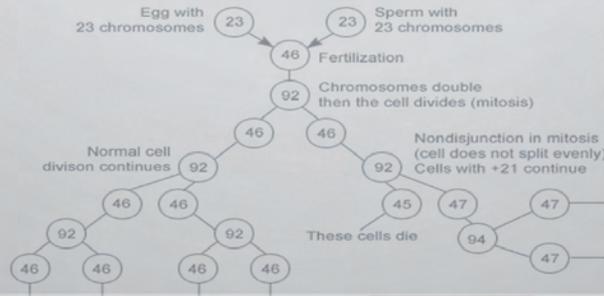


**FALSO
NEGATIVO**



cffDNA inside

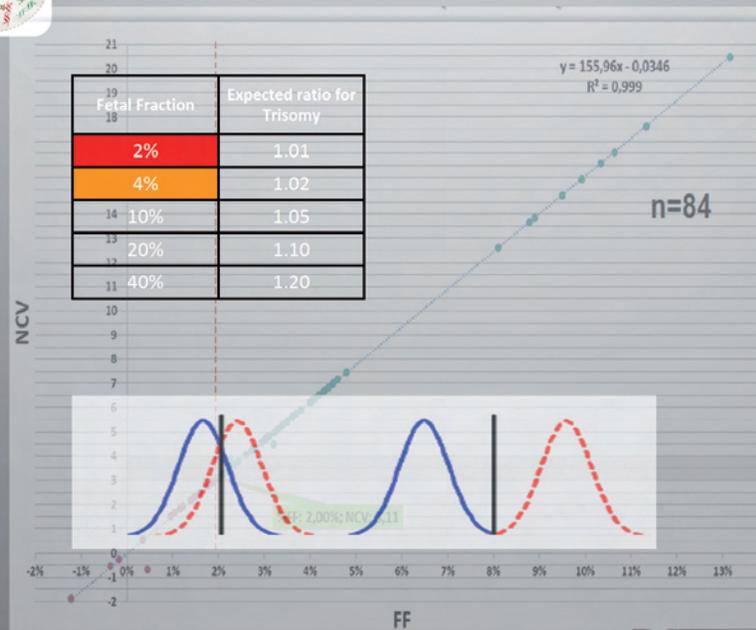
Limiti biologici, non disgiunzione tardiva



		Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13
CVS trophoblast	False positive rate/specificity	0.08%	0.06%	0.2%
62000 cases*	False negative Population rate	0.02%	0.01%	NS
	False negative/sensitivity	0.74%	1.59%	0.74%

cffDNA inside

Limiti tecnici: DNA fetale e materno, FF



cffDNA inside

Sensibilità e specificità generale

$S = \frac{V_+}{TM_+} = \frac{V_+}{(V_+ + F_-)}$	$S_p = \frac{V_-}{TS_+} = \frac{V_-}{(V_- + F_+)}$	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13	Whole genome* (11932 cases)
VILLI CORIALI trophoblast	False positive rate/specificity	0.08%	0.06%	0.2%	
52000 cases (Grati et al.2014)	False negative Population rate False negative/sensitivity	0.02% 0.74%	0.01% 1.59%	NS 0.74%	
NIPT total 2013-2015	False positive rate/specificity	0.09%	0.13%	0.13%	
(Gill et al.2015)	False negative Population rate False neg. /detection rate	0.08% 0.8%	0.06-0.12% 3.7%	0.18-0.36% 9%	
HARMONY study (Stokowski 2015)	False positive rate/specificity	0.04%	0.02%	0.02%	
23000 cases	False negative False negative Population rate	0.7% 0.03%	2.6% 0.02%	6.2% 0.01	
NEOBONA /Illumina (Cirigliano 2016)	False positive rate/specificity	0.03%	0	0.02%	
6000 cases	False negative/detection rt.	0	0	0	
PRENATALSAFE* (Fiorentino 2016)	False positive rate/specificity	0.02%	0.02%	0.02%	0.01%
31800 cases	False negative/detection rt False negative population rate	0.39% 0.03%	2.08% 0.03%	0	0
BGI Nifty (Zhang et al, 2015)	False positive rate/specificity	0.05%	0.05%	0.04%	
147000 cases	False negative/detection rt.	0.8%	1.76%	0.1%	

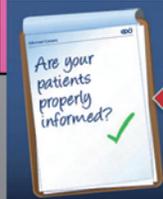
cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Sul campo !



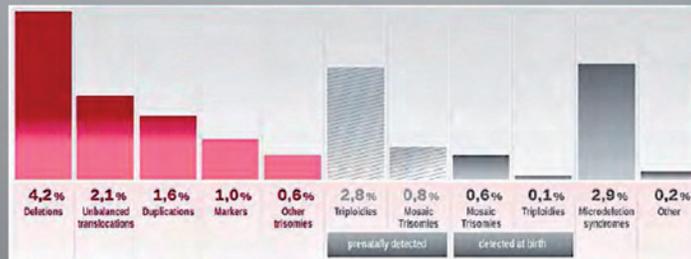
Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	% prevalence	% Anomalie Cromosomiche	Risk 1 in:
Totale	10323	4,4		
T21 T18 T13	7335	3,1	70 (48<77)	
X-Y trisomies	473	0,2	5	
45.X	778	0,33	8	
Anomalie cromosomiche rare	1737		17 (40<10)	



cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	‰ prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie cromosomiche rare	1737	0,7	17 (40<10)



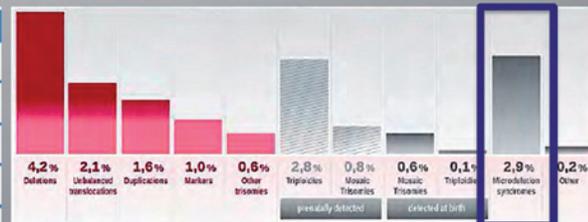
cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Microdeletion syndromes

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	‰o prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie strutturali (<10Mb)	1737	0,7	17 (40<10) 3

Sindromi da delezione
Cri du Chat(5p)
1p36
2q33.1
DiGeorge II(10p14)
16p12.2
Jacobsen(11q23)
Van der Woude(1q32.2)
Prader-Willi/Angelman (15q11.2)



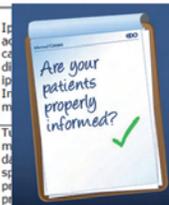
cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Microdeletion syndromes

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione	%o prevalence	% Anomalie Cromosomiche
REGIONE INDAGATA	SINDROME ASSOCIATA ALLA MICRODELEZIONE DELLA REGIONE INDAGATA	POPOLAZIONE GENERALE DELLA SINDROME (%AFFETTI CON LA MICRODELEZIONE)	SINOPSI DELLA SINDROME
crom	22q11.2	Sindrome di Di George-1 1/4.000 (95%)	Anomalie cardiache congenite (tetralogia di Fallot, arco aortico interrotto, difetto del setto ventricolare, tronco arterioso) (74%), anomalie del palato (69%), dimorfismi facciali tipici, difficoltà di apprendimento (70-90%), disordini autoimmuni, anomalie renali e scheletriche. In epoca prenatale è frequente il riscontro di anomalie cardiache e/o palatoschisi.
	10p14	Sindrome di Di George-2	Difetti cardiaci (del setto atriale e ventricolare), ipoparatiroidismo, immunodeficienza da cellule T e caratteristiche peculiari del volto
Ano	7q11.2	Sindrome di Williams-Beuren 1/7.500 (95%)	Stenosi aortica sopravvalvolare (>80%), ritardo mentale (75%) associato ad un carattere estremamente socievole ed estroverso, ritardo di crescita, invecchiamento precoce, compromissione all'emisfero destro con difficoltà visivo-spaziali e una dissociazione tra gli aspetti pragmatici, fonologici e sintattici del linguaggio.
15q11-q12	Sindrome di Prader-Willi	1/10.000 (70%)	Ipoadiposità, scarsa crescita, ritardo mentale, piedi piccoli, e una bassa statura.
	Sindrome di Angelmann	1/15.000 (70%)	Turberfazione da ritardo mentale, atassia e ballismo, lingua scissura, molti problemi di alimentazione, ipotonia alla nascita e microcefalia.

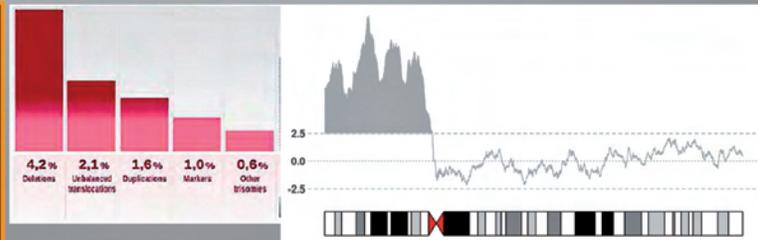
<10



cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	‰ prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie strutturali (>10Mb)	1737	0,7	17 (40<10) 10

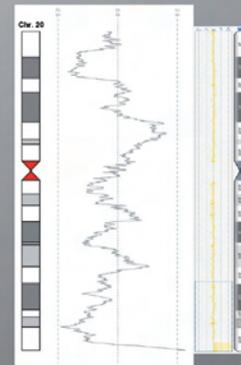
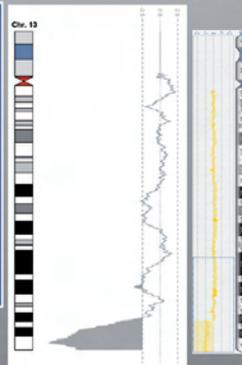
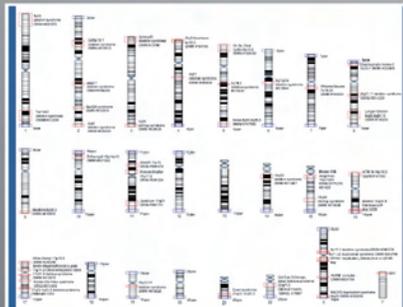


cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Whole genome amplification

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	‰ prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie strutturali (>10Mb)	1737	0,7	17 (40<10) 10



cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Whole genome amplification

Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU % prevalence	Analisi NIPT	Specificità	PPV	Sensibilità	NPV
Anomalie > 10Mb	0,4	tutto genoma	99.3-99.9	66/99	89-100	99,9-100

NIPT DNA WHOLE GENOME ACCURACY

2017 WHOLE GENOME APPROACH 12000 CASES

Table 3 Performance of the genome-wide cDNA screening approach

	Triozy 21 (n=12 114)	Triozy 18 (n=12 114)	Triozy 13 (n=12 114)	Sex chromosome aneuploidies (n=12 114)	Rare aneuploidies (n=12 114)	Segmental aneuploidies (n=12 114)
False positive=ns	0	0	0	0	0	0
True positive=ns	89	15	12	35	10	8
Non-negative=ns	12 025	12 098	12 081	12 088	12 087	12 081
Sensitivity 95% CI-S	100.0% (95.89%-100.0%)	100.0% (97.30%-100.0%)	100.0% (97.54%-100.0%)	100.0% (96.30%-100.0%)	100.0% (96.13%-100.0%)	100.0% (93.00%-100.0%)
Specificity 95% CI-S	99.99% (99.93%-100.0%)	99.99% (99.93%-100.0%)	99.99% (99.93%-100.0%)	99.99% (99.87%-99.93%)	99.94% (99.88%-99.98%)	99.98% (99.93%-99.99%)
Positive predictive value 95% CI-S	99.89% (97.54%-99.84%)	97.73% (87.89%-99.07%)	92.31% (82.83%-98.84%)	73.00% (63.07%-84.04%)	58.87% (40.52%-74.97%)	61.34% (39.99%-79.33%)
Negative predictive value 95% CI-S	100.00% (99.93%-100.0%)	100.00% (99.93%-100.0%)	100.00% (99.93%-100.0%)	100.00% (99.93%-100.0%)	100.00% (99.93%-100.0%)	100.00% (99.93%-100.0%)



PPV	Sen
61	100
71	100
83	74

2019 WHOLE GENOME APPROACH 20000 CASES

TABLE 4 Evaluation of the NIPCCD method in detecting CNVs

CNV size	TP	FP	FN	Sensitivity (%)	PPV (%)	FNR (%)
>10 Mb	11	2	1	91.67	84.62	9.33
5 Mb-10 Mb	5	1	8	38.46	71.43	28.57
<5 Mb	13	3	6	68.42	81.25	18.75
Total CNVs	29	7	7	85.56	85.36	19.44

Note: TP, true positive; NIPCCD, non-invasive prenatal testing; FP, false positive; FN, false negative; CNV, copy number variation; PPV, positive predictive value; FNR, false negative rate; NA, not applicable.

2019 WHOLE GENOME VALIDATION 2000 CASES



	Triozy 21	Triozy 18	Triozy 13	XXY ^a	CNV > 7 Mb	Any anomaly ^b
Sensitivity^c	> 99.9% (99.97-100)	> 99.9% (99.94-100)	> 99.9% (99.92-100)	98.4% (97.08-99.72)	74.1% (69.07-79.13)	95.2% (91.9-98.5)
Positive 95% CI^d	97.1%, 100%	97.4%, 100%	97.1%, 100%	82.3%, 98.4%	65.0%, 88.8%	92.7%, 97.3%
Specificity^e	99.99% (99.97-100)	99.99% (99.97-100)	99.99% (99.97-100)	99.89% (99.87-99.91)	99.89% (99.87-99.91)	99.34% (98.84-99.84)
Negative 95% CI^d	99.99%, 99.97%	99.99%, 99.97%	99.99%, 99.97%	99.49%, 99.92%	99.49%, 99.92%	99.87%, 99.81%

a. Exact test; percentages reported correctly as 721, 118, and 119 and shown in table.
 b. Exact screen performance is reported for T21, T18, and T13 and excludes 16 samples with known mosaics and an additional 49 samples affected with anomalies for the genome-wide screen only; genome-wide screen performance is reported for RRAx and CNVs.
 c. CI based on Wilson's score method.
 d. RRA excludes chromosomes 21, 18, and 13.
 e. Any anomaly includes samples from SCA-based and genome-wide screens.

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Specificità e Sensibilità, pooled

Casi di Anomalie Cromosomiche	% prevalence EU	% Anomalie Cromosomiche	CVS Cytotrophoblast (direct method)	CVS Cytotrophoblast (direct method)	cffDNA	cffDNA
Totale	4,4		Specificità%	Sensibilità%	Specificità%	Sensibilità%
T21	3,1	70 (48<77)	99,92	99,5	99,93	99,5
T18			99,94	98,4	99,97	98,4
T13			99,80	98,4	99,75	98,4
X/Y Trisomies	0,2	5	99,99	99,00	99,98	100
45,X	0,33	8	99,73	99,10	99,85	100
Anomalie rare	0,7	17 (40<10)				
Anomalie rare <10Mb		10			99,94	74/100

cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

Valori Predittivi, pooled

Casi di Anomalie Cromosomiche	‰ prevalence EU	Anomalie Cromosomiche %	CVS Cytotrophoblast (direct method)	CVS Cytotrophoblast (direct method)	cffDNA	cffDNA
Totale	4,4		PPV%	NPV%	PPV%	NPV%
T21 T18 T13	3,1	70 (48<77)	96 92 62	99,98 99,99 99,99	97,7-92,2 88,7-76,6 82,0-32,8	99,99 99,99 100
X/Y Trisomies	0,2	5	85	99,00	73,40	100
45,X	0,33	8	43	99,10	61,60	100
Anomalie rare		17 (40<10)				
Anomalie rare <10Mb		10			61,50	100

cffDNA inside

Prevalenza anomalie cromosomiche

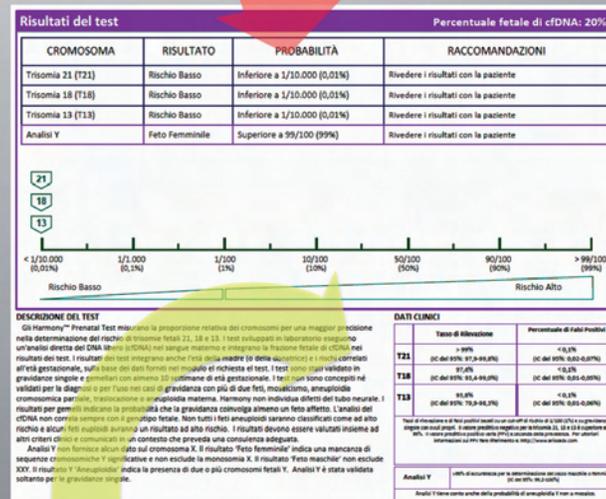
T21	VERI POSITIVI/ TUTTI POSITIVI	VERI NEGATIVI/ TUTTI NEGATIVI	NUMERO CASI	Prevalenza coorte Prev.Italia 15/10000
HARMONY	418/428	22724/22727	23155	182/10000
NEOBONA	94/96	5760/5760	5856	161/10000
PRENSAFE	257/263	31536/31537	31800	80/10000
PS KARYO	87/88	11843/11843	11932	80/10000

T18	VERI POSITIVI/ TUTTI POSITIVI	VERI NEGATIVI/ TUTTI NEGATIVI	NUMERO CASI
NEOBONA	17/17	5839/5839	5856
PRENSAFE	47/53	31745/31746	31800
PS KARYO	15/16	11916/11916	11932
HARMONY	147/152	2243/22247	22399
T13	VERI POSITIVI/ TUTTI POSITIVI	VERI NEGATIVI/ TUTTI NEGATIVI	NUMERO CASI
NEOBONA	12/13	5843/5843	5856
PRENSAFE	32/39	31761/31761	31800
PS KARYO	12/13	11919/11919	11932
HARMONY	30/33	14208/14210	14243

cffDNA inside

Errata previsione di aneuploidia nel cffDNA ha doppia origine:

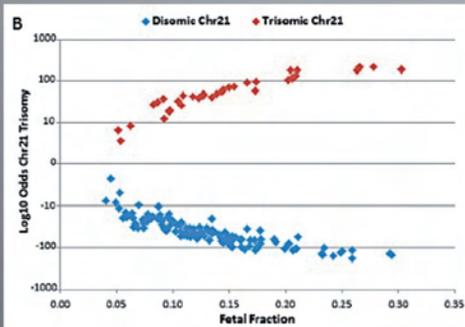
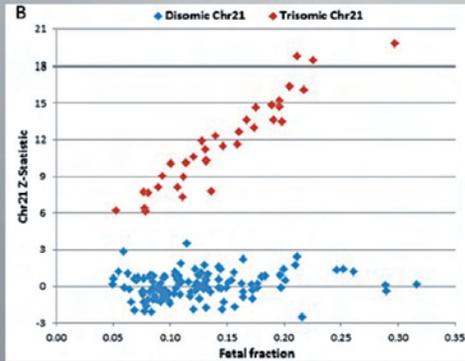
1. Non disgiunzione post divergenza feto - placentare: **sensibilità e specificità clinica.**
1. Caratteristiche del campione influenzano la NGS e l'elaborazione: **sensibilità e specificità del test**



cffDNA inside

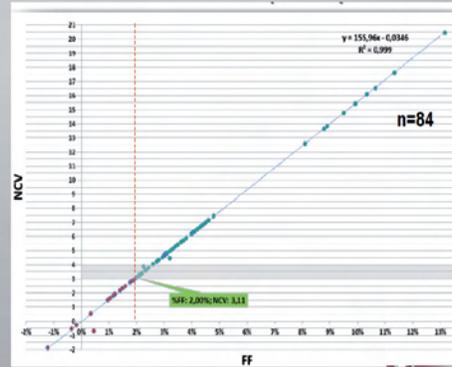
Normalizzazione dei sequence counts (osservati/attesi)

Normalizzazione Cromosomi: Z statistic standardization

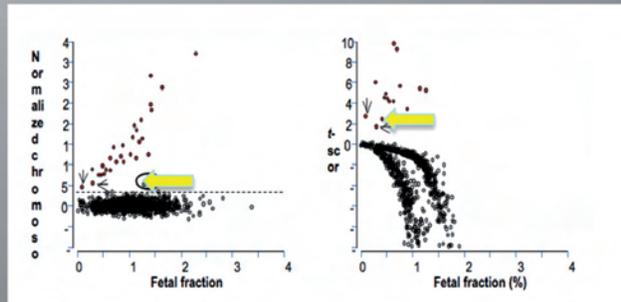


Ariosa FORTE

Normalizzazione Cromosomi: CNV by SAFeR



Illumina
SAFeR



Illumina T-Score (NeoBona)

cffDNA inside

Caratteristiche del campione: bassa FF e aneuploidie

Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2%	1.01
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20



NEXT	TOTALE	<4% FF INDETERMINATED DNA	>4% FF	PREV
PAZIENTI	16329	488	15841	
T21	51(3.2%)	13 (2.7%)	38 (0.4%)	31
FOLLOW UP		CONFIRMED	CONFIRMED	

GENOMA	TOTALE	<2% FF	>2<4% FF	>4% FF	PREV
PAZIENTI	3628	79	231	3318	
TRISOMIE	52 (1.4%)	0	16 (6.9%)	36 (1.1%)	143
T21	41	0	12	29	
FOLLOW UP		RECALL 0	CONFIRMED	CONFIRMED	

La frequenza di aneuploidie è più alta in coorti di campioni con cffDNA < 4% (Harmony) e >2<4% (Illumina, Genoma-algoritmo)

cffDNA inside

Caratteristiche del campione: CNV interferenze e miglioramento algoritmo

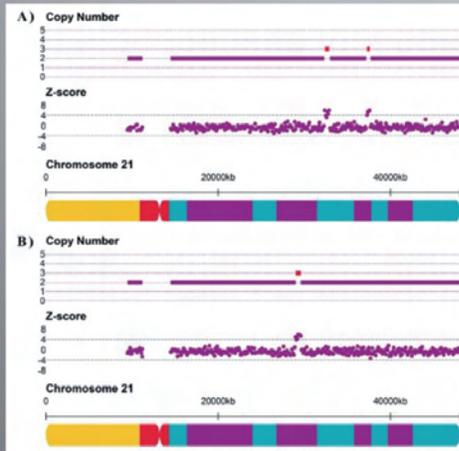
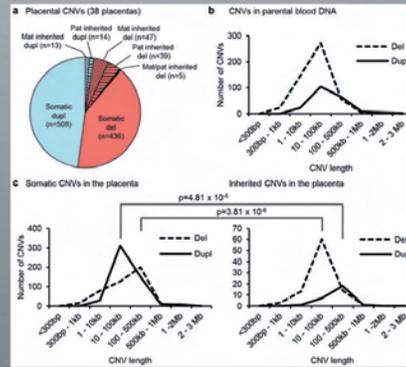


Figure 3. Detection of maternal copy number variations (CNVs)

MATERNAL
PLACENTA - cffDNA

Table 1. Algorithm Improvements and Reductions in False Positive Results.

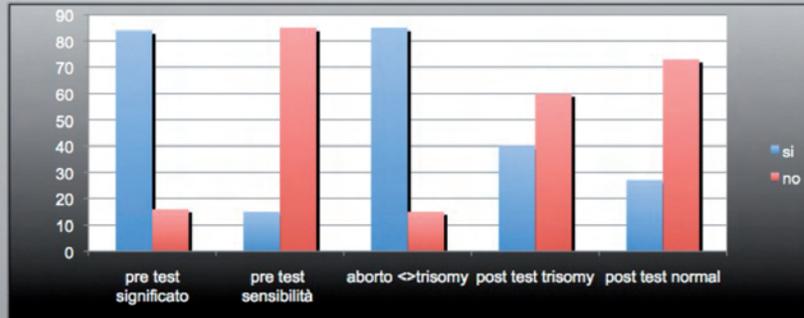
Sample No.	Original Result (as Reported in CARE Study) ^a	New Result (Current Algorithm)	Explanation
1†	Trisomy 13	Trisomy 13, female infant	Complete chromosome 13 gain confirmed on reanalysis
2†	Trisomy 13	Euploid	Maternal copy-number variant of approximately 5 Mb on chromosome 13q
3†	Trisomy 13	Euploid	Maternal copy-number variant of approximately 8 Mb on chromosome 13q
4†	Trisomy 18	Trisomy 18, male infant	Complete chromosome 18 gain confirmed on reanalysis
5¶	Trisomy 18	Euploid	Difference between fetal fraction determined by chromosomes X and 18 suggests chromosome 18 mosaicism‡§
6¶	Trisomy 21	Euploid	Maternal copy-number variant of approximately 2 to 3 Mb on chromosome 18q
7†	Trisomy 21	Euploid	Reduced coverage variability given additional normalization steps in the current algorithm
8†	Trisomy 21	Trisomy 21, male infant	Complete chromosome 21 gain confirmed on reanalysis
9¶	Trisomy 21	Trisomy 21, male infant	Difference between fetal fraction determined by chromosomes X and 21 suggests chromosome 21 mosaicism‡§
10¶	Trisomy 21	Trisomy 21, female infant	Complete chromosome 21 gain confirmed on reanalysis‡
11¶	Trisomy 21 and 18	Euploid	Reduced coverage variability given additional normalization steps in current algorithm



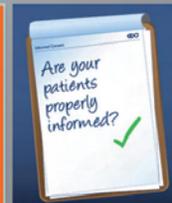
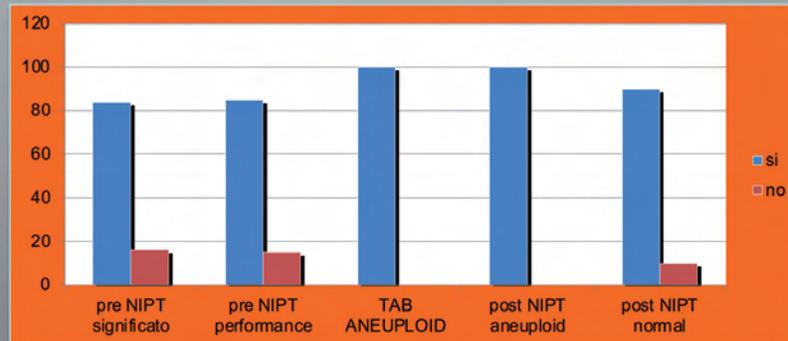
cffDNA inside

Informazioni al paziente, consulenza

Test combinato



NIPT cffDNA



cffDNA inside

Informazioni al paziente, consulenza

Casi di Anomalie Cromosomiche	‰ prevalence EU	%	CVS Cytotrophoblast (direct method)		cffDNA	
Totale	4,4		accuracy		accuracy	
T21 T18 T13	3,1	70	99.91 99.93 99.84		99.96 99.97 99.82	
X-Y Trisomies	0,2	5	99.94		99.81	
45.X	0,33	8	99.61		99.75	
Anomalie rare		17				
Anomalie rare >10Mb		10			99.8	
Anomalie rare <10Mb		3				

cfDNA FOR DUMMIES

COMPENDIO DIVULGATIVO DEI TEST
CROMOSOMICI PRENATALI SUL DNA FETALE IN
SANGUE MATERNO

DISCLOSURE COMPENDIUM OF PRENATAL
CHROMOSOMAL TESTS ON FETAL DNA IN
MATERNAL BLOOD

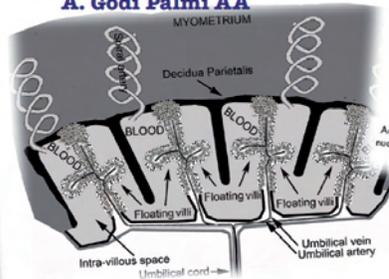
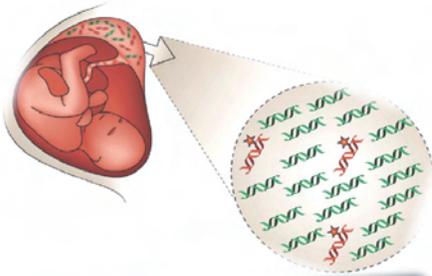


NIPT

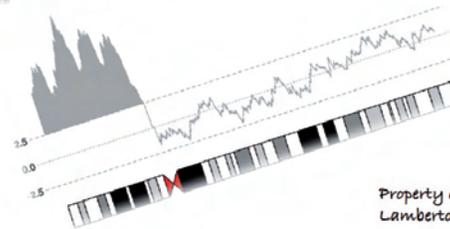
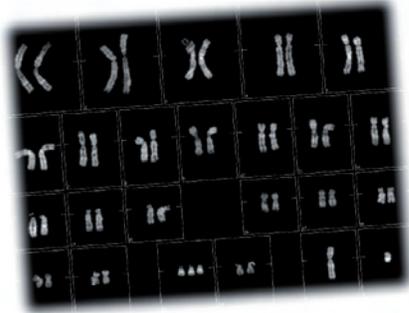
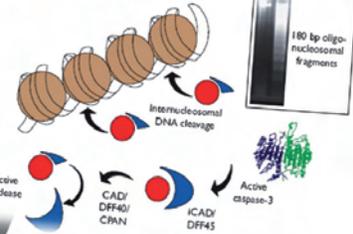
TEST PRENATALE NON INVASIVO DNA fetale libero nel plasma materno

2023

L. Camurri PhD PM
F. Camurri BS PA
G. Camurri BS
A. Godi Palmi AA



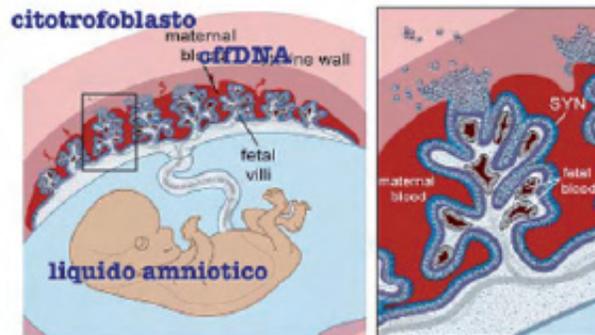
DNA fragmentation



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

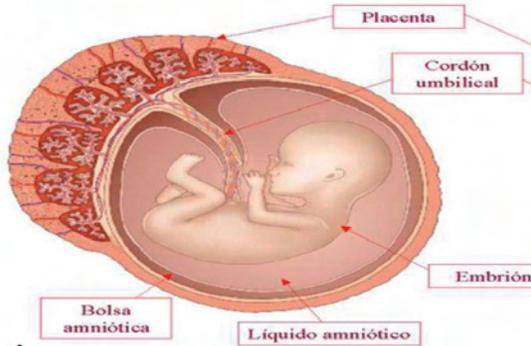
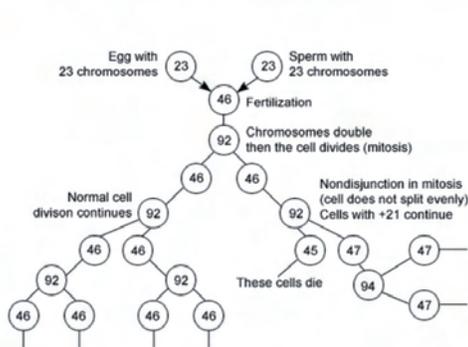


I test genetici feto-placentari usano il DNA del prodotto della fecondazione: placenta se villi coriali o DNA libero nel sangue materno (citotrofoblasto), feto se liquido amniotico (cute, epitelio renale, amnios). Il loro scopo è di intercettare il maggior numero possibile delle cause delle malformazioni congenite fetali

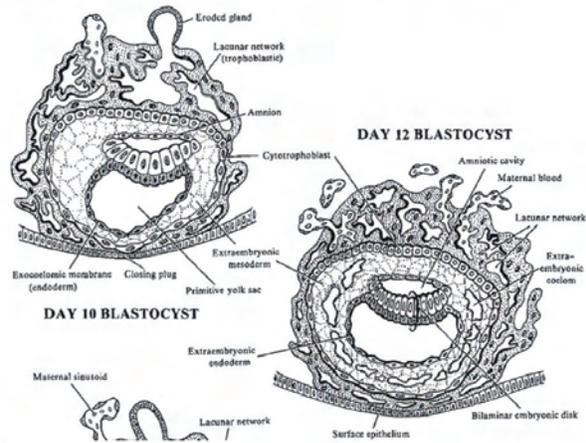


Numero casi (nati + IVG)	6849333	207225
Prevalenza anomalie congenite	2,37 % (1:42)	2,27 % (1:44)
Prevalenza anomalie cromosomiche	0,35 % (1:270)	0,32 % (1:312)

Le anomalie cromosomiche che insorgono alla fecondazione investono sia la placenta (villi coriali, DNA libero nel sangue materno) che il feto (liquido amniotico) e hanno la stessa sorte. **Le anomalie cromosomiche che insorgono oltre i 10 giorni dalla fecondazione quando la placenta il feto si separano** investono uno solo dei tessuti e danno origine alla discordanza feto placentare (<0.1%)



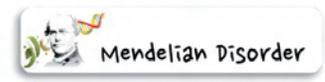
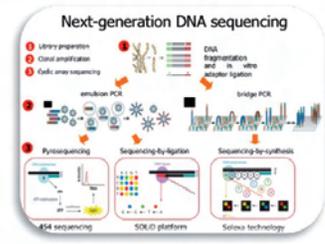
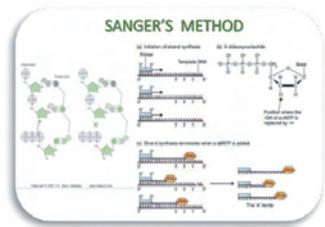
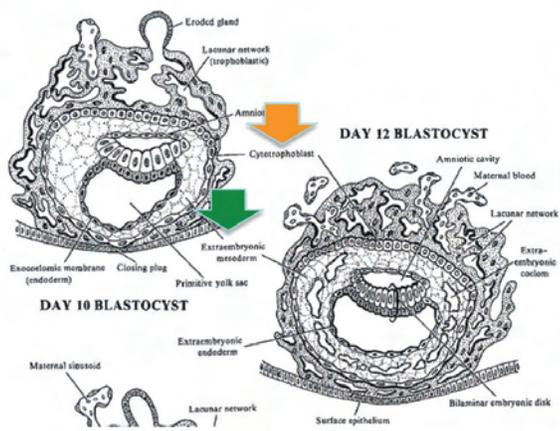
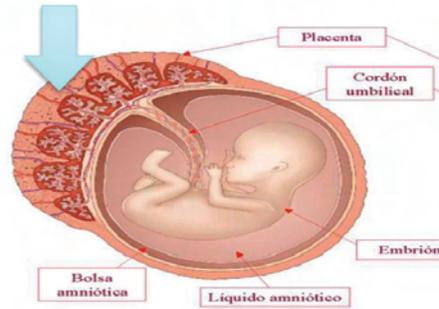
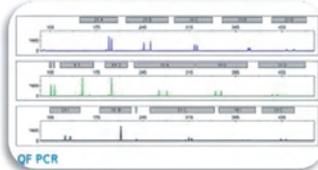
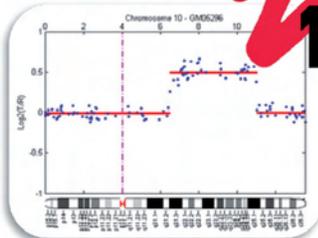
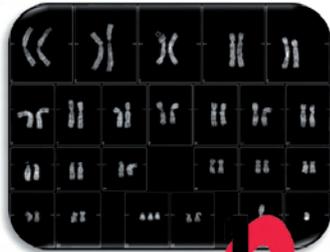
Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Anomalie Cromosomiche	% prevalence EU	CVS Cyto trophoblast direct method	ccfDNA
Totale	4,4	accuracy	accuracy
T21		99.91	99.96
T18	3,1	99.93	99.97
T13		99.84	99.82

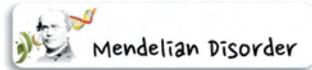
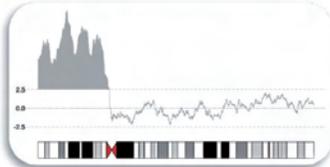
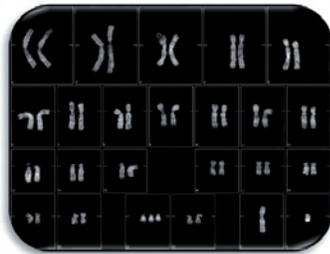
La accuracy di un test è: (veri positivi + veri negativi) / tutto il campione

Test genetici diagnostici fetoplacentari del primo trimestre di gravidanza: tecniche citogenetiche e molecolari con prelievo di villi coriali

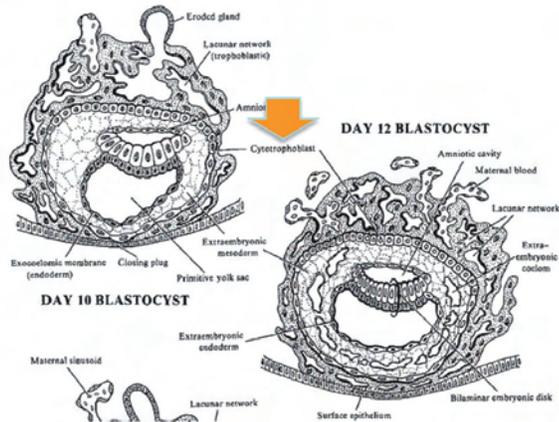
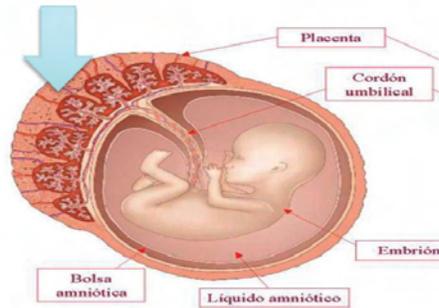
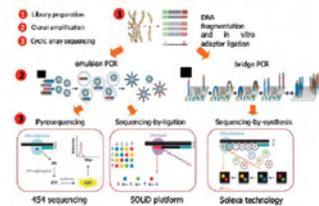


Property of Lamberto Camurri Ph.D.

Test genetici non diagnostici feto-placentari del primo trimestre di gravidanza. DNA fetale libero nel plasma materno con prelievo di sangue materno.



Next-generation DNA sequencing



Perché non diagnostici?

1. La apoptosi delle cellule del trofoblasto nel plasma frammenta il DNA che necessita un rimodellamento con NGS.



2. La analisi è condotta su un mix di DNA materno e fetale con possibili effetti di confondimento

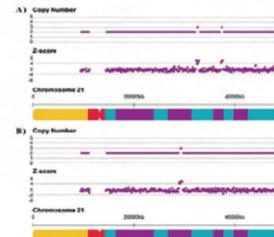


Figure 3. Detection of maternal copy number variations (CNVs)



Why?

Fecondazione e errori Cromosomici:

Falsi positivi > anomalia che non c'è
Falsi negativi > tutto bene ma non è vero

Anomalie Cromosomiche	% prevalenza EU	Liquido Amniotico	Placenta DNA Fetale plasma
Totale	4,4	accuracy	accuracy
T21	3,1	100	99.96
T18		100	99.97
T13		100	99.82



ACCACGAT GGA
 CTGG
 CGATTAACT
 ...ACCACGATTAACTGGA...

CGCTAGBETRGASBGTCCEDRAGEGGEGAAAGAAAGTCBIBETAGAAQBAAGTCGGTA CGCTAGAAG
 CGCTAGAAG GAAGTCGCG GAAGTCGCG CGCTAGAAG GAAGTCGCG GAAGTCGCG
 CGCTAGAAG GAAGTCGCG GAAGTCGCG GAAGTCGCG
 CGCTAGAAG GAAGTCGCG GAAGTCGCG GAAGTCGCG
 CGCTAGAAG GAAGTCGCG
 ATTTCCGCGATCTTCCCGTTCGACTGCAGACCTTCAGCGCATATATCGCTAGCATAACCGTTATAC

← Human Genome →

Property of
 Lamberto Camurri Ph.D.

ccfDNA NIPTest. L'origine. Il DNA fetale presente nel plasma materno proviene dalla placenta

Nel sangue materno in gravidanza sono presenti cellule fetali nucleate e DNA libero non cellulare in sospensione nel plasma.
Il DNA libero non cellulare (**ccfDNA**) proviene da cellule della placenta.

Il citotrofoblasto placentare si ancora alla decidua parietale.

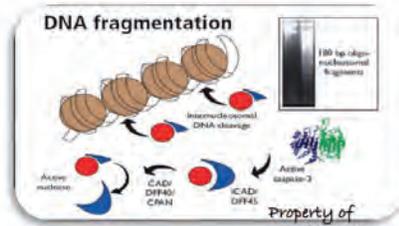
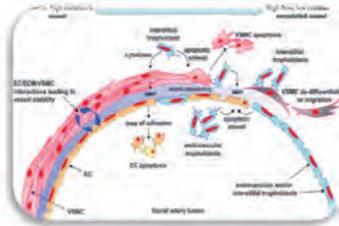
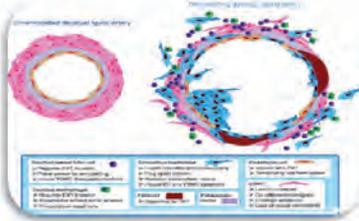
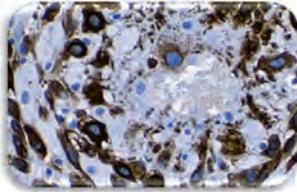
Le arterie spirali della decidua irrorano le lacune fra decidua e placenta.
Il citotrofoblasto invade e tappezza le pareti delle arterie spirali e ne causa il rimodellamento.

Il ricambio delle cellule del trofoblasto che tappezzano le pareti delle arterie spirali per morte cellulare o apoptosi (citochine - mediata) determina la frammentazione del DNA in degenerazione.

I frammenti di DNA hanno dimensioni di circa **180 bp** (paia di basi) e si sospendono nel plasma arterioso.

La presenza di DNA del trofoblasto (feto) libero nel plasma (**ccfDNA**) si riscontra a partire dalla 5^a settimana di gravidanza, ma la quantità è sufficiente per i test a partire dalla 10^a settimana.

Anche la degenerazione degli epitelii materni libera frammenti di DNA sospesi nel plasma a generare un miscuglio di DNA di madre e placenta-feto.



La cattura del DNA fetale: sequenziare il genoma

MPSS, massive parallel shotgun sequencing (*Verinata Verifi, Sequenom MaterniT21, BGI Nifty*)
Analizza tutti i cromosomi.

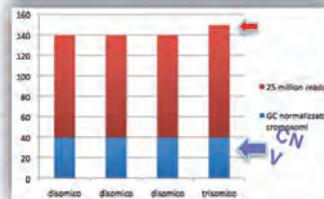
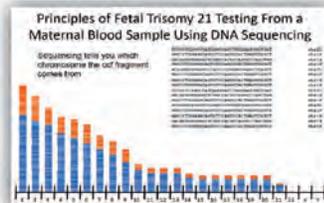
L'analisi massiccia di tutti i cromosomi evidenzia le differenze di **densità di basi GC** per cui è necessario introdurre un **Fattore di Normalizzazione (CNV)** che consente di rendere confrontabili i blocchi di lettura delle sequenze.

Tecniche di seconda generazione

No PCR

La tecnica di sequenziamento massivo consente l'analisi di tutto il genoma. Le nuove tecniche sequenziano i frammenti di DNA dai due lati con più informazioni e accuratezza. Le tecniche possono essere di diversa precisione a seconda della copertura del genoma con le letture.

5 milioni di letture per le tecniche standard, fino a 60 milioni di letture per il "whole genome".



Paired End Sequencing

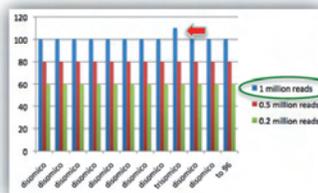
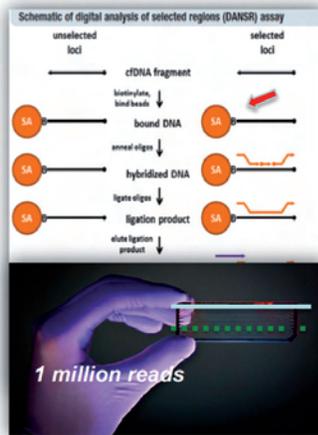
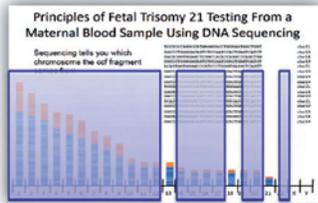
More information, maintained accuracy



Maggiore risoluzione = Maggiore Precisione



Un maggior numero di sequenze/campione fornisce una risoluzione maggiore e di conseguenza una maggiore affidabilità dei risultati.



La cattura del DNA fetale: sequenziare solo i cromosomi 21, 18, 13

Per identificare una trisomia 21 (o 13 o 18) è possibile selezionare i frammenti di DNA dei cromosomi, eliminando il resto del genoma.

DANSR (Ariosa Harmony)

Il campione viene amplificato con PCR

1. Sequencing: Esegue il sequenziamento (*high multiplexed*) selettivo dei frammenti di DNA solo dei cromosomi 21, 18, 13 (*clustering, sequencing*).
2. Microarrays: Esage la analisi su piattaforma array (*hybridization, imaging*). Riduce la variabilità fra campioni.

La selezione dei frammenti avviene ibridando sonde fluorescenti a:

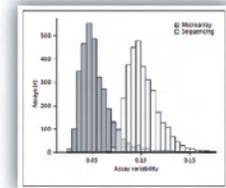
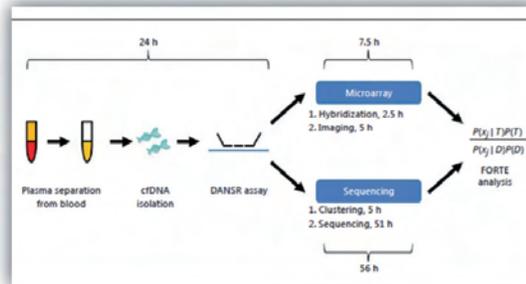
576 marcatori STR non polimorfici dei cromosomi (21, 18, 13) per la ricerca delle trisomie 192 marcatori STR polimorfici di cromosomi fra 1 e 12 per definire la frazione fetale di ciascun campione.

Solo i frammenti agganciati alle sonde fluorescenti verranno sequenziati per il dosaggio e la elaborazione.

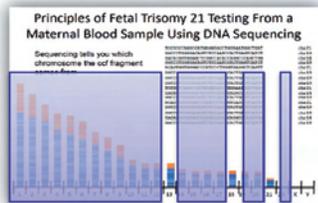
La tecnica esegue circa 1 milione di letture.

Tecniche di seconda generazione

Microarrays (Ariosa Harmony)



Property of Lamberto Camurri Ph.D.



A sequencing and PCR-free method was developed to enable a cost efficient and high precision measurement of chromosomal aneuploidies. Thereby, we were able to eliminate expensive sequencing, complicated sample preparation protocols, PCR bias and bioinformatics. The maximum precision of digitally-enabled assays is dictated by the number of molecules analysed. To enable quantification based on high molecular count numbers without PCR, two strategies were used. Firstly, probes were designed to capture and generate labelled rolling circle replication products (RCPs) from ~3500 loci on chromosome 21, thereby increasing the number of counts per chromosome equivalent in the sample. Secondly, an optically transparent nanofilter 96-well plate was developed to capture RCPs with high yield by mechanical filtering prior to imaging, thereby increasing the number of molecules analysed from the sample.

The Vanadis NIPT assay (Fig. 1) is based on four consecutive enzymatic steps that specifically generate labelled RCPs from chromosomal DNA targets. The specificity of the DNA labelling approach eliminates the need for DNA sequencing and advanced bioinformatics data analysis. First, target chromosomes are digested into defined target cDNA fragments using a restriction enzyme. Secondly, the digested target cDNA fragments are mixed with a probe set where each probe carries a complementary sequence motif to the target cDNA fragments of interest. The mixture also contains backbone oligonucleotides carrying a chromosome-specific sequence motif ("chromosomal tag") used for subsequent labelling and identification. The probes are designed to specifically guide hybridization of target cDNA fragments, thereby allowing subsequent DNA ligation of the target cDNA fragments to the backbone oligo, such that a single stranded DNA circle can be formed. For this to occur, the selected cDNA fragments need to hybridize perfectly to the probe and ligate both the 3' and 5' ends to the backbone. The chromosomal tags within the backbones

La cattura del DNA fetale: intercettare solo i cromosomi 21, 18, 13

Tecnica enzimatica e chemiluminescente

Per identificare una trisomia 21 (o 13 o 18) è possibile selezionare i frammenti di DNA dei cromosomi, eliminando il resto del genoma.

La selezione dei frammenti avviene senza sequenziamento

No PCR iniziale

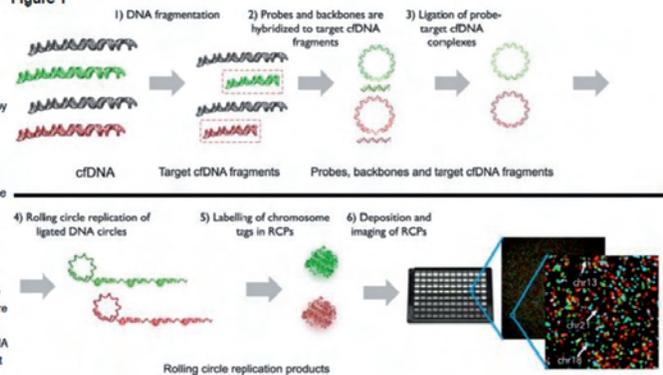
Digerendo i frammenti con enzimi di restrizione, ibridando sonde fluorescenti a:

3500 loci non polimorfi dei cromosomi 21 per la ricerca delle trisomie.

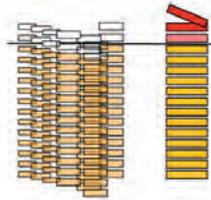
Solo i frammenti agganciati alle sonde fluorescenti verranno amplificati con PCR e utilizzati

La tecnica esegue circa 0,5 milioni di letture.

Figure 1

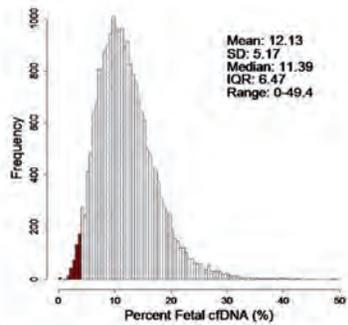


Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



La quantità del DNA fetale: il test deve indicare la frazione fetale del campione

La frazione fetale di ciascun cromosoma per poter identificare una trisomia deve consentire un *expected ratio* >1. Harmony test si basa su polimorfismi SNP e indica il 4%. Altri metodi si basano su dimensione dei frammenti di DNA, CNV, cromosoma Y, e indicano come limite operativo il 2%.

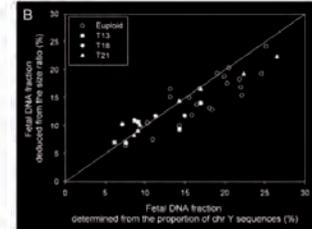


SNP (DANSR)

ABRSIA5517	Maternal (buffy coat)	A/C	G/G	C/T	A/T	A/A	A/G	C/T	C/C	A/C	A/G
	Fetal (cfDNA)					A/G			C/C		

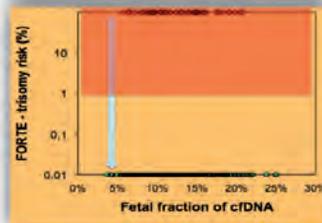
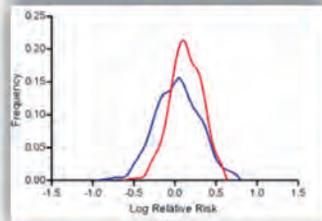
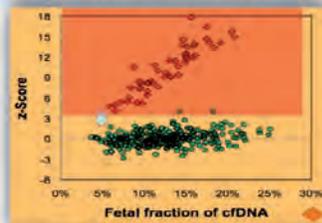
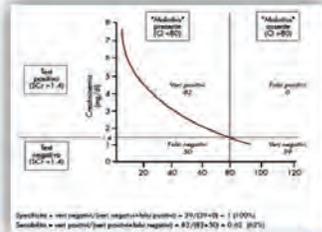
Fragment size, #X CNV & #Y (Tscore e altri)

Normal Pregnancies
4% fail



Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2%	1.01
4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Analisi dei dati

Il test calcola il rapporto di verosimiglianza fra le probabilità che i campioni contenuti in una linea di sequenza siano euploidi

MPSS (Verinata Verifi SAFER, Sequenom MaterniT21, BGI Nifty) – 2012

Algoritmo per definire il valore soglia di rischio trisomia basato su: One sample set

Il calcolo su singolo campione è reso necessario dal ridotto numero di test per linea di sequenza.

1) ipotesi binaria positivo-negativo con t-Student (z-score) e Likelihood Odds Ratio (rapporto di verosimiglianza).

2) fattore di normalizzazione di sequenza CNV.

3) Variazioni di corsa fra le varie linee di sequenziamento corrette con un algoritmo z-score.

4) Definizione di un valore soglia per la trisomia (valore di z-score fra 3 e 4)

L'algoritmo non considera la frazione fetale. Quindi con **frazione fetale bassa** i valori di score +/- sono molto vicini, aumentando la possibilità di falso positivo e negativo.

DANSR – FORTE (Ariosa Harmony) – 2012

Algoritmo per definire il valore soglia di rischio trisomia basato su: Multiple sample set

Il calcolo su campioni multipli è reso possibile dalle piccole dimensioni dei blocchi di lettura di sequenza (1 milione di reads) che consente l'analisi in una linea di sequenza di 96 campioni che vengono paragonati fra loro.

1) ipotesi percentuale con Odds ratio (rapporto di verosimiglianza) fra modelli disomico/trisomico, (curve normali di distribuzione)

2) Calcolo della frazione fetale

3) Montecarlo Simulation che inserisce anche età materna e epoca gestazionale nel calcolo dell'algoritmo FORTE.

L'algoritmo considera la frazione fetale. Quindi i valori dello score con **frazione fetale bassa** sono normalizzati consentendo una valutazione del rischio indipendente dalla quantità di DNA fetale.

T-SCORE (Labco Neobona/Illumina) – 2015

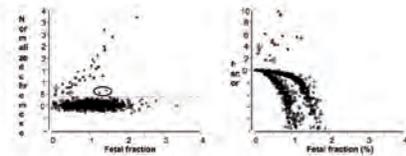
Algoritmo composto z-score like

1) Calcolo frazione fetale

2) Distribuzione frammenti per dimensione

3) Confronto batch-campioni / profondità di sequenza

LIFE CIRCLE (Perkin Elmer)-2018



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Identificazione delle Trisomie Fetali con cfDNA: la validazione

Company	Sequenom	Verinata	Ariosa	Natera	BGI
NASDAQ	SQNM	ILMN			
Prodotto	MaterniT21plus	Verifi	Harmony	Panorama	Nifty
sequenziamento	MPSS	MPSS	TPS	TPS-SNPbased	MPSS
tecnologia	SEQuireDx		DANSR	NATUS	
algoritmo		SAFeR	FORTE		
statistic	z-score binary	z-score binary	OR multiple	z-score binary	z-score GC correct
weeks	10	10	10	10	12
condizioni	13,18,21,gender,XX	13,18,21,gender,XX	13,18,21,gender,XX	13,18,21,gender,XX	13,18,21,gender,XX
accreditamento	CAP CLIA	CAP CLIA	CAP CLIA	CAP CLIA	
statements	ACMG ACOG ISPD	ACMG ACOG ISPD	ACMG ACOG ISPD	ACMG ACOG ISPD	
clinic-patients	2500	650	6000	300	3500/11100
failure			2%	5%	<1%
specificity 21	99,4-99,9	99,1-100	99,8-99,9	98,2-100	99,60-99,97
sensibility 21	95,9-99,7	95,9-100	95,5-100	86,3-100	100-100

Table 1 Results from four published clinical trials that measured NIPT's sensitivity and specificity in detecting common aneuploidies

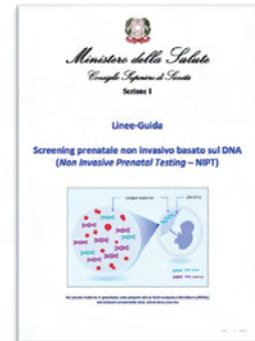
	Trisomy 21		Trisomy 18		Trisomy 13	
	Sensitivity (95 % CI)	Specificity (95 % CI)	Sensitivity (95 % CI)	Specificity (95 % CI)	Sensitivity (95 % CI)	Specificity (95 % CI)
Palomaki et al. 2011	98.6 % (95.9 - 99.7)	99.8 % (99.4 - 99.9)				
Palomaki et al. 2012			100 % (93.9 - 100)	99.7 % (99.3 - 99.9)	91.7 % (61-99)	99.1 % (98.5 - 99.5)
Bianchi et al. 2012	100 % (95.9 - 100)	100 % (99.1 - 100)	97.2 % (85.5 - 99.9)	100 % (99.2 - 100)	78.6 % (49.2 - 99.9)	100 % (99.2 - 100)
Norton et al. 2012	100 % (95.5-100)	99.97 % (99.8 -99.99)	97.4 % (86.5-99.9)	99.93 % (99.75 - 99.98)		
Aschoor et al. 2012					80 % (49-94.3)	99.85 % (99.71-99.99)

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

2012. Gli agreements internazionali sono configurati sui tests delle companies indicate e sulla produzione scientifica collegata ai trials clinici che hanno dimostrato i dati di sensibilità e specificità dei NIPT.

2015. La ditta Illumina, produttrice di sequenziatori NGS, e proprietaria di Verinata, si accorda con Sequenom per un "sharing revenues". Roche acquista Ariosa e Illumina lancia il test NGS di seconda generazione (Paired end sequencing) con LabcoEU (NeoBona)

2015. Su questi dati vengono stilate le linee guida di validazione dei test.



Identificazione delle Trisomie Fetali con cfDNA: European population prevalence

Casi di Anomalie Cromosomiche		Popolazione EU ‰	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	100
Trisomie T21 T18 T13	7335	3,1	70 (48<77)
X0,XXX,XXY,XXY	1251	0,6	13



European Journal of Human Genetics (2012) 20, 521–526
© 2012 Wolters Kluwer Publishers Limited All rights reserved. 0014-4819/12
www.nature.com/ejhg

ARTICLE

Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe

Property of
Lamberto Canuni Ph.D.

Identificazione delle Trisomie Fetali con cffDNA: Casistica pubblicata e performances: confronto col citotrofoblasto da villi coriali. I metodi non differiscono in specificità e sensibilità cliniche, determinate dalla biologia della placenta e del suo trofoblasto.

Casi di Anomalie Cromosomiche	%o prevalence EU	% Anomalie Cromosomiche	CVS Cytotrophoblast (direct method)	CVS Cytotrophoblast (direct method)	cffDNA	cffDNA
Totale	4,4		Specificità%	Sensibilità%	Specificità%	Sensibilità%
T21	3,1	70 (48<77)	99,9	99,5	99,9	99,5
T18			99,9	98,4	99,9	98,4
T13			99,8	98,4	99,7	98,4
X/Y Trisomies	0,2	5	99,9	99,0	99,9	100
45,X	0,33	8	99,7	99,1	99,8	100

Totale	4,4		PPV%	NPV%	PPV%	NPV%
T21	3,1	70 (48<77)	96	99,98	97,7-92,2	99,99
T18			92	99,99	88,7-76,6	99,99
T13			62	99,99	82,0-32,8	100
X/Y Trisomies	0,2	5	85	99,00	73,40	100
45,X	0,33	8	43	99,10	61,60	100

La specificità di un test è: $N^- FP/N^- TN$ (falsi positivi/veri negativi)

La sensibilità (detection) di un test è: $N^- FN/N^- TP$ (falsi negativi/veri positivi)

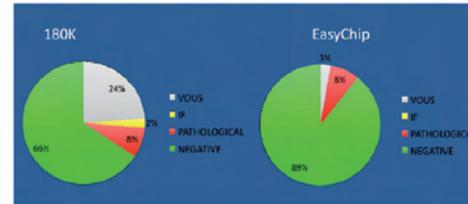
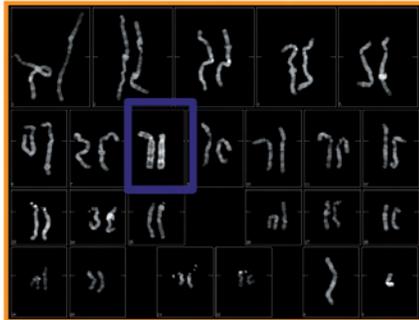
Identificazione delle Anomalie Cromosomiche Fetali con cfDNA: European population prevalence. Analisi del genoma:

Il cariotipo convenzionale identifica anomalie di struttura più grandi di 10-15 Mb.

Una analisi molecolare aCGH o NGS calibrata a >10Mb identifica le anomalie genomiche di struttura limitando al minimo i findings di dubbio significato.

Una analisi genomica molecolare a >10Mb è in grado di identificare anomalie cromosomiche (CNV, delezioni, duplicazioni) pari al cariotipo convenzionale

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	% prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie cromosomiche strutt.	1737	0,7	17 (40<10)
Anomalie > 10Mb		tutto genoma	10



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Identificazione delle Anomalie Cromosomiche Fetali con cfDNA: European population prevalence. Analisi del genoma: Illumina valida e commercializza la metodologia Veriseq2, 2019

NIPT DNA WHOLE GENOME ACCURACY

Prevalence of Down 2017

2017 WHOLE GENOME APPROACH 12000 CASES



Table 3 Performance of the genome-wide cfDNA screening approach

	Trisomy 21 (n = 12 114)	Trisomy 18 (n = 12 114)	Trisomy 13 (n = 12 114)	Sex chromosome aneuploidies (n = 12 114)	Rare aneuploidies (n = 12 114)	Segmental imbalances (n = 12 114)
False positive—no.	1	1	1	12	7	5
False negative—no.	0	0	0	0	0	0
True positive—no.	88	15	12	36	10	8
True negative—no.	12 025	12 098	12 101	12 066	12 097	12 101
Sensitivity (95% CI)—%	100.00% (95.89%–100.00%)	100.00% (78.20%–100.00%)	100.00% (73.54%–100.00%)	100.00% (90.26%–100.00%)	100.00% (69.15%–100.00%)	100.00% (63.06%–100.00%)
Specificity (95% CI)—%	99.99% (99.95%–100.00%)	99.99% (99.95%–100.00%)	99.99% (99.95%–100.00%)	99.90% (99.83%–99.93%)	99.94% (99.88%–99.98%)	99.96% (99.90%–99.99%)
Positive predictive value (95% CI)—%	98.88% (92.54% to 99.84%)	93.73% (67.88%–99.07%)	92.31% (62.83%–98.84%)	75.00% (63.02%–84.08%)	58.82% (40.52%–74.97%)	61.54% (39.98%–79.33%)
Negative predictive value (95% CI)—%	100.00% (99.95%–100.00%)	100.00% (99.95%–100.00%)	100.00% (99.95%–100.00%)	100.00% (99.95%–100.00%)	100.00% (99.95%–100.00%)	100.00% (99.95%–100.00%)

The clinical utility of genome-wide cfDNA screening

PPV	Sen
61	100
71	100
83	74

2019 WHOLE GENOME APPROACH 20000 CASES

Wang, Sun, & Sun, 2019

Noninvasive prenatal testing for fetal subchromosomal copy number variations and chromosomal aneuploidy by low-pass whole-genome sequencing

Dongqi Yu, Kai Zhang, J. J. and Yang Du

TABLE 4 Evaluation of the NIPSCCD method in detecting CNVs

CNV size	TP	FP	FN	Sensitivity (%)	PPV (%)	FNR (%)
>10 Mb	11	2	1	91.67	84.62	9.33
5 Mb–10 Mb	5	2	0	100.00	71.43	NA
<5 Mb	13	3	6	68.42	81.25	31.58
Total CNVs	29	7	7	80.56	80.56	19.44

Note: TP, true positive; NIPSCCD, detected CNVs that were confirmed by amniocentesis testing; FP, inconsistent CNVs that were detected by NIPSCCD while not detected by amniocentesis testing were classified as false positive; FN, amniocentesis testing-characterized CNVs that were not detected by the NIPSCCD method; PPV, positive predictive value; FNR, false negative rate; NA, not applicable.

2019 WHOLE GENOME VALIDATION 2000 CASES



	Trisomy 21	Trisomy 18	Trisomy 13	RAA ^a	CNV ≥ 7 Mb	Any anomaly ^b
Sensitivity ^b	> 99.9% (130/130)	> 99.9% (41/41)	> 99.9% (26/26)	96.4% (27/28)	74.1% (20/27)	95.5% (318/333)
2-sided 95% CI ^c	97.1%, 100%	91.4%, 100%	87.1%, 100%	82.3%, 90.4%	55.3%, 86.8%	92.7%, 97.3%
Specificity	99.90% (1982/1984)	99.80% (1995/1997)	99.90 (2000/2002)	99.80% (2001/2005)	99.80% (2000/2004)	99.34% (1954/1967)
2-sided 95% CI ^c	99.63%, 99.97%	99.64%, 99.97%	99.64%, 99.97%	99.49%, 99.92%	99.49%, 99.92%	98.87%, 99.61%

- a. Seven twin pregnancies reported correctly as T21 not shown in table
- b. Basic screen performance is reported for T21, T18, and T13 and excludes 16 samples with known mosaics and an additional 49 samples affected with anomalies for the genome-wide screen only; genome-wide screen performance is reported for RAAs and CNVs
- c. CI based on Wilson's score method
- d. RAA excludes chromosomes 21, 18, and 13
- e. Any anomaly includes samples from SCA basic and genome-wide screens

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Genoma

illumina®

Casi positivi n= 1011 Totale follow-up n=868	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	SCA	Altre anomalie*	Performance complessive (71883 gravidanze)
Veri positivi	437	93	37	156	58	781
Falsi positivi	3	1	8	17	54	83
Veri negativi	70870	70872	70872	70871	70871	71015
Falsi negativi	2	0	0	1	1	4
Sensibilità (95% CI)	99.54% (98.36%- 99.94%)	100% (96.11% - 100.00%)	100% (90.51%- 100.00%)	99.36% (96.50%- 99.98%)	98.31% (90.91% - 99.96%)	99.49% (98.70%-99.86%)
Specificità (95% CI)	100% (99.99% - 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.98% - 100.00%)	99.96% (99.96%- 99.99%)	99.92% (99.90% - 99.94%)	99.88% (99.86%-99.91%)
PPV (95% CI)	99.32% (97.92% - 99.78%)	98.94% (92.91% - 99.85%)	82.22% (69.82% - 90.24%)	90.17% (85.08%- 93.66%)	51.79% (45.08% - 58.42%)	90.39% (88.36%-92.11%)
NPV (95% CI)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99% - 100.00%)	99.99% (99.99%-100.00%)



Genoma



Aneuploidie dei cromosomi sessuali	X0	XXX	XXY	XYY
Veri positivi	52	27	51	26
Falsi positivi	13	0	3	1
Veri negativi	70871	70872	70872	70872
Falsi negativi	1	0	0	0
Sensibilità (95% CI)	98.11% (89.93% -99.95%)	100% (87.23%-100.00%)	100% (93.02%-100.00%)	100% (86.77%-100.00%)
Specificità (95% CI)	99.98% (99.97% -99.99%)	100% (99.99%- 100.00%)	99.99% (99.99% -100.00%)	99.99% (99.99% -100.00%)
PPV (95% CI)	80% (69.88% -87.34%)	100% (99.99%-100.00%)	99.44% (84.57%- 98.14%)	96.3% (78.55% -99.46%)
NPV (95% CI)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99%-100.00%)	100% (99.99%-100.00%)



Genoma



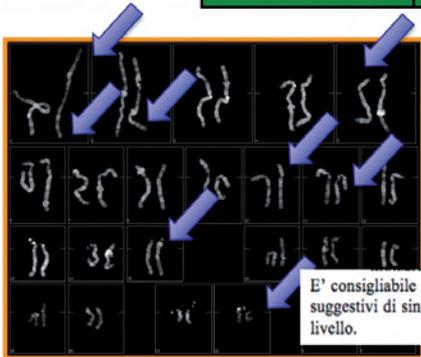
Altre anomalie	RAA	Anomalie segmentali (>7 Mb)	Microdelezioni* (anomalie segmentali <7 Mb)
Veri positivi	33	20	5
Falsi positivi	36	16	2
Veri negativi	70872	70872	70871
Falsi negativi	0	0	1
Sensibilità (95%CI)	100% (89.42%-100.00%)	100% (83.16%-100.00%)	83.33% (35.88% -99.58%)
Specificità (95%CI)	99.95% (99.93%- 99.96%)	99.98% (99.96%- 99.99%)	100% (99.99%- 100.00%)
PPV (95%CI)	47.83% (39.81%- 55.96%)	55.56% (43.37% - 67.11%)	71.43% (37.40% -91.27%)
NPV (95%CI)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99%- 100.00%)	100% (99.99%- 100.00%)

Identificazione delle Anomalie Cromosomiche Fetali con cfDNA: European population prevalence. Analisi delle microdelezioni:

La analisi cfDNA delle microdelezioni (<10Mb) ricerca una serie di sindromi rare con una sensibilità clinica fra il 50 e il 95%.

L'analisi è consigliata come indagine di secondo livello in concomitanza con findings ecografici e consulenza genetica.

Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	% prevalence	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie cromosomiche strutt.	1737	0,7	17 (40<10)
Anomalie < 10Mb			3



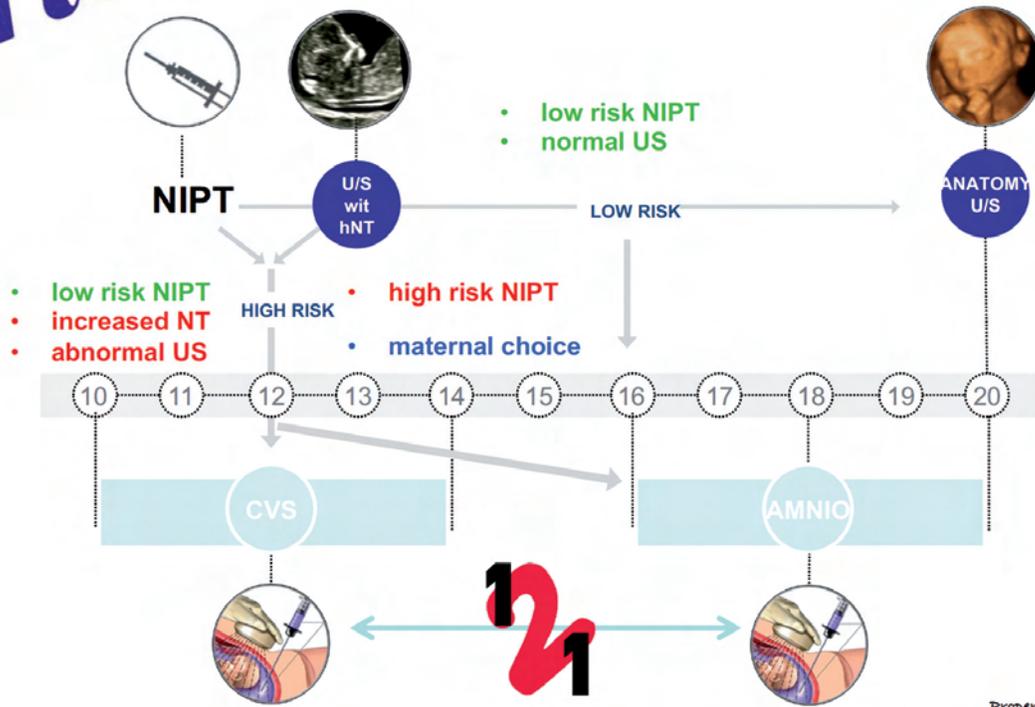
Sindrome da microdelezione	Regione cromosomica	Prevalenza (alla nascita)
Sindrome di DiGeorge	delezione 22q11.2	1/2.000 - 1/4.000
Sindrome Cri-du-chat	delezione 5p15.3	1/15.000 - 1/50.000
Sindrome di Prader-Willi	delezione 15q11.2	1/25.000
Sindrome Angelman	delezione 15q11.2	1/10.000 - 1/20.000
Sindrome da delezione 1p36	delezione 1p36	1/5.000 - 1/10.000
Sindrome di Wolf-Hirschhorn	delezione 4p16.3	1/20.000 - 1/50.000
Sindrome di Jacobsen	delezione 11q23-q24.3	1/100.000
Sindrome di Langer-Giedion	delezione 8q24.11-q24.13	1/200.000
Sindrome di Smith-Magenis	delezione 17p11.2	1/15.000 - 1/25.000

E' consigliabile ricorrere all'utilizzo del PrenatalSafe® Karyo Plus solo in determinati contesti clinici (esempio dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica) per i quali risulta giustificato un approfondimento diagnostico di secondo livello.

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

flow

Identificazione delle Anomalie Cromosomiche Fetali con cfDNA: Flow screen



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

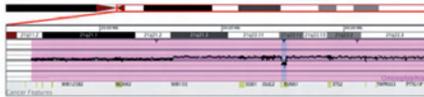
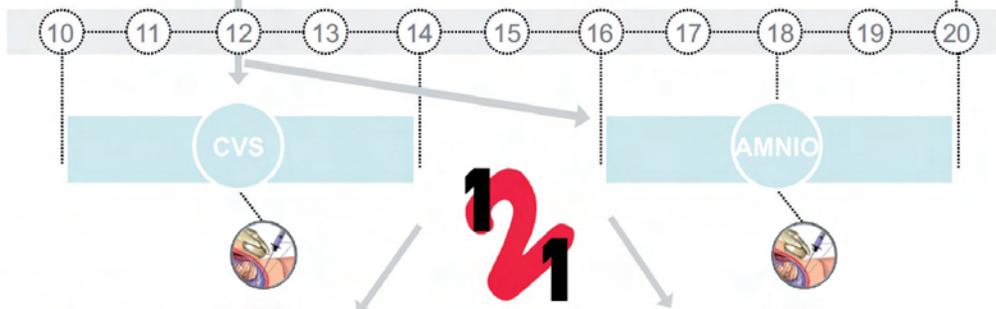
flow

Identificazione delle Anomalie Cromosomiche Fetali con cffDNA: Flow screen

- high risk NIPT
- increased NT
- abnormal US

- high risk NIPT
- normal US

- abnormal US



- Deletion/duplication
- 500 kbases DNA

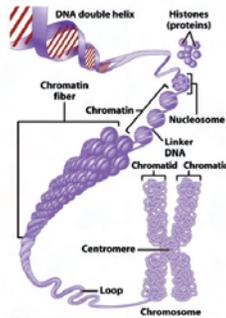


Figure 2-23 Principles of Anatomy and Physiology, 11/e
© 2008 John Wiley & Sons

- Deletion/duplication
- 15 Mbases DNA



of
Lamberto Camurri Ph.D.

TUTORIAL DI PRESENTAZIONE DEI TEST
GENETICI PRENATALI NELLA CONSULENZA DI
PRIMO LIVELLO PER IL CONSENSO INFORMATO
2017 - 2023

TUTORIAL FOR PRESENTATION OF PRENATAL
GENETIC TESTS IN FIRST LEVEL CONSULTING
FOR INFORMED CONSENT
2017-2023

Questa presentazione sostituisce la lettura delle note informative allegate alla scheda che verrà sottoposta al paziente per accettazione. I punti essenziali sono indicati con:



TEST GENETICI PRENATALI



NON INVASIVI

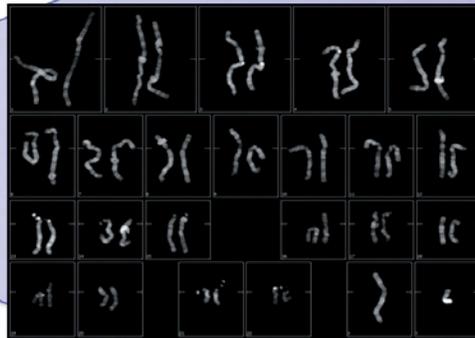
INVASIVI

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Questa presentazione sostituisce la lettura delle note informative allegate alla scheda che verrà sottoposta al paziente per accettazione. I punti essenziali sono indicati con:



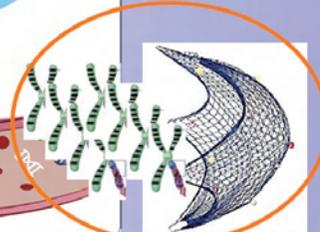
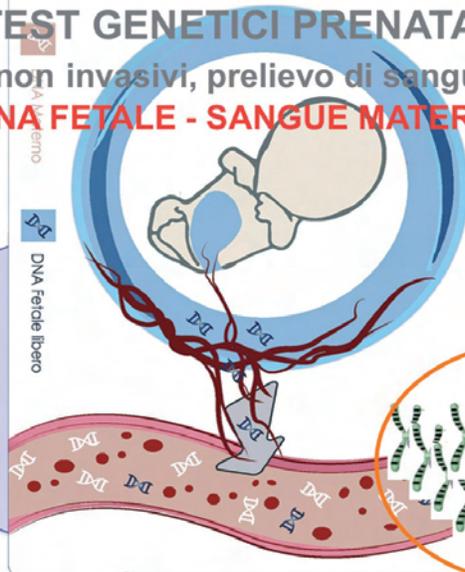
TEST GENETICI PRENATALI



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

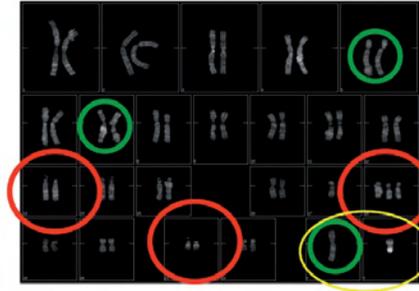
TEST GENETICI PRENATALI non invasivi, prelievo di sangue DNA FETALE - SANGUE MATERNO

Fetal Fraction	Expected ratio for Trisomy
2-4%	1.02
10%	1.05
20%	1.10
40%	1.20



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

**Test Prenatale
Non Invasivo.
Malattie genetiche:
frequenti, gravi.**



Ricerca su DNA fetale
Trisomie frequenti e gravi
Presenti dopo la 10^a settimana

PrenatalSafe[®]
Harmony[™]
PRENATAL TEST



Sopravvivenza.

TRISOMIA 21	1/750	1a 88%	10a 82%
TRISOMIA 18	1/2000	1a 5%	1a 1%
TRISOMIA 13	1/5000	1a 10%	10a 0
XXX,X0,XXY,XXY	1/500		

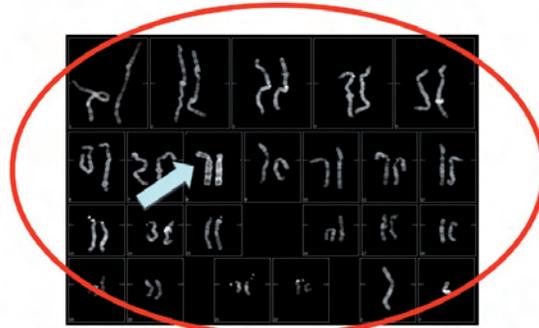
Malattie genetiche frequenti e gravi:

**Ricerca su DNA
materno**

FIBROSI CISTICA	1/2500	40a 50%	
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE	1/10000	SMA1 2a 5%	SMA2 20° 70% SMA3 adulta
RITARDO MENTALE FRAXA	1/5000	adulta	

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

DNA
Fetale nel
Plasma
Materno

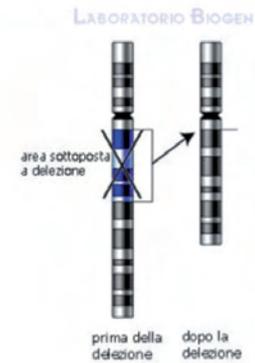
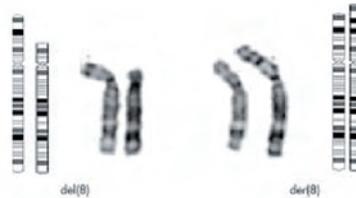


Anomalie Cromosomiche, trisomie e anomalie struttura
Cariotipo molecolare. 46 cromosomi

DELEZIONI	0,30‰ (1/3000)	1° 90%	10° >50%
DUPLICAZIONI	0,15 ‰ (1/6000)	1° 90%	10° >50%

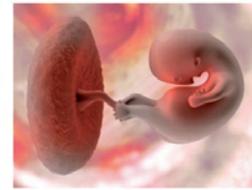
PrenatalSafe®

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.





NIPT DNA fetale in sangue materno



PrenatalSafe

Casi di Anomalie Cromosomiche	%o prevalenza EU	Validazione clinica	cffDNA Sangue materno		cffDNA Sangue materno		DNA fetale placenta	Liquido Amniotico
			SP	PPV	SN	NPV	Accuratezza%	Accuratezza%
Totale	4,4							
T21 T18 T13	3,1	casi > 72000	99,9 99,9 99,9	99 99 82	99,5 99,9 99,9	99 99 99	99,96 99,87 99,92	100

XXX,XXY,XYX,X	0,6	casi > 72000	99,8- 99,9	99-80	100 -98	100
---------------	-----	--------------	---------------	-------	------------	-----

SP	PPV	SE	NPV
----	-----	----	-----

PrenatalSafe

Anomalie > 10Mb	0,4	casi > 72000	99,9	55,6	99- 100	100
-----------------	-----	--------------	------	------	------------	-----



Falsi positivi > anomalia che non c'è
Falsi negativi > tutto bene ma non è vero

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Ricerca anomalie fetali con cffDNA: performances

	Falsi +	Falsi -	Prevalenza patologia	Prevalenza popolazione
T21,18,13	12 ↑ 6000	3 ↑ 24000		72000
<u>Crom X e Y</u>	17 ↑ 4500	1 ↑ 72000	99,99/100	72000
Delezioni	16 ↑ 4500	1 ↑ 72000	99,99/100	72000



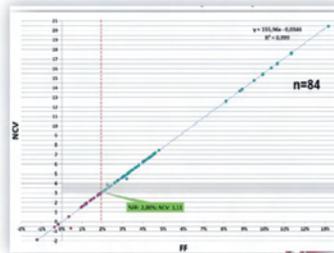
Falsi positivi >
anomalia che non c'è

Falsi negativi >
tutto bene ma non è vero

Ricerca anomalie cromosomi con cffDNA



Trisomie & Cario **analisi diretta del cariotipo molecolare fetale** SAFER SCORE



RISULTATO NEGATIVO.

L'analisi del DNA fetale libero (cffDNA) eseguita sul campione biologico in esame **NON HA RILEVATO** aneuploidie o alterazioni cromosomiche strutturali, nei limiti di risoluzione della metodica.

Sesso fetale: Maschio.

Frazione fetale: 10%

Rischio di risultati Falsi Negativi: <0.1%

L'analisi del DNA fetale libero (cffDNA) eseguita sul campione biologico in esame **HA RILEVATO una SOSPETTA DUPLICAZIONE del braccio corto del cromosoma 12.**

Non sono state rilevate aneuploidie o alterazioni cromosomiche strutturali a carico di altri cromosomi, nei limiti di risoluzione della metodica.

Sesso fetale: Femmina.

Frazione fetale: 11%

Valore Predittivo Positivo (PPV): 61.54%

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



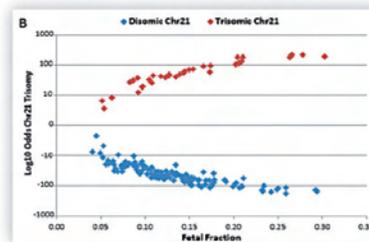
Ricerca anomalie cromosomi con cffDNA

Harmony™
PRENATAL TEST

VANADIS®

Trisomie

elaborazione del rischio con età, peso e altezza
indicazione di rischio



Risultati del test		Percentuale fetale di cfDNA: 20%	
CROMOSOMA	RISULTATO	PROBABILITÀ	RACCOMANDAZIONI
Trisomia 21 (T21)	Rischio Basso	Inferiore a 1/10.000 (0,01%)	Rivedere i risultati con la paziente
Trisomia 18 (T18)	Rischio Basso	Inferiore a 1/10.000 (0,01%)	Rivedere i risultati con la paziente
Trisomia 13 (T13)	Rischio Basso	Inferiore a 1/10.000 (0,01%)	Rivedere i risultati con la paziente
Analisi Y	Feto Femminile	Superiore a 99/100 (99%)	Rivedere i risultati con la paziente

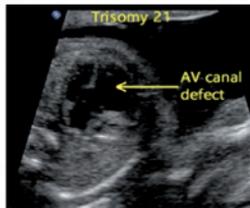
Risultati del test		Percentuale fetale di cfDNA: 9,7%	
CROMOSOMA	RISULTATO	PROBABILITÀ	RACCOMANDAZIONI
Trisomia 21 (T21)	Rischio Alto	21/100 (21%)	Consulenza genetica e test supplementari
Trisomia 18 (T18)	Rischio Basso	Inferiore a 1/10.000 (0,01%)	Rivedere i risultati con la paziente
Trisomia 13 (T13)	Rischio Basso	Inferiore a 1/10.000 (0,01%)	Rivedere i risultati con la paziente

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Ricerca trisomie fetali con cffDNA: performances

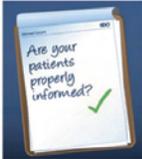
	Falsi +	Veri +	Falsi -	Prev-coorte /10000	Prev-popolaz /10000	Casi coorte
T21			2	120	15	72000
T18			1	30		72000
T13			0	13	0,6	7



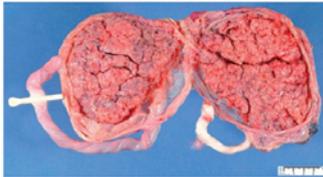
Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Fetal Aneuploidy Detection with cffDNA Gravidanze multiple

DNA Fetale nel Plasma
Materno



Twins/multiple	
2 max	Valore di rischio distribuito
regular	No sex, no identificazione feto affetto
IVF	No sex, no identificazione feto affetto
Oocytes etero	No sex, no identificazione feto affetto
Sensitivity T21*	93.7% (FN/tested popul. 0.6%)
Specificity T21*	99.8% (FPR 0.23%)
DNA fetal fraction	m 7,4% (12% single)
*Gil M et al 2015	Ultrasound Obstet Gynecol 45, 249



Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

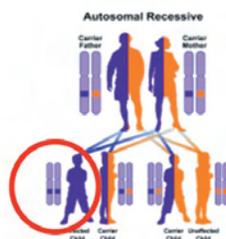
PluriGenTEST™

Test Prenatale Non Invasivo. Malattie genetiche: frequenti, gravi.

Ricerca su DNA
di mamma/genitori > portatore sano.
Test diagnostico

Ricerca portatori malattie mendeliane ereditarie

Fibrosi Cistica	port. 1/25	malati 1/2500	sensib. 90%
Ritardo mentale FRAXA	port. 1/260	1/1250M	99%
Atrofia Muscolare Spinale	port. 1/50	malati 1/10000	93%
	port. 1/40	ER malati 1/6400	



Rischio residuo feto affetto

	FC	SMA
???? / ????	1/2500	1/10000
Neg 1 / ????	1/10000	1/100 000
Neg 1 / Neg 1	1/40000	1/1 000 000

FC
Fibrosi Cistica



SMA
Atrofia Muscolare Spinale



FRAXA
Ritardo Mentale



ritardo mentale: IQ tra 20 e 70

- deficit di memoria a breve termine di informazioni complesse
- ritardo nel linguaggio
- ridotte abilità visuo-spaziali
- ipersensibilità agli stimoli
- iperattività con deficit di attenzione
- comportamento autistico
- Macrocefalia con fronte, mento e orecchie sporgenti
- Macroorchidismo (<30ml) dopo la pubertà
- Anomalie connettivali: prolasso della mitrale, lassità articolare, piede piatto
- Disturbi ipotalamici?

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

PluriGen TEST™

Test Prenatale Non Invasivo. Malattie genetiche: 300 geni

Ricerca su DNA
di mamma/genitori
>
portatore sano.
Test diagnostico

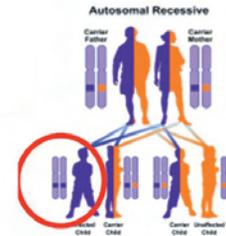
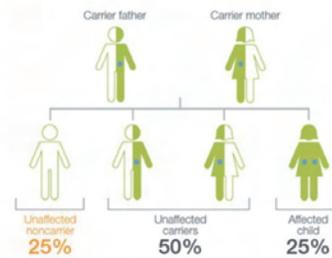
genescreen®

La genomica di nuova generazione

Negli ultimi anni, gli straordinari progressi conseguiti nel settore della genomica e delle biotecnologie hanno posto le basi per leggere e comprendere le informazioni contenute nel nostro DNA, il **genoma**. In particolare le **nuove tecnologie di sequenziamento, Next Generation Sequencing (NGS)**, ci permettono oggi di accedere alla sequenza del nostro DNA in modo più facile ed efficace, fornendo una valutazione approfondita dell'informazione genetica di ogni singolo individuo.

Ogni persona nasce, infatti, con caratteristiche genetiche che la differenziano dagli altri e che la rendono unica. Mentre la maggior parte delle differenze nella sequenza del DNA tra persone diverse è innocua, alcuni cambiamenti, definiti **mutazioni genetiche**, possono alterare la funzionalità genomica e rendere quella persona portatrice di una specifica malattia genetica trasmissibile ai propri figli.

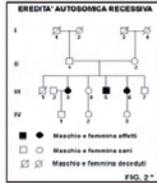
I portatori di malattie genetiche sono tipicamente individui sani, completamente privi di sintomi ed inconsapevoli di essere a rischio di trasmettere tale "errore" del DNA ai figli.



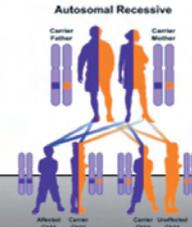
Il test GeneScreen® Easy

GeneScreen® Easy è un test diagnostico, sviluppato da GENOMA Group, che permette di eseguire un'analisi multipla di **oltre 600 malattie genetiche ereditarie**, tra cui quelle più frequenti nella popolazione italiana, come la Fibrosi Cistica, l'Anemia Falciforme, la Talassemia, la Sordità Ereditaria.

Test
Prenatale
Non
Invasivo



PluriGenTEST™



Ricerca portatori malattie mendeliane

Fibrosi Cistica	90% sensibilità (rischio residuo 1/95)
Atrofia muscolare spinale	93% sensibilità
Sordità NS	90% sensibilità (rischio residuo 1/350)
Ritardo mentale FRAXA	99% sensibilità

Probabilità feto affetto malattie mendeliane recessive

	Fibrosi Cistica	SMA
???? / ????	$(1/25 \times 1/25 \times 1/4)$ 1/2500	$(1/50 \times 1/50 \times 1/4)$ 1/10000
Neg 1 / ????	$(1/25 \times 1/4 \times 1/25 \times 1/4)$ 1/10000	$(1/50 \times 1/10 \times 1/50 \times 1/4)$ 1/100 000
Neg 1 / Neg 1	$(1/25 \times 1/4 \times 1/25 \times 1/4 \times 1/4)$ 1/40000	$(1/50 \times 1/10 \times 1/50 \times 1/10 \times 1/4)$ 1/1 000 000
Etero / ????	$(1 \times 1/25 \times 1/4)$ 1/100	$(1 \times 1/50 \times 1/4)$ 1/200
Etero / Neg 1(75)	$(1 \times 1/25 \times 1/4 \times 1/4)$ 1/400	Etero /Neg 1(93) $(1 \times 1/50 \times 1/12 \times 1/4)$ 1/2400
Etero / Neg 2(90)	$(1 \times 1/25 \times 1/10 \times 1/4)$ 1/1000	
Etero / Neg 3(95)	$(1 \times 1/25 \times 1/20 \times 1/4)$ 1/2000	
Etero / Neg 4(99)	$(1 \times 1/25 \times 1/100 \times 1/4)$ 1/10000	
Etero / Etero	1/4	1/4

Mutazioni: Neg 1(37), Neg3 (139-152), Neg4 (intero gene)

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening



Anomalia	Anomalia ‰ nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie SMA, sordità, talassemia	0,5	100 92-99	
Malattie genetiche non ereditarie	<0,01-0,4	>95 >70	

PRENATAL
EASY



PrenatalSafe®

VANADIS®



PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

Fibrosi Cistica 99%
 Ritardo mentale PRAXA 99%
 Atrofia Muscolare Spinale 99%



Anomalie	Anomalie %o nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie sordità, talassemia	0,5	100 92-99	
Malattie genetiche non ereditarie	<0,01-0,4	>95 >70	

PluriGenTEST™

PRENATAL EASY



PluriGenTEST™

Property of
 Lamberto Camurri Ph.D.



Fibrosi Cistica 99%
 Ritardo mentale FRAXA 99%
 Atrofia Muscolare Spinale 99%



Prenatal screening

Anomalie	Anomalie /100 nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare comprese T21,18,13	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie sordità, talassemia	0,5	100 92-99	
Malattie genetiche non ereditarie	<0,01-0,4	>95 >70	

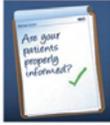
PluriGenTEST™

PRENATAL
EASY

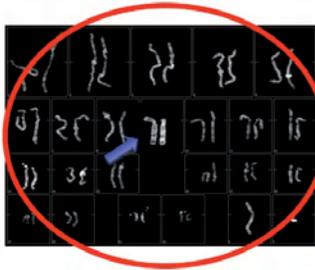


PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening



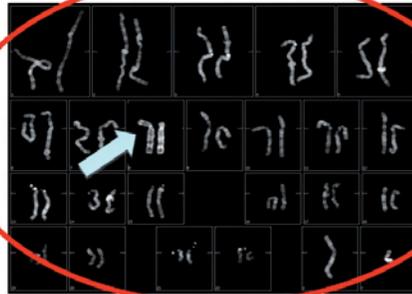
Anomalia	Anomalia ‰ nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare comprese T21,18,13	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie sordità, talassemia, 300 geni	2,5	100 92-99	
Malattie genetiche non ereditarie	<0,01-0,4	>95 >70	



PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

DNA
Fetale nel
Plasma
Materno



Anomalie Cromosomiche, trisomie e anomalie struttura
46 cromosomi

Sopravvivenza. 1anno, 10 anni

DELEZIONI	0,30‰ (1/3000)	1° 90%	10° >50%
DUPLICAZIONI	0,15 ‰ (1/6000)	1° 90%	10° >50%



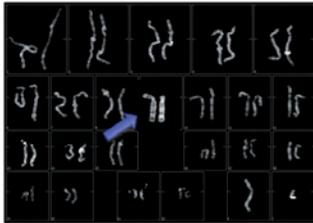
 PrenatalSafe®

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

Fibrosi Cistica 90%
Ritardo mentale PRAXA 99%
Atrofia Muscolare Spinale 90%



Sordità Neurosensoriale 90%

Anomalie	Anomalie %o nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie Genescreen 300	2,5	100 92-99	
Malattie genetiche Genesafe denovo	<0,01-0,4	>95 >70	

PluriGenTEST™

PRENATAL EASY

plus

genescreen

GeneSafe™

PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

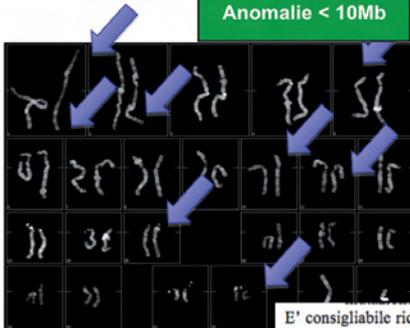
La analisi cfDNA delle microdelezioni (<10Mb) ricerca una serie di sindromi rare con una sensibilità clinica fra il 50 e il 95%.

L'analisi è consigliata come indagine di secondo livello in concomitanza con finding ecografici e consulenza genetica.

plus



Casi di Anomalie Cromosomiche	Popolazione EU	‰o prevalenze	% Anomalie Cromosomiche
Totale	10323	4,4	
Anomalie cromosomiche strutt.	1737	0,7	17 (40<10)
Anomalie < 10Mb			3



Sindrome da microdelezione	Regione cromosomica	Prevalenza (alla nascita)
Sindrome di DiGeorge	delezione 22q11.2	1/2.000 - 1/4.000
Sindrome Cri-du-chat	delezione 5p15.3	1/15.000 - 1/50.000
Sindrome di Prader-Willi	delezione 15q11.2	1/25.000
Sindrome Angelman	delezione 15q11.2	1/10.000 - 1/20.000
Sindrome da delezione 1p36	delezione 1p36	1/5.000 - 1/10.000
Sindrome di Wolf-Hirschhorn	delezione 4p16.3	1/20.000 - 1/50.000
Sindrome di Jacobsen	delezione 11q23-q24.3	1/100.000
Sindrome di Langer-Gledion	delezione 8q24.11-q24.13	1/200.000
Sindrome di Smith-Magenis	delezione 17p11.2	1/15.000 - 1/25.000

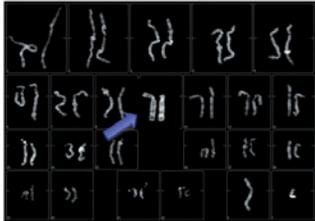
E' consigliabile ricorrere all'utilizzo del PrenatalSafe® Karyo Plus solo in determinati contesti clinici (esempio dubbi ecografici suggestivi di sindrome da microdelezione cromosomica) per i quali risulta giustificato un approfondimento diagnostico di secondo livello.

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

Fibrosi Cistica 30%
 Ritardo mentale FRAXA 99%
 Atrofia Muscolare Spinale 93%



Anomalia	Anomalia ‰ nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie Genescreen 300	2,5	100 92-99	
Malattie genetiche Genesafe denovo	<0,01-0,4	>95 >70	

PluriGenTEST™

PRENATAL
EASY

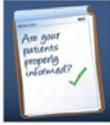
plus

genescreen

GeneSafe

PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

Malattie genetiche	Anomalie %	Specificità Sensibilità BIOLOGICA	Specificità Sensibilità TECNICA	Anomalie % tot
Malattie genetiche non ereditarie	<0,01-0,4	>95 >70	>95 >70	



GENE	MALATTIE SINDROMICHE	GENE	PATOLOGIE SCHELETRICHE
IAG1	Sindrome di Alagille 1/70000	COL2A1	Accondrogesi tipo 2 1/25000
CHD7	Sindrome di CHARGE 1/15000		Accondroplasia
HDAC8	Sindrome di Cornelia de Lange tipo 5 1/50000 Se 50%		Sindrome CATSHL
NIPBL	Sindrome di Cornelia de Lange tipo 1	FGFR3	Sindromi Croston con acanthosis nigricans
MCP2	Sindrome di Rett 1/30000 Se bassa		Ipocondroplasia
NSD1	Sindrome di Sotos tipo 1		Sindrome di Nussen
ASXL1	Sindrome di Bohring-Opitz		Displasia tanatofora, tipo I
SETBP1	Sindrome di Schinzel-Giedion		Displasia tanatofora, tipo II
	SINDROME DI NOONAN		Sindrome di Ehlers-Danlos, classica
BRAF	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 1 1/2500 Se 50-75%	COL1A1	Sindrome di Ehlers-Danlos, tipo VIIA
CDL	Sindrome di Noonan simile con ipercalcemia ipomonoica giovanile		Osteogenesi imperfetta, tipo I
KRAS	Sindrome di Noonan (cancers)		Osteogenesi imperfetta, tipo II
MAP2K1	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 2		Osteogenesi imperfetta, tipo III
MAP2K2	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 4		Osteogenesi imperfetta, tipo IV
NRAS	Sindrome di Noonan 6/cancers		Sindrome di Ehlers-Danlos, forma cardiaco-vascolare
PTPN11	Sindrome Noonan 1/ Sindrome di LEOPARD/cancers		Sindrome di Ehlers-Danlos, tipo VIII
PTPN11	Leucemia mielomonocitica giovanile (JMML)		Osteogenesi imperfetta, tipo II
RAF1	Sindrome di Noonan 5/ Sindrome di LEOPARD 2		Osteogenesi imperfetta, tipo III
RIT1	Sindrome di Noonan 8		Osteogenesi imperfetta, tipo IV
SHOC2	Sindrome Noonan-simile con capelli caduchi in fase anagen		CRANIOSINOSTOSI
SOS1	Sindrome di Noonan 4		Sindrome di Arley-Baker senza anomalie genitali o disordini della steroidogenesi
			Sindrome di Apert
			Sindrome di Pfeiffer 1/2500 Se 20%
			Sindromi Jackson-Wass
			Sindrome di Pfeiffer, tipo 1
			Sindrome di Pfeiffer, tipo 2
			Sindrome di Pfeiffer, tipo 3

erty of
nberto Camurri Ph.D.



Prenatal screening

- Short stature**
- Up to 83% of patients have short stature⁶
- Characteristic facial features¹**
- Broad, high forehead
 - Hypertelorism
 - Low-set, posteriorly rotated ears with a thick helix
 - High-arched palate
 - Micrognathia
 - High-arched eyebrows⁶
 - Short neck with excess nuchal skin
 - Epicanthal folds
 - Downward-slanting palpebral fissures
 - Low posterior hairline



Malattie genetiche

Anomalie %00

1-0,4

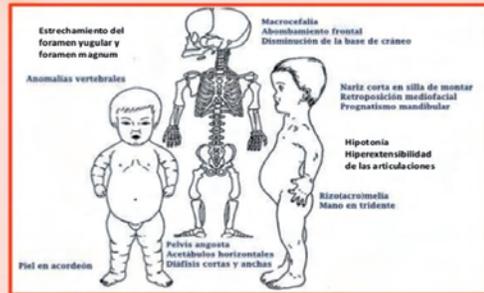
Congenital heart defects⁴

- Pulmonary valve stenosis
- Hypertrophic obstructive cardiomyopathy
- Atrial and ventricular septal defects
- Persistent ductus arteriosus

Other clinical manifestations⁴⁻⁶

- Pectus carinatum, pectus excavatum
- Scoliosis
- Cryptorchidism
- Lymphatic abnormalities
- Coagulopathy
- Cognitive/learning disabilities
- Ophthalmological issues
- Arnold-Chiari malformation
- Seizures

SINDROME DI NOONAN	
BRAF	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 1
CEB1	Sindrome di Noonan-simile con o senza leucemia mielomonocitica giovanile
KNAS	Sindrome di Noonan /cancers
MAP2K1	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo e 3
MAP2K2	Sindrome Cardio facio cutanea (CFS) tipo 4
NRAS	Sindrome di Noonan /cancers
PTPN11	Sindrome Noonan 1/ Sindrome di LEOPARD/cancers
PTPN11	Leucemia mielomonocitica giovanile (JMML)
RAF1	Sindrome di Noonan 5/Sindrome di LEOPARD 2
RIT1	Sindrome di Noonan 8
SHOC2	Sindrome Noonan-simile con capelli caduchi in fase anagen
SOS1	Sindrome di Noonan 4



GENE

COL2A1

- Acondroplasia
- Sindrome CATSHL
- Síndromes Crowson con acanthosis nigricans
- Ipocondroplasia
- Síndrome di Muenke

FGFR3



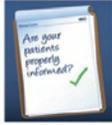
Síndrome di Pfeiffer, tipo 2

Síndrome di Pfeiffer, tipo 3

COL1A1

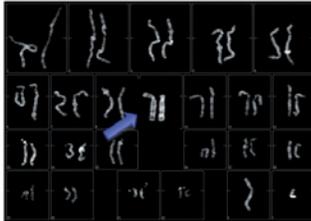
COL1A2

FGFR2



Prenatal screening

Fibrosi Cistica 99%
 Ritardo mentale FRAXA 99%
 Atrofia Muscolare Spinale 99%



Anomalia	Anomalie ‰ nati	Specificità Sensibilità	Costo
Genetiche ereditarie	1,5	100 75-99	
Trisomie 21,18,13	3,1	99,7-99,9 98,4-99,5	
Cariotipo molecolare	4,1	99,9 (ppv 61) 99	
Microdelezioni 9 sindromi		- 50-95	
Altre malattie genetiche ereditarie Genescreen 300	2,5	100 92-99	
Malattie genetiche Genesafe denovo	<0,01-0,4	>95 >70	

PluriGenTEST™

PRENATAL
EASY

plus

genescreen

GeneSafe

PluriGenTEST™

Property of
Lamberto Camurri Ph.D.

PluriGenTEST™



Poliambulatorio Privato
CENTRO PALMER S.r.l.

Ultrasound Obstet Gynecol 2012; 39: 384–388
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/ug.11092

Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011

A. NOVELLI¹, F. R. GRATTI², L. BALLARATI³, L. BERNARDINI⁴, D. BIZZOCO⁴, L. CAMURRI⁵, R. CASALONE⁶, L. CARDARELLI⁷, P. CAVALLI⁸, R. CICCONE⁹, M. CLEMENTI¹⁰, L. DALPRÀ¹¹, M. GENTILE¹², G. GELLI¹³, P. GRAMMATICO¹⁴, M. MALACARNE¹⁵, A. M. NARDONE¹⁶, V. PECILE¹⁷, G. SIMONI², O. ZUFFARDI⁹ and D. GIARDINO³

¹Mendel Laboratory, Casa Sollievo della Sofferenza Hospital, IRCCS, San Giovanni Rotondo, Italy; ²TOMA Advanced Biomedical Assays S.p.A., Busto Arsizio (VA), Italy; ³Laboratory of Medical Cytogenetics and Molecular Genetics, IRCCS Istituto Oncologico Italiano, Milan, Italy; ⁴Artemisia Fetal-Maternal Medical Centre, Rome, Italy; ⁵Genetics Department, ICDI Rete Diagnostica Italiana, Padova, Italy; ⁶SS Dipartimentale Genetica Azienda Osp. Universitaria Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese, Italy; ⁷Laboratorio Citotest, Consorzio GENIMED, Sarmeola di Rubano, Padova, Italy; ⁸Servizio di Genetica, AO Istituti Ospitalieri, Cremona, Italy; ⁹Biologia Generale e Genetica Medica, Università degli Studi di Pavia, Pavia, Italy; ¹⁰U.O. Complessa di Genetica Clinica, Dipartimento di Pediatria, Università di Padova, Padova, Italy; ¹¹Dipartimento di Neuroscienze e Biotecnologie Mediche, Università di Milano-Bicocca, Monza, Italy; ¹²Dipartimento di Genetica Medica, Ospedale Di Venere, ASL Bari, Italy; ¹³U/OSD di Genetica Medica, Centro per la Salute della Donna S. Anna, ASL Rome, Italy; ¹⁴Medical Genetics, Department of Molecular Medicine, Sapienza University, San Camillo-Forlanini Hospital, Rome, Italy; ¹⁵Laboratorio di Genetica, Ospedale Galliera, Genova, Italy; ¹⁶Laboratory of Medical Genetics, Fondazione PTV-Policlinico Tor Vergata, Rome, Italy; ¹⁷S.C. Laboratorio di Genetica Medica, IRCCS Burlo Garofalo, Trieste, Italy

KEYWORDS: microarray; position statement; prenatal diagnosis; SIGU; ultrasound fetal abnormalities

DUEinUNO è una lente di ingrandimento sul cariotipo: analisi cromosomica al microscopio e un oligo array insieme per la nuova citogenetica.

PGT3™oligo15. Easychip Agilent (Custom CHIP-on-chip/DNA Methylation, 8x15k) Microarray genomico di nuova generazione per il cariotipo molecolare.

Aumenta la sensibilità del cariotipo convenzionale.

Analizza lo sbilanciamento del numero di copie di sequenze genomiche ad una risoluzione di molto superiore a quella possibile con le tradizionali tecniche di citogenetica su metafasi.

L'indagine fornisce, perciò, in tempi rapidi ed in maniera accurata informazioni relative ad una serie di riarrangiamenti non identificabili con le indagini cromosomiche tradizionali come regioni sindromiche associate a patologie note di microdelezione e micro duplicazione incluse quelle che coinvolgono le regioni subtelomeriche (cioè le estremità dei cromosomi, spesso

DUEinUNO is a magnifying glass on the karyotype: chromosomal analysis under the microscope and an oligo array together for new cytogenetics.

PGT3™oligo15. Easychip Agilent (Custom CHIP-on-chip/DNA Methylation, 8x15k) Next generation genomic microarray for molecular karyotyping.

Increases the sensitivity of conventional karyotyping.

It analyzes the copy number imbalance of genomic sequences at a resolution much higher than that possible with traditional metaphase cytogenetic techniques.

The investigation therefore provides rapidly and accurately information relating to a series of rearrangements not identifiable with traditional chromosomal investigations as syndromic regions associated with known microdeletion and microduplication pathologies including those involving the subtelomeric regions (i.e. the ends of chromosomes, often the site of anomalies related to mental retardation).

sede di anomalie correlate con il ritardo mentale). PGT3™ è progettata per ridurre al minimo il riscontro di CNV, soprattutto di piccole dimensioni, che sono presenti nella popolazione generale come varianti benigne, cioè senza significato clinico, o di significato ignoto. In assenza di segni ecografici anomali o altre condizioni di aumentato rischio genetico del feto, questo fatto può ridurre il valore prognostico del test.

Easychip Agilent (Custom ChIP-on-chip/DNA Methylation, 8x15k) (15k) è una piattaforma progettata per integrare la analisi cromosomica prenatale: 1) identifica CNV lungo il genoma con risoluzione di 3-4 Mb (4-5 volte maggiore della analisi cromosomica) riducendo dal 26% al 3% le CNV senza significato clinico o di significato ignoto. 2) Analizza le regioni subtelomeriche a una maggiore risoluzione (300-500 kb) per la ricerca di eventuali sbilanciamenti criptici 3) Analizza alla risoluzione massima di 200-250 kb le microduplicazioni o delezioni nelle regioni sindromiche associate a 43

PGT3™ is designed to minimize the occurrence of CNVs, especially small ones, which are present in the general population as benign variants, i.e. without clinical significance, or of unknown significance. In the absence of abnormal ultrasound signs or other conditions of increased genetic risk of the fetus, this fact may reduce the prognostic value of the test.

Easychip Agilent (Custom ChIP-on-chip/DNA Methylation, 8x15k) (15k) is a platform designed to integrate prenatal chromosomal analysis: 1) identifies CNVs along the genome with a resolution of 3-4 Mb (4-5 times greater than chromosomal analysis) reducing CNVs without clinical significance or of unknown significance from 26% to 3%. 2) Analyze the subtelomeric regions at a higher resolution (300-500 kb) to search for any cryptic imbalances 3) Analyze at the maximum resolution of 200-250 kb the microduplications or deletions in the syndromic regions associated with 43 syndromes known from microdup/del .

References/Glossary.

sindromi note da microdup/del.

Riferimenti/Glossario.

Array-CGH. Si stima che il 3% circa dei neonati sia affetto da un difetto congenito alla nascita che non può essere controllabile con indagini di laboratorio e/o strumentali e che dipende da cause genetiche (cromosomiche, geniche, etc.) o non genetiche (farmaci, infezioni, etc.). Questa percentuale di rischio è generalizzabile a tutte le gravidanze, ma può cambiare in base all'età della coppia al momento del concepimento o a fattori ereditari, spesso desumibili dalla storia familiare, nei confronti dei quali possono essere effettuate indagini specifiche (ad es. analisi cromosomiche e molecolari, indagini ecografiche, ecc.).

L'indagine citogenetica prenatale ha lo scopo di accertare la presenza di anomalie cromosomiche numeriche e/o strutturali. I preparati cromosomici non consentono di individuare perdita o acquisizione di materiale genetico (a causa di delezioni, duplicazioni, inserzioni, traslocazioni,

Array-CGH. It is estimated that approximately 3% of newborns are affected by a congenital birth defect which cannot be controlled with laboratory and/or instrumental investigations and which depends on genetic (chromosomal, genetic, etc.) or non-genetic (drugs, infections, etc.). This risk percentage can be generalized to all pregnancies, but can change based on the age of the couple at the time of conception or on hereditary factors, often deducible from family history, for which specific investigations can be carried out (e.g. chromosomal analysis and molecular, ultrasound investigations, etc.).

The prenatal cytogenetic investigation aims to ascertain the presence of numerical and/or structural chromosomal anomalies. Chromosome preparations do not allow the identification of loss or acquisition of genetic material (due to deletions, duplications, insertions, translocations, etc.) smaller than 10-15 Megabases. The criteria used for the cytogenetic investigation are those recommended

ecc.) di dimensioni inferiori alle 10-15 Megabasi. I criteri utilizzati per l'indagine citogenetica sono quelli raccomandati dalle Linee Guida della Società Italiana di Genetica Umana e del Gruppo Europeo di Studio sulla Diagnosi Prenatale.

Tra le malattie genetiche, le cosiddette "sindromi da microdelezione / microduplicazione" sono costituite da un gruppo di patologie causate da sbilanciamenti genomici, ovvero microduplicazioni o microdelezioni di sequenze di DNA (CNVs: Copy Number Variations), che si associano a quadri clinici distinti. Questi sbilanciamenti non sono individuabili mediante l'analisi del cariotipo al microscopio, ma con un'analisi genomica ad alta risoluzione che offre un aumento del potere risolutivo fino a cento volte. La tecnica aCGH è basata sulla ibridazione simultanea e competitiva del campione di DNA-test e di un DNA di controllo, marcati con fluorocromi diversi, su un supporto solido (microarray) costituito da una serie di sequenze di DNA che, nell'insieme, rappresentano l'intero genoma, comprese

by the Guidelines of the Italian Society of Human Genetics and the European Study Group on Prenatal Diagnosis.

Among genetic diseases, the so-called "microdeletion/microduplication syndromes" are made up of a group of pathologies caused by genomic imbalances, i.e. microduplications or microdeletions of DNA sequences (CNVs: Copy Number Variations), which are associated with distinct clinical pictures. These imbalances are not identifiable through karyotype analysis under the microscope, but with high-resolution genomic analysis which offers an increase in resolving power of up to a hundred times. The aCGH technique is based on the simultaneous and competitive hybridization of the test DNA sample and a control DNA, labeled with different fluorochromes, on a solid support (microarray) made up of a series of DNA sequences which, together, represent the entire genome, including the subtelomeric regions, often the site of anomalies correlated with mental retardation (Hochstenbach, R., E. van Binsbergen, J. Engelen, A. Nieuwint, A. Polstra, P.

le regioni subtelomeriche, spesso sede di anomalie correlate con il ritardo mentale (Hochstenbach, R., E. van Binsbergen, J. Engelen, A. Nieuwint, A. Polstra, P. Poddighe, et al. 2009. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur. J. Med. Genet.* 52:161-169. Howell, K. B., A. J. Kornberg, A. S. Harvey, M. M. Ryan, M. T. Mackay, J. L. Freeman, et al. 2013. High resolution chromosomal microarray in undiagnosed neurological disorders. *J. Paediatr. Child Health* 49:716-724.). Ne sono derivate indicazioni operative da parte di organismi scientifici internazionali (Kearney, H. M., S. T. South, D. J. Wolff, A. Lamb, A. Hamosh, and K. W. Rao. 2011a. American College of Medical Genetics recommendations for the design and performance expectations for clinical genomic copy number microarrays intended for use in the postnatal setting for detection of constitutional abnormalities. *Genet. Med.* 13:676-679). In tal modo si prevede da 2 a 6% di aumento della

Poddighe, et al. 2009 Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur. J. Med. Genet.* 52:161-169. Howell, K. B., A. J. Kornberg, A. S. Harvey, M. M. Ryan, M. T. Mackay, J. L. Freeman, et al. 2013. High resolution chromosomal microarray in undiagnosed neurological disorders. *J. Paediatr. Child Health* 49:716-724.). This has resulted in operational recommendations from international scientific bodies (Kearney, H. M., S. T. South, D. J. Wolff, A. Lamb, A. Hamosh, and K. W. Rao. 2011a. American College of Medical Genetics recommendations for the design and performance expectations for clinical genomic copy number microarrays intended for use in the postnatal setting for detection of constitutional abnormalities. *Genet. Med.* 13:676-679). In this way, a 2 to 6% increase in the identification of deletions/duplications is expected, on the other hand many CNVs are highlighted, especially small ones, present in the general population as benign variants, i.e. without clinical significance, or of unknown

identificazione di delezioni/duplicazioni, per contro si evidenziano molte CNVs, soprattutto di piccole dimensioni, presenti nella popolazione generale come varianti benigne, cioè senza significato clinico, o di significato ignoto. A fronte delle circa 6.000 malattie genetiche note, l'analisi mediante array-CGH non fornisce informazioni sulle malattie da mutazione di singoli geni.

La comunità scientifica internazionale ha ampiamente discusso sui vantaggi e limiti e anche sulla opportunità di utilizzare la tecnica a-CGH in diagnosi prenatale come primo passo in sostituzione del cariotipo (Wapner, R. J., C. L. Martin, B. Levy, B. C. Ballif, C. M. Eng, J. M. Zachary, et al. 2012. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N. Engl. J. Med.* 367:2175-2184; Miller, D. T., M. P. Adam, S. Aradhya, L. G. Biesecker, A. R. Brothman, N. P. Carter, et al. 2010. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am. J. Hum. Genet.* 86:749-764) ma, viste alcune

significanze. Despite the approximately 6,000 known genetic diseases, array-CGH analysis does not provide information on diseases caused by mutation of individual genes.

The international scientific community has widely discussed the advantages and limitations and also the opportunity of using the a-CGH technique in prenatal diagnosis as a first step in replacing the karyotype (Wapner, R. J., C. L. Martin, B. Levy, B. C. Ballif, C. M. Eng, J. M. Zachary, et al. 2012. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N. Engl. J. Med.* 367:2175-2184; Miller, D. T., M. P. Adam, S. Aradhya, L. G. Biesecker, A. R. Brothman, N. P. Carter, et al. 2010. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am. J. Hum. Genet.* 86:749-764) but, given some residual anomalies that only the karyotype can identify, the Cytogenetics Group of the Italian Society of Human Genetics (Novelli, A., F. R. Grati, L. Ballarati, L. Bernardini, D.

residue anomalie che solo il cariotipo può individuare, il Gruppo di Citogenetica della Società Italiana di Genetica Umana (Novelli, A., F. R. Grati, L. Ballarati, L. Bernardini, D. Bizzoco, L. Camurri, et al. 2012. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. Ultrasound Obstet. Gynecol. 39:384-388.) ha definito uno statement integrativo delle due tecniche.

Bizzoco, L. Camurri, et al. 2012. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. Ultrasound Obstet. Gynecol. 39:384-388.) defined an integrative statement of the two techniques.



PluriGenTEST™

GENE.PRO

QUESTO E' IL REPORT CHE VOLETE!

LA VOSTRA GENETICA METABOLICA REGOLA IL COMPLESSO CARBOIDRATI-LIPIDI

LO SCOPO E' MIGLIORARE L'EFFICIENZA DELL'ORGANISMO

LA GENETICA METABOLICA NON PREVEDE RISCHI MALATTIA E NON VI ELENCA

LE BANANE O LE PERE CHE DOVETE MANGIARE PER LE RICETTE CHIEDERETE AL NUTRIZIONISTA

GENE-PERSONA

E' STRUMENTO SEMPLICE, RAPIDO, CHIARO PER ORGANIZZARE CIBO E ATTIVITA' SPORTIVA

IL FASCICOLO ILLUSTRATA TUTTE LE VARIANTI GENETICHE E LO SCHEMA DI INTERAZIONE

Uno degli indicatori della salute di una cellula è lo stato del suo DNA e dei suoi contenitori, i cromosomi, quindi quando questi si fondono insieme o presentano anomalie, possono diventare la fonte di malattie come il cancro e/o processi di invecchiamento. Secondo uno studio condotto da un team guidato da María Blasco, responsabile del gruppo Telomeres e Telomerase, una riduzione prolungata dell'assunzione di cibo nel tempo si traduce in un aumento della lunghezza dei telomeri —le estremità dei cromosomi— nei topi adulti, che ha un effetto protettivo sul DNA e sul materiale genetico. Questi effetti benefici sui cromosomi si traducono in una minore incidenza di cancro e di altre malattie legate all'età. Per realizzare lo studio, i ricercatori hanno utilizzato topi giovani, di soli tre mesi, e hanno ridotto la loro assunzione di kilojoule del 40% prima di osservarli fino alla fine del loro ciclo di vita. “Abbiamo notato che i topi sottoposti a restrizione calorica mostrano un tasso di accorciamento dei telomeri inferiore rispetto a quelli nutriti con una dieta normale”, afferma Blasco. “Questi

One of the indicators of a cell's health is the state of its DNA and containers—the chromosomes—so when these fuse together or suffer anomalies, they can become the source of illnesses like cancer and/or ageing processes. According to a study carried out by a team led by María Blasco, the director of the Spanish National Cancer Research Centre (CNIO) and head of the Telomeres and Telomerase Group, a sustained lowering of food intake over time results in an increase of telomere length—the ends of chromosomes—in adult mice, which has a protective effect on the DNA and genetic material. These beneficial effects on the youth of the chromosomes translate to a lower incidence of cancer and other age-related illnesses. A lower incidence of cancer and better health To carry out the study, researchers used young mice—just three months old—and reduced their kilojoule intake by 40% before observing them until the end of their life cycle. “We see that mice that undergo caloric restriction show a lower telomere shortening rate than those fed with a normal diet,” says Blasco. “These mice therefore have longer

I geni che regolano l'accumulo e il consumo dei grassi sono diversi per ogni individuo e possono essere studiati. Dalle loro informazioni escono messaggi importanti, con i quali si comprende se una persona è predisposta ad accumulare i grassi assunti con la alimentazione ovvero a consumarli in fretta. Le conseguenze sono presto immaginabili specialmente se dallo studio dei geni si può sapere anche se sia più importante la dieta per il raggiungimento della forma ovvero il consumo energetico sportivo, e in più che tipo di dieta e che intensità di esercizio.

Almeno sette sono i geni importanti che svolgono varie funzioni: assorbimento degli acidi grassi, la trasformazione (quindi consumo) delle cellule di adipe, l'utilizzo dei grassi per produzione di energia, l'uso dei grassi per la regolazione termica del corpo, infine geni che rendono sensibile l'organismo al deposito di grassi rispetto a dieta e/o esercizio fisico. Questi geni, presenti in ogni individuo, hanno ciascuno due forme o varianti diverse, legate a alta o bassa efficienza

The genes that regulate the accumulation and consumption of fat are different for each individual and can be studied. Important messages emerge from their information, with which we understand whether a person is predisposed to accumulating the fats consumed through diet or consuming them quickly. The consequences are soon imaginable, especially if from the study of genes we can also know whether diet is more important for achieving fitness or sports energy consumption, and also what type of diet and what intensity of exercise.

There are at least seven important genes that perform various functions: absorption of fatty acids, the transformation (therefore consumption) of fat cells, the use of fats for energy production, the use of fats for the thermal regulation of the body, finally genes that make the body sensitive to fat storage versus diet and/or exercise. These genes, present in every individual, each have two different forms or variants, linked to high or low efficiency for the function for which they are assigned. The observation and combination of

per la funzione a cui sono deputati. La osservazione e la combinazione di queste varianti consente di ottenere un preciso profilo di predisposizione personale nell'ambito dell'accumulo o consumo di grassi e carboidrati. Oltre all'uso del test nel campo della ricerca del benessere e del mantenimento del peso forma, anche nella attività dello sportivo motivato, professionista o dilettante che sia, è importante la conoscenza delle attitudini genetiche al metabolismo dei grassi. Conoscere la efficienza metabolica del proprio organismo sia nell'uso dell'apporto dietetico che dell'esercizio fisico consente di programmare la attività di allenamento e agonistica in modo ottimale, modulando la alimentazione senza incorrere in difetti o eccessi di assunzione di alimenti.

these variants allows us to obtain a precise profile of personal predisposition in the context of the accumulation or consumption of fats and carbohydrates. In addition to the use of the test in the field of research into well-being and maintenance of a healthy weight, knowledge of genetic aptitudes for fat metabolism is also important in the activity of motivated athletes, whether professional or amateur. Knowing the metabolic efficiency of your body both in the use of dietary intake and physical exercise allows you to plan your training and competitive activity in an optimal way, modulating your diet without incurring defects or excesses in food intake.

Non basta l'analisi dei geni, occorre integrare tutti i polimorfismi individuali e tradurli in un profilo personale facilmente utilizzabile.

Tutto ciò si ottiene con professionalità ed esperienza sul campo

GENE PERSONA

unisce le competenze in genetica umana e in fisiologia dello sport professionale

per tradurle nelle necessità della vita normale

abbiamo collaborato con:

soci

SOCIETA' ITALIANA GENETICA UMANA

FASI

Federazione Arrampicata Sportiva Italiana

ATLETI FIS

BOLOGNA CALCIO

PluriGenTEST™

www.plurigentest.it



GENEADVISE
BEST IN GENETICS

 @geneadvise

 @geneadvise

GENE-PERSONA



GENETICA NUTRIZIONE ESERCIZIO FISICO

*-Genetica:
28 geni per la risposta
individuale alla dieta
-regime alimentare
-attività fisica*

*-per il peso forma
-per ottimizzare la qualità
fisica*

Non basta l'analisi dei geni, occorre integrare tutti i polimorfismi individuali e tradurli in un profilo personale facilmente utilizzabile.

Tutto ciò si ottiene con professionalità ed esperienza sul campo

GENE PERSONA

unisce le competenze in genetica umana e in fisiologia dello sport professionale

per tradurle nelle necessità della vita sportiva

abbiamo collaborato con:

soci

SOCIETA' ITALIANA GENETICA UMANA

FASI

Federazione Arrampicata Sportiva Italiana

ATLETI FIS

BOLOGNA CALCIO

PluriGenTEST™

www.plurigentest.it



GENEADVISE
BEST IN GENETICS

 @geneadvise

 @geneadvise

GENE-PERSONA



GENETICA OSSA E MUSCOLI SPORT

-Genetica:

*11 geni per osteogenesi,
massa ossea,
mineralizzazione, forza e
acido lattico*

*-per prevenire rischi di
infortunio*

*-per ottimizzare la qualità
fisica*

GENE.PERSONA

studia 11 geni che regolano l'osteogenesi, la massa ossea, la mineralizzazione dell'osso; la predisposizione muscolare alla forza pura o resistente.

Le differenze dei geni di ogni individuo vengono rivelate da un unico test.

GENE.PRERSONA

rivela se una persona è predisposta a debolezza osteo tendinea e al debole smaltimento dell'acido lattico.

GENE.PERSONA

consente di predisporre alimentazione adeguata alle caratteristiche personali e qualità e intensità di esercizio fisico.

GeneAdvise

ACTN3 is one of two genes that encodes for the highly conserved α -actinin-binding proteins in the skeletal muscles. ACTN3 is expressed in fast twitch muscle fibers while the second gene, ACTN2, is expressed in all skeletal muscle fibers.

ACE, angiotensin converting enzyme

Le varianti ACTN3 CC e ACE DEL favoriscono la forza esplosiva, ma determinano meno doti metaboliche di resistenza allo sforzo.

Le varianti ACTN3 TT e ACE INS (assieme a maggior quantità di ACTN2) hanno maggior doti di resistenza alla forza, maggior protezione al lavoro intenso e prolungato.

NOS3/VEGF sono coinvolti nei processi di vascolarizzazione

GENI CODIFICANO
PROTEINE MUSCOLARI
E VASCOLARIZZAZIONE

GENI CODIFICANO
METABOLISMO OSSEO

RES.F. ACE INS	EXPL.F. ACE DEL	ACTN3/CC	ACTN3/TT	NOS3/TT,CC	VEGF/GG
-------------------	--------------------	----------	----------	------------	---------

basso	no	si	6/14	3/1	1/5
basso	si	si	4/14	2,5/1,5	1/5
bilanciato	si	si	3/14	2,5/1,5	0/5
basso	si	si	3/14	3/1	1/5
bilanciato	no	si	3/14	3,5/0,5	1/5



bilanciato	no	no	3/14	3/1	0/5
basso	no	no	3/14	2,5/1,5	0/5
bilanciato	si	no	3/14	2/2	2/5
bilanciato	si	si	3/14	2/2	0/5
Carboidrati	Esercizio fisico	Acidi grassi	= BMI	Forza esplosiva	Osteo infortunati

Dist/Detect COL1A1/TT	COL1A1/TT	CTR/TT	LRP3/T	MCT1/TT tramoli	VDR BSM/GG
--------------------------	-----------	--------	--------	--------------------	---------------

Collagene R. Calcitonina R. Osteoblasti Trasporto lattato Osteostati calcio
Osteoporosi Massa ossea Acido lattico Mineralizzazione ossea

CONTROLLO DEL PESO. GENETICA, METABOLISMO E ATTIVITA' FISICA
ACTIVE SPORT PERFORMANCE: PREDISPOSIZIONE NEUROMUSCOLARE ALLA FORZA
ACTIVE SPORT INJURY: PREDISPOSIZIONE GENETICA FUNZIONALITA' OSTEOMUSCOLARE**RELAZIONE TECNICA.**

Il test analizza i polimorfismi genetici predisponenti alle funzioni indicate, la valutazione tecnica è eseguita sui pannello dei geni considerati validi e informativi al meglio delle conoscenze scientifiche odierne. Il grado di validazione è indicato per ogni gene (*, **, *** asterischi in crescendo). Le indicazioni prescindono dal grado di eccellenza funzionale raggiunto dal soggetto, condizionata da evidenti fattori epigenetici e ambientali. Le indicazioni sono un contributo alla ottimizzazione del quadro funzionale del soggetto. Powered by Eurofin Genoma Group - Nutrinext

SOGGETTO**WEIGHT CONTROL. METABOLISMO E ATTIVITA' SPORTIVA**

ADIPOq -11391 G-A rs17300539 ADRB1 G389R G-C rs1801253 ADRB2 G16R G-A rs1042713 ADRB3 W64R T-C rs4994
APOA2 -265 C-T rs5082 APOA5 -1131 T-C rs662799 FABP2 A54T G-A rs1799883 FTO T-A rs9939609 FTO C-A rs8050136
FTO C-T rs1121980 FTO T-C rs1421085 FTO T-G rs17817449 GHSR G477A G-A rs572169 Leptin -2548 G-A rs7799039
NPY L7P T-C rs16139 PPARG P12A C-G rs1801282 VEGFA c.-1507 C-G rs2010963

Risultati:

Bilancio metabolico CARBOIDRATI-LIPIDI: BILANCIATO. Scarsa propensione all'anabolismo (accumulo) dei grassi e incremento consistente del consumo dei grassi con esercizio fisico. Il metabolismo dei carboidrati mostra più propensione alla risposta anabolica con la dieta.

ACTIVE SPORT PERFORMANCE

ACE Ins/Del rs4340 (*), ACTN3 R577X C-T rs1815739 (*), NOS3 -786 T-C rs2070744 (*), VEGF G634C C-G rs2010963 (*)
Predisposizione neuromuscolare a FORZA ESPLOSIVA-bassa efficienza metabolica/FORZA RESISTENTE-alta efficienza metabolica.

ACTIVE SPORT INJURY

COL6A4P1 g.15216429 C-T rs7639618 (**), COL1A1 c.104-441 G-T rs1800012 (**), CTR Pro463Leu C-T rs1801197
(**), LRP5 Ala1330Val C-T rs3736228 (*), MCT1 A1470T A-T rs1049434 (**), VDR BsmI intr8 A-G rs1544410 (**)
Predisposizione al difetto/protezione nella funzionalità OSTEO/MUSCOLARE

Risultati:

Rapporto Predisposizione neuromuscolare: FORZA ESPLOSIVA/RESISTENTE: 3/1
Nessuna Predisposizione al difetto nella funzionalità del metabolismo OSTEO (1/5).
Non Mostra Predisposizione all'affaticamento muscolare (0/1)

Conclusioni:

Il paziente mostra scarsa predisposizione all'incremento ponderale dovuto sia al metabolismo lipidico che alla risposta all'esercizio fisico. Mostra maggiore duttilità nel metabolismo dei carboidrati sempre nell'ambito di un bilancio metabolico equilibrato.

Il paziente non mostra predisposizione a difetti di funzionalità osteo articolare e un quadro neuromuscolare con prevalenza di forza esplosiva su forza resistente

GeneAdvise

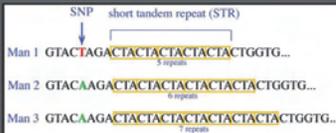
Advisor in Human Genetics

Lamberto Camurri, PhD, PM

Medi Saluser Parma
Mendel Genetica Medica Modena
Fellow Università Tor Vergata Roma-
Istituto Genetica Medica

Centro Cuore Salute Reggio Emilia
FASI Fed. Arrampicata Sportiva Italiana

Crew
Francesca Camurri, BS, PA
Angela Godi Palmi, AA, EA



GENE-PERSONA

GENETICS AND PERSONALIZED MEDICINE PREDICTIVE AND FUNCTIONAL MARKERS

POLYMORPHIC GENES GENETICS AND BODY EFFICIENCY



METHABOLISM, CARBO-LIPIDIC BALANCE, SPORT AND DIET



GeneAdvise

Some technical / scientific information.

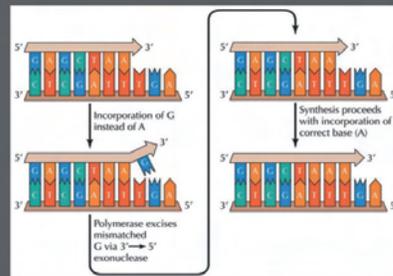
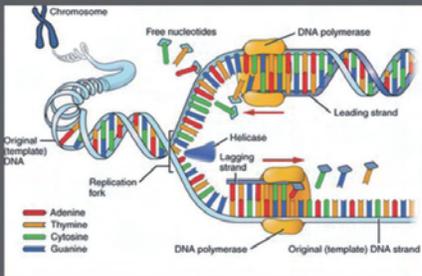
Each gene is present in the cells of the body in two copies (alleles). The same gene can differ from one person to another even for just one base, one letter of its code: SNP (Single Nucleotide Polymorphism) Variations in the sequence of genes can give rise to Variants. Pathogenic variants have harmful effects on the functioning of the gene, even blocking it. Non-pathogenic variants have different frequency in the general population and are associated with differences that modify the function of the gene without compromising it.

Chrom
-osome
-atid
-atin

Chromosome: A structure of DNA and protein that carries genetic information. It is the basic physical and functional unit of heredity. Chromosomes are found in the nucleus of all eukaryotic cells, and in the cytoplasm of prokaryotes.

Chromatid: One of the two identical copies of DNA that form a chromosome. They are joined together at the centromere.

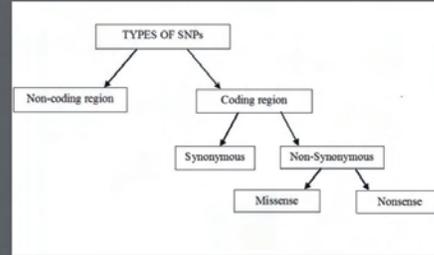
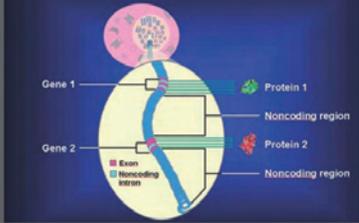
Chromatin: The complex of DNA and proteins that makes up chromosomes. It is the material that forms chromosomes during cell division.



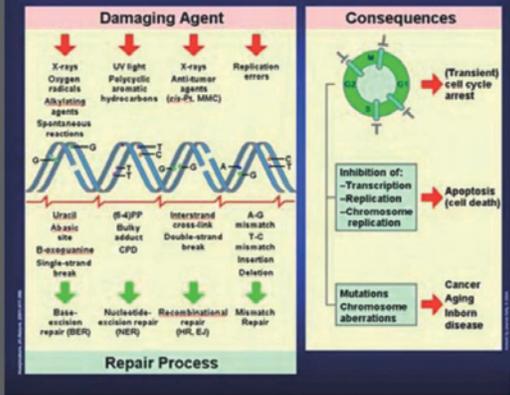
GeneAdvise

Chromosome
 -osome
 A linear chromosome is formed by the condensation of DNA molecules. The number of chromosomes varies among species and is characteristic of the members of the same species.
 -atid
 Each of the two homologous chromosomes within a chromosome pair is genetically identical and contains the same number of genes.
 -atin
 The number of genes that determine the expression level of a gene is called the gene expression level. This level is determined by the number of genes that are expressed in a cell.

Noncoding Regions



Repair Failure



	U	C	A	G
U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } Ser UCC } UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp
C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }
A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }
G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }

	Silent	Nonsense	Missense		
			Conservative	Non-conservative	
DNA	TTC	TTT	ATC	TCC	TGC
mRNA	AAG	AAA	UAG	AGG	ACG
Protein	Lys	Lys	STOP	Arg	Thr

GeneAdvise

SNP amount, mutation, frequency (rate)

MUTATION RATES

1,700
Average number of nucleotides per gene

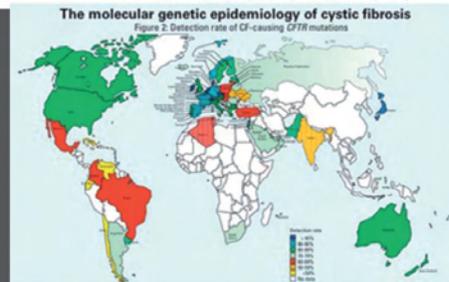
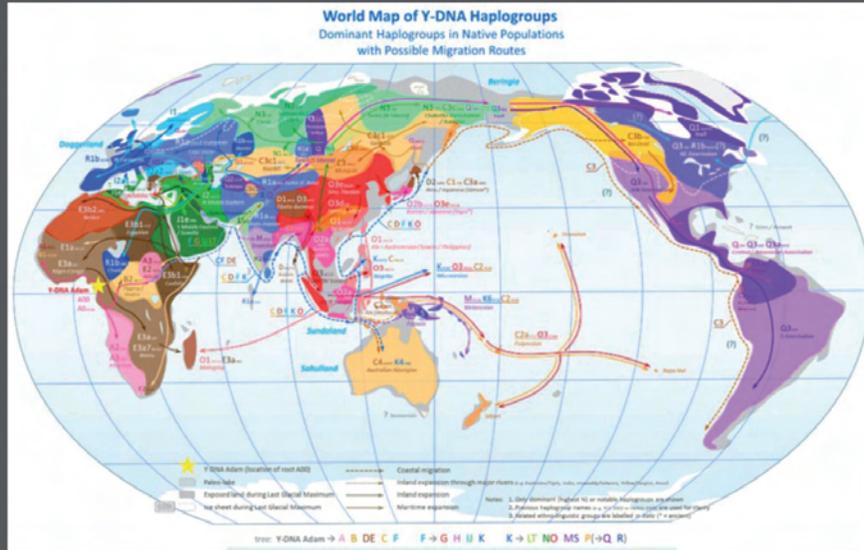
100,000,000,000,000,000
Number of cell divisions in an average human lifetime

1 in a 100,000,000,000
to
1 in a 1,000,000,000
Probability of a single nucleotide being miscopied

Between 100,000,000
And 10,000,000,000
Number of mutations for an average gene, for all its copies

Source: Human Molecular Genetics, 2nd Edition, Strachan & Read, Garland Science
Buddhisu Samarasingha 2013

Chromosome	Length(bp)	All SNPs		TSC SNPs	
		Total SNPs	kb per SNP	Total SNPs	kb per SNP
1	214,066,000	129,831	1.65	75,166	2.85
2	222,889,000	103,664	2.15	76,985	2.90
3	186,938,000	93,140	2.01	63,669	2.94
4	169,035,000	84,426	2.00	65,719	2.57
5	170,954,000	117,882	1.45	63,545	2.69
6	165,022,000	96,317	1.71	53,797	3.07
7	149,414,000	71,752	2.08	42,327	3.53
8	125,148,000	57,834	2.16	42,653	2.93
9	107,440,000	62,013	1.73	43,020	2.50
10	127,894,000	61,298	2.09	42,466	3.01
11	129,193,000	84,663	1.53	47,621	2.71
12	125,198,000	59,245	2.11	38,136	3.28
13	93,711,000	53,093	1.77	35,745	2.62
14	89,344,000	44,112	2.03	29,746	3.00
15	73,467,000	37,814	1.94	26,524	2.77
16	74,037,000	38,735	1.91	23,328	3.17
17	73,367,000	34,621	2.12	19,396	3.78
18	73,078,000	45,135	1.62	27,028	2.70
19	56,044,000	25,676	2.18	11,185	5.01
20	63,317,000	29,478	2.15	17,051	3.71
21	33,824,000	20,916	1.62	9,103	3.72
22	33,786,000	28,410	1.19	11,056	3.06
X	131,245,000	34,842	3.77	20,400	6.43
Y	21,753,000	4,193	5.19	1,784	12.19
RefSeq	15,696,674	14,534	1.08		
Totals	2,710,164,000	1,419,190	1.91	887,450	3.05



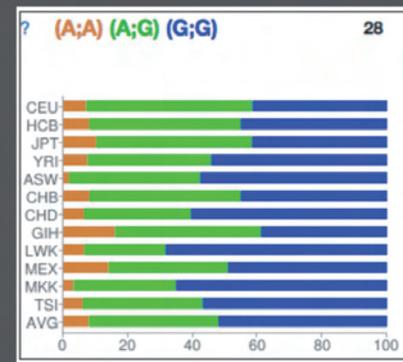
SNP Geographic distribution, drift

GeneAdvise

General population variants studies

The **International HapMap Project** was an organization that aimed to develop a haplotype map (**HapMap**) of the human genome, to describe the common patterns of human genetic variation. HapMap is used to find genetic variants affecting health, disease and responses to drugs and environmental factors. The information produced by the project is made freely available for research.

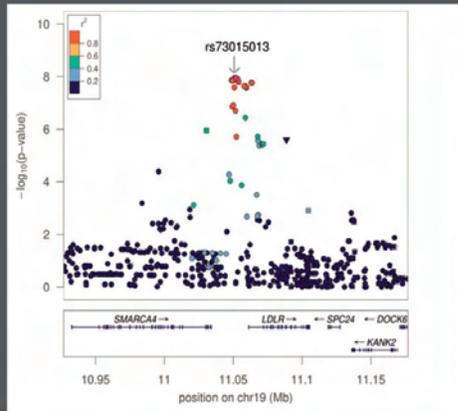
Phase	ID	Place	Population
I/II	CEU		Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection
I/II	CHB		Han Chinese in Beijing, China
I/II	JPT		Japanese in Tokyo, Japan
I/II	YRI		Yoruba in Ibadan, Nigeria
III	ASW		African ancestry in the Southwest USA
III	CHD		Chinese in metropolitan Denver, CO, United States
III	GIH		Gujarati Indians in Houston, TX, United States
III	LWK		Luhya in Webuye, Kenya
III	MKK		Maasai in Kinyawa, Kenya
III	MXL		Mexican ancestry in Los Angeles, CA, United States
III	TSI		Toscani in Italia



GeneAdvise

In genomics, a **genome-wide association study (GWA study, or GWAS)**, also known as **whole genome association study (WGA study, or WGAS)**, is an observational study of a genome-wide set of genetic variants in different individuals to see if any variant is associated with a trait. GWA studies typically focus on associations between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and traits like major human diseases, but can equally be applied to any other genetic variants and any other organism.

This approach is known as **phenotype-first**, in which the participants are classified first by their clinical manifestation(s), as opposed to **genotype-first**. Each person gives a sample of DNA, from which millions of genetic variants are read using SNP ARRAYS.



GWAS snp	
PMID	[PMID 17463246]
Trait	Type 2 diabetes
Title	Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels
Risk	C
Allele	
P-val	0.000001999999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]
GWAS snp	
PMID	[PMID 17463248]
Trait	Type 2 diabetes
Title	A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants
Risk	C
Allele	
P-val	0.000001999999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]
GWAS snp	
PMID	[PMID 17463249]
Trait	Type 2 diabetes
Title	Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes
Risk	C
Allele	
P-val	0.000001999999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]

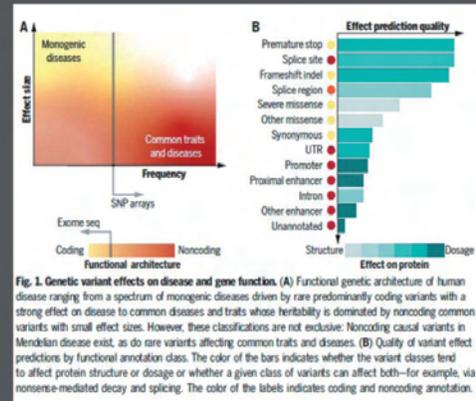


Fig. 1. Genetic variant effects on disease and gene functions. (A) Functional genetic architecture of human disease ranging from a spectrum of monogenic diseases driven by rare predominantly coding variants with a strong effect on disease to common diseases and traits whose heritability is dominated by noncoding common variants with small effect sizes. However, these classifications are not exclusive: Noncoding causal variants in Mendelian disease exist, as do rare variants affecting common traits and diseases. (B) Quality of variant effect predictions by functional annotation class. The color of the bars indicates whether the variant classes tend to affect protein structure or dosage or whether a given class of variants can affect both—for example, via nonsense-mediated decay and splicing. The color of the labels indicates coding and noncoding annotation.

HUMAN GENOMICS

Protein-coding repeat polymorphisms strongly shape diverse human phenotypes

Ronen E. Mukamel^{1,2*}, Robert E. Handsaker^{2,3,4*}, Maxwell A. Sherman^{1,2,5}, Alison R. Barton^{1,2,6}, Yiming Zheng^{2,3}, Steven A. McCarroll^{2,4*}, Po-Ru Loh^{1,2,7}

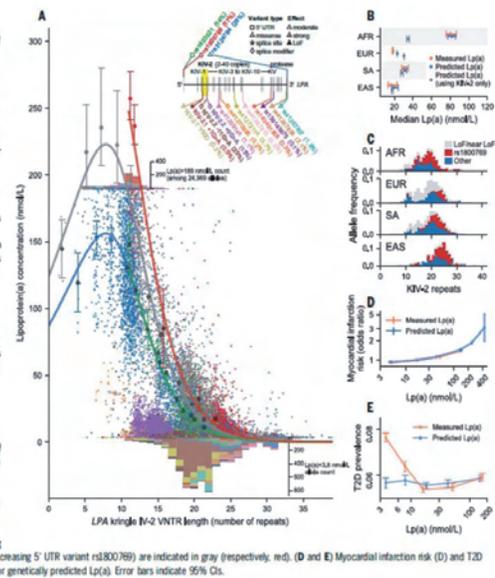
Many human proteins contain domains that vary in size or copy number because of variable numbers of tandem repeats (VNTRs) in protein-coding exons. However, the relationships of VNTRs to most phenotypes are unknown because of difficulties in measuring such repetitive elements. We developed methods to estimate VNTR lengths from whole-exome sequencing data and impute VNTR alleles into single-nucleotide polymorphism haplotypes. Analyzing 118 protein-altering VNTRs in 415,280 UK Biobank participants for association with 786 phenotypes identified some of the strongest associations of common variants with human phenotypes, including height, hair morphology, and biomarkers of health. Accounting for large-effect VNTRs further enabled fine-mapping of associations to many more protein-coding mutations in the same genes. These results point to cryptic effects of highly polymorphic common structural variants that have eluded molecular analyses to date.

Table 1. VNTRs within protein-coding sequences affect diverse human phenotypes. For each of five protein-altering VNTRs involved in phenotype associations that passed stringent fine-mapping criteria, P values [in linear mixed-model analyses of N = 415,280 unrelated UKB participants of European (EUR) ancestry] and estimated effect size ranges (across the longest and shortest alleles sufficiently common to be amenable to our computational analysis) are listed for the most strongly associated phenotype.

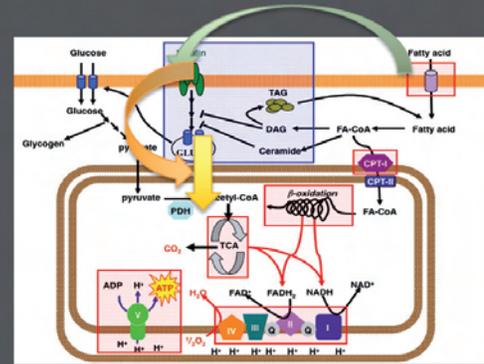
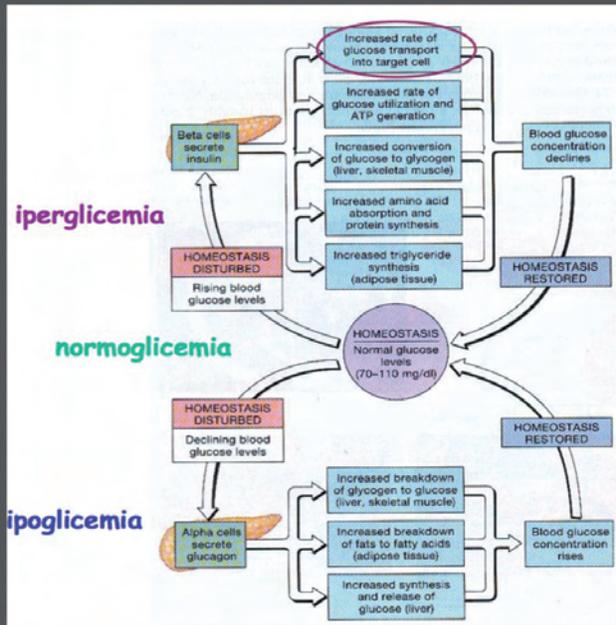
Gene	Cytoband	Repeat unit size	Repeat count (EUR)	Protein domain (effect)	Phenotype	Effect range ± SE (EUR)	P value
LPA	6q25.3-q26	~5.6 kb (14 aa, 140 aa)	2-40	KIV (number)	Lipoprotein(a) concentration	5.1 ± 0.5 SD (± 23.3 ± 23 mmol/liter)	4.4 × 10 ⁻¹⁰⁷
ACAN	15q26.1	57 bp (19 aa)	13-44	Chondroin sulfate (size)	Height	0.49 ± 0.04 SD (± 3.2 ± 0.3 cm)	1.7 × 10 ⁻²¹⁴
TNFSF4	6q14.1	15 bp (5 aa)	2-7	Unknown (size)	Height	0.09 ± 0.01 SD (± 0.6 ± 0.1 cm)	2.5 × 10 ⁻⁴³
MUC1	1q22	60 bp (20 aa)	20-125	Extracellular (size)	Serum urea	0.36 ± 0.01 SD (± 0.22 ± 0.03 mmol/liter)	2.7 × 10 ⁻²⁶³
CHH1	1q21.3	18 bp (6 aa)	5-15	α-Helix rod (size)	Male pattern baldness score	-0.053 ± 0.006 SD	1.6 × 10 ⁻⁷⁶

Fig. 1. Kringle IV-2 repeat length variation and 23 LPA SNPs together explain ~90% of lipoprotein(a) heritability.

(A) Serum Lp(a) versus KIV-2 VNTR length in an effect-haplotype model of Lp(a) involving 24,969 LPA alleles (in exome-sequenced UKB participants of European ancestry) for which the allele on the homologous chromosome was predicted to produce negligible Lp(a) (<4 mmol/liter). Colors indicate the 15 most common Lp(a)-modifying SNPs identified by fine-mapping analysis (full list in table S4). Curves indicate parametric fits of Lp(a) to KIV-2 length. Gray indicates alleles not carrying any Lp(a)-modifying SNPs; red, blue, and green are carriers of a single common Lp(a)-modifying SNP; large points are mean Lp(a) among such alleles in KIV-2 length bins. Error bars indicate 95% CIs. Histograms (top and bottom) show counts of Lp(a) measurements outside of the reportable range (<3.8 or >189 mmol/liter) colored by Lp(a)-modifying SNPs (7). (B) Observed and predicted median Lp(a) among individuals of African (AFR; N = 893), European (EUR; N = 42,162), South Asian (SA; N = 954), and East Asian (EAS; N = 156) ancestry. (C) LPA allele frequencies by ancestry. VNTR alleles in cis with a large-effect Lp(a)-reducing variant (respectively, the Lp(a)-increasing 5' UTR variant rs180769) are indicated in gray (respectively, red). (D and E) Myocardial infarction risk (D) and T2D prevalence (E) versus measured or genetically predicted Lp(a). Error bars indicate 95% CIs.



PERSONALIZED PHYSIOLOGY
FOOD AND ENERGETIC CONSUMPTION
CARBO-LIPO COMPLEX



GeneAdvise

PERSONALIZED PHYSIOLOGY FOOD AND ENERGETIC CONSUMPTION CARBO-LIPO COMPLEX

Fatty acid-binding protein-2 **FABP2**

absorption of fatty acids, abdominal fat deposits, leptin levels (appetite and satiety, calorie expenditure)

Melanocortin-4 receptor **MC4R**

action of anorectic hormones

Peroxisome proliferator-activated receptor **PPAR α**

Differentiation of fat cells, regulation of glucose-lipid balances, diet-sport combination

Adrenergic-beta-2-receptor **ADRB2**

use of cell fat for energy is strongly involved in the combined diet-sport action

Adrenergic-beta-3-receptor **ADRB3**

consumption of fat for thermoregulation purposes and is conditioned by physical activity

Fat Mass and Obesity Associated Gene **FTO**

risk of obesity, is modulated by physical activity

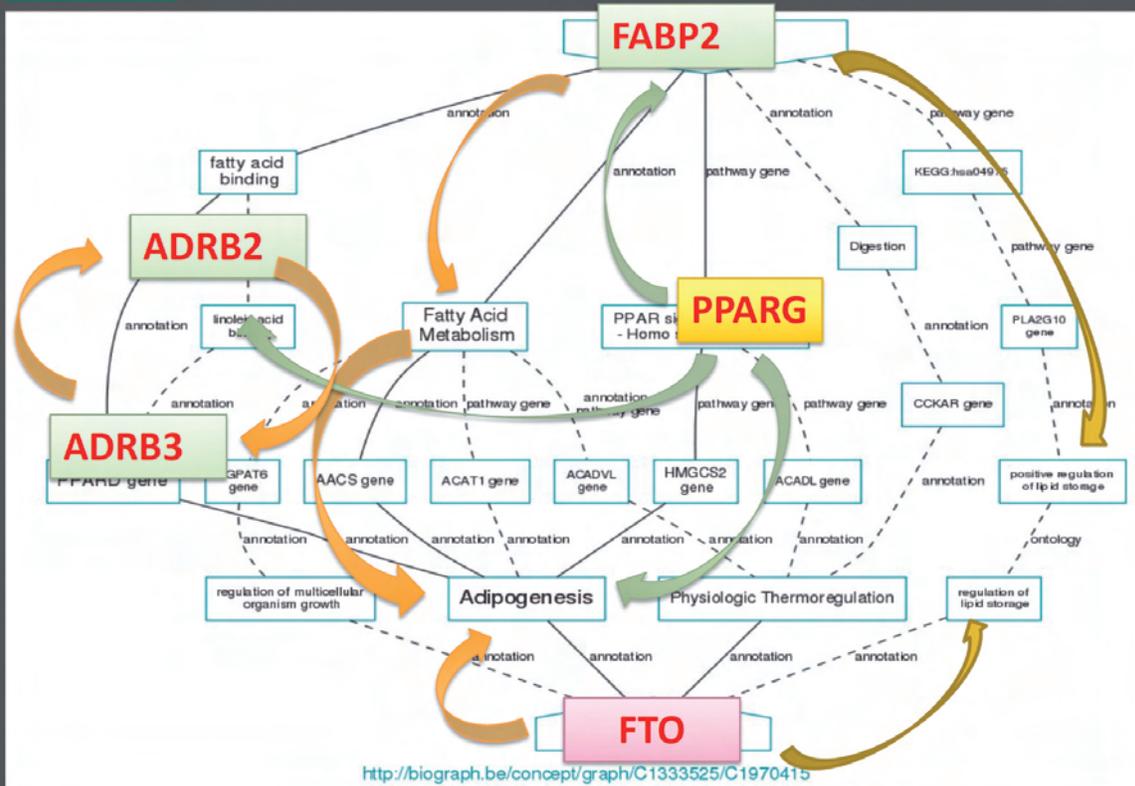
Apolipoproteina A-2 **APOA2**

weight gain and insulin resistance in saturated fat intake, and related dietary response

GeneAdvise

GENE	VARIANTI	RSnumber	Nucleotide	Variazione	Interpretazione
SLC6A4/ 5HTTLPR	Ins/Del	rs25531			S/S=lento adattamento S/L=medio adattamento L/L=rapido adattamento
ADIPOq	-11391 G/A	rs17300539	G	A	Presenza allele A (AA o AG) = possibile aumento della probabilità di sviluppare obesità, insulino-resistenza, diabete e sindrome metabolica
ADRA2B	Ins/Del cod.299				Del cod 299=possibile aumento rischio cardiovascolare e tendenza aumento di peso
ADRB1	G389R	rs1801253	G	C	Presenza allele C (CC o CG) = aumento della probabilità di sviluppare obesità
ADRB2	G16R	rs1042713	G	A	Presenza allele A (AA o AG) = aumento della probabilità di sviluppare obesità
ADRB3	W64R	rs4994	T	C	Presenza allele C (CT o CC) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e tendenza all'obesità
APOA2	-265 C-T	rs5082	C	T	CC=possibile predisposizione all'aumento del peso
APOA5	-1131T> C	rs662799	T	C	Presenza allele C (TC o CC) = predisposizione all'aumento di peso
FABP2	A54T	rs1799883	G	A	Presenza allele A (AA o AG) = associato ad alto/moderato rischio cardiovascolare e alta/moderata sensibilità ai carboidrati raffinati
FTO	T-A	rs9939609	T	A	Presenza allele A (AA o AT) = associato a significativa tendenza all'aumento di peso
	C-A	rs8050136	C	A	Presenza allele A (AA o AC) = associato a significativa tendenza all'aumento di peso
	C-T	rs1121980	C	T	Presenza allele T (TT o TC) = associato a significativa tendenza all'obesità
	T-C	rs1421085	T	C	Presenza allele C (CC o CT) = associato a significativa tendenza all'obesità
	T-G	rs17817449	T	G	Presenza allele G (GG o GT) = associato a significativa tendenza all'obesità

GHSR	G477A	rs572169	G	A	Presenza allele A (AA o AG) = possibile predisposizione all'assunzione di grandi quantità di cibo e tendenza all'obesità
Leptin	-2548 G-A	rs7799039	G	A	AA=possibile fattore di rischio cardiovascolare e tendenza all'obesità
MC4R	g.60183864T>C	rs17782313	T	C	Presenza allele C (CC o CT) = possibile presenza di disordini dell'appetito, tendenza all'obesità
NPY	L7P	rs16139	T	C	Presenza allele C (CC o CT) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso
PPARG	P12A	rs1801282	C	G	Presenza allele G (GG o CG) = possibile predisposizione all'aumento di peso
VEGF	c.-1507 C-G	rs2010963	C	G	Presenza G (GG o CG) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso



GeneAdvise

PERSONALIZED PHYSIOLOGY
FOOD AND ENERGETIC CONSUMPTION
CARBO-LIPO COMPLEX

Fatty acid-binding protein-2 **FABP2 (A54T G-A rs1799883)**

absorption of fatty acids, abdominal fat deposits, leptin levels (appetite and satiety, calorie expenditure)

Peroxisome proliferator-activated receptor **PPARg (P12A C-G rs1801282)**

Differentiation of fat cells, regulation of glucose-lipid balances, diet-sport combination

Adrenergic-beta-2-receptor **ADRB2 (G16R G-A rs1042713)**

use of cell fat for energy is strongly involved in the combined diet-sport action

Adrenergic-beta-3-receptor **ADRB3 (W64R T-C rs4994)**

consumption of fat for thermoregulation purposes and is conditioned by physical activity

Fat Mass and Obesity Associated Gene **FTO (T-A rs9939609)**

risk of obesity, is modulated by physical activity

Gene FABP2

Fatty acid-binding protein-2

Localizzazione: cromosoma 4 (locus 4q28-q31)
Dimensioni e struttura: 11.912 paia di basi, contiene 4 esoni
Prodotto proteico corrispondente: proteina intracellulare, denominata *fatty acid-binding protein-2* (FABP2), composta da 132 aminoacidi.

FABP2 encodes the proteins involved in the uptake, transport and intracellular metabolism of long-chain fatty acids.

FABP2 is also able to bind unsaturated fatty acids, always with a long chain. It probably participates in the maintenance of energy homeostasis by functioning as a "lipid sensor".



Polimorfismo A54T

Genotipo GG

The presence of the GG genotype is correlated with:

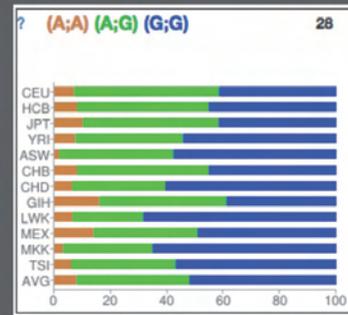
normal absorption of fatty acids

a normal postprandial level of triglycerides

greater responsiveness to low-calorie diets and exercise as strategies aimed at increasing weight loss.



Allelic prevalence



GeneAdvise

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

Localizzazione: cromosoma 3 (locus 3p25)
Dimensioni e struttura: 3302 paia di basi,
contiene 6 esoni
Prodotto proteico: *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma*
(PPAR γ), composta da 477 aminoacidi.

PPAR γ regulates inflammatory processes, cell differentiation, glucose and lipid homeostasis,

PPAR γ is a determining factor for the transformation and maturation of adipocytes.

Alterations in PPAR γ function are related to diabetes-2. It is a candidate as a critical factor in obesity.

PPARCC polymorphism is related to decreased activity of the protein.

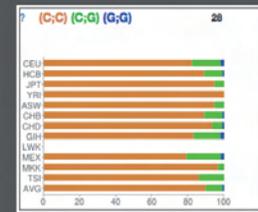
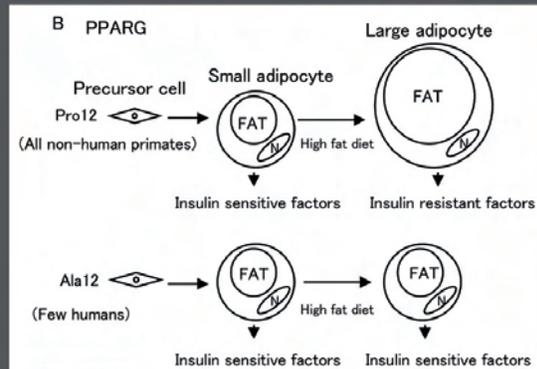


Polimorfismo 12Pro/Ala Genotipo GG/CG

The presence of the GG / GC genotype is correlated with:

a lower susceptibility to body weight gain in relation to the amount of fat consumed in the diet

High response to weight loss following constant exercise and a controlled diet.



GeneAdvise

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

Localizzazione: cromosoma 3 (locus 3p25)
Dimensioni e struttura: 3302 paia di basi, contiene 6 esoni
Prodotto proteico: *peroxisome proliferator-activated receptor-gamma* (PPAR γ), composta da 477 aminoacidi.

PPAR γ regulates inflammatory processes, cell differentiation, glucose and lipid homeostasis,

PPAR γ is a determining factor for the transformation and maturation of adipocytes.

Alterations in PPAR γ function are related to diabetes-2. It is a candidate as a critical factor in obesity.

PPARCC polymorphism is related to decreased activity of the protein.



Polimorfismo 12Pro/Ala Genotipo CC

The presence of the CC genotype is correlated with:

greater sensitivity of the Body Mass Index to the amount of fat consumed in the diet

ability to lose weight poorly conditioned by exercise

GWAS snp

PMID	[PMID 17463246]
Trait	Type 2 diabetes
Title	Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels
Risk	
Allele	C
P-val	0.0000019999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]
Ratio	

GWAS snp

PMID	[PMID 17463248]
Trait	Type 2 diabetes
Title	A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants
Risk	
Allele	C
P-val	0.0000019999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]
Ratio	

GWAS snp

PMID	[PMID 17463249]
Trait	Type 2 diabetes
Title	Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes
Risk	
Allele	C
P-val	0.0000019999999999999999
Odds	1.14 [1.08-1.20]
Ratio	



Gene FTO "FAT GENE"

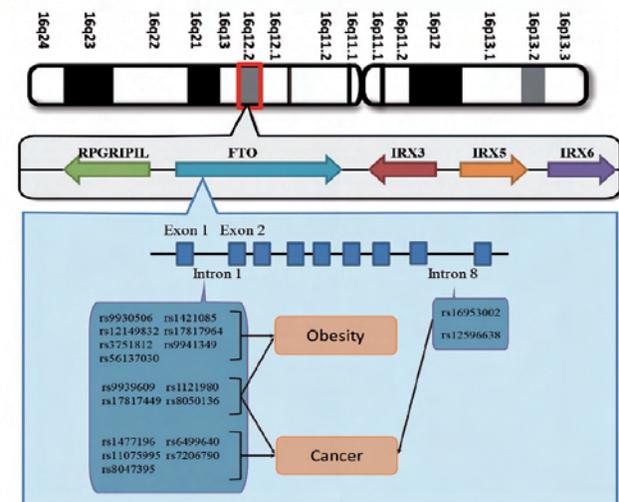
Localizzazione: cromosoma 16
 Dimensioni e struttura: 410505 paia di basi,
 contiene 9 esoni
 Prodotto : proteina diossigenase alfa-
 chetoglutarato-dipendente, composta da 505
 aminoacidi.

FTO (Fat Mass and Obesity Associated Gene) has unknown function.

It appears to be a role of FTO in DNA demethylation. Its level of expression is regulated by the nutritional behaviour.

FTO has particular importance in regulating body weight due to the relationship between its polymorphisms and the impact of physical exercise on anthropometric parameters.

Supplementary Figure



Gene FTO "FAT GENE"

Localizzazione: cromosoma 16
 Dimensioni e struttura: 410505 paia di basi, contiene 9 esoni
 Prodotto: proteina diossigenase alfa-chetoglutarato-dipendente, composta da 505 aminoacidi.



FTO (Fat Mass and Obesity Associated Gene) has unknown function.

It appears to be a role of FTO in DNA demethylation. Its level of expression is regulated by the nutritional behaviour.

FTO has particular importance in regulating body weight due to the relationship between its polymorphisms and the impact of physical exercise on anthropometric parameters.

Geno	Mag	Summary
(A;A)	3	obesity risk and 1.6x risk for T2D
(A;T)	2,4	1.3x risk for T2D; obesity risk
(T;T)	1,5	lower risk of obesity and Type-2 diabetes

Rs9939609 Genotipo AA/AT

increase in anthropometric indices, risk of obesity
 good responsiveness of the subject to physical exercise



Rs1421085 Genotype CC / CT

The presence of the CC / CT genotype: increase in anthropometric indices, risk of obesity

Rs17817449 GG / GT Genotype

The presence of the GG / GT genotype: increase in anthropometric indices (1.3-1.7), obesity risk

GWAS	
SNP	rs9939609
PubMedID	[PMID 17434969]
Condition	Body mass index
Gene	FTO
Risk Allele	A
pValue	2.00E-020
OR	0.38
95% CI	NI) kg/m2 per copy in adult

GWAS snp	
PMID	[PMID 19079261]
Trait	Body mass index
Title	Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation
Risk Allele	A
P-val	4E-51
Odds Ratio	0.33 [0.27-0.39] kg/m2 increase

GWAS snp	
PMID	[PMID 19390169]
Trait	Biomedical quantitative traits
Title	A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits
Risk Allele	A
P-val	2E-7
Odds Ratio	0.24 [0.14-0.32] kg/m2 increase

GWAS snp	
PMID	[PMID 19151714]
Trait	Obesity
Title	Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations
Risk Allele	C
P-val	1E-28
Odds Ratio	1.39 [1.27-1.51]

GWAS snp	
PMID	[PMID 21562555]
Trait	Obesity
Title	A genome-wide association study on obesity and obesity-related traits.
Risk Allele	A
P-val	2E-12
Odds Ratio	None None

Geno	Mag	Summary
(C;C)	3,1	~1.7x increased obesity risk
(C;T)	2,5	~1.3x increased obesity risk
(T;T)	0,1	normal obesity risk

Geno	Mag	Summary
(G;G)	~1,7x	increased obesity risk
(G;T)	~1,3x	increased obesity risk
(T;T)	0	normal

Gene FTO "FAT GENE"

Localizzazione: cromosoma 16
 Dimensioni e struttura: 410505 paia di basi, contiene 9 esoni
 Prodotto : proteina diossigenase alfa-chetoglutarato-dipendente, composta da 505 aminoacidi.

FTO (Fat Mass and Obesity Associated Gene) has unknown function.

It appears to be a role of FTO in DNA demethylation. Its level of expression is regulated by the nutritional behaviour.

FTO has particular importance in regulating body weight due to the relationship between its polymorphisms and the impact of physical exercise on anthropometric parameters.



Rs9939609 Genotipo TT

La presenza del genotipo TT

normal increase in anthropometric parameters, low risk of obesity.

poor sensitivity of the body mass index to physical exercise as a strategy for weight loss

Rs1421085 TT genotype

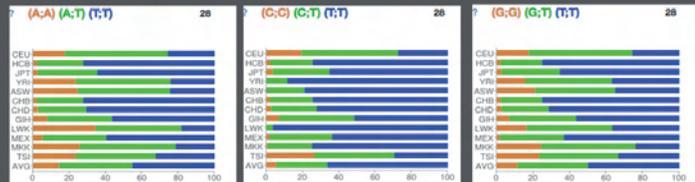
The presence of the TT genotype Normal risk of obesity

Rs17817449 TT genotype

The presence of the TT genotype

Normal risk of obesity

Allelic prevalence



Gene MC4R

Localizzazione: Cromosoma 18 (locus 18q22)
 Dimensioni e struttura: 8448 paia di basi, contiene 1 esone
 Prodotto : proteina recettoriale, denominata *melanocortin-4 receptor* (MC4R), composta da 332 aminoacidi.

MC4R.

In the hypothalamus, α -MSH (alpha-melanocyte stimulating hormone) exerts an anorectic action by binding to the MC4R receptor.

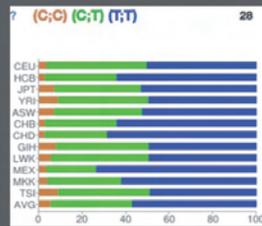
Inactivation of MC4R shows a tendency to obesity.

MC4R * polymorphism is associated with low disposition to obesity.

Polimorfismo g.60183864T>G

The absence of the TT genotype is correlated with: predisposition to normal BMI (Body Mass Index)

The presence of CC / CT polymorphism correlates with: predisposition to high BMI (Body Mass Index)



Prevalence of genotype CC/CT in Northern Italian population

	pres	pres	pres	ass	ass	pres	pres	pres	
indicazione	>ass lip	ac grass	ex poor	ob	sens fat	ex poor	ex good	>obes	ex poor
POLIMORFISMO	APOA2*	FTO*	FABP2*	MC4R*	PPARG*	FTO**	ADRB2*	ADRB3*	
Assente	301	120	360	370	310	131	111	592	
Presente eterozigosi	290	381	231		71	381	290	51	
Presente omozigosi	51	132	42		11	120	231		

GeneAdvise

Gene ADRB2

Localizzazione: cromosoma 5 (locus 5q31-q32)
Dimensioni e struttura: 2033 paia di basi,
contiene 4 esoni
Prodotto : proteina intracellulare, **adrenergic- beta-2- receptor (ADRB2)**, composta da 413 aminoacidi.

ADRB2 encodes the type 2 beta adrenergic receptor which inserts into the cell membrane where it interacts with mediators (adrenaline / noradrenaline).

The ADRB2 receptor is directly associated with its final effector, an L-type calcium channel (Ca (V) 1.2). This receptor / channel complex binds to a cAMP-dependent G protein that allows for the rapid transmission of specific biochemical signals.

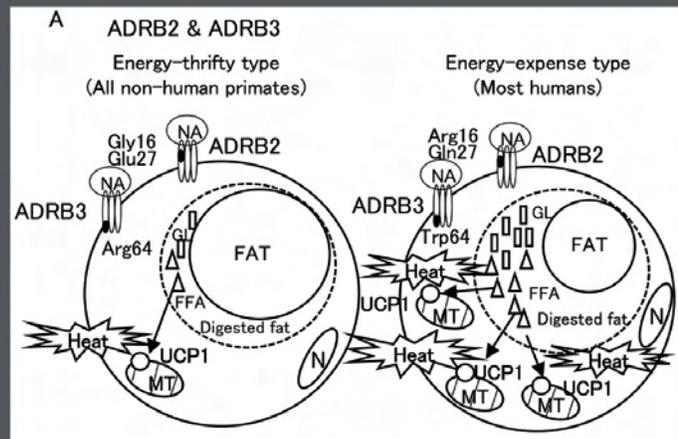
ADRB2 is preferentially expressed in adipose tissue and is responsible for the processes of mobilization of fat for energy purposes.



Polimorfismo 16Gly/Arg Genotipo AA/AG

The presence of the AA / AG genotype:

Increase in pathology in asthmatic patients greater weight gain
a low attitude to lose weight following physical exercise



GeneAdvise

Gene ADRB2

Localizzazione: cromosoma 5 (locus 5q31-q32)
Dimensioni e struttura: 2033 paia di basi,
contiene 4 esoni
Prodotto : proteina intracellulare, **adrenergic- beta-2- receptor** (ADRB2), composta da 413 aminoacidi.

ADRB2 encodes the type 2 beta adrenergic receptor which inserts into the cell membrane where it interacts with mediators (adrenaline / noradrenaline).

The ADRB2 receptor is directly associated with its final effector, an L-type calcium channel (Ca (V) 1.2). This receptor / channel complex binds to a cAMP-dependent G protein that allows for the rapid transmission of specific biochemical signals.

ADRB2 is preferentially expressed in adipose tissue and is responsible for the processes of mobilization of fat for energy purposes.



Polimorfismo 16Gly/Arg
Genotipo GG

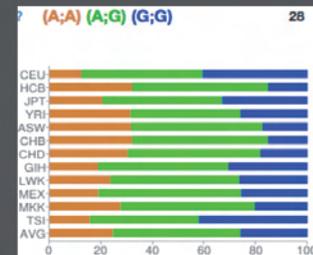
The presence of the GG genotype:

low susceptibility to weight gain with increasing age

good predisposition to lose weight following exercise good aerobic sports performance



Allelic prevalence



GeneAdvise

Gene ADRB3

Localizzazione: cromosoma 8 (locus 8p12-p11.2)
Dimensioni e struttura: 10672 paia di basi, non contiene introni
Prodotto: proteina intracellulare, **adrenergic- beta- 3- receptor (ADRB3)**, composta da 408 aminoacidi.

ADRB3 encodes the type 3 beta adrenergic receptor, which regulates cellular or tissue functions by acting with transmitters such as adrenaline or noradrenaline.

ADRB3 is expressed in visceral adipose tissue and is present in fat deposits, where it is involved in lipolysis processes and thermal regulation.

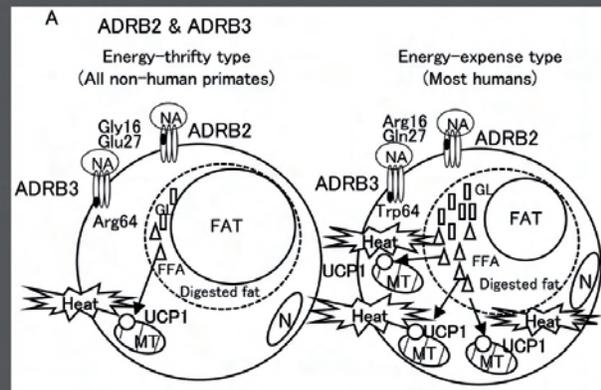


Polimorfismo 64Arg/Trp Genotipo CC/CT

The presence of the CC / CT genotype:

reduced lipolysis in response to catecholamines and consequent lower response to physical activity as a strategy aimed at weight loss

increase in body mass index and greater risk of obesity poor responsiveness to low-calorie diets



GeneAdvise

Gene ADRB3

Localizzazione: cromosoma 8 (locus 8p12-p11.2)
Dimensioni e struttura: 10672 paia di basi, non contiene introni
Prodotto: proteina intracellulare, **adrenergic-beta-3-receptor (ADRB3)**, composta da 408 aminoacidi.

ADRB3 encodes the type 3 beta adrenergic receptor, which regulates cellular or tissue functions by acting with transmitters such as adrenaline or noradrenaline.

ADRB3 is expressed in visceral adipose tissue and is present in fat deposits, where it is involved in lipolysis processes and thermal regulation.



Polimorfismo 64Arg/Trp
Genotipo TT

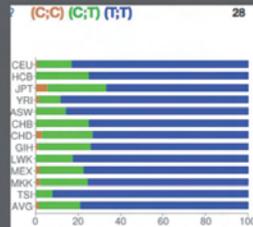
The presence of the TT genotype:

good response to low-caloric diets

good predisposition to lose weight following exercise



Allelic prevalence



NO DATA GWAS

Geno	Mag	Summary
(A;A)	1.7	1.7x increased risk that pediatric inhaler use may make asthma worse
(A;G)	1.3	1.3x increased risk that pediatric inhaler use may make asthma worse
(G;G)		normal

GeneAdvise

Gene APOA2

Localizzazione: cromosoma 1 (locus 1q21-q23)
Dimensioni e struttura: 2586 paia di basi,
contiene 3 esoni
Prodotto: Apolipoproteina A-II, composta da 100
aminoacidi.

APOA2 is a high density lipoprotein
(HDL).

It plays a crucial role in the
functioning of the arterial system,
probably through the metabolism of
very-low-density lipoprotein particles
and has a protective function against
cardiovascular events.

Polymorphisms respond a lot to the
fat diet



Polimorfismo ...82 T/C
Genotipo CC

The presence of the CC genotype:

increased risk of obesity and diabetes in people who eat high
levels of saturated fat

good responsiveness of anthropometric indices to reduced
levels of saturated fats

GWAS NO DATA

Geno	Mag	Summary	
(C;C)	2.5	saturated fat contributes to obesity, but 0.57 % lower risk for coronary artery disease	
(C;T)	0	normal risk	
(T;T)	0	normal risk	

GeneAdvise

Gene APOA2

Localizzazione: cromosoma 1 (locus 1q21-q23)
Dimensioni e struttura: 2586 paia di basi,
contiene 3 esoni
Prodotto: Apolipoproteina A-II, composta da 100
aminoacidi.

APOA2 is a high density lipoprotein
(HDL).

It plays a crucial role in the
functioning of the arterial system,
probably through the metabolism of
very-low-density lipoprotein particles
and has a protective function against
cardiovascular events.

Polymorphisms respond a lot to the
fat diet



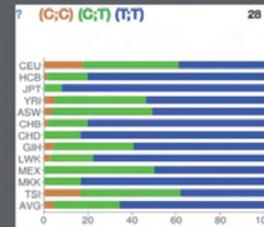
Polimorfismo ...82 T/C
Genotipo TT

The presence of the TT genotype:

low susceptibility to obesity

low susceptibility to weight gain following the intake of
saturated fatty acids

La prevalenza allelica del gene



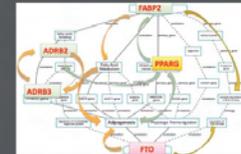
	< unfavor		DIETE IPOCALORICHE		ESERCIZIO FISICO		<EXP >RES
	ASSOR AC	GRA/GRA BMI					METAB MUSC CIRC
FABP2	A <	GG =	A <	GG >	A <	GG >	
PPAR-G	CC <	G >	CC <	G >	CC <	G >	
FTO RS -609	A < (OB)	TT =			TT <	A >	
MC4R	C < (>BMI)	TT =					
ADRB2	A <	GG >			A <	GG >	A = GG >
ADRB3	C < (BMI)	TT >	C <	TT >	C <	TT >	
APOA2 AC.GRASSI	CC <	T >		CC >			

	ADRB2	ADRB2	IF ADRB3 is TT:	IF ADRB3 is CC or CT:			
FABP2	PPRAG	codon 16	codon 27	ADRB3	Diet#	ADRB3	Diet#
AA	CC	GG	GG	TT	1	CC or CT	1
AA	CC	GG	GC	TT	2	CC or CT	2
AA	CC or GC	GG	CC	TT	3	CC or CT	3
GA	CC	GG or GA	GG	TT	4	CC or CT	1
GA	CC	GG or GA	GC	TT	5	CC or CT	2
GA	CC or GC	GG or GA	CC	TT	6	CC or CT	3
GG	CC	GA or AA	GG	TT	7	CC or CT	4
GG	CC or GC	GG or GA or AA	GC	TT	8	CC or CT	5
GG	CC or GC	GG or GA or AA	CC	TT	9	CC or CT	6
GG	GC or CC	GA or AA	GG	TT	10	CC or CT	7
GG	GC	GA or AA	GC	TT	11	CC or CT	8
GG	GG	GA or AA	CC	TT	12	CC or CT	9

TABLE 3

	Diet #	Fat (%)	Carbohydrate (%)	Protein (%)	Fiber (g)
Very Sensitive to Fat/Very Sensitive to Carbohydrate	1	20	25	55	35
Very Sensitive to Fat/Sensitive to Carbohydrate	2	20	35	45	35
Very Sensitive to Fat/Moderate to Carbohydrate	3	20	45	35	30
Sensitive to Fat/Very Sensitive to Carbohydrate	4	25	25	50	35
Sensitive to Fat/Sensitive to Carbohydrate	5	25	35	40	30
Sensitive to Fat/Moderate to Carbohydrate	6	25	45	30	25
Moderate to Fat/Very Sensitive to Carbohydrate	7	30	25	45	35
Moderate to Fat/Sensitive to Carbohydrate	8	30	35	35	30
Moderate to Fat/Moderate to Carbohydrate	9	30	45	25	25
Higher Tolerance to Fat/Very Sensitive to Carbohydrate	10	35	25	40	30
Higher Tolerance to Fat/Sensitive to Carbohydrate	11	35	35	30	25
Higher Tolerance to Fat/Moderate to Carbohydrate	12	35	45	20	25

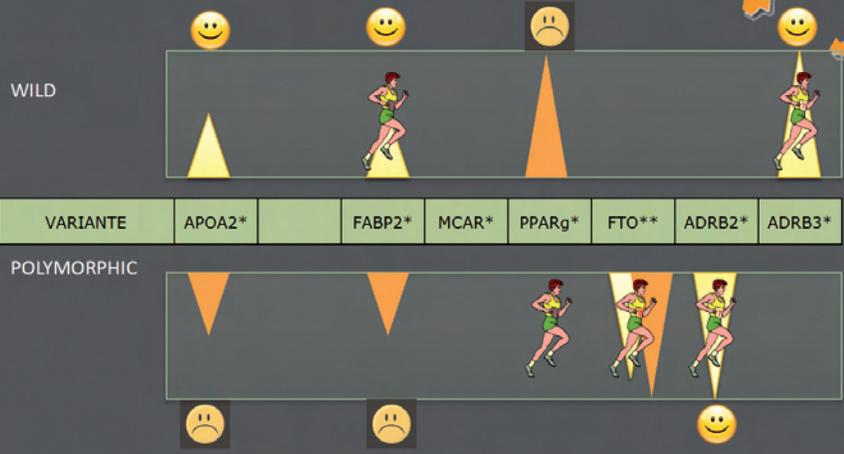
PERDITA DI PESO	ALTA	MEDIA	BASSA
FUNZIONE	ASSORBIMENTO ACIDI GRASSI		TRASFORMAZIONE ADIPOCITI
	NORMALE	AUMENTATO	STANDARD AUMENTATA
GENE	FABP2	FABP2*	PPAR γ PPAR γ *
DIETA IPOCALORICA	GG	A	CC G.GG
ESERCIZIO FISICO	GG	A	CC G.GG
FUNZIONE	USO GRASSI PER ENERGIA		LIPOLISI/REGOLAZ.TERMICA
	NORMALE	BASSO	ALTA BASSA
GENE	ADRB2	ADRB2*	ADRB3 ADRB3*
DIETA IPOCALORICA	GG	A	TT C
ESERCIZIO FISICO	GG	A	TT C
FUNZIONE	GRASSI/ESERCIZIO FISICO		GRASSI SATURI/DIETA
GENE	FTO	FTO* FTO**	APOA2 APOA2*/APOA2*
DIETA IPOCALORICA	TT	A/AA	CC MOLTO ALTA
ESERCIZIO FISICO	TT	A/AA	MOLTO ALTA



FABP2 *_**	PPRAG *_**	ADRB2 *	ADRB3 *_**	DIET	ADRB3 *_**	DIET	EXER*/DIET** >5/>4 add fto-apoa2	FTO* A/TT	APOA2** CC/T
A	CC	GG	TT	4	CC/CT	1			
A	GC	GG		3		3			
A	CC	A		1		1			
GG	CC	A		7		4			
GG	GC	A		8		5			
GG	GC	GG		9		6			
GG	GG	A		10		7			
GG	GG	GG		12		8			
		16						A OB TT =	CC assorb ac.grasssi >

DIET	SENSITIVITY FAT	SENSITIVITY CARBOHYDRATES	FAT %	CARBO %	PROTEIN %	FIBER g
1	VERY 4	VERY 4	20	25	55	35
2	VERY 4	SENS 3	20	35	45	35
3	VERY 4	MODERATE 2	20	45	35	30
4	SENS 3	VERY 4	25	25	50	35
5	SENS 3	SENS 3	25	35	40	30
6	SENS 3	MODERATE 2	25	45	30	25
7	MODERATE 2	VERY 4	30	25	45	35
8	MODERATE 2	SENS 3	30	35	35	30
9	MODERATE 2	MODERATE 2	30	45	25	25
10	TOLERANT 1	VERY 4	35	25	40	30
11	TOLERANT 1	SENS 3	35	35	30	25
12	TOLERANT 1	MODERATE 2	35	45	20	25

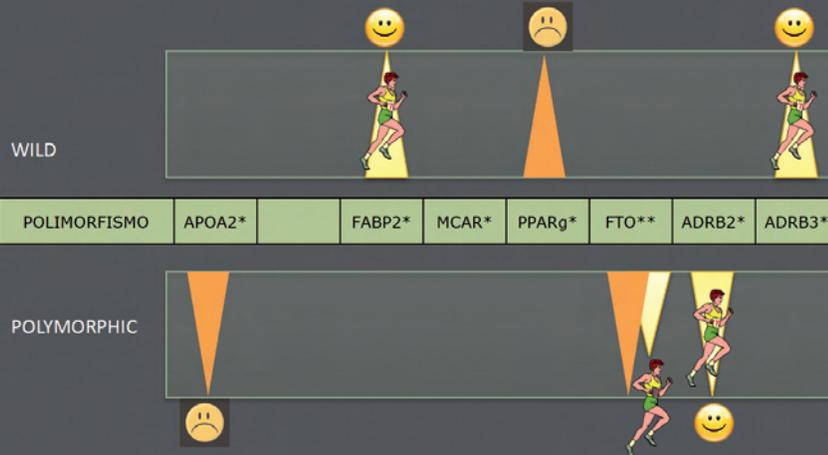
The seven variants detected in the study... prevalent SNPs in the Italian population of the circled area...



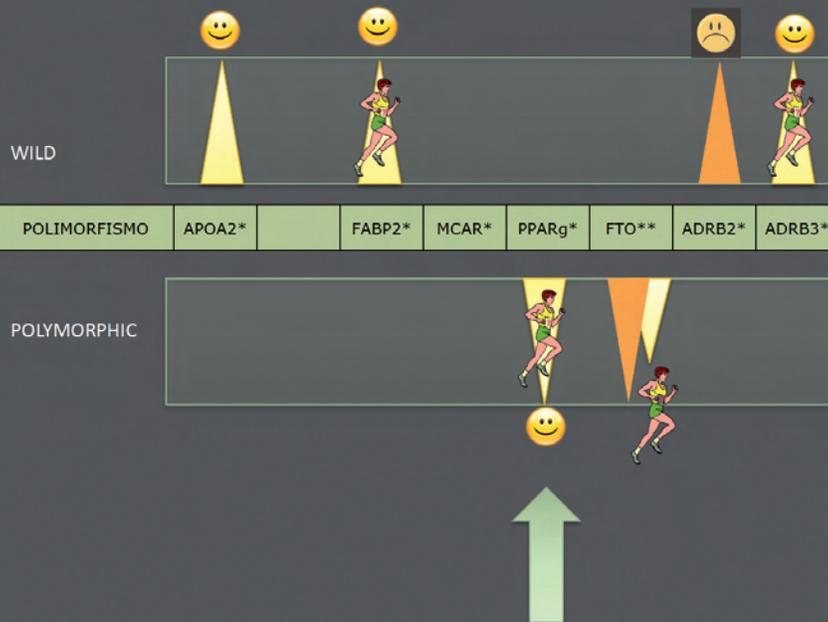
...show a profile of intake and storage (fats, fatty acids) with high rate of consumption with physical exercise.

GeneAdvise

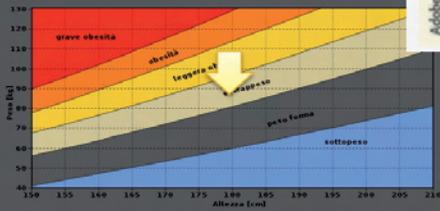
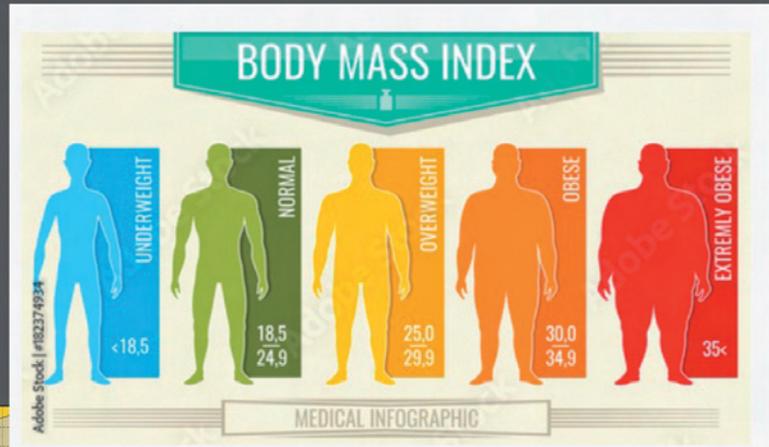
Professional alpine ski athlete



Obese and hearth disease carrier patient



PERSONALIZED PHYSIOLOGY FAT INTAKE AND BODY MASS INDEX



GENE	VARIANTI	R5number	Nucleotide	(G,G)	(G,G)	2.1
SLC6A4/5HTTLPR	Ins/Del	rs25531				
GWAS NO DATA FEW MARGINAL STUDIES						
ADIPOQ	-11391 G/A	rs17300539	G	A		
ADRA2B	Ins/Del cod.299					
NOT CONFIRMED						
ADRB1	G389R	rs1801253	G	C		
ADRB2	G16R	rs1042713	G	A		
ADRB3	W64R	rs4994	T	C		
APOA2	-265 C-T	rs5082	C	T		
APOA5	-1131T>C	rs662799	T	C		
FABP2	A54T	rs1799883	G	A		
FTO	T-A	rs9939609	T	A		
	C-A	rs8050136	C	A		
	C-T	rs1121980	C	T		
	T-C	rs1421085	T	C		
	T-G	rs17817449	T	G		

Geno • Mag • Summary

(-/-)

short form of 5-HTTLPR.
lower levels of serotonin,
slightly less happy, benefits
from more support

(A/A) 2.5

(G,G) 2.1

long form of 5-HTTLPR.
less sensitive to pain

Discussion: In conclusion, our findings indicate that 5-HTTLPR polymorphism may be linked with BMI and also with obesity and/or overweight in adult male population, reinforcing the role of the serotonin transporter as a risk factor for the obesity phenotype and suggesting potential new

Geno • Mag • Summary

(A;A) 1 higher adiponectin levels

(A;G) if obese, dieting more effective

(G;G) increased risk of insulin resistance

(A;A) (A;G) (G;G) 28

Geno • Mag • Summary

(C;C) 1.1 may also depend on rs1801253

(G;G)

(G;G)

Pharmacogenetics. GWAS NO DATA

C (G) higher trygliceride levels

(A;A) (A;G) (G;G) 28

Geno • Mag • Summary

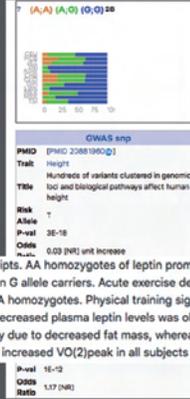
(A;A) 0 normal

(A;G) 2 1.4x higher early heart attack risk; less weight gain on high fat diets

(G;G) 2 2x higher early heart attack risk; less weight gain on high fat diets

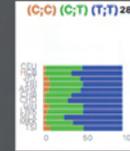
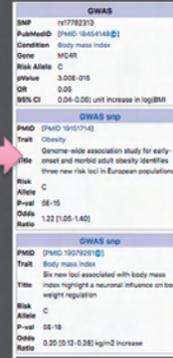
Not related to obesity

GHSR	G477A	rs572169	G		A		Presenza allele A (AA o AG) = possibile predisposizione all'assunzione di grandi quantità di cibo e tendenza all'obesità
Leptin	-2548 G-A	rs7799039	G		A		AA=possibile fattore di rischio cardiovascolare e tendenza all'obesità
MC4R	g_60183864T>C	rs17782313	T		C		Presenza allele C (CC o CT) = possibile presenza di disturbi dell'appetito, tendenza all'obesità
NPY	L7P	rs16139	T		C		Presenza allele C (CC o CT) = possibile presenza di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso
PPARG	P12A	rs1801282	C		G		Presenza allele G (GG o CG) = possibile predisposizione all'aumento di peso
VEGF	c_-1507 C-G	rs2010963	C		G		Presenza G (GG o CG) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso



military conscripts. AA homozygotes of leptin promoter SNP-2548 showed higher body fat and BMI values than G allele carriers. Acute exercise decreased leptin levels in G allele carriers, but increased in AA homozygotes. Physical training significantly decreased BMI values and also a tendency for decreased plasma leptin levels was observed in all subjects. In G allele carriers, BMI loss was mainly due to decreased fat mass, whereas in AA homozygotes due to loss of fat-free mass. Training increased VO(2)peak in all subjects with most prominent effects in G allele carriers.

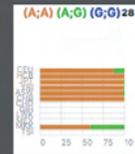
GHSR	G477A	rs572169	G		A		Presenza allele A (AA o AG) = possibile predisposizione all'assunzione di grandi quantità di cibo e tendenza all'obesità
Leptin	-2548 G-A	rs7799039	G		A		AA=possibile fattore di rischio cardiovascolare e tendenza all'obesità
MC4R	g_60183864T>C	rs17782313	T		C		Presenza allele C (CC o CT) = possibile presenza di disturbi dell'appetito, tendenza all'obesità
NPY	L7P	rs16139	T		C		Presenza allele C (CC o CT) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso
PPARG	P12A	rs1801282	C		G		Presenza allele G (GG o CG) = possibile predisposizione all'aumento di peso
VEGF	c_-1507 C-G	rs2010963	C		G		Presenza G (GG o CG) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso



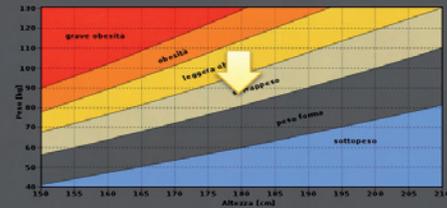
Geno	Mag	Summary
(C;C)	2.5	adults likely to be 0.44 BMI units higher
(C;T)	2	adults likely to be 0.22 BMI units higher
(T;T)	0	normal

GeneAdvise

GHSR	G47A	rs572169	G	A	Presenza allele A (AA o AG) = possibile predisposizione all'assunzione di grandi quantità di cibo e tendenza all'obesità
Leptin	-2548 G-A	rs7799039	G	A	AA=possibile fattore di rischio cardiovascolare e tendenza all'obesità
MC4R	g.60183864T>C	rs17782313	T	C	Presenza allele C (CC o CT) = possibile presenza di disturbi dell'appetito, tendenza all'obesità
IPY	 Cholesterol, alcohol, depression G (C) rare NO GWA616139	T	C	Presenza allele C (CC o CT) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso	
PPARG	P12A	rs1801282	C	G	Presenza allele G (GG o CG) = possibile predisposizione all'aumento di peso
VEGF	c.-1507 C-G	rs2010963	C	G	 Presenza G (GG o CG) = possibile fattore di rischio cardiovascolare e predisposizione all'aumento di peso



Meta-analysis
NO GWAS



GeneAdvise

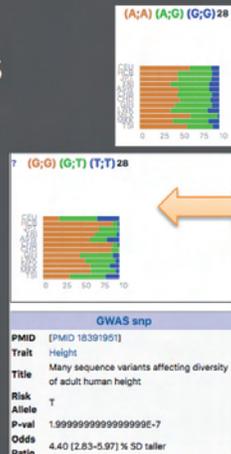
PERSONAL GENETICS
BONES-TENDONS PHYSIOLOGY AND INJURIES



GeneAdvise

PERSONAL GENETICS
BONES-TENDONS
PHYSIOLOGY
AND INJURIES

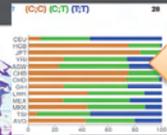
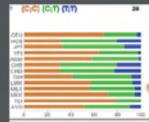
Collagen genes
LDL receptor genes
Vitamin D Receptor genes



Gene	Variante	RSnumber	Nucleotide	Variatione	Interpretazione
COL12A1	Gly3058Ser	rs970547	G	A	AA= tendenza alla lassità articolare, possibile predisposizione alla rottura del legamento crociato anteriore
<p>> Front Genet. 2021 Aug 10;12:605861. doi: 10.3389/fgene.2021.605861.eCollection 2021.</p> <p>COL12A1 rs970547 Polymorphism Does Not Alter Susceptibility to Anterior Cruciate Ligament Rupture: A Meta-Analysis</p>					
COL27A1	g.117049891T>G	rs946053	T	G	Presenza allele G= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille)
<p>All from Collins, indirect, flanking marker, Risk allele T. South Africa Pop.</p>					
COL5A1	C / T	rs12722	C	T	Presenza allele T= marcatore di suscettibilità ai crampi muscolari; marcatore di debolezza tendinea
COL6A4P1	g.15216429C>T	rs7639618	C	T	TT=debolezza delle cartilagini articolari (prevalentemente ginocchio), possibile predisposizione all'osteoartrosi
COL1A1	c.104-441 G-T	rs1800012	G	T	Presenza allele T=possibile aumentato rischio per osteoporosi TT= fattore di protezione per rottura legamento crociato anteriore
CTR	Pro463Leu	rs1801197	C	T	TT= possibile tendenza alla riduzione della massa ossea
ESR1	PvuII IVS1- 397 T/C	rs2234693	C	T	TT= possibile fattore di rischio per osteoporosi
	XbaI (IVS1-351 A/G)	rs9340799	A	G	GG=possibile tendenza alla frattura ossea per riduzione BMD
ESR2	39 A-G	rs4986938	A	G	GG=possibile tendenza alla frattura

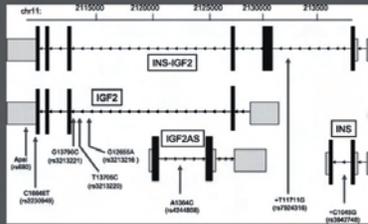
PERSONAL GENETICS
BONES-TENDONS PHYSIOLOGY
AND INJURIES

Only tendons
JPN



Gene	Variante	RSnumber	Nucleotide	Variatione	Interpretazione
COL12A1	Gly3058Ser	rs970547	G	A	AA= tendenza alla lassità articolare, possibile predisposizione alla rottura del legamento crociato anteriore
<p>OncoTarget, 2018 Mar 16; 9(20): 15365-15374. PMID: PMC5860610 Published online 2017 Dec 27. doi: 10.18632/oncotarget.23005 PMID: 29632850</p> <p>Association between polymorphism rs12722 in COL5A1 and musculoskeletal soft tissue injuries: a systematic review and meta-analysis</p> <p>Research article Open Access Published: 02 December 2019</p>					
COL5A1	C / T	rs12722	C	T	Presenza allele G= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille)
<p>COL5A1 rs12722 polymorphism is not associated with passive muscle stiffness and sports-related muscle injury in Japanese athletes</p>					
COL6A4P1	g.15216429C>T	rs7639618	C	T	TT=debolezza delle cartilagini articolari (prevalentemente ginocchio), possibile predisposizione all'osteoartrosi
<p>Metaanalisi/Japan/osteoartite</p>					
COL1A1	c.104-441 G-T	rs1800012	G	T	Presenza allele T=possibile aumentato rischio per osteoporosi
<p>Metaanalisi/solo TT protettivo</p>					
CTR	Pro463Leu	rs1801197	C	T	TT= fattore di protezione per rottura legamento crociato anteriore
<p>Osteoporosis HS</p>					
ESR1	PvuII IVS1-397 T/C	rs2234693	C	T	TT= possibile fattore di rischio per osteoporosi
<p>Estrogen Receptor-women-patology-NS</p>					
	XbaI (IVS1-351)	rs9340799	A	G	GG=possibile tendenza alla frattura ossea per riduzione BMD
ESR2	39 A-G	rs4986938	A	G	GG=possibile tendenza alla frattura

GeneAdvise



Manage ensemble – muscle performance weakness in men

Sports Med Open. 2015 Dec; 1: 33.
Published online 2015 Oct 11. doi: 10.1186/s40798-015-0033-9

PMCID: PMC4600723

Influence of the MCT1 rs1049434 on Indirect Muscle Disorders/Injuries in Elite Football Players

Myositis Massidda², Nir Eymon², Valeria Bachin¹, Laura Cortes¹, Claudia Culligioni¹, Francesco Piras², Paolo Cugis³, Marco Scorcu³ and Carla M. Calò¹

Breakdown of extracellular matrix in normal physiological processes, such tissue remodeling

This secreted protease breaks down fibronectin, laminin, elastin, proteoglycan core protein, gelatins, and several types of collagen

GDF5	+ 104T/C	rs143383	C	T	😊	Presenza allele T=possibile fattore di rischio per osteoartrite e frattura ossea
IGF2	G17200A	rs680	G	A	😞	Presenza allele A=tendenza alla lesione muscolare, allungamento dei tempi di recupero
INS-IGF2	C13790G	rs3213221	C	G	😞	Presenza allele G=tendenza alla lesione muscolare, allungamento dei tempi di recupero
IGF2As	G11711T	rs7924316	G	T	😞	Presenza allele T=tendenza alla lesione muscolare, allungamento dei tempi di recupero
IGFBP-3	-C1592A	rs2132570	C	A	😞	Presenza allele A=tendenza alla lesione muscolare, allungamento dei tempi di recupero
LDLR	A11307A	rs3736228	C	T	😊	Presenza allele T=possibile tendenza alla frattura ossea
MCT1	T142A	rs1049434	A	T	😊	TT= tendenza a rapida saturazione delle cellule muscolari (crampi)
MMP1	-1607 TG/GG	rs1799750	G	G	😞	GG= tendenza alla lassità articolare, possibile predisposizione alla rottura del legamento crociato anteriore
MMP10	g.102779693C>T	rs486055	C	T	😞	Presenza Allele T=tendenza alla lassità articolare, possibile predisposizione alla rottura del legamento crociato anteriore

PERSONAL GENETICS
BONES-TENDONS PHYSIOLOGY
AND INJURIES

3 studi indip HS

MMP12	g.102875061A>G	rs2276109	A	G	Presenza Allele G= tendenza alla lassità articolare, possibile predisposizione alla rottura del legamento crociato anteriore
1 studio mirato??					
MMP3	g.102842889A>G	rs679620	A	G	GG= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille)
<i>Collins/Australia/COL5A1/100 paz</i>					
	g.102840607T>C	rs591058	T	C	CC= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille) 😞
<i>Collins/Australia/COL5A1</i>					
	g.102838056G>A	rs650108	G	A	AA= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille)
<i>Collins/Australia/COL5A1</i>					
NRF2 (GABPB1)	c.16-8797 T-C	rs7181866	T	C	Presenza allele C= vantaggio per sport e performance di resistenza 😊
<i>Nuclear Respiratory Factor</i>					
TNC	g.117813990C>T	rs1330363	C	T	TT= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille) 😞
2 studi/COL27A1/ LS					
	g.117808785T>A	rs2104772	T	A	Presenza allele A= possibile predisposizione alle tendinopatie croniche (Tendine d'Achille) 😞
2 studi/COL27A1/ LS					
VDR	Fok1 (ATG-ACG cod 1)	rs2228570	T	C	TT=possibile predisposizione alla diminuzione della densità ossea
<i>Vitamin D Receptor</i>					
HS	BsmI (A-G intr 8)	rs1544410	A	G	GG=possibile ridotto assorbimento di calcio a livello intestinale 😊
Uncorrect/GG protettivo					
HS	TaqI (T-C es 9)	rs731236	T	C	Presenza allele C=possibile fattore di rischio per osteoporosi

GeneAdvise

PERSONAL GENETICS
PERFORMANCE



Angiotensin vasopressor/aldosterone stimulating peptide that controls blood pressure and fluid-electrolyte balance

Associato ipertensione (DD) > aumento apporto sangue muscolare

Alfa actinina 3/ skeletal muscle-structural component of sarcomeric Z line

Studio ridotto, evidenza solo su femmine. Non confermati in replica

Nitric oxide synthetase 3/regulating vascular tone Uno studio su atleti. HS.

Vascular Endothelial Growth Factor/angiogenesi
1 studio russo

GENE	VARIANTI	RSnumber	Nucleotide	Variazione	Interpretazione
ACE	Ins/Del	rs4340			 DD (Del/Del)=predisposizione agli sport di potenza Il (Ins/Ins)= predisposizione agli sport di resistenza
ACTN3	R577X	rs1815739	C	T	 TT=predisposizione per sport e performance di resistenza CT=profilo intermedio CC=vantaggio per sport e performance di velocità e potenza
CYP1A2	-163C>A	rs762551	C/*1A	A/*1F	 AA=rapido metabolizzatore della caffeina-effetto ergogenico AC o CC= lento metabolizzatore della caffeina - nessun effetto ergogenico
LTC	-13910 T-C G/A(-22018)	rs4988235 rs182549	T A	C G	 CC= Intollerante al lattosio GG= Intollerante al lattosio
NOS3	-786 T / C	rs2070744	T	C	 TT o TC= predisposizione agli sport di potenza
VEGF	G-634C	Rs2010963	G	C	 Presenza di C (GC o CC) = migliore performance negli sport di resistenza

GENE PERSONA

TEAM PROFESSIONISTICO DI
CALCIO

PROFESSIONAL FOOTBALL
TEAM

GeneAdvis

METABOLISMO
LIPIDI-
CARBOIDRATI

Gene FABP2

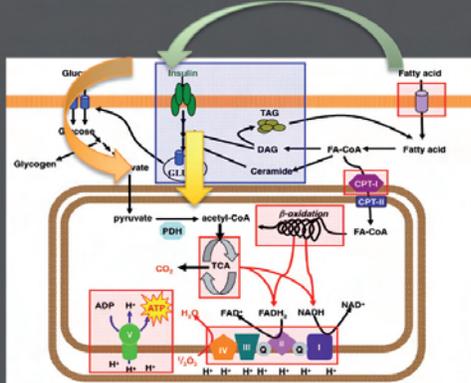
Fatty acid-binding protein-2

FABP2 codifica per proteine coinvolte nella captazione, nel trasporto e nel metabolismo intracellulare di acidi grassi a lunga catena.

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

PPAR γ regola processi infiammatori, differenziamento cellulare, omeostasi del glucosio e dei lipidi. PPAR γ è un fattore determinante per la trasformazione e maturazione degli adipociti.



Gene ADRB2

ADRB2 è espresso preferenzialmente nel tessuto adiposo ed è deputato ai processi di mobilitazione del grasso a scopo energetico.

Gene ADRB3

ADRB3 è espresso nel tessuto adiposo viscerale ed è presente nei depositi di grasso, in cui è coinvolto nei processi di lipolisi e nella regolazione termica.

basso	no	si	8/14		3/1	1/5
basso	si	si	4/14		2,5/1,5	1/5
bilanciato	si	si	9/14		2,5/1,5	0/5
basso	si	si	8/14		3/1	1/5
bilanciato	no	si	3/14		3,5/0,5	◀1/5
bilanciato	si	si	8/14		2/2	0/5
bilanciato	si	no	4/14		2/2	0/5
bilanciato	no	si	7/14		3,5/0,5	1/5
basso	no	no	6/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	si	5/14		1,5/2,5	0/5
basso	no	no	8/14		2/2	0/5
alto	si	no	7/14		2/2	2/5
bilanciato	si	no	3/14		3/1	0/5
basso	no	no	5/14		2,5/1,5	0/5
bilanciato	no	no	8/14		2,5/1,5	2/5
alto	si	no	7/14		3,5/0,5	0/5
basso	no	no	9/14		3,5/0,5	0/5
bilanciato	si	si	5/14		2/2	0/5
bilanciato	no	si	9/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	si	si	2/14		3/1	0/5
bilanciato	si	si	5/14		2/2	1/5
bilanciato	si	no	4/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	no	no	8/14		2/2	0/5
alto	si	si	2/14		2,5/1,5	0/5
bilanciato	si	si	2/14		2,5/1,5	1/5
basso	no	si	9/14		2,5/1,5	◀2/5
bilanciato	no	no	8/14		3,5/0,5	0/5
basso	no	no	8/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	no	3/14		2/2	0/5
bilanciato	si	si	3/14		2/2	1/5
Carbo/lipidi	Esercizio fisico	Acidi grassi	> BMI		Forza espl/resist	Osteo injuries

ADIPOA/A

ADRB1/C

APOA5/C

GHSR/A

LEPTIN/A

NPY/C

VEGF/G

FTO/136A

FTO/980T

FTO/085C

FTO/449G



Gene ADRB2

ADRB2 è espresso preferenzialmente nel tessuto adiposo ed è deputato ai processi di mobilizzazione del grasso a scopo energetico.

Gene ADRB3

ADRB3 è espresso nel tessuto adiposo viscerale ed è presente nei depositi di grasso, in cui è coinvolto nei processi di lipolisi e nella regolazione termica.

Gene FABP2

Fatty acid-binding protein-2

FABP2 codifica per proteine coinvolte nella captazione, nel trasporto e nel metabolismo intracellulare di acidi grassi a lunga catena.

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

PPAR γ regola processi infiammatori, differenziamento cellulare, omeostasi del glucosio e dei lipidi. PPAR γ è un fattore determinante per la trasformazione e maturazione degli adipociti.

Gene APOA2

APOA2 è una lipoproteina ad alta densità (HDL). Ha un ruolo cruciale nel funzionamento del sistema arterioso

basso	no	si	8/14		3/1	1/5
basso	si	si	4/14		2,5/1,5	1/5
bilanciato	si	si	9/14		2,5/1,5	0/5
basso	si	si	8/14		3/1	1/5
bilanciato	no	si	3/14		3,5/0,5	◀1/5
bilanciato	si	si	8/14		2/2	0/5
bilanciato	si	no	4/14		2/2	0/5
bilanciato	no	si	7/14		3,5/0,5	1/5
basso	no	no	6/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	si	5/14		1,5/2,5	0/5
basso	no	no	8/14			
alto	si	no	7/14			
bilanciato	si	no	5/14			
basso	no	no	5/14			
bilanciato	no	si	9/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	si	si	2/14		3/1	0/5
bilanciato	si	si	5/14		2/2	1/5
bilanciato	si	no	4/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	no	no	8/14		2/2	0/5
alto	si	si	2/14		2,5/1,5	0/5
bilanciato	si	si	2/14		2,5/1,5	1/5
basso	no	si	9/14		2,5/1,5	◀2/5
bilanciato	no	no	8/14		3,5/0,5	0/5
basso	no	no	8/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	no	3/14		2/2	0/5
bilanciato	si	si	3/14		2/2	1/5
Carbo/lipidi	Esercizio fisico	Acidi grassi	> BMI		Forza espl/resist	Osteo injuries

METABOLISMO MOBILIZZAZIONE GRASSI PER ENERGIA

ADIPOA/A	ADRB1/C	APOA5/C	GHSR/A	LEPTIN/A A	NPY/C	VEGF/G	FTO /136A	FTO /980T	FTO /085C	FTO /449G
----------	---------	---------	--------	------------	-------	--------	-----------	-----------	-----------	-----------

GeneAdvise

Gene ADRB2

ADRB2 è espresso preferenzialmente nel tessuto adiposo ed è deputato ai processi di mobilizzazione del grasso a scopo energetico.

Gene ADRB3

ADRB3 è espresso nel tessuto adiposo viscerale ed è presente nei depositi di grasso, in cui è coinvolto nei processi di lipolisi e nella regolazione termica.

Gene FABP2

Fatty acid-binding protein-2

FABP2 codifica per proteine coinvolte nella captazione, nel trasporto e nel metabolismo intracellulare di acidi grassi a lunga catena.

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

PPARg regola processi infiammatori, differenziamento cellulare, omeostasi del glucosio e dei lipidi. PPARg è un fattore determinante per la trasformazione e maturazione degli adipociti.

METABOLISMO
RISPOSTA
ASSUNZIONE
ACIDI GRASSI

Gene APOA2

APOA2 è una lipoproteina ad alta densità (HDL). Ha un ruolo cruciale nel funzionamento del sistema arterioso

basso	no	si	8/14			3/1	1/5
basso	si	si	4/14			2,5/1,5	1/5
bilanciato	si	si	9/14			2,5/1,5	0/5
basso	si	si	8/14			3/1	1/5
bilanciato	no	si	3/14			3,5/0,5	◀1/5
bilanciato	si	si	8/14			2/2	0/5
bilanciato	si	no	4/14			2/2	0/5
bilanciato	no	si	7/14			3,5/0,5	1/5
basso	no	no	6/14			3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	si	5/14			1,5/2,5	0/5
basso	no	no	8/14			2/2	0/5
alto	si	no	7/14			2/2	2/5
bilanciato	si	no	3/14			3/1	0/5
basso	no	no	5/14			2,5/1,5	0/5
bilanciato	no	no	8/14			2,5/1,5	2/5
alto	si	no	7/14			3,5/0,5	0/5
basso	no	no	9/14			3,5/0,5	0/5
bilanciato	si	si	5/14			2/2	0/5
bilanciato	no	si	9/14			1,5/2,5	1/5
bilanciato	si	si	2/14			3/1	0/5
bilanciato	si	si	5/14			2/2	1/5
bilanciato	si	no	4/14			1,5/2,5	1/5
bilanciato	no	no	8/14			2/2	0/5
alto	si	si	2/14			2,5/1,5	0/5
bilanciato	si	si	2/14			2,5/1,5	1/5
basso	no	si	9/14			2,5/1,5	◀2/5
bilanciato	no	no	8/14			3,5/0,5	0/5
basso	no	no	8/14			3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	no	3/14			2/2	0/5
bilanciato	si	si	3/14			2/2	1/5
Carbo/lipidi	Esercizio fisico	Acidi grassi	> BMI			Forza esp/ resist	Osteo injuries

ADIPOA/A	ADRB1/C	APOA5/C	GHSR/A	LEPTIN/A	NPY/C	VEGF/G	FTO /136A	FTO /980T	FTO /085C	FTO /449G
----------	---------	---------	--------	----------	-------	--------	-----------	-----------	-----------	-----------

GeneAdvise

METABOLISMO LIPIDI-CARBOIDRATI

Gene FABP2

Fatty acid-binding protein-2

FABP2 codifica per proteine coinvolte nella captazione, nel trasporto e nel metabolismo intracellulare di acidi grassi a lunga catena.

Gene PPAR

Peroxisome proliferator-activated receptor

PPARg regola processi infiammatori, differenziamento cellulare, omeostasi del glucosio e dei lipidi. PPARg è un fattore determinante per la trasformazione e maturazione degli adipociti.

METABOLISMO NEGATIVO ASSUNZIONE ACIDI GRASSI

Gene APOA2

APOA2 è una lipoproteina ad alta densità (HDL). Ha un ruolo cruciale nel funzionamento del sistema arterioso

Gene ADRB2

ADRB2 è espresso preferenzialmente nel tessuto adiposo ed è deputato ai processi di mobilitazione del grasso a scopo energetico.

Gene ADRB3

ADRB3 è espresso nel tessuto adiposo viscerale ed è presente nei depositi di grasso, in cui è coinvolto nei processi di lipolisi e nella regolazione termica.

METABOLISMO GRASSI CONSUMO ENERGETICO

basso	no									
basso	si									
bilanciato	si	si	9/14					2,5/1,5	0/5	
basso	si	si	8/14					3/1	1/5	
bilanciato	no	si	3/14					3,5/0,5	◀1/5	
bilanciato	si	si	8/14					2/2	0/5	
bilanciato	si	no	4/14					2/2	0/5	
bilanciato	no	si	7/14					3,5/0,5	1/5	
basso	no	no	6/14					3,5/0,5	2/5	
bilanciato	si	si	5/14					1,5/2,5	0/5	
basso	no	no	8/14					2/2	0/5	
alto	si	no	7/14					2/2	2/5	
bilanciato	si	no	3/14					3/1	0/5	
basso	no	no	5/14					2,5/1,5	0/5	
bilanciato	no	no	8/14					2,5/1,5	2/5	
alto	si	no	7/14					3,5/0,5	0/5	
basso	no	no	9/14					3,5/0,5	0/5	
bilanciato	si	si	5/14					2/2	0/5	
bilanciato	no	si	9/14					1,5/2,5	1/5	
bilanciato	si	si	2/14					3/1	0/5	
bilanciato	si	si	5/14					2/2	1/5	
bilanciato	no	no	4/14					1,5/2,5	1/5	
bilanciato	no	no	8/14					2/2	0/5	
alto	si	si	2/14					2,5/1,5	0/5	
bilanciato	si	si	2/14					2,5/1,5	1/5	
basso	no	si	9/14					2,5/1,5	◀2/5	
bilanciato	no	no	8/14					3,5/0,5	0/5	
basso	no	no	8/14					3,5/0,5	2/5	
bilanciato	si	no	3/14					2/2	0/5	
bilanciato	si	si	3/14					2/2	1/5	
Carbo/lipidi	Esercizio fisico	Acidi grassi	> BMI					Forza espl/resist	Osteo injuries	

METABOLISMO GENI > AUMENTO BMI

ADIPOA/A ADRB1/C APOA5/C GHSR/A LEPTIN/AA NPY/C VEGF/G FTO /136A FTO /980T FTO /085C FTO /449G

Adiponectina R.adrenergico Apolipoproteina R.Grelina
Metabolismo grassi Appetito

Leptina NeuropeptideY EndGrowthF.
Vascularizzazione

FAT GENE
>BMI

GeneAdvise

ACTN3 is one of two genes that encodes for the highly conserved α -actin-binding proteins in the skeletal muscles. ACTN3 is expressed in fast twitch muscle fibers while the second gene, ACTN2, is expressed in all skeletal muscle fibers-

ACE, angiotensin converting enzyme

Le varianti ACTN3 CC e ACE DEL favoriscono la forza esplosiva, ma determinano meno doti metaboliche di resistenza allo sforzo.

Le varianti ACTN3 TT e ACE INS (assieme a maggior quantità di ACTN2) hanno maggior doti di resistenza alla forza, maggior protezione al lavoro intenso e prolungato.

NOS3/VEGF sono coinvolti nei processi di vascolarizzazione



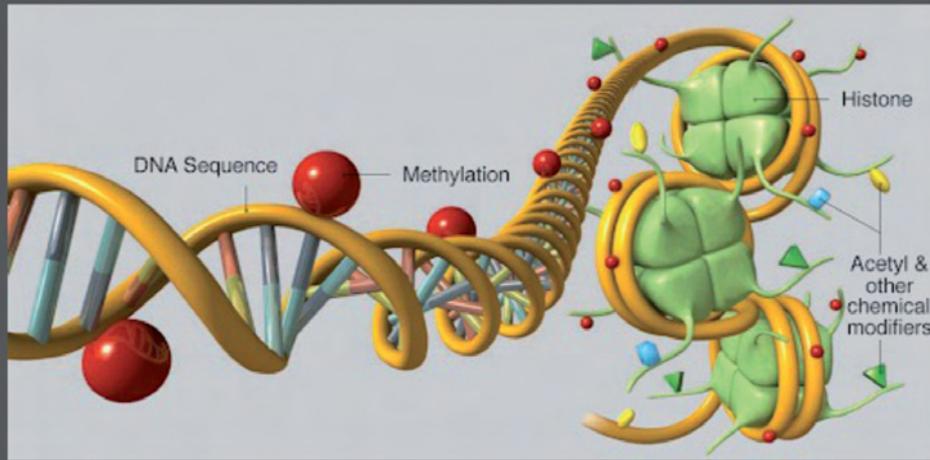
basso	no	si	8/14		3/1	1/5
basso	si	si	4/14		2,5/1,5	1/5
bilanciato	si	si	9/14		2,5/1,5	0/5
basso	si	si	8/14		3/1	1/5
bilanciato	no	si	3/14		3,5/0,5	←1/5
bilanciato	si	si	8/14		2/2	0/5
bilanciato	si	no	4/14		2/2	0/5
bilanciato	no	si	7/14		3,5/0,5	1/5
basso	no	no	6/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	si	5/14		1,5/2,5	0/5
basso	no	no	8/14		2/2	0/5
alto	si	no	7/14		2/2	2/5
bilanciato	si	no	3/14		3/1	0/5
basso	no	no	5/14		2,5/1,5	0/5
bilanciato	no	no	8/14		2,5/1,5	2/5
alto	si	no	7/14		3,5/0,5	0/5
basso	no	no	9/14		3,5/0,5	0/5
bilanciato	si	si	5/14		2/2	0/5
bilanciato	no	si	9/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	si	si	2/14		3/1	0/5
bilanciato	si	si	5/14		2/2	1/5
bilanciato	si	no	4/14		1,5/2,5	1/5
bilanciato	no	no	8/14		2/2	0/5
alto	si	si	2/14		2,5/1,5	0/5
bilanciato	si	si	2/14		2,5/1,5	1/5
basso	no	si	9/14		2,5/1,5	←2/5
bilanciato	no	no	8/14		3,5/0,5	0/5
basso	no	no	8/14		3,5/0,5	2/5
bilanciato	si	no	3/14		2/2	0/5
bilanciato	si	si	3/14		2/2	1/5
Carbo/lipidi	Esercizio fisico	Acidi grassi	> BMI		Forza espl/resist	Osteo injures

GENI CODIFICANO
PROTEINE MUSCOLARI
E VASCOLARIZZAZIONE

GENI CODIFICANO
METABOLISMO OSSEO

OsteDefect COL6A/TT	COL11A1/TT	CTR/TT	LRP5/T	MCT1/TT crampi	VDR BSML/GG
Collagene Osteogenesi	R.Calcitonina Massa ossea	R.Osteoblasti	Trasporto lattato Acido lattico	Omeostasi calcio Mineralizzazione osso	

PERSONAL GENETICS
OMOCISTEIN - METHYLATION

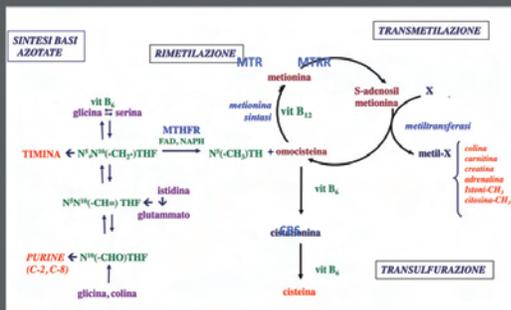


Metabolismo dell'omocisteina, sintesi della metionina e metilazione.

Deficit di metilazione è coinvolto nel metabolismo lipidico.

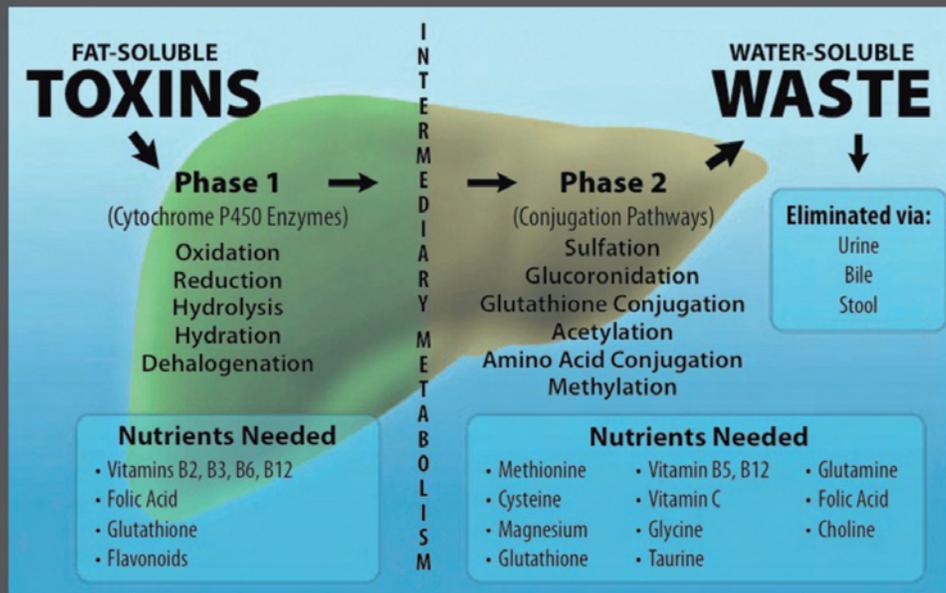
Ipometilazione > BMI

Marker chimico: omocisteina ematica elevata necessita supplementazione vitamine gruppo B fino a omeostasi > controllo spessore carotideo



GENE	VARIANTI	RSnumber	Nucleotide	Variation	Interpretazione
CBS	C699T	rs234706	C	T	TT= possibile fattore di prevenzione per eventi cardiovascolari-alta sensibilità all'attività dell'acido folico nell'abbassamento dei livelli di omocisteina CC=possibile fattore di rischio per eventi cardiovascolari
	T1080C	rs1801181	T	C	CC= possibile fattore di prevenzione per eventi cardiovascolari-alta sensibilità all'attività dell'acido folico nell'abbassamento dei livelli di omocisteina TT=possibile fattore di rischio per eventi cardiovascolari
MTHFR	C677T	rs1801133	C	T	Presenza allele T (CT o TT) = correlato a bassi livelli di B12 e folati, alti livelli di omocisteina
	A1298C	rs1801131	A	C	Presenza allele C (AC o CC) = correlato a riduzione di B12 e folati e aumento livelli di omocisteina
MTR	A2756G	rs1805087	A	G	Presenza allele G (AG o GG) = correlato a aumento omocisteina e riduzione di B12 e folati
MTRR	A66G	rs1801394	A	G	Presenza allele G (AG o GG) = possibile aumento del rischio cardiovascolare
TCH2	T76C/G	rs1801198	C	G	GG=possibile aumento dell'omocisteinemia e riduzione della VitB12

PERSONAL GENETICS
DETOXI

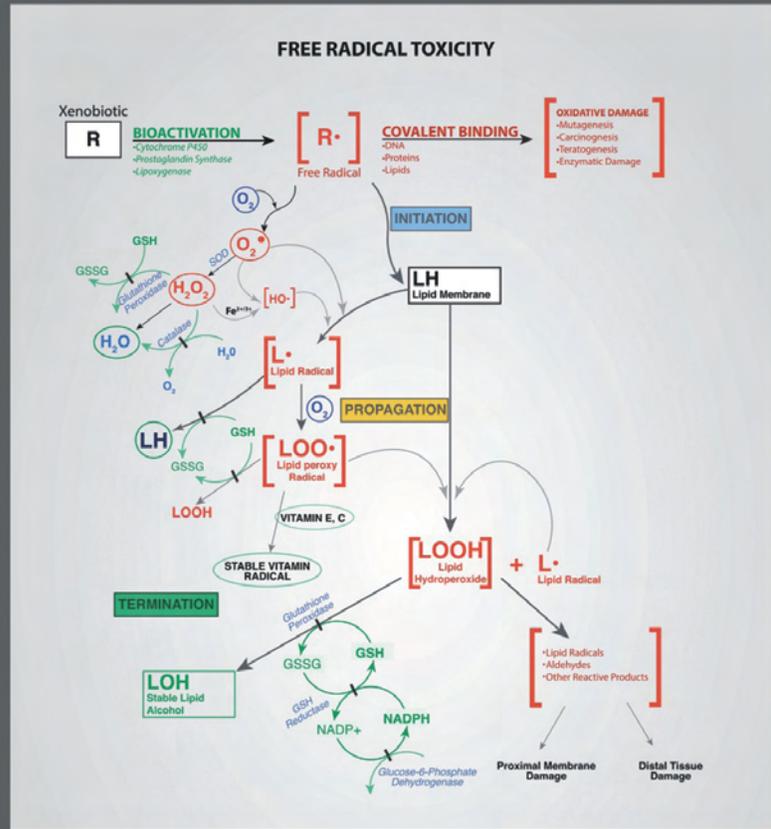


PERSONAL GENETICS
DETOXI

The metabolism of xenobiotic agents is a complex pathway of various genes that can rise to stable products or to free radicals with increased cytotoxicity.

Breaking down the role of each gene is an improper action. The different efficiency of the polymorphisms / variants is not a discriminating element in the behavior of life, which envisages as a central point the control of xenobiotic agents before contact.

The polymorphic data show little selective pressure, ethnic dependent behavior, sometimes concomitant detrimental-protective action.



SUOX

rs202085145

aka c.2280>T, p.Arg76Ser, R76S

ClinVar indicated "uncertain significance" for sulfite oxidase deficiency, also known as Sulfocysteinuria, listed in OMIM as a recessively inherited condition; in 10.1126/science.aah4043, this variant appears to have some effect even if inherited in only one copy (see paper for discussion).

Categories: [is a snp](#) | [in dbSNP](#) | [SNPs on chromosome 12](#) | [Has genotype](#) | [Uses doi](#)

Orientation plus
Stabilized plus

Geno + Mag + Summary

(G,G)	0	common/normal
(G,T)	3.9	Carrier of sulfite oxidase deficiency mutation; possible effects?
(T,T)	8	Sulfite oxidase deficiency (predicted)

is a
sulfite to

- is a gene
- is mentioned by
- Full name sulfite oxidase
- EntrezGene 6821
- PhoGenI 6821
- VariationViewer 6821
- ClinVar SUOX
- GeneCards SUOX
- dbSNP 6821
- Diseases SUOX
- SADR 6821
- HugeNav 6821
- wikipedia SUOX
- google SUOX
- gpubmed SUOX
- EVS SUOX
- HEFalMp SUOX
- MyGene2 SUOX
- 23andMe SUOX
- UniProt P51687
- Ensembl ENSG00000139631
- OMIM 606887
- # SNPs 15

rs773115

Categories:

Orientation minus
Stabilized minus

Geno + Mag + Summary

(C,C)	0	common in clinvar
Make rs773115(C;G)		
Make rs773115(G;G)		

Submitted interpretations and evidence

FEEDBACK

Interpretation (Last evaluated)	Review status (Assertion criteria)	Condition (inheritance)	Submitter	Supporting information (See all)
Pathogenic (Jun 26, 2017)	no assertion criteria provided Method: literature only	Isolated sulfite oxidase deficiency Allele origin: germline	GeneReviews Accession: SCV000991703.1 Submitted: (Jun 27, 2017) Comment: NCBI staff reviewed the sequence information reported in PubMed 10519592 to determine the location of this allele on current reference sequences. In the original cited paper, the reported change is 1190C>A predicting S370I. The serine codon is TCC in the figure, which agrees with NM_000456.1. However, the codon is TCG in NM_000456.2, making the C>A change predict S470V. (jens)	Evidence details Publications PubMed (2) BioSniff NIM463433

Functional evidence

There is no functional evidence in ClinVar for this variation. If you have generated functional data for this variation, please consider submitting that data to ClinVar.

Citations for this variant

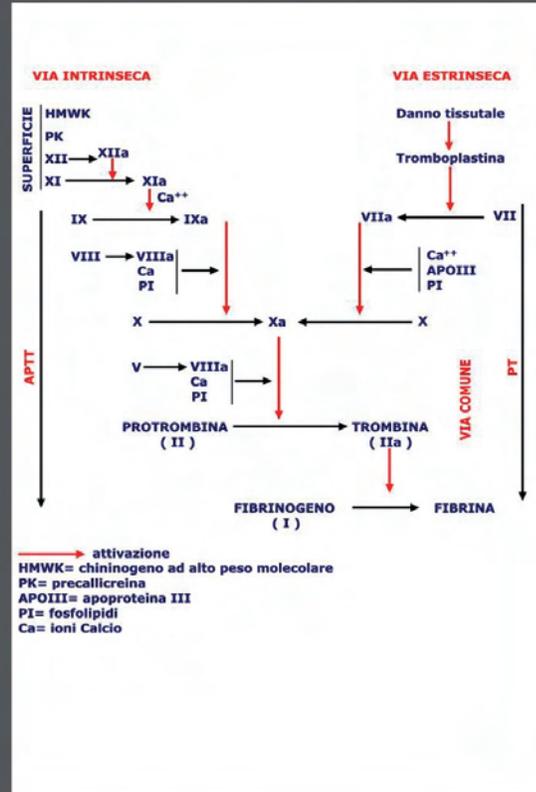
Title	Author	Journal	Year	Link
Isolated Sulfite Oxidase Deficiency	Bindu PS et al.	-	2017	PMID: 28933809
Isolated sulfite oxidase deficiency: review of two cases in one family.	Edwards MC et al.	Ophthalmology	1999	PMID: 10519592

	Max Magnitude	Chromosome position	Summary
rs11171718	0	55,995,838	
rs121908007	5	56,004,039	sulfite oxidase deficiency
rs121908008	5	56,004,183	
rs121908009	5	56,004,878	
rs202085145	8	56,002,720	
rs24062186	0	55,995,106	
rs58717357	0	55,995,781	
rs60028217	0	55,996,005	
rs705700	0	55,995,509	
rs705702	0	55,996,852	
rs7297662	0	56,001,594	
rs772920	0	55,996,580	
rs773115	0	56,004,670	
rs773125	0	56,001,170	
rs794725211	0	56,003,721	



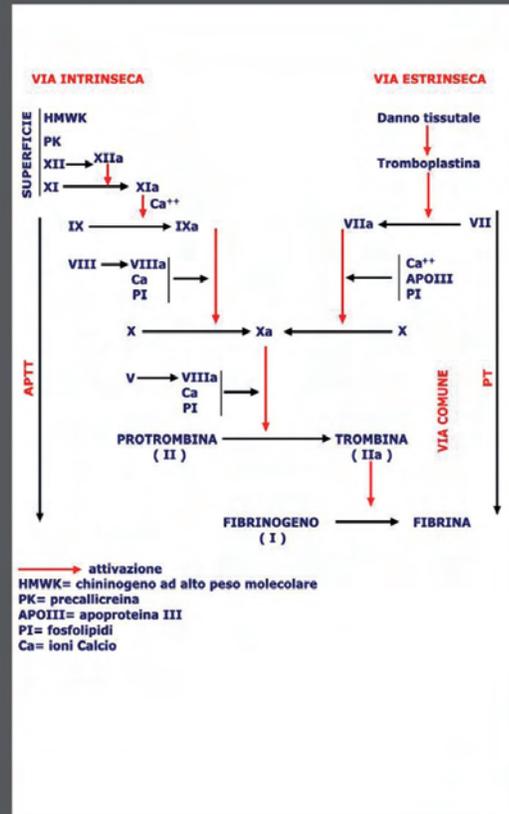
PERSONAL GENETICS
COAGULATION FACTORS

HYPERTENSIVE FACTORS
RENIN-ANGIOTENSIN
APOLIPOPROTEINS



PERSONAL GENETICS
COAGULATION FACTORS

HYPERTENSIVE FACTORS
RENIN-ANGIOTENSIN
APOLIPOPROTEINS



FATTORI DELLA COAGULAZIONE

Gene	Mutazione
F2 <i>Fattore II Protrombina</i>	G20210A <i>c.975G>A rs1799953</i>
F5 <i>Fattore V Proaccelerina</i>	G1691A - R506Q <i>c.1601G>A - p.R534Q rs6023</i>
	A4070G - H1299R <i>c.3902A>G - p.R3127R rs1800983</i>
F13A1 <i>Fattore XIII Fattore Lohi-Lorand</i>	V34L <i>c.101G>T - p.F34L rs1803</i>
FGF <i>β-Fibrinogeno</i>	-455G>A <i>c.-465G>A rs1800700</i>

FATTORI PIATRINICI

Gene	Mutazione
ITGB3 <i>IBP-1 o P11</i>	T1565C <i>c.1787C>T - p.L187P rs27312</i>
Serpina1 <i>PAI-1</i>	S614G <i>g.4328_4329delG rs1798768</i>

CICLO DEI FOLATI

Gene	Mutazione
CBS <i>Cistationina beta sintasi</i>	844ins68 <i>c.833T>C - del_844_845ins68 rs1742905</i>
MTHFR <i>Metiltransferasi diibiotereidattasi</i>	C677T <i>c.603C>T - p.A222P rs1801133</i>
	A1298C <i>c.1204C>G - p.R404G rs1801133</i>

SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA

Gene	Mutazione
ACE <i>Enzima Angiotensina Convertente</i>	Ins/Del <i>c.2306-108_2306-109del289 rs464894</i>
AGT <i>Angiotensinogeno</i>	M235T <i>c.803T>C - p.M235T rs180</i>

APOLIPOPROTEINE

Gene	Mutazione
APOB	R3500Q <i>c.10500G>A - p.R3527Q rs1742094</i>
APOE	Cys112Arg <i>c.383T>C - p.C130K rs429358</i>
	Arg176Cys <i>c.536C>T - p.R176C rs429358</i>
	E2=Cys-Cys
	E3=Cys-Arg E4=Arg-Arg

AA 7M-6R AG 3M-3R GG 0M A 1% #

AA 7M-11R AG 4M-4R GG 0M A 5% A+G(H1299R) more 4R #

GG 0M AG 0M AA 0M COMMON

GG 0M GT 0M TT protective TT<5%

AA ?M AG ?M GG protective? AA<5% GG 50%

(A2-C) CC 2,5M CT 2M TT 0M TT 75% CT 20% #

4G4G >>R 4G5G >R 5G5G 0R TT 90% CT 8% 4G&T1565C 4R #

TT 2,8M-1,5R CT 2,2M-1.1R CC 0M TT 25% CT 50% #

CC 2,5M-R? AC 2,1M-R? AA 0M CC 15% AC 20% #

DD >R ID lowR II OR LOW EVIDENCE #

CC 2M CT 2M TT 0M CC 10% CT 40% caucasian #

AA 4M GA 3M GG 0M G>T 5M familial #

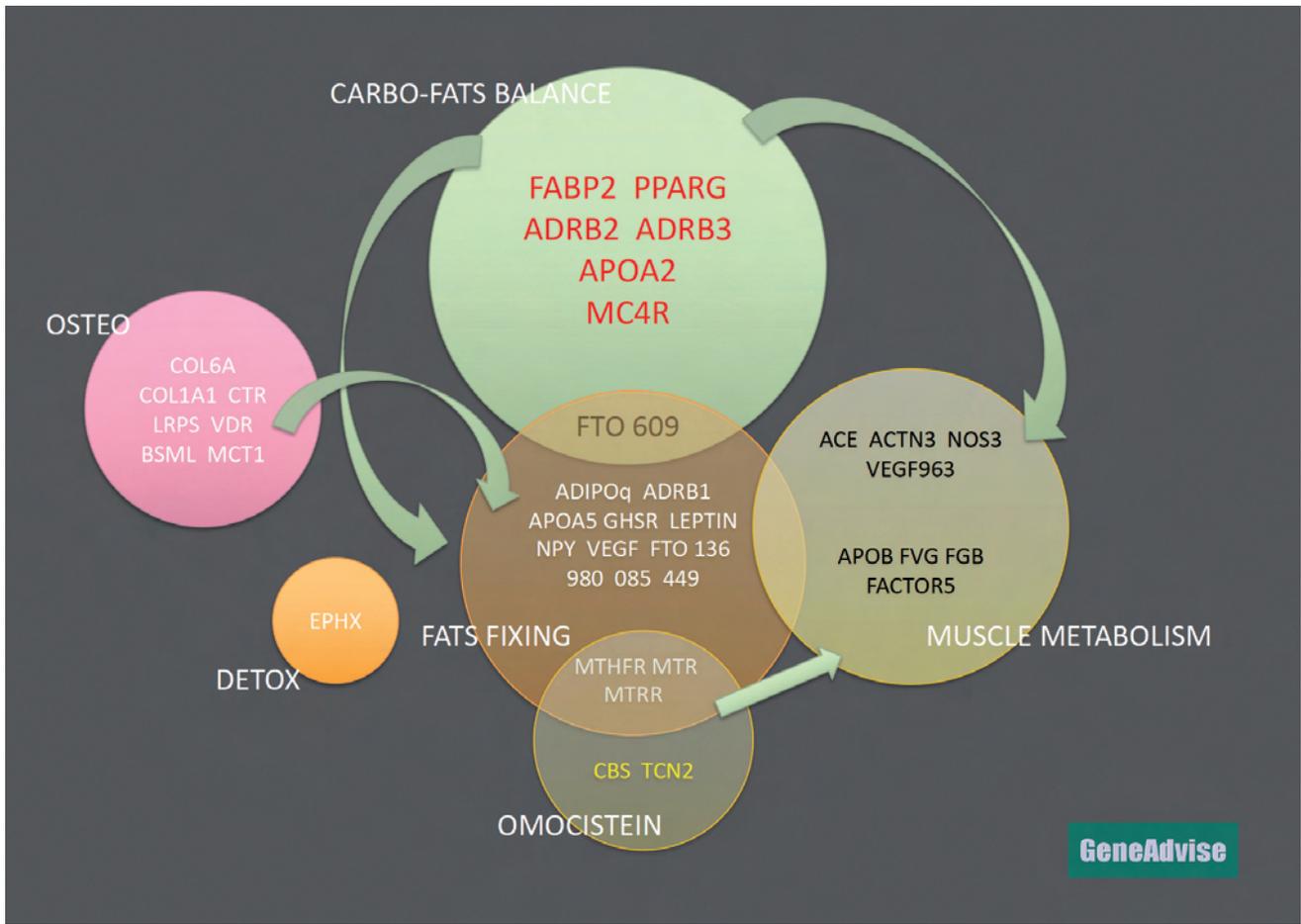
e1e1 6xM e4e4 6M e2e2 4M e1e2 e1e3 e2e4 e1e4 2,5M
e2e3 e3e3 2M #

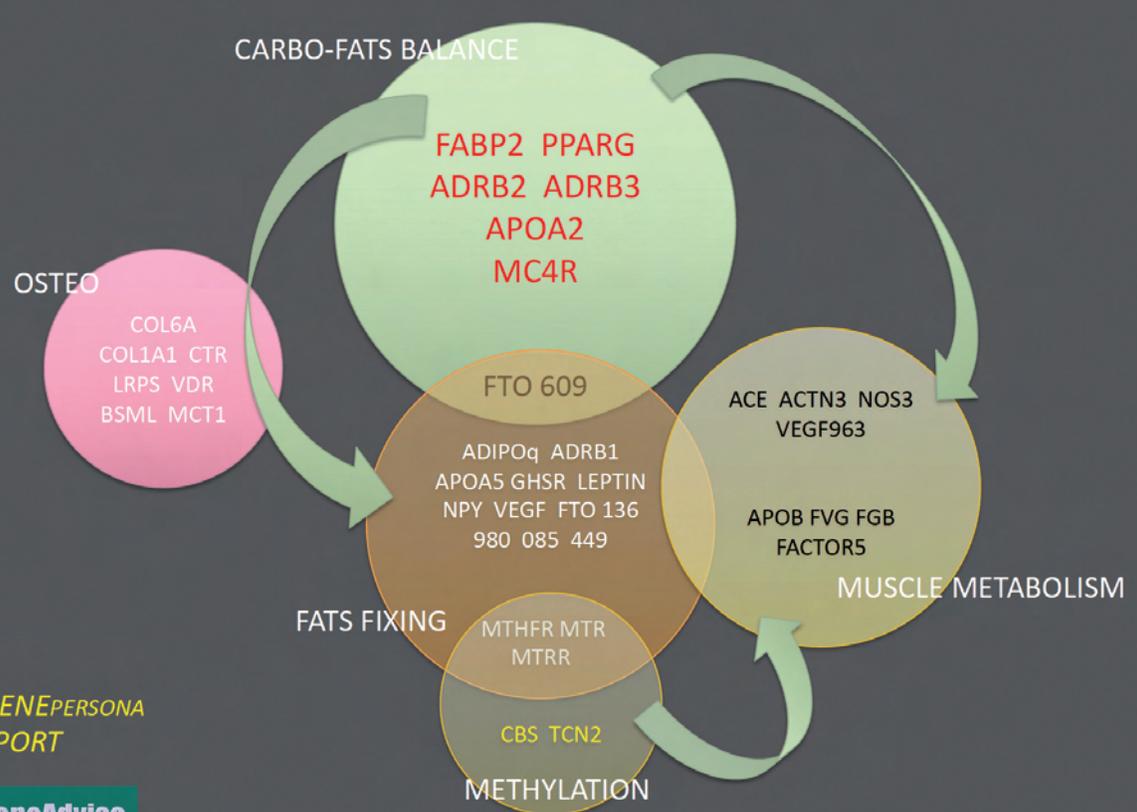
AUV
Arbitrary Unit Value
LR -4,5 >>>>>> HR +8

Yellow = +1R -1W
White = +0,5R -0,5 W

rs429358	rs7412	Name
C	T	e1
T	T	e2
T	C	e3
C	C	e4

Common name	Genoset	Magnitude	rs429358	rs7412	Comment
Apo-e1/e1	gs267	6	(C,C)	(T,T)	the rare missing allele
Apo-e1/e2	gs271	2.5	(C,T)	(T,T)	
Apo-e1/e3	gs270	2.6	(C,T)	(C,T)	ambiguous e2/e4 or e1/e3
Apo-e2/e4	gs270	2.6	(C,T)	(C,T)	ambiguous e2/e4 or e1/e3
Apo-e1/e4	gs272	2.5	(C,C)	(C,T)	
Apo-e2/e2	gs268	4	(T,T)	(T,T)	good; lowest risk
Apo-e2/e3	gs269	2	(T,T)	(C,T)	
Apo-e3/e3	gs246	2	(T,T)	(C,C)	the most common
Apo-e3/e4	gs141	3	(C,T)	(C,C)	
Apo-e4/e4	gs216	6	(C,C)	(C,C)	~11x increased Alzheimer's risk





*GENE*PERSONA
SPORT



