



**SCHEMA DELL'INSEGNAMENTO (SI)**  
**"DIAGNOSTICA MOLECOLARE CLINICA"**  
**SSD BIO/12**

DENOMINAZIONE DEL CORSO DI STUDIO: LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN FARMACIA

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

**INFORMAZIONI GENERALI - DOCENTE**

DOCENTE: ALFONSO DE SIMONE

TELEFONO:

EMAIL: [alfonso.desimone@unina.it](mailto:alfonso.desimone@unina.it)

**INFORMAZIONI GENERALI - ATTIVITÀ**

INSEGNAMENTO INTEGRATO:

MODULO:

CANALE:

ANNO DI CORSO: III (NUOVO ORDINAMENTO), V (VECCHIO ORDINAMENTO)

SEMESTRE: II

CFU: 6

## **INSEGNAMENTI PROPEDEUTICI (se previsti dal Regolamento del CdS)**

Nessuno

## **EVENTUALI PREREQUISITI**

Nozioni acquisite con lo studio della biochimica.

## **OBIETTIVI FORMATIVI**

Il corso di Diagnostica Molecolare Clinica mira alla comprensione ed alla conoscenza delle alterazioni genetiche e molecolari delle malattie sia ereditarie che non ereditarie e dei principali test di biologia molecolare clinica necessari per l'inquadramento diagnostico delle suddette patologie.

## **RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI (DESCRITTORI DI DUBLINO)**

### **Conoscenza e capacità di comprensione**

Acquisizione di competenze teoriche e operative con riferimento specifico alle basi molecolari delle malattie umane ed alle tecniche di indagine molecolare che possono evidenziare la loro natura in supporto alla diagnostica clinica ed al monitoraggio terapeutico.

### **Capacità di applicare conoscenza e comprensione**

Acquisizione della capacità di identificare e razionalizzare una strategia ottimale per la diagnostica di malattie umane, basata su metodi analitici strumentali e sulla conoscenza delle origini molecolari di queste patologie.

## **PROGRAMMA**

Introduzione alla Diagnostica Molecolare: concetti base - Geni - alleli - Dominanza e recessività-Classificazione delle malattie genetiche - Le mutazioni causative delle malattie genetiche e la loro classificazione - il test genetico - sensibilità e specificità. Il laboratorio di Diagnostica Molecolare Clinica- Gli step dell'iter diagnostico - Il prelievo - Tipologia del campione biologico - Metodi di estrazione: fenolo - cloroformio - kit commerciali - sistemi automatici di estrazione - analisi qualitativa e quantitativa degli acidi nucleici estratti.

Introduzione alle metodiche di Diagnostica molecolare: La PCR-principio - le fasi - i requisiti – vantaggi - Preparazione della mix PCR - Visualizzazione del prodotto di pCR: elettroforesi su gel d'agarosio. Retrotrascrizione - Principio – meccanismo - reagenti; RT-PCR quantitativa-Principio - Tipi di sonde (sonde Taqman, Sybergreen, Molecular Beacons). Applicazioni della RT-PCR quantitativa.

Covid-19: coronavirus umani - SARS-CoV-2 - genoma del virus - meccanismo di azione - periodo di incubazione - classificazione dei sintomi - risposta anticorpale - diagnosi del Covid-19: test molecolare - test antigenico - test anticorpale. Esempio di applicazione di RT-PCR alla diagnosi del Covid-19.

Distrofia Muscolare di Duchenne: Caratteristiche cliniche - Il gene - La distrofina ed il suo ruolo - Basi genetiche (trasmissione X-linked recessiva) Tipi di mutazioni: (macrodelezioni-macroduplicazioni-mutazioni puntiformi) - Distrofia muscolare di Becker - Tecniche per la diagnosi della Distrofia Muscolare di Duchenne. Diagnosi Istologica: Western Blot per monitorare i livelli di espressione della distrofina principio della tecnica. Diagnosi diretta: Multiplex degli esoni del gene della distrofina ed Elettroforesi capillare per l'identificazione delle macrodelezioni e macroduplicazioni. DHPLC principio ed applicazioni nella determinazione delle mutazioni puntiformi della DMD/BMD - Terapia DMD-DMB;

Fibrosi cistica: Caratteristiche cliniche - Epidemiologia - Sintomi - alterazione genetica - La proteina. La funzionalità del canale del cloro. Test del sudore. Screening di I° livello. Reverse Dot Blot-Principio. Screening di II° livello DHPLC-Screening di terzo livello MPLA. Terapia della fibrosi cistica. Diagnosi prenatale diretta ed indiretta della fibrosi cistica-tecniche molecolari.

Emoglobinopatie: Anemia a cellule falciformi ( mutazione puntiforme glicina 6 valina). Diagnosi clinica e diagnosi molecolare. Elettroforesi delle globine. Analisi diretta mediante RFLP. Alfa e beta talassemia. Mutazioni più frequenti responsabili delle beta talassemie b°39 ( stop codon) e b +IVS1-110 (splicing alternativo). Tecniche per la diagnosi molecolare della beta talassemia. Analisi diretta: reverse dot blot ( 8 mutazioni più frequenti), ARMS. Ricerca di mutazioni rare SSCP. Sequenziamento secondo Sanger principio e automazione.

Tumorigenesi: origini del tumore. Geni coinvolti nella tumorigenesi:-oncogeni -protooncogeni-geni oncosoppressori-geni coinvolti nel riparo del DNA. Mutazioni per acquisizione (dominanti) e perdita di funzione (recessive). Tipi di mutazione che determinano l'insorgenza del tumore:mutazioni puntiformi (protoncogene Ras) – amplificazione genica (c-myc) - traslocazioni cromosomiche (BCR-ABL) -Geni oncosoppressori - Esempi di geni oncosoppressori - p53; brcA1 e brca2; proteina APC.

Classificazione delle Leucemie: La leucemia mieloide cronica: basi molecolari. Approccio diagnostico alla leucemia mieloide cronica. Emocromo. Esame del cariotipo. Indagini molecolari.PCR qualitativa. PCR quantitativa-Terapia. Trapianto di midollo. Gleevec. Monitoraggio della risposta: risposta ematologica-citogenetica e molecolare. Espressione dei risultati. Il referto della leucemia mieloide cronica alla diagnosi e nel follow up. La resistenza alla terapia. Tipi di resistenza. Le mutazioni puntiformi. Screening delle mutazioni - DHPLC e sequenziamento. Strategia terapeutica. Inibitori di seconda generazione. Farmacogenetica e Farmacogenomica. Definizioni della variabilità nella risposta ai farmaci. Efficacia ed effetti collaterali.

### MATERIALE DIDATTICO

Testi consigliati:

- Diagnostica molecolare nella Medicina di Laboratorio-Balestrieri-D'amora-Giordano-Napoli- Pavan ED.PICCIN 2009
- Appunti delle lezioni del corso.

### MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELL'INSEGNAMENTO

Lezioni frontali con proiezione di diapositive illustrative

### VERIFICA DI APPRENDIMENTO E CRITERI DI VALUTAZIONE

a) Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	
scritta e orale	
solo scritta	
solo orale	<b>X</b>
discussione di elaborato progettuale	
altro	

In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	
	A risposta libera	
	Esercizi numerici	

(\*) È possibile rispondere a più opzioni

b) Modalità di valutazione:

Il voto finale in trentesimi da 18 a 30 e lode tiene conto: a) delle conoscenze acquisite inerenti a tecniche analitiche di indagine molecolare, b) delle conoscenze acquisite inerenti alle basi molecolari di malattie umane ed alla loro diagnostica.