

Allegato MOD 004 SCHEDA INFORMATIVA PER L' ESECUZIONE DEL TEST MEDIANTE ARRAY-CGH GENOMICO PER LA CARATTERIZZAZIONE DI PATOLOGIE FETALI DELLA GRAVIDANZA

La tecnica array-CGH (*aCGH*) viene utilizzata per analizzare lo sbilanciamento del numero di copie di sequenze genomiche con un potere risolutivo *fino a cento volte superiore* a quello possibile con le tradizionali tecniche di citogenetica su metafasi. Si tratta di una tecnica utilizzata largamente per finalità di ricerca e nell'accertamento di patologie genomiche in diagnosi postnatale, ma che può trovare specifiche indicazioni diagnostiche anche in Diagnosi Prenatale, così come proposto dalle linee guida Italiane ed Europee (*E.C.A. -EUROPEAN CYTOGENETICISTS ASSOCIATION NEWSLETTER No. 29 January 2012 Pag.23 e*

"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 2012; 39: 384-388)

In particolare, possono costituire un'indicazione:

- 1. le anomalie riscontrate sul cariotipo fetale, compresi i riarrangiamenti cromosomici de novo apparentemente bilanciati, i riarrangiamenti cromosomici sbilanciati, i marcatori cromosomici soprannumerari (ESAC);*
- 2. anomalie eco-evidenziate;*
- 3. l'associazione, in varia combinazione, di più marcatori ecografici minori (ad es. cisti dei plessi coroidei, iperrecogenicità intestinale, pielectasia renale, arteria ombelicale unica)*
- 4. le alterazioni del volume del liquido amniotico e/o il ritardo dell'accrescimento fetale in associazione con marcatori ecografici minori;*
- 5. un microriarrangiamento strutturale nei genitori.*

Limiti

- La tecnica *aCGH* non evidenzia i riarrangiamenti cromosomici bilanciati (ad es. traslocazioni reciproche e inversioni), né i mosaicismi cellulari scarsamente rappresentati (<30%).
- La tecnica non evidenzia l'eventuale contaminazione materna (contemporanea presenza nel campione di cellule del feto e della madre), che tuttavia può inficiare l'attendibilità del risultato. Per questo motivo, in presenza di un liquido amniotico ematico o quando l'analisi viene eseguita sui villi coriali, il test si effettua solo dopo avere escluso, con l'analisi del genotipo materno, una eventuale contaminazione.
- La presenza di sbilanciamenti può rendere necessario l'uso di tecniche aggiuntive per caratterizzare il riarrangiamento e può essere necessaria estendere l'analisi ad entrambi i genitori.
- La tecnica non fornisce informazioni su patologie genetiche non causate da duplicazioni/delezioni del DNA.

Interpretazione dei risultati

L'interpretazione dei risultati può talora essere problematica, poiché:

- numerose CNV (Variazioni del Numero di Copie nel DNA), possono essere presenti nei soggetti normali e essere benigne, ossia prive di significato patologico;
- le attuali conoscenze scientifiche non consentono in tutti i casi di stabilire la patogenicità e/o l'esistenza di un nesso di causalità tra la CNV individuata e l'indicazione all'analisi;
- alcune CNV si associano a patologie ad espressività variabile e penetranza incompleta (il fenotipo clinico associato al riarrangiamento può non manifestarsi oppure manifestarsi con gravità variabile e non prevedibili) oppure alla suscettibilità a malattie complesse;
- alcune CNV, anche se non rappresentano l'unica causa di un quadro patologico e sono trasmesse da un genitore sano, possono agire come fattori di predisposizione;
- l'analisi può evidenziare varianti che hanno implicazioni cliniche non correlate con l'indicazione all'analisi (patologie ad insorgenza tardiva, predisposizione all'insorgenza di tumori etc.), occasionalmente a trasmissione familiare.

La piattaforma microarray utilizzata è teoricamente in grado di identificare CNVs fino ad una dimensione minima di circa 100-150 Kb lungo l'intero genoma. Tuttavia, data la scarsa conoscenza di alcune regioni genomiche e dato che molte CNVs, soprattutto di piccole dimensioni, sono presenti nella popolazione generale come varianti benigne, il test verrà effettuato utilizzando dei filtri tali da individuare solamente

sbilanciamenti di regioni responsabili di sindromi da microdelezione/microduplicazione e/o contenenti geni-malattia, con una risoluzione di circa 200 Kb.

Lo stesso livello di risoluzione verrà utilizzato per analizzare i cromosomi coinvolti in riarrangiamenti apparentemente bilanciati, al fine di caratterizzare finemente i punti di rottura.

Tutte le altre regioni genomiche saranno invece analizzate con un filtro superiore a 500 Kb (la lunghezza della più piccola CNV finora associata a patologia genomica (Miller et al., 2010; Am J Hum Genet 86:749–764).

Il risultato del test sarà disponibile in circa 10 giorni dall'estrazione del DNA dalle cellule fetali (coltura cellulare o frustoli di villi coriali) e verrà consegnato ai genitori nel corso di una consulenza genetica; i tempi di refertazione possono subire variazioni dovuti alla crescita cellulare che può variare notevolmente da caso a caso e/o per eventuali ulteriori approfondimenti.

Il campione fetale deve sempre essere accompagnato da un campione ematico (suddiviso in eparina e EDTA) dei genitori, che viene utilizzato solo nei casi in cui sia necessario effettuare una comparazione tra il profilo del feto e quello parentale. A fronte di problemi tecnici strumentali e/o ai fini di approfondimenti diagnostici non eseguibili in sede il campione biologico potrebbe essere inviato ad un laboratorio esterno regionale e/o fuori regione esperto della patologia.
