

SCHEDA INFORMATIVA PER L' ESECUZIONE DEL TEST MEDIANTE ARRAY-CGH TARGHETTATO EASYCHIP PER LE GRAVIDANZE A BASSO RISCHIO

Si stima che il 3% circa dei neonati presenti un difetto dello sviluppo riconoscibile alla nascita o nei primi mesi di vita (cosiddetto rischio generico di popolazione), che in larga parte non è valutabile con indagini di laboratorio e/o strumentali e che può dipendere da cause genetiche (cromosomiche, geniche) o non genetiche (farmaci, infezioni, etc.). Questo rischio è comune a tutte le gravidanze ma può aumentare in base all'età della coppia o per altri fattori, spesso desumibili dalla storia personale e/o familiare, per cui talvolta possono essere richieste indagini specifiche (ad es. analisi cromosomiche e molecolari, indagini ecografiche, ecc.).

Tra le malattie genetiche comprese nel rischio generico di popolazione, le **sindromi da microdelezione o microduplicazione cromosomica** costituiscono un gruppo di patologie causate da microsbilanciamenti che coinvolgono regioni genomiche molto piccole (spesso <10 milioni di basi, Mb). Nella maggioranza dei casi si tratta di quadri sindromici associati a importante disabilità, intellettiva e/o comportamentale e/o fisica, che singolarmente sono condizioni rare, ma che nel complesso hanno una frequenza stimata di circa 1:1000-2000 nati.

La diagnosi di questi microsbilanciamenti spesso non è possibile mediante l'analisi del cariotipo fetale convenzionale, ma solo attraverso analisi genomiche a più alta risoluzione. Presso il nostro laboratorio, il test dedicato allo screening di queste condizioni, in assenza di indicazioni cliniche specifiche, prende il nome di Easychip, una piattaforma basata sulla consolidata metodologia della Comparative Genomic Hybridization mediante microarray (**array-CGH**). Questo test è stato sviluppato nell'ambito di un progetto multicentrico, specificamente per la diagnosi prenatale di microdelezioni/microduplicazioni in gravidanze a basso rischio, ad esempio in assenza di anomalie ecografiche, oppure di anomalie cromosomiche identificate mediante l'analisi cromosomica tradizionale oppure di storia familiare suggestiva di patologia cromosomica. Questa piattaforma permette di identificare **52 sindromi da microdelezione/microduplicazione** (vedi Tabella) congenite o riconoscibili entro i primi anni di vita e di rilevanza clinica per lo sviluppo del bambino. Inoltre questo test permette di diagnosticare sbilanciamenti a significato clinico certo delle regioni subtelomeriche di tutti i cromosomi edelezioni e duplicazioni lungo l'intero genoma, di grandezza >3 Mb, integrando e supportando l'analisi cromosomica convenzionale.

Il disegno del test permette dunque di ottenere informazioni utili a proposito della prognosi fetale, minimizzando il rischio di riscontrare alterazioni genomiche dal significato clinico non chiaro e quindi difficili da interpretare, che invece possono essere identificate con piattaforme array-CGH a risoluzione ancora maggiore.

Si precisa che:

1. Generalmente i risultati sono pronti in una settimana dalla data di richiesta dell'analisi, fatta eccezione per i casi che richiedono la coltura cellulare (21 giorni circa). In rari casi, il tempo di refertazione può subire modifiche di pochi giorni in base alla necessità di eventuali ulteriori approfondimenti. 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.
2. La tecnica di array-CGH non è in grado di identificare riarrangiamenti cromosomici bilanciati (traslocazioni, inversioni, etc.) e/o poliploidie, comunque identificabili mediante analisi cromosomica citogenetica tradizionale. Pertanto, le due tecniche sono da considerarsi complementari e l'Easychip è da utilizzarsi in maniera integrativa, ma non sostitutiva, alla diagnosi cromosomica convenzionale. La refertazione dei risultati positivi può richiedere lo studio dell'eventuale trasmissione parentale delle varianti identificate. Pertanto, il campione biologico fetale deve essere sempre accompagnato da un campione ematico dei due genitori, se disponibili, suddiviso in due provette (una con eparina e una con EDTA). Gli effetti collaterali connessi al prelievo di sangue periferico sono infrequenti e generalmente di minima entità (esempi più frequenti: ematomi, lipotimia, piccole lesioni o infezioni locali). I campioni ematici saranno utilizzati solo se sarà necessario confrontare il profilo del feto con quello parentale.
3. Non verranno considerate, nell'interpretazione dei risultati, le microdelezioni/microduplicazioni all'interno delle regioni subtelomeriche (<1Mb) non descritte in associazione a quadri sindromici, nè quelle all'interno delle regioni sindromiche che non siano francamente causative della malattia.
4. A fronte delle circa 6.000 malattie genetiche note, l'Easychip fornisce unicamente informazioni sulle microdelezioni o microduplicazioni delle regioni analizzate al livello di risoluzione della piattaforma e non sulle malattie causate da meccanismi patogenetici differenti (es. mutazioni puntiformi, effetti di posizione, etc.) a carico dei geni-malattia localizzati sia all'interno delle regioni analizzate sia altrove. Inoltre, un risultato negativo non esclude l'insorgenza di condizioni genomiche, se causate da microsbilanciamenti in

regioni scarsamente rappresentate nella piattaforma Easychip

Syndrome*	Gene-disease*
1p36 deletion syndrome	/
1q41q42 microdeletion syndrome	DISP1
2p15-16.1 microdeletion syndrome	BCL11A
2q23.1 microdeletion syndrome	MBD5, EPC2
2q33.1 deletion (Glass syndrome)	STAB2
2q37 deletion syndrome	HDAC4
3pter-p25 deletion syndrome	CNTN4, ITPR1, SRGAP3, VHL
3q29 deletion syndrome	FBXO45, PAK2, DLG1
3q29 duplication syndrome	FBXO45, PAK2, DLG1
4p16.3 deletion syndrome (Wolf-Hirschhorn)	LETM1, WHSC1
4q21 deletion syndrome	PRKG2, RASGEF1B
5p deletion syndrome (Cri du chat)	CTNND2, TERT
5q14.3 deletion syndrome	MEF2C
5q35 deletion syndrome (Sotos)	NSD1
6q13-q14 deletion syndrome	COL12A1
7q11.23 deletion syndrome (Williams-Beuren)	ELN
7q11.23 duplication syndrome	/
8p23.1 deletion syndrome	GATA4
8p23.1 deletion syndrome	GATA4
8q21.11 microdeletion Syndrome	ZFHX4, PEX2
8q24.1 deletion syndrome (Langer-Giedion)	TRPS1, EXT1
9q34.3 deletion syndrome (Kleefstra)	EHMT1
10p14p13 deletion syndrome (DiGeorge type 2)	GATA3
11p13 deletion syndrome (WAGR)	PAX6, WT1
11p11.2 deletion syndrome (Potocki-Shaffer)	ALX4
11q deletion syndrome (Jacobsen)	/
14q12 microdeletion syndrome	FOXG1
15q11q13 deletion syndrome (Prader-Willi)	SNRPN
15q11q13 deletion syndrome (Angelman)	UBE3A
15q24 deletion syndrome	/
15q24 duplication syndrome	/
16p deletion syndrome (ATR-16)	HBA1, HBA2
16q24.1 micrordeletion syndrome	FOXF1, FOXC2
17p13.3 deletion syndrome (Miller dieker)	PAFAH1B1, YWHAE
17p11.2 deletion syndrome (Smith-Magenis)	RAI1
17p11.2 duplication syndrome (Potocki-Lupski)	RAI1
17q11.2 deletion syndrome	NF1, SUZ12
17q11.2 duplication syndrome	NF1, SUZ12
17q21.31 deletion syndrome (Koolen-De Vries)	KANSL1
17q23.1-q23.2 deletion syndrome	TBX2, TBX4
19q13.11 deletion syndrome	LSM14A, UBA2
Down Sndrome critical region (21q22.12q22.2)	/
22 partial tetrasomy (Cat-eye syndrome)	/
22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge)	HIRA, TBX1
22q11.2 duplication syndrome	HIRA, TBX1
22q11.2 distal deletion syndrome	MAPK1
Xp11.3 deletion syndrome	RP2
Xp11.22 microduplication syndrome	HUWE1
Xq12 deletion syndrome	OPHN1
Xq22.3 deletion syndrome (AMME COMPLEX)	COL4A5, ACS4
Xq28 duplication syndrome	MECP2

*Selezionate tra le sindromi determinate da microdelezioni e microduplicazioni genomiche nella maggioranza dei casi descritti e caratterizzate da elevata penetranza (numero di individui portatori che manifestano il fenotipo). *Tabella modificata da Alesi et al., 2015.*

Riferimenti bibliografici:

- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. 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.
 - Alesi AV, Bernardini L, Goidin D, Canestrelli M, Dentici ML, et al. (2015) *Easychip 8x15k: A New Tool for Detecting Chromosome Anomalies in Low Risk Pregnancies, Supporting and Integrating Standard Karyotype. J Genet Syndr Gene Ther* 6: 277.
-