

Analisi array-CGH genomico in epoca prenatale

L'analisi array-CGH (CMA; Chromosome Microarray Analysis) è una tecnica in grado di analizzare contemporaneamente tutti i cromosomi in modo maggiormente approfondito rispetto al cariotipo fetale standard: consente di identificare alterazioni genomiche molto piccole, quali delezioni e duplicazioni (Variazioni del Numero di Copie; CNV), che non possono essere evidenziate con la analisi classica del cariotipo fetale (limite risolutivo usuale dell'array-CGH ~500Kb contro limite risolutivo del cariotipo convenzionale ~10Mb). La metodica, tuttavia, come meglio sotto esplicitato, presenta dei limiti e delle problematiche interpretative per cui il suo utilizzo va attentamente valutato, specie in epoca prenatale.

INDICAZIONI ALL'ANALISI

L'analisi in epoca prenatale è indicata nei seguenti casi:

- la necessità di caratterizzare in maniera più approfondita alcune anomalie cromosomiche fetali [riarrangiamenti cromosomici de novo apparentemente bilanciati o piccoli cromosomi marcatori soprannumerari (ESAC)];
- il riscontro all'ecografia di anomalie strutturali del feto, inclusa IUGR (Intra Uterine Growth Restriction);
- translucenza nucale $\geq 3,5$ mm in presenza di un cariotipo standard normale;
- familiarità per/precedente gravidanza con CNV patogenetica o probabilmente patogenetica.

DIFFICOLTÀ NELL'INTERPRETAZIONE DELL'ANALISI E RISULTATI INATTESI

L'analisi dei risultati può talora essere problematica, poiché allo studio del genoma mediante microarray cromosomici possono risultare CNV di non facile/immediata interpretazione, quali:

- varianti/CNV rare, per le quali non esistono ancora sufficienti conoscenze per comprendere se siano benigne o potenzialmente associate a patologie di qualche tipo. Queste varianti vengono definite VOUS (varianti di incerto significato);
- varianti/CNV a significato patogenetico, ma per le quali non è certa l'esistenza di un nesso con la condizione per la quale è stata indicata l'analisi;
- varianti/CNV associate a patologie ad espressività variabile e/o penetranza incompleta (per cui la malattia eventualmente associata al riarrangiamento evidenziato può non manifestarsi oppure manifestarsi con gravità variabile e non prevedibile) oppure a suscettibilità a malattie complesse;
- varianti varianti/CNV che hanno implicazioni cliniche non correlate con l'indicazione all'analisi (es. patologie ad insorgenza tardiva, predisposizione all'insorgenza di tumori, stato di portatore sano di malattie a trasmissione recessiva etc.), occasionalmente a trasmissione familiare.

TECNOLOGIA ARRAY-CGH

La tecnologia array-CGH si basa su un'ibridazione comparativa fra il DNA fetale e un DNA standard di controllo di norma ottenuto da un insieme di individui sani della popolazione. Allo scopo di ridurre la possibilità di individuare varianti di significato incerto, il test verrà effettuato utilizzando dei filtri tali da ricercare principalmente sbilanciamenti di regioni responsabili di sindromi da microdelezione/microduplicazione e/o contenenti geni-malattia: in queste regioni 'critiche' la risoluzione è di circa 100Kb; tutte le altre regioni del genoma saranno comunque analizzate, ma con un filtro di 500Kb.

L'analisi non permette di evidenziare patologie genetiche non causate da duplicazioni/delezioni cromosomiche, quali riarrangiamenti strutturali bilanciati, mutazioni puntiformi, triploidie (poliploidie), regioni con perdita di eterozigotia (disomie uniparentali), difetti della metilazione, mosaicismi scarsamente rappresentati e variazioni a carico delle regioni eterocromatiche o pericentromeriche. L'errore diagnostico può essere imputato a cause diverse: contaminazione del campione con cellule di origine materna, fenomeno del "*vanishing twin*", mosaicismo feto-placentare, mosaici a bassa percentuale o presenza di anomalie cromosomiche di struttura di dimensioni inferiori al potere risolutivo dell'indagine.

La presenza di sbilanciamenti può rendere necessario l'uso di tecniche aggiuntive per caratterizzare il riarrangiamento e può rendere necessario estendere l'analisi ad entrambi i genitori ai fini di una corretta interpretazione del risultato. Per questi motivi è opportuno che il campione fetale sia sempre essere accompagnato da un campione ematico dei genitori, che viene utilizzato solo nei casi in cui sia necessario effettuare una comparazione tra il profilo del feto e quello parentale. In questi casi è in genere indispensabile più tempo per le conclusioni diagnostiche. In rari casi, gli esiti dell'esame potrebbero rilevare la non corrispondenza biologica tra il DNA della coppia e quello fetale (ad esempio in caso di fecondazione eterologa). Delle informazioni non corrette sul ruolo biologico della coppia potrebbero impedire una corretta interpretazione del test. Dall'esecuzione del test potrebbero essere ottenuti inoltre risultati inattesi o di incerto significato, che vengono comunicati o meno al paziente nel rispetto della sua dichiarazione di volontà espressa nel consenso informato.

ESECUZIONE DELL'ANALISI

L'analisi viene eseguita su DNA estratto da cellule fetali ottenute da villi coriali, amniociti o colture cellulari.

Il tempo necessario per ottenere il risultato è di 10 giorni dall'estrazione del DNA dalle cellule fetali. In casi particolari sono peraltro possibili prolungamenti del tempo necessario a fornire una risposta.

Qualora il risultato delle varie fasi analitiche o dell'esame complessivo necessitino di un colloquio esplicativo, i Sanitari preposti, previo contatto telefonico tramite segreteria di reparto, si rendono disponibili per un incontro sollecitato con la gestante o la coppia. Durante il colloquio i Sanitari spiegano i risultati dell'indagine e forniscono in modo chiaro ed esauriente tutte le informazioni del caso, compresa la possibilità di eseguire ulteriori accertamenti, se necessari, affinché ogni decisione possa essere presa consapevolmente. Non è tuttavia obbligo delle Strutture né dei Sanitari garantire i possibili percorsi scelti dalla coppia in seguito all'esito dell'esame. La gestante, in caso di colloquio esplicativo, è tenuta ad informare il medico richiedente/curante e a fargli visionare il referto consegnato a conclusione dell'indagine. I Sanitari preposti si rendono disponibili per un colloquio, se necessario, anche con il medico richiedente.

Analisi array-CGH genomico in epoca prenatale

Informativa redatta in accordo con: "Documento di buona pratica per la diagnosi Citogenetica e Citogenomica costituzionale Rev. 1 del 7/9/2023, S.I.G.U. (Società Italiana di Genetica Umana); 2023".