



CONSENSO INFORMATO ALL' ESECUZIONE DEL

TEST MEDIANTE ARRAY-CGH per la caratterizzazione di patologie fetali della gravidanza

SINTESI INFORMATIVA

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:

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

Rispetto all'analisi tradizionale citogenetica (cariotipo), l'array CGH rileva gli sbilanciamenti dei cromosomi ad una risoluzione più alta. Il cariotipo, infatti, rileva delle alterazioni più grandi di 7-10 Megabasi (7-10 milioni di basi), e l'array CGH rileva delle alterazioni che non possono essere viste dal cariotipo tradizionale in quanto potrebbero essere grandi solo qualche migliaia di basi.

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 tale motivo è quindi necessario escludere una eventuale contaminazione del campione mediante confronto del DNA fetale con il DNA materno. A tale scopo è indispensabile fare pervenire sempre un campione di sangue materno.
- 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.
- Molte delle condizioni genetiche indagate dall'array CGH sono causate da più di un meccanismo genetico (es: sindrome di Prader Willi è causata sia da microdelezione 15q11-q13 ma anche da mutazioni puntiformi del gene SNRPN e da difetti di metilazione che non possono essere rilevati dall'array CGH). Quindi, un risultato normale mediante array CGH non esclude una diagnosi di uno o più sindromi valutate dal test.
- 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 o di trapianto). Delle informazioni non corrette sul ruolo biologico della coppia potrebbero impedire una corretta interpretazione del test.
- L'analisi condotta su campioni prenatali è associata ad un tasso di fallimento del 2-6% (Wapner et al, ISPD 2010) a seconda dell'origine del campione analizzato.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

L'interpretazione dei risultati può talora essere problematica poiché allo studio del genoma mediante arrayCGH possono risultare varianti (chiamate tecnicamente Variazioni del Numero di Copie; CNV) di non facile/immediata interpretazione, quali:

- A) 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) e hanno una frequenza che è ~1-3% (in relazione alla risoluzione del CMA utilizzato);
- B) varianti/CNV a significato patogenetico;
- C) varianti/CNV patogenetiche associate a patologie per cui la malattia può non manifestarsi oppure manifestarsi con gravità variabile e non prevedibile (dette ad espressività variabile e/o penetranza incompleta)
- D) varianti varianti/CNV che conferiscono predisposizione all'insorgenza di malattie (es. patologie ad insorgenza tardiva, predisposizione all'insorgenza di tumori, stato di portatore sano di malattie a trasmissione recessiva etc.) e che possono mostrare una trasmissione familiare.



Nelle gravidanze con anomalie ecografiche fetali e cariotipo normale, l'arrayCGH fornisce una resa diagnostica aggiuntiva al cariotipo per varianti patogenetiche 'B+C' del ~6% (De Wit et al., UOG 2014). Nella gravidanza della popolazione generale (con ecografia normale e cariotipo normale) la resa diagnostica aggiuntiva al cariotipo è del ~1% (Wapner et al, NEJM 2012). Un risultato del test microarray anormale potrebbe fornire una diagnosi clinica, tuttavia molte sindromi genetiche hanno una variabilità nella presentazione clinica e questa tecnologia non può predire il grado di severità di una condizione genetica specifica.

Un risultato normale non esclude una alterazione cromosomica in un'area del genoma non indagata dal microarray.

Per la diagnosi prenatale completa, si raccomanda di eseguire il cariotipo convenzionale prima dell'analisi array CGH. Il cariotipo rileverà i riarrangiamenti cromosomici bilanciati ed, in alcuni casi, può caratterizzare delle anomalie strutturali rilevate dall'array CGH.

Alcuni risultati del test microarray potrebbero avere un significato clinico non chiaro. Ciò significa che non è chiaro se l'alterazione genetica rilevata col microarray sarà causa di problematiche cliniche nell'individuo analizzato o è la spiegazione dell'insieme delle caratteristiche presenti già nel paziente. Questi casi richiedono studi addizionali sul paziente o sui genitori per poter assistere l'interpretazione dei risultati. A volte, anche dopo gli studi addizionali sui genitori, è comunque impossibile poter confermare se il risultato anormale del test spiega le problematiche cliniche nel paziente analizzato.

Alcuni risultati del test microarray potrebbero dimostrare la presenza di un'alterazione che viene trovata anche negli altri membri di famiglia "normali". La spiegazione più probabile è che questa alterazione sia una variante umana normale. Comunque, la possibilità che essa possa giocare in qualche modo un ruolo in una anomalia clinica non può essere esclusa con certezza. Con l'acquisizione di nuove informazioni scientifiche e mediche sulla struttura del genoma umano, si spera che l'interpretazione di questi tipi di risultati incerti diventerà più chiara.

LIVELLO DIAGNOSTICO:

La piattaforma microarray utilizzata è ad una risoluzione di 37K, quella consigliata nei casi prenatali 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 genimialattia; tutte le altre regioni del genoma saranno comunque analizzate, ma con una risoluzione inferiore (risoluzione effettiva di 40Kb nelle regioni critiche; risoluzione effettiva di 400Kb nel backbone)

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 entro circa 10-12 giorni dalla ricezione del campione.

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.


CONSENSO INFORMATO ALL'APPLICAZIONE DIAGNOSTICA DELL'ARRAY-CGH (ACGH) IN EPOCA PRENATALE

Nome della Madre

 Data di nascita:
GG / MM / AAAA / /

Luogo di nascita

Firma

Nome del Padre

 Data di nascita:
GG / MM / AAAA / /

Luogo di nascita

Firma

DICHIARA/DICHIARANO

- di aver ben compreso le informazioni fornite in merito a quanto sopra riportato circa i limiti e i vantaggi degli arrayCGH
- di aver ben compreso che nel risultato finale verranno riportate unicamente le varianti patogenetiche scientificamente note alla data di refertazione (categorie B+C+D) mentre quelle di non chiara interpretazione (VOUS, categoria A) non saranno rese disponibili
- di aver ben compreso che nel caso in cui non fosse disponibile materiale fetale sufficiente verrà privilegiata l'analisi citogenetica convenzionale
- di aver potuto discutere tali spiegazioni, di porre le domande che hanno ritenuto necessarie e di aver ricevuto risposte esaurienti e comprensibili
- di acconsentire liberamente all'utilizzo del campione in eccesso per studi di ricerca e per le relative pubblicazioni (su riviste specializzate o database) in forma anonima atti alla comprensione del significato delle variazioni del genoma

PERTANTO, SULLA BASE DELLE INFORMAZIONI RICEVUTE LA/I SOTTOSCRITTA/I

 ACCONSENTE/ONO NON ACCONSENTE/ONO

all'esecuzione del test e al prelievo di un loro campione di sangue periferico per eventuale estensione dell'analisi

IL/LA/I SOTTOSCRITTO/A/I DICHIARA/NO INOLTRE DI:

 VOLERE NON VOLERE

che il materiale biologico possa essere eventualmente utilizzato in forma anonima per studi o ricerche

 VOLERE NON VOLERE

rendere partecipe dei risultati il Dott. _____

 VOLERE NON VOLERE

che i propri dati personali, sensibili e genetici vengano trattati in forma codificata ai sensi dell'art. 13 del Regolamento EU 679/2016 (GDPR).

Il/La/I sottoscritto/a/i dichiara/no che quanto sopra corrisponde a verità e si impegnano a comunicare tempestivamente ogni eventuale cambiamento di opinione in merito.

Firma degli interessati

Firma _____

Data

____/____/____

Firma _____

Firma e timbro dello specialista che ha raccolto il consenso informato

REVOCA DEL CONSENSO

Il sottoscritto

in data

REVOCA il consenso sopra riportato

Firma _____