

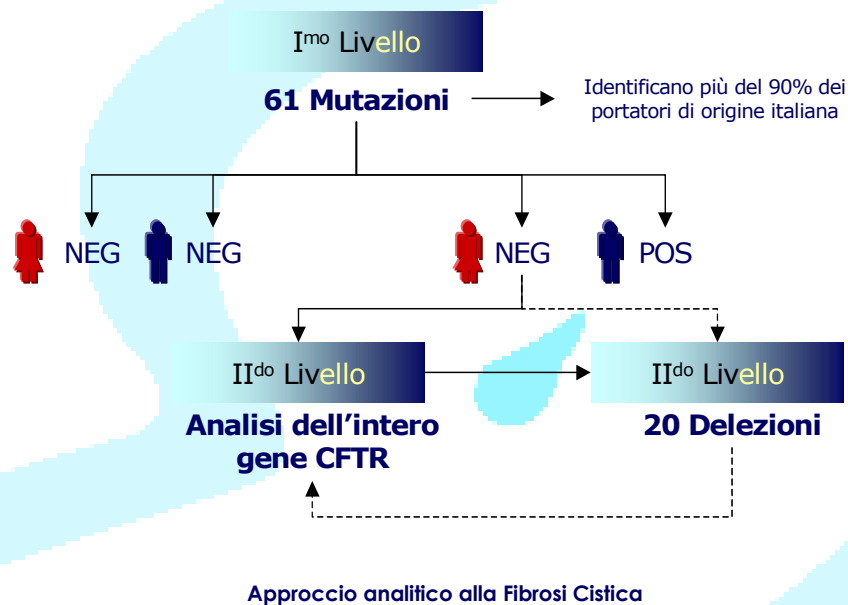
Analisi genetica per la Fibrosi Cistica

La Fibrosi Cistica (FC) è la più frequente malattia autosomica recessiva nei caucasici con una frequenza di portatori sani del 4% nella popolazione generale. Si stima che in Italia ogni anno nascano circa 200 bambini affetti da fibrosi cistica. **Una coppia ogni 500** è potenzialmente formata da due portatori sani che hanno **una probabilità del 25%** di generare un figlio colpito da malattia.

E' una malattia sistemica assai complessa, ancora poco conosciuta. Colpisce vari organi ed apparati ma in particolare quelli digerente, respiratorio e gli organi della riproduzione. Nei pazienti affetti da FC le secrezioni delle ghiandole esocrine sono molto più dense e viscosi del normale e causano una progressiva ostruzione bronchiale e dei dotti escretori pancreatici e biliari.

Le cause genetiche

Il gene responsabile della malattia è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 7 e codifica per la proteina CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator), implicata nella regolazione del cloro. Nei Pazienti affetti da FC sono state individuate nel gene CFTR più di 1000 mutazioni responsabili della mancata produzione della proteina o della sintesi di una forma non funzionante. L'alterazione della proteina comporta un'anomalia nel trasporto di sali.



A chi è rivolta l'indagine e quando eseguirla

- Coppie in epoca pre-concezionale per l'identificazione di portatori
- Gravidanze con familiarità per la fibrosi cistica
- Coppie con problemi di sterilità, in presenza di azoospermia di tipo ostruttivo idiopatica o per assenza bilaterale (CBAVD) o monolaterale (CUAVD) congenita dei vasi deferenti: in questi casi il test rientra nel gruppo di test raccomandati in associazione con procedure di fecondazione assistita secondo le recenti linee guida sulla sterilità di coppia e analizza anche il polimorfismo 5T nel gene CFTR.

Nel caso di diagnosi in gravidanza, il test va eseguito prima possibile e preferibilmente non oltre la decima settimana di gestazione, in modo tale da ottenere opportune indicazioni per poter effettuare un'eventuale diagnosi prenatale mediante villocentesi od amniocentesi.

E' inopportuno proporre il test oltre la dodicesima settimana di gestazione; in questo caso si consiglia di effettuare l'eventuale diagnosi prenatale mediante amniocentesi.

Analisi genetica per la Fibrosi Cistica

ANALISI PRECONCEZIONALE DI PRIMO LIVELLO

Il DNA dei genitori viene analizzato mediante dot-blot per le **61 mutazioni** più frequenti nel territorio italiano, nel Veneto e nel bacino del Mediterraneo. La **sensibilità dell'indagine è di circa il 90 %** nei soggetti di origine veneta e dell' **80 %** sul resto della popolazione italiana ed europea caucasica. I tempi di refertazione delle analisi di primo livello sono di 10-15 giorni.

Risultati possibili e procedure consigliate

1. entrambi **NEGATIVI**: la coppia ha un rischio ridotto (inferiore al 0.001%) di concepire un bambino affetto da FC. Non sono indicate ulteriori indagini.
2. entrambi **POSITIVI** per la stessa mutazione o mutazioni diverse: la coppia ha probabilità di concepire un bimbo sano per il 25 %, affetto da FC per il 25 % e portatore di una mutazione per il 50%. Si consiglia di effettuare la diagnosi prenatale compatibilmente con la settimana di gestazione.
3. uno **POSITIVO** l'altro **NEGATIVO**: si consiglia di effettuare il test di secondo livello.

ANALISI PRECONCEZIONALE DI SECONDO LIVELLO

Solo nel caso in cui la coppia sia composta da un soggetto positivo ed uno negativo al test di primo livello il DNA del soggetto negativo viene ulteriormente analizzato. L'analisi consiste in un approccio combinato nel quale al sequenziamento completo dei 27 esoni del gene si aggiunge l'analisi MLPA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification). In questo modo, oltre allo **spettro completo di mutazioni**, è possibile rilevare la presenza di **macrodelezioni** o **inserzioni**. La **sensibilità** del test è del **95%**. I tempi di refertazione per le analisi di secondo livello sono di 40 giorni.

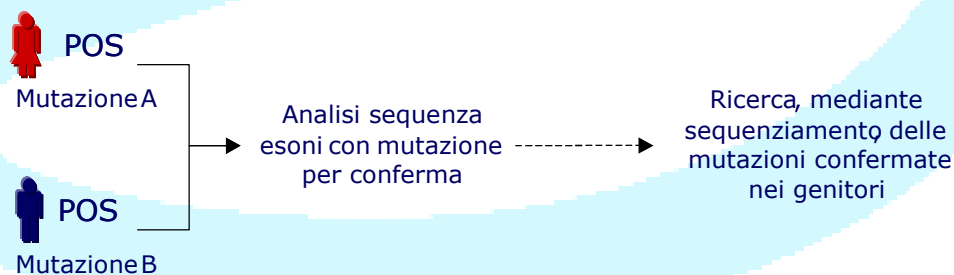
Risultati possibili e procedure consigliate

I risultati dell'analisi di secondo livello del DNA del soggetto negativo al primo livello possono essere:

1. **NEGATIVO**: la coppia ha un rischio ridotto di concepire un bambino affetto da FC. **Non sono indicate ulteriori indagini.**
2. **POSITIVO** (per una mutazione, delezione o inserzione): la coppia ha probabilità di concepire un bimbo sano per il 25 %, affetto da FC per il 25 % e portatore di una mutazione per il 50%. **Si consiglia la consulenza genetica.**

ANALISI PRENATALE

Nel caso in cui entrambi i genitori siano portatori di mutazioni nel CFTR, si effettua il sequenziamento degli esoni mutati, sia in cellule fetali che, per conferma, nei genitori.



INDICAZIONI TEST Screening pre-concezionale, soggetti con storia familiare di fibrosi cistica

METODO ANALITICO Livello 1: analisi di mutazioni del DNA mediante dot-blot
 Livello 2: screening di mutazione tramite sequenziamento completo del gene, MLPA.
 Analisi di mutazione tramite sequenziamento.

CAMPIONE RICHIESTO Sangue, tampone orale

Bibliografia

- Dequeker E et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders—updated European recommendations. Eur J Hum Genet. 2009 Jan;17(1):51-65.
- Orenstein D. "Cystic Fibrosis: A Guide for Patient and Family" Lippincott Williams e Wilkins (2003) Ratjen F, Doering G. Lancet (2003) 361: 681-689.