



Microarray Cromossômico (CMA)

Metodologia

A análise de *microarray* cromossômico (CMA, do inglês: *Chromosomal Microarray*), também conhecida como *array-CGH* é um teste diagnóstico que pode detectar variações do número de cópias grandes (cromossomos inteiros) e sub-microscópicas (microdeleções/microduplicações) clinicamente significativas em todo o genoma, que são muito pequenas para serem vistas sob o microscópio, mas podem conter múltiplos genes. A análise de *microarray* cromossômico é o teste padrão-ouro para a detecção de grandes deleções e duplicações ao longo de todo o genoma.

CMA 750K: Deleções menores que 50kb e duplicações menores que 400kb não podem ser analisadas.

Utiliza um *array* Affymetrix CytoScan™ 750K. Este chip de *microarray* é constituído por 750 mil sondas de oligonucleotídeos em todo o genoma, incluindo 550 mil sondas não polimórficas e 200 mil sondas de SNPs (polimorfismo de nucleotídeo único, do inglês: *Single Nucleotide Polymorphism*) bi-alélicos.

CMA-HD: Deleções menores que 25kb e duplicações menores que 200kb não podem ser analisadas.

Utiliza um *array* Affymetrix CytoScan™ HD. Este chip de *microarray* é constituído por 2,6 milhões de sondas de oligonucleotídeos em todo o genoma, incluindo 1.9 milhões de sondas não polimórficas e 750 mil sondas de SNPs bi-alélicos.

Os dados são analisados por meio do *Chromosome Analysis Suite* (ChAS). A análise é baseada na sequência de referência do genoma humano (GRCh37/hg 19).

As variações de número de cópias (CNVs, do inglês: *Copy Number Variation*) detectadas são relatadas quando possuem relevância clínica clara ou suspeita; CNVs desprovidas de conteúdo genético relevante ou frequentes na população geral podem não ser relatadas. Regiões de homoziguidade são relatadas quando um único trecho contínuo de homoziguidade (LCSH, do inglês *Long Contiguous Stretches of Homozygosity*) é maior que 8-15 Mb (dependendo da localização cromossômica e probabilidade de distúrbio de *imprinting*), ou quando a proporção total de LCSH autossômico é maior que 3% (apenas LCSH autossômicos maiores que 3 Mb são considerados para esta estimativa). As posições lineares genômicas são dadas em relação ao NCBI Build 37 (hg19).

CytoScan HD

Sondas de número de cópias (1,9 milhões) + SNPs (750K)

Cobertura do genoma completo

Pode detectar regiões de baixa heteroziguidade, dissomia uniparental (UPD), baixo nível de mosaïcismo e heterogeneidade da amostra

Maior densidade de sondas

CytoScan 750k

Sondas de número de cópias (550K) + SNPs

(200K) Ênfase em regiões clinicamente relevantes

A identificação de regiões de homoziguidade excessiva indicando UP pode sugerir consanguinidade e indicar genes candidatos para testes adicionais.



GPDx

Genomic precisão
diagnóstico

Igenomix[®]
WITH SCIENCE ON YOUR SIDE

Os resultados dos testes são interpretados com base nas recomendações e diretrizes do *International Standard of Cytogenomics Arrays (ISCA)*, conforme descrito abaixo:

Positivo (patogênico e provavelmente patogênico): Um resultado positivo indica que uma variação de número de cópias foi identificada em associação com o fenótipo da doença em estudo. Este cenário permitirá fornecer aconselhamento genético ou orientação pessoal sobre possíveis tratamentos médicos, progressão da doença, estratégias reprodutivas/de prevenção e potenciais implicações para outros membros da família.

Negativo: Um resultado negativo indica que nenhuma variação de número de cópias causadora de doenças foi identificada no teste realizado. Isso não garante que o indivíduo seja saudável ou livre de outras doenças genéticas ou condições médicas. Além disso, um resultado negativo não descarta uma causa genética da doença nem elimina o risco para futuros descendentes. No entanto, se um resultado de teste negativo for obtido e a variante em questão for conhecida por estar presente em membros da família afetados, isso exclui o diagnóstico dessa doença genética no paciente. Um resultado negativo pode ser explicado por várias causas, incluindo conhecimento genético limitado e limitações associadas à metodologia utilizada.

Inconclusivo/Variante de Significado Incerto (VUS): Um achado de uma variante de significado incerto indica que uma variação no número de cópias foi detectada, mas atualmente não se sabe se essa CNV está associada a um distúrbio ou doença genética. Uma variante de significado incerto não é o mesmo que um resultado positivo e não esclarece se o paciente tem um risco aumentado de desenvolver uma doença ou distúrbio genético. A alteração pode ser uma variante genética normal ou pode ser causadora de doenças. Uma análise mais aprofundada pode ser indicada, incluindo o teste de ambos os pais, bem como outros membros da família afetados e não afetados. Às vezes, a realização de testes adicionais é necessária para confirmar o fenótipo que o paciente apresenta. Registros médicos detalhados ou informações de outros membros da família também podem ser necessários para ajudar a esclarecer o resultado.

A interpretação dos resultados é baseada nas informações atualmente disponíveis na literatura médica, pesquisas e bancos de dados científicos. Como a literatura e o conhecimento médico e científico avançam constantemente, novas informações que se tornem disponíveis no futuro podem substituir ou adicionar informações que a Igenomix usou para interpretar os resultados. A reanálise dos resultados em relatórios emitidos anteriormente considerando novas evidências não é realizada rotineiramente, mas está disponível mediante solicitação.

Aplicações

CMA pode detectar:

- Pequenas microdeleções e duplicações cromossômicas
- Alterações no número de cópias
- Aneuploidias cromossômicas numéricas
- Rearranjos desequilibrados
- Homozigosidade excessiva – dependente da plataforma
- Risco sugestivo de doença hereditária recessiva ou distúrbios de *imprinting* – dependente da plataforma
- Triploidia e tetraploidia – dependente da plataforma
- Mosaicismo maior que 20-30%

Limitações

CMA não pode detectar:

- Rearranjos cromossômicos balanceados (translocações balanceadas, inversões)
- Pequenas mudanças na sequência de genes únicos (mutações pontuais)
- Pequenas duplicações e deleções de segmentos de DNA dentro de um único gene (síndrome do X Frágil, por exemplo)
- Alterações de metilação
- Mosaicismo inferior a 20%