

**NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI  
GENETICHE**

IRCCS ISNB  
Mod.08.P.8.5 LabNG1

### **PERCHÉ LE VIENE PROPOSTO UN TEST GENETICO?**

I medici che seguono Lei o Suo figlio/a hanno posto il sospetto di una malattia su base genetica, cioè causata da un'alterazione del DNA o dell'assetto cromosomico, e le propongono un'indagine molecolare per valutare questa ipotesi clinica.

### **COSA SONO I CROMOSOMI E I GENI?**

Le informazioni genetiche che determinano le nostre caratteristiche e lo sviluppo di tutti i nostri organi sono contenute all'interno dei cromosomi. Le cellule del nostro organismo contengono normalmente 46 cromosomi, raggruppati in 23 coppie. All'interno di ogni coppia un cromosoma è di origine materna ed uno di origine paterna. Le prime 22 coppie di cromosomi sono analoghe nell'uomo e nella donna, la 23<sup>a</sup> coppia è quella dei cromosomi sessuali e differisce nei due sessi, essendo formata da due cromosomi X nella donna e da un cromosoma X ed un cromosoma Y nell'uomo. L'insieme dei cromosomi costituisce il genoma.

All'interno dei cromosomi le informazioni genetiche sono raggruppate sotto forma di geni. Esistono circa 20.000 geni in ogni genoma. Ogni gene ha una o più funzioni specifiche, sebbene al momento attuale non sia nota la funzione di tutti i geni. Ogni individuo possiede normalmente due copie di ogni gene, ereditate una dal padre e una dalla madre. Ogni gene è costituito da sequenze codificanti (esoni) che vengono tradotte in proteina, e sequenze non codificanti, alcune delle quali hanno funzioni di regolazione. L'alterazione di uno o più geni può causare una patologia genetica. Un'alterazione genetica può insorgere per la prima volta nel soggetto affetto (de novo) o essere ereditata da uno o entrambi i genitori. È importante identificare le alterazioni genetiche responsabili di una specifica patologia sia per l'inquadramento diagnostico del paziente che per una valutazione dei rischi di ricorrenza per gli altri membri della famiglia.

### **CHE COSA SONO LE VARIANTI GENETICHE?**

Le varianti genetiche sono una particolare categoria di anomalie genetiche che alterano la sequenza di singoli geni attraverso la sostituzione di una base del DNA con un'altra oppure l'aggiunta (inserzione) o la perdita (delezione) di una o poche basi.

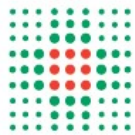
Le varianti genetiche possono alterare la funzionalità dei geni interessati. Se i geni alterati svolgono ruoli importanti per il corretto sviluppo e/o funzionamento di organi, le varianti possono causare malattie genetiche o contribuire alla loro insorgenza.

### **QUALI SONO LE INDAGINI GENETICHE MOLECOLARI CAPACI DI RILEVARE EVENTUALI VARIANTI GENETICHE?**

Attualmente, due distinte tecnologie possono essere applicate per l'identificazione di varianti genetiche.

(i) Il metodo Sanger prevede di solito la sequenza di un singolo gene e viene eseguito in presenza di un sospetto clinico per una patologia associata a un solo gene o ad un gene principale responsabile di un rilevante numero di casi. In alcuni casi il metodo Sanger si applica per l'analisi di uno o più esoni che sono più frequentemente alterati in una determinata patologia. Ad oggi, il metodo Sanger viene utilizzato per confermare la presenza delle varianti identificate attraverso metodi di nuova generazione. Infine, tale metodo può essere usato per valutare la presenza, anche in epoca prenatale, di una specifica variante precedentemente identificata in un familiare.

(ii) Le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS: Next Generation Sequencing) consentono invece di analizzare più geni contemporaneamente, per cui vengono impiegate quando una malattia genetica può essere causata da diversi geni. In questo contesto, le analisi NGS possono essere di due tipi: sequenziamento mirato dei geni associati



<b>NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI GENETICHE</b>	<b>IRCCS ISNB Mod.08.P.8.5 LabNG1</b>
---	---

alla patologia (pannello multi-genico) oppure sequenziamento di tutti i geni presenti nel genoma con analisi esclusiva dei geni associati alla malattia per cui è richiesta l'indagine (pannello *in silico*).

**QUALI SONO I LIMITI DELL'ANALISI DELLE INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI GENETICHE?**

Sia il metodo Sanger che le tecnologie NGS analizzano esclusivamente gli esoni dei geni e brevi sequenze non codificanti adiacenti ad essi. Pertanto, i test basati su queste tecnologie non consentono di rilevare varianti nella maggior parte delle sequenze non codificanti. In alcuni casi è inoltre possibile che queste metodiche non riescano a rilevare varianti negli esoni, per le seguenti cause:

- presenza di particolari sequenze (ad esempio molte ripetizioni adiacenti o un contenuto elevato delle basi G e C) che ne riducono la sensibilità
- la variante è in una regione con copertura non adeguata oppure rientra in una tipologia che a volte sfugge alla rilevazione, ad esempio una piccola delezione o inserzione
- la mutazione non è presente in tutte le cellule, ma solo in una bassa percentuale

**QUALI RISULTATI SI PUÒ ASPETTARE?**

**Le indagini possono condurre a diversi esiti:**

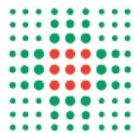
1. La variante causativa della malattia viene identificata. In questo caso la variante è descritta dalla letteratura scientifica come chiaramente patogena ed è correlabile al quadro clinico del paziente in esame.
2. Viene identificata una variante probabilmente causativa della malattia: ciò significa che esistono dati a supporto di un ruolo nella malattia, ma non si può esserne certi; in questi casi spesso si effettuano, se possibile, ulteriori indagini per definire meglio il ruolo della variante (ad esempio verificando come la variante segrega all'interno della famiglia).
3. Vengono identificate una o più varianti di sequenza alle quali non è possibile attribuire un ruolo nella malattia (varianti di significato ignoto, VUS). Per queste varianti non sono ancora disponibili sufficienti evidenze a supporto di un loro eventuale ruolo nell'insorgenza di patologie genetiche.
4. Non vengono identificate varianti che rientrano nelle categorie precedenti. Tale esito non esclude la diagnosi clinica della malattia in esame o l'origine genetica del quadro clinico osservato. La variante causativa può essere sfuggita all'identificazione per una delle cause già menzionate. Inoltre, Sanger e pannelli NGS consentono un'analisi mirata a uno o a un numero limitato di geni ed è possibile che la variante causativa si trovi in una regione (es. sequenza non codificante) o in un gene non analizzati.

**Le indagini di tipo NGS possono rivelare risultati inattesi o incidentali**

Quando si studiano molti geni contemporaneamente è possibile che siano identificate varianti prive di relazione con la patologia in esame che tuttavia possono essere rilevanti per la salute o per eventuali scelte riproduttive del paziente o dei suoi familiari: in questi casi si parla di risultati incidentali o inattesi.

Nella nostra attività non ricerchiamo attivamente questa tipologia di varianti perché esse non ricadono nei risultati utili a diagnosticare la sua malattia; inoltre non le possiamo garantire che - anche se presenti - la nostra analisi le evidenzierà. Tuttavia quelle chiaramente patogene di cui verremo a conoscenza le saranno comunicate se lo desidera. Esempi di risultati incidentali includono varianti predisponenti a patologie ad insorgenza tardiva (es. tumori ereditari o aritmie cardiache), varianti che determinano lo stato di portatore "sano" di malattie genetiche, con rischi di trasmissione alla prole oppure varianti che possono determinare quadri clinici congeniti diversi rispetto a quello per cui si è richiesta l'indagine.

In ogni caso verranno comunicate soltanto varianti di chiaro significato patogeno in base alle conoscenze attuali. Anche nei casi in cui effettuiamo sequenziamento dell'intero esoma o dell'intero genoma è improbabile che vengano prodotti risultati inattesi perché in prima istanza analizzeremo solo i geni associati alla malattia in esame; eventuali



<b>NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI GENETICHE</b>	<b>IRCCS ISNB Mod.08.P.8.5 LabNG1</b>
---	---

varianti patogene in altri geni potrebbero essere rivelate se darà il suo consenso ad ulteriori studi sulla sua malattia o a ricerche future.

### **COSA SI DEVE ASPETTARE SE DECIDERÀ DI DARE IL CONSENSO A UNA INDAGINE PER L'IDENTIFICAZIONE VARIANTI GENETICHE?**

Una volta dato il consenso, verrà prelevato un campione biologico (normalmente sangue venoso), da cui verrà estratto il DNA su cui eseguire l'indagine.

In alcuni casi, per la corretta interpretazione del significato clinico delle varianti è utile estendere l'analisi ai genitori ed eventualmente ad altri familiari. Pertanto, in questi casi verranno richiesti prelievi a questi soggetti.

Prima di procedere al sequenziamento del DNA e all'analisi dei dati i suoi campioni saranno codificati e conservati a temperatura controllata, in locali ad accesso limitato al personale addetto, presso i laboratori del Programma di Neurogenetica; questa procedura comporta che le sue informazioni personali (ad esempio nome, cognome, data di nascita) non compariranno e soltanto il personale autorizzato potrà risalire alla sua identità.

Al termine delle indagini lei riceverà una relazione clinica sugli esiti degli esami di laboratorio ed il loro significato; inoltre le verrà offerta una consulenza genetica post-test se ritenuta opportuna dai nostri specialisti e potrà ricevere -se ne farà richiesta al medico genetista- copia del referto di laboratorio.

Terminata l'analisi i campioni biologici verranno conservati presso i laboratori del Programma di Neurogenetica come descritto nell'informativa sul trattamento dei dati genetici e l'utilizzo di campioni biologici.

### **CON QUALI FINALITÀ VERRANNO UTILIZZATI I SUOI CAMPIONI BIOLOGICI CONSERVATI?**

I campioni biologici residui, se disponibili, verranno conservati per un periodo definito dalle linee guida nazionali e/o dalla normativa vigente. Attualmente la conservazione va da un minimo di 6 mesi a un massimo di 15 anni. I campioni residui potranno essere utilizzati per ripetere/concludere i test diagnostici descritti nella presente informativa e per ulteriori indagini utili alla diagnosi della patologia in esame, se ha espresso il suo consenso nella sezione dedicata in questo documento.

Infine, poiché il Programma di Neurogenetica è parte di un Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) ed è coinvolta fin dalla sua istituzione in progetti volti ad aumentare le conoscenze sulle malattie genetiche, i campioni biologici potranno essere inclusi in studi di ricerca scientifica non necessariamente legati alla patologia da cui è affetto; in questi casi, se ci ha autorizzato a ricontattarla, le verrà richiesto un nuovo consenso specifico per lo studio.