

 SERVIZIO SANITARIO REGIONALE EMILIA-ROMAGNA Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico POLICLINICO DI SANT'ORSOLA Dipartimento Ospedale della Donna e del Bambino UOC Genetica Medica Direttore ff Prof.ssa Daniela Turchetti	NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI DEL NUMERO DI COPIE (CNV) E DI DISOMIE UNIPARENTALI (UPD) IN EPOCA POSTNATALE <i>Documento integrativo alla INFORMATIVA PER IL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI E L'UTILIZZO DEI CAMPIONI BIOLOGICI T03/IOA29</i>	TS33 Rev. 2 Pag. 1/3 Data di applicazione: 01/07/2022
---	--	---

Gentilissimo/a Sig./a

Le chiediamo di leggere attentamente il seguente documento contenente informazioni relative al test che le proponiamo. Chieda al medico responsabile o ai suoi collaboratori di spiegarLe qualsiasi termine o informazione che non comprende

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^a 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 cellula. 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 DEL NUMERO DI COPIE (CNV) E LE DISOMIE UNIPARENTALI (UPD)?

Le varianti del numero di copie (CNV) sono una particolare categoria di anomalie genetiche che comportano la perdita o l'acquisizione di porzioni di materiale genomico (delezioni o duplicazioni). Le CNV possono essere di varie dimensioni, includendo un singolo gene o parti di esso, oppure estendendosi fino a contenere più geni adiacenti o addirittura coinvolgendo interi cromosomi.

Le disomie uniparentali (UPD) sono anomalie genetiche caratterizzate dalla presenza di una coppia di cromosomi omologhi (o parti di essi) ereditati entrambi da uno stesso genitore

PERCHÉ VENGONO ESEGUITE INDAGINI GENETICHE MOLECOLARI MIRATE ALL'IDENTIFICAZIONE DELLE CNV E DELLE UPD?

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

Le UPD possono invece essere causa di patologia quando coinvolgono geni sottoposti ad imprinting, cioè dei quali normalmente è attiva un'unica copia (paterna o materna), oppure se determinano la presenza di due copie alterate di un gene associato a manifestazioni patologiche solo quando entrambe le sue copie non sono normali (patologia recessiva).

 SERVIZIO SANITARIO REGIONALE EMILIA-ROMAGNA Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico POLICLINICO DI SANT'ORSOLA Dipartimento Ospedale della Donna e del Bambino UOC Genetica Medica Direttore ff Prof.ssa Daniela Turchetti	NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI DEL NUMERO DI COPIE (CNV) E DI DISOMIE UNIPARENTALI (UPD) IN EPOCA POSTNATALE <i>Documento integrativo alla INFORMATIVA PER IL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI E L'UTILIZZO DEI CAMPIONI BIOLOGICI T03/IOA29</i>	TS33 Rev. 2 Pag. 2/3 Data di applicazione: 01/07/2022
---	--	---

QUALI SONO LE INDAGINI GENETICHE MOLECOLARI CAPACI DI RILEVARE EVENTUALI CNV E/O UPD?

Le indagini per l'identificazione di CNV possono essere distinte in due principali categorie:

1. indagini che analizzano l'intero genoma
2. indagini che focalizzano l'analisi su specifici geni o regioni genomiche

La prima categoria include i microarray cromosomici (array-CGH, SNP-array e array-CGH+SNP) che hanno la capacità di identificare CNV di piccole e grandi dimensioni, localizzate in una posizione qualsiasi del genoma (compatibilmente con il livello di copertura genomica previsto dal tipo di microarray utilizzato). Diversamente dagli array-CGH, SNP-array ed array-CGH+SNP identificano su tutto il genoma anche eventuali UPD, contestualmente alle CNV.

Della seconda categoria fanno parte le tecniche MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification), qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction, o real-time PCR) e ddPCR (droplet digital PCR). Queste tecniche mirate vengono solitamente eseguite nel caso vi sia il sospetto clinico di una sindrome genetica causata da alterazioni in specifici geni o in determinate regioni genomiche. Vengono inoltre utilizzate per confermare CNV identificate tramite microarray e per stabilirne l'insorgenza de novo o la trasmissione parentale.

Anche le UPD possono essere studiate attraverso una tecnica mirata, che analizza solo la coppia di cromosomi di interesse sulla base di un sospetto clinico. L'indagine prevede l'uso di marcatori altamente polimorfici in grado di riconoscere l'origine materna o paterna delle due copie di cromosomi all'interno della coppia (analisi eseguita in trio, cioè su paziente e genitori).

QUALI SONO I LIMITI DELL'ANALISI DELLE INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI CNV E/O UPD?

(i) Nessuna delle metodiche per l'identificazione di CNV è in grado di identificare le seguenti anomalie:

- Anomalie cromosomiche che non comportano perdita o acquisizione di materiale genomico (traslocazioni e inversioni bilanciate)
- Poliploidie, cioè un numero di cromosomi multiplo delle 23 coppie di cromosomi
- Anomalie molto piccole all'interno di singoli geni (varianti di una singola base, inserzioni o delezioni di poche basi del DNA) e difetti di metilazione
- Anomalie presenti solo in una bassa percentuale di cellule, mentre il maggior numero di cellule è normale (mosaicismi cromosomici)
- Anomalie localizzate in regioni non coperte dalle sonde oligonucleotidiche presenti nel microarray o nei saggi specifici di MLPA, qPCR o ddPCR utilizzati

(ii) Nessuna delle metodiche per l'identificazione di CNV è in grado di determinare la localizzazione delle regioni duplicate identificate, che possono essere posizionate in un punto qualsiasi del genoma, non necessariamente nelle regioni adiacenti a quella di origine.

(iii) I microarray non possono rilevare CNV con dimensioni inferiori al loro limite di risoluzione o localizzate in regioni genomiche scarsamente coperte o caratterizzate da sequenze particolari

(iv) qPCR e ddPCR non consentono di determinare l'estensione delle CNV analizzate.

(v) Il tipo di microarray utilizzato e il numero e distanziamento dei marcatori polimorfici utilizzati influiscono sull'estensione minima riconoscibile delle regioni interessate da UPD

(vi) Ridotta sensibilità nei confronti di UPD presenti in una percentuale limitata di cellule.

QUALI RISULTATI SI PUÒ ASPETTARE?

I RISULTATI SONO SEMPRE DI FACILE INTERPRETAZIONE?

 SERVIZIO SANITARIO REGIONALE EMILIA-ROMAGNA Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico POLICLINICO DI SANT'ORSOLA Dipartimento Ospedale della Donna e del Bambino UOC Genetica Medica Direttore ff Prof.ssa Daniela Turchetti	NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI DEL NUMERO DI COPIE (CNV) E DI DISOMIE UNIPARENTALI (UPD) IN EPOCA POSTNATALE <i>Documento integrativo alla INFORMATIVA PER IL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI E L'UTILIZZO DEI CAMPIONI BIOLOGICI T03/IOA29</i>	TS33 Rev. 2 Pag. 3/3 Data di applicazione: 01/07/2022
---	--	---

Difficoltà nell'interpretazione del significato clinico delle CNV possono presentarsi in particolar modo con l'applicazione dei microarray, che analizzano l'intero genoma.

Per classificare le CNV e valutarne il possibile effetto fenotipico, viene studiata la letteratura scientifica relativa, vengono consultati specifici database pubblici e vengono seguite le raccomandazioni di società scientifiche italiane e internazionali (Società di Genetica Umana, SIGU, e American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG).

Il risultato è di facile interpretazione quando la CNV identificata è descritta dalla letteratura scientifica come chiaramente patogena ed è correlabile al quadro clinico del paziente in esame.

Tuttavia, tramite microarray possono essere identificate, in rari casi, anche CNV patologiche, ma non correlate al quadro clinico del paziente (ritrovamenti incidentali). In questa categoria rientrano:

- CNV associate a quadri clinici variabili (espressività variabile) o descritte in soggetti sani (penetranza incompleta);
- CNV responsabili di malattie che si manifestano tardivamente nel corso della vita oppure di CNV che hanno solo probabilità di avere conseguenze per la salute futura del bambino/adulto e dei suoi familiari (es. CNVs legate ad un rischio aumentato di sviluppare un particolare tipo di tumore).

Inoltre, attraverso i microarray possono essere identificate CNV per le quali non esistono ancora sufficienti evidenze a supporto di un eventuale ruolo nell'insorgenza di patologie genetiche e che per questo vengono definite varianti di significato incerto o ignoto (VUS).

Anche per quanto riguarda le UPD, difficoltà di interpretazione possono presentarsi con i risultati ottenuti tramite microarray (SNP-array e array-CGH+SNP), che possono identificare UPD patologiche che coinvolgono geni noti essere sottoposti a imprinting e già associati a patologie genetiche, ma possono anche rilevare UPD in regioni genomiche di cui non si conosce lo stato di imprinting. In questo caso non è possibile stabilire un eventuale ruolo delle UPD nella patogenesi del quadro clinico del paziente.

CHE COSA SI DEVE ASPETTARE SE DECIDERÀ DI DARE IL CONSENSO A UNA INDAGINE PER L'IDENTIFICAZIONE DI CNV E/O UPD?

Una volta dato il consenso all'esecuzione dell'indagine, al paziente verrà prelevato un campione biologico (solitamente sangue venoso), da cui verrà estratto il DNA su cui eseguire l'indagine.

Prima di procedere all'analisi, i suoi campioni saranno codificati e conservati a temperatura controllata, in locali ad accesso limitato al personale addetto, presso la UO Genetica Medica; 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.

Se all'analisi dovessero emergere CNV patologiche o di significato incerto, è possibile che venga richiesto un campione biologico dei genitori ed eventualmente di altri familiari, per valutarne l'eventuale presenza all'interno della famiglia. Solitamente, le CNV identificate tramite microarray vengono analizzate nei familiari tramite una delle tecniche mirate menzionate in precedenza, in particolare qPCR o ddPCR. Se, per motivi tecnici, questo non sarà possibile anche i familiari verranno sottoposti all'analisi microarray. In questo caso, sebbene potenzialmente estesa all'intero genoma, l'analisi sarà focalizzata principalmente sulla ricerca della/e CNV identificata/e nel paziente, oltre alla/e quale/i verranno comunicate esclusivamente eventuali CNV patologiche con rilevanza per future scelte riproduttive.

In caso di sospetta UPD, il prelievo di un campione biologico dei genitori verrà richiesto contestualmente a quello del paziente, in modo tale da analizzare contemporaneamente il trio (paziente e genitori) tramite microarray o marcatori polimorfici.

 SERVIZIO SANITARIO REGIONALE EMILIA-ROMAGNA Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico POLICLINICO DI SANT'ORSOLA Dipartimento Ospedale della Donna e del Bambino UOC Genetica Medica Direttore ff Prof.ssa Daniela Turchetti	NOTE INFORMATIVE SU INDAGINI PER L'IDENTIFICAZIONE DI VARIANTI DEL NUMERO DI COPIE (CNV) E DI DISOMIE UNIPARENTALI (UPD) IN EPOCA POSTNATALE <i>Documento integrativo alla INFORMATIVA PER IL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI E L'UTILIZZO DEI CAMPIONI BIOLOGICI T03/IOA29</i>	TS33 Rev. 2 Pag. 4/3 Data di applicazione: 01/07/2022
---	--	---

USO DEI RISULTATI E DI DATI CLINICI PER LA RICERCA MEDICA

I risultati ottenuti dalle analisi genetiche effettuate per scopi diagnostici possono in alcuni casi essere utili alla comunità scientifica e contribuire alla comprensione della patologia da cui è affetto lei o un suo familiare. In questi casi i dati sono comunicati attraverso pubblicazioni su riviste scientifiche, relazioni a congressi medici, presentazioni didattiche (lezioni universitarie). Desideriamo quindi chiedere il suo consenso all'uso dei suoi dati per questi scopi. Se acconsentirà verrà presa ogni precauzione per garantire la sua privacy, compresa la pseudonimizzazione dei dati (pseudonimizzare significa assegnare un codice identificativo alla cartella elettronica che contiene i suoi dati genetici ed altri dati clinici, eliminando ogni riferimento personale, ad esempio i dati anagrafici). In questo modo nessuno potrà risalire alla sua identità, ad eccezione del personale autorizzato del Policlinico.

CON QUALI FINALITÀ VERRANNO UTILIZZATI I SUOI CAMPIONI BIOLOGICI CONSERVATI?

Terminata l'analisi, i campioni biologici residui, verranno conservati presso il Laboratorio di Genetica Medica – U.O. Genetica Medica 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. Per ulteriori dettagli e per il trattamento dei suoi dati può fare riferimento anche all'informativa sul trattamento dei dati genetici e l'utilizzo di campioni biologici che le è stata consegnata insieme a questo documento (T03/IOA29-Rev.5).

Infine, poiché l'U.O. Genetica Medica 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.

Le verranno consegnate copie di questo documento e della raccolta dei consensi per suo riferimento futuro.

In caso di necessità di ulteriori informazioni o di spiegazioni, è possibile rivolgersi alla segreteria dell'U.O. Genetica Medica – Seri telefonando al numero 051 2143694 o scrivendo all'indirizzo di posta elettronica ambgen@aosp.bo.it.