

Linee Guida esame DNA - Progetto Genobioma

(come da indicazioni del COMITATO NAZIONALE PER LA BIOSICUREZZA E LE BIOTECNOLOGIE dell'Istituto Superiore della Sanità)

Malattie genetiche Le malattie genetiche sono causate da alterazioni (mutazioni) del patrimonio genetico di un individuo; se le mutazioni interessano le cellule germinali, la malattia si può trasmettere alla prole (malattie ereditarie), se invece la lesione interessa solo le cellule somatiche, la malattia non viene necessariamente trasmessa alla generazione successiva. Inoltre, una determinata malattia può originare dall'interazione tra fattori genetici ed ambientali: in tale caso il singolo individuo erediterà la predisposizione ad ammalarsi, ma la malattia si manifesterà solo per l'intervento di altri fattori, non genetici. La probabilità che i figli ereditino una determinata malattia dai genitori dipende dal tipo di difetto e dal modo in cui questo viene trasmesso. Le malattie genetiche si possono suddividere in **monogeniche** o **mendeliane**, dovute alla alterazione di un singolo gene, **cromosomiche**, causate dalla alterazione del numero o della struttura dei cromosomi, e **multifattoriali**, dovute alla interazione fra più geni e l'ambiente. Un ulteriore gruppo è rappresentato dalle malattie **mitocondriali**.

Le mutazioni *dominanti* si manifestano a livello fenotipico anche nei soggetti eterozigoti, cioè coloro che portano un solo allele mutato per quel carattere, oltre a quello normale. Le mutazioni *recessive*, invece, per manifestarsi fenotipicamente devono coinvolgere i due alleli (ciò avviene negli omozigoti), mentre negli eterozigoti sono clinicamente silenti. La stessa distinzione tra dominanti e recessive viene fatta anche per le mutazioni che interessano i geni dei cromosomi sessuali, anche se con qualche differenza. I maschi possiedono un solo cromosoma X (si parla di emizigosi), pertanto ogni mutazione presente sul cromosoma X, anche se recessiva si manifesta a livello fenotipico. Le donne possiedono due cromosomi X, uno dei quali viene inattivato in una fase precoce dell'embriogenesi; per questo fenomeno, circa metà delle cellule mantiene attivo il cromosoma sessuale ereditato dal padre e metà quello ereditato dalla madre. Perciò, le donne portatrici di una mutazione legata all'X hanno due popolazioni cellulari (mosaicismo): una con l'X mutato attivo, l'altra con l'X normale attivo. Esiste anche un'eredità legata al cromosoma Y, di rilievo pratico più specialistico, in quanto questo cromosoma contiene pochi geni ed è importante quasi solo per l'informazione correlata allo sviluppo sessuale maschile.

Malattie cromosomiche Le malattie causate da anomalie cromosomiche sono tra le più frequenti cause di malattie congenite. Originano da alterazioni cromosomiche numeriche o strutturali. Le mutazioni cromosomiche più frequenti sono le trisomie (presenza di 3 copie di uno stesso cromosoma, es. trisomia 21) o monosomie (cioè assenza di un cromosoma, ad es. sindrome di Turner). La frequenza delle trisomie, nel concepito aumenta con l'aumentare dell'età della madre. Le anomalie cromosomiche di struttura originano da rotture e da un alterato ricongiungimento delle regioni cromosomiche spezzate: le anomalie più importanti sono le delezioni e le traslocazioni. La delezione è la perdita di un segmento di cromosoma: gli eterozigoti per tali aberrazioni presentano spesso difetti congeniti. La traslocazione consiste nel trasferimento di segmenti tra cromosomi diversi. Se nel riarrangiamento non viene perso DNA i portatori di traslocazione possono anche essere clinicamente non affetti ma a rischio di produrre gameti con corredo cromosomico sbilanciato e quindi di concepire figli con anomalie cromosomiche.

Malattie multifattoriali La maggior parte dei caratteri umani è determinata dall'intervento di più geni che spesso interagiscono tra loro e con l'ambiente (caratteri multifattoriali). Molti difetti congeniti e malattie dell'adulto sono il risultato dell'interazione tra fattori genetici, spesso multipli, e fattori ambientali (**malattie multifattoriali**) e vengono trasmessi secondo modalità diverse da quelle mendeliane classiche. La distribuzione combinata di questi fattori genetici nelle varie popolazioni, così come l'esposizione a questi fattori ambientali, seguono patterns molto complessi, con una notevole variabilità; il rischio di malattia dei singoli individui, ognuno caratterizzato da una specifica costellazione di caratteristiche genetiche e di esposizione a vari fattori ambientali, segue relazioni di tipo probabilistico molto complesse. Queste relazioni, che determinano il rischio di malattia (alla nascita o in funzione dell'età), sono dai modelli probabilistici oggi utilizzati.

Malattie mitocondriali I mitocondri (organelli cellulari deputati alla produzione di energia) contengono un proprio DNA. I mitocondri sono forniti dalla madre e sono più suscettibili all'insorgenza di mutazioni. Poiché i mitocondri sono solo parzialmente autonomi ed in parte dipendono dal genoma nucleare, si distinguono tre gruppi di malattie mitocondriali geneticamente determinate: dovute a difetti del DNA nucleare; a difetti del DNA mitocondriale e a difetti di comunicazione fra i due genomi.

Diagnosi delle malattie genetiche Si basa sull'accurata valutazione clinica e sull'anamnesi familiare che hanno un ruolo primario nel percorso diagnostico. L'esame clinico richiede spesso di essere approfondito e completato con indagini di laboratorio, compresi i test genetici. Infatti, in un numero sempre più elevato di malattie sono oggi disponibili indagini biochimiche, citogenetiche o molecolari che consentono di definirne il difetto genetico e, quindi, di confermare il sospetto clinico, di effettuare la diagnosi e di identificare i soggetti a rischio in fase preclinica (o presintomatica). In particolare, a seconda del tipo di malattia genetica, queste analisi di laboratorio possono includere: *indagini biochimiche* (dosaggi enzimatici); *indagini citogenetiche* (analisi dei cromosomi); *analisi molecolari* (analisi del DNA e dell'RNA).

TEST GENETICI Definizione Per test genetico si intende l'analisi a scopo clinico di DNA, RNA, cromosomi, proteine, metaboliti o altri prodotti genici per evidenziare genotipi, mutazioni, fenotipi o cariotipi correlati o meno con patologie ereditabili umane. Questa definizione include gli screening prenatali, neonatali e dei portatori, così pure i test sulle famiglie a rischio. I risultati di queste indagini si possono applicare alla diagnosi ed alla prognosi di malattie ereditarie, alla predizione del rischio-malattia, all'identificazione dei portatori sani, alle correlazioni fenotipo-genotipo.

Test per la valutazione della suscettibilità genetica Alcuni test consentono l'individuazione di genotipi che non sono di per sé causa di malattia, ma comportano un aumento del rischio a sviluppare una determinata patologia in seguito all'esposizione a fattori ambientali favorevoli, o alla presenza di altri fattori genetici scatenanti. Al primo gruppo appartengono p.e. il deficit in glucosio-6-fosfato deidrogenasi che predispone a crisi di emolisi acuta in seguito ad esempio all'assunzione di determinati farmaci, o il deficit di alfa-1-antitripsina, che associato al fumo, predispone all'enfisema polmonare giovanile. Al secondo gruppo appartengono patologie quali ad esempio ipertensione, diabete, ictus ed i cosiddetti tumori familiari, come la poliposi familiare o il carcinoma familiare della mammella e dell'ovaio. Tuttavia, una percentuale relativamente piccola di tumori è dovuta alla mutazione di singoli geni. Un punto critico è quindi la valutazione del valore predittivo del test utilizzato. Nella grande maggioranza dei casi un'alterazione di tipo ereditario in un gene associato al cancro rappresenta uno dei potenziali fattori implicati nello sviluppo della malattia in una data persona ed evidenzia, quindi, una maggiore predisposizione alla malattia. Inoltre, l'eventuale identificazione di soggetti sani ad alto rischio genetico di cancro comporta la necessità di decidere se intraprendere delle misure di prevenzione. L'approccio alla prevenzione è tuttavia molto complesso, in quanto la disponibilità di misure efficaci varia notevolmente a seconda del tipo di patologia

Test per l'identificazione degli eterozigoti Nel caso di malattie autosomiche recessive particolarmente frequenti, come ad esempio la talassemia, è possibile identificare i portatori eterozigoti a livello della popolazione. Queste indagini finalizzate alla prevenzione della nascita di omozigoti, quando effettuate in maniera corretta e soprattutto quando associate ad una larga diffusione dell'informazione, hanno avuto il risultato di ridurre l'incidenza della patologia in esame.

In molte malattie genetiche non vi sono terapie efficaci e risolutive, ma solo cure palliative in grado di alleviare alcune complicanze. In altre malattie vengono sperimentate terapie, la cui efficacia e sicurezza non sono ancora dimostrate. Tuttavia il risultato di un test genetico, ancorché sfavorevole, può avere aspetti positivi potendo influire sulle decisioni riproduttive e sull'eventuale prevenzione della malattia nella successiva generazione, nonché sulla pianificazione familiare, sull'organizzazione della vita del soggetto, sulle decisioni da prendere in tema di lavoro, ecc. L'utilità di un test genetico non può dunque essere valutata con il solo criterio delle sue implicazioni mediche, ma vanno anche considerate le implicazioni più ampie che coinvolgono aspetti della vita dell'utente, il quale deve ricevere informazioni complete sul significato delle indagini ed avere lo spazio per una autonoma valutazione.

Importanza della validazione e interpretazione dei risultati I test genetici possono predire i rischi di future patologie prima della comparsa dei sintomi clinici; molto raramente però questa predizione raggiunge la certezza. Inoltre non sempre la predizione di un test genetico può essere avvalorata dal riscontro di segni clinici o strumentali indipendenti. In mancanza di questi segni, una conferma potrà venire solo dalla comparsa della malattia. Infine poiché i genotipi responsabili di malattia possono essere diversi per tipo e frequenza nelle diverse popolazioni, spesso è necessario considerare il gruppo etnico a cui appartiene il soggetto analizzato.

Problemi psicologici, sociali ed etici I test genetici sono fonte di complessi problemi psicologici, sociali ed etici. I soggetti che hanno ricevuto il risultato di un test genetico possono andare incontro a stress psicologici di vario genere. Frequente è ad esempio l'autosvalutazione in caso di risultato sfavorevole in quanto il

soggetto si percepisce come "imperfetto" e/o "dannoso" nei confronti della prole o dei familiari. In conseguenza dei risultati dei test genetici possono inoltre verificarsi discriminazioni sociali, difficoltà di inserimento nel lavoro o nella vita di relazione o nell'erogazione di beni o servizi (ad es. assicurazioni). Inoltre il risultato di un test genetico può avere implicazioni nella pianificazione familiare. Le coppie con prole a rischio hanno di fronte a sé scelte riproduttive che vanno dalla decisione di correre il rischio di un figlio affetto, alla inibizione generalizzata della riproduzione, alla diagnosi prenatale, all'interruzione di gravidanza, fino alle tecniche di fecondazione medicalmente assistita. I risultati di un test genetico possono rivelare informazioni importanti per la salute futura di parenti i quali potrebbero non voler sapere o far sapere tali informazioni, ponendo così numerosi problemi etici e di riservatezza. Tutti i riscontri e i problemi di questo tipo richiedono particolari procedure sia nell'offerta del test genetico che nella comunicazione del risultato. Tali procedure sono generalmente comprese nella consulenza genetica che deve essere parte integrante dei test genetici.

Consulenza genetica "processo di comunicazione che concerne i problemi umani legati all'occorrenza, o al rischio di ricorrenza, di una patologia genetica in una famiglia". Tale processo comprende il tentativo di una o più figure professionali, adeguatamente preparate, di aiutare l'individuo o la famiglia 1) a comprendere le informazioni mediche che includono la diagnosi, il probabile decorso della malattia e le forme di assistenza disponibili; 2) a valutare il modo in cui l'ereditarietà contribuisce al verificarsi della malattia e il rischio di ricorrenza esistente per taluni familiari; 3) a capire tutte le opzioni esistenti nell'affrontare il rischio di malattia; 4) a compiere le scelte che essi riterranno più adeguate, tenuto conto sia del rischio che delle aspirazioni dei familiari, e ad agire coerentemente rispetto alle scelte compiute; 5) a realizzare il miglior adattamento possibile alla malattia del familiare affetto e/o al rischio di ricorrenza della malattia stessa. Tale definizione, per molti versi ancor oggi valida, pone l'accento sul processo di comunicazione che, proprio per la valenza emotiva dei temi trattati - salute, malattia, procreazione, morte, ecc - ha una forte connotazione psicologica e deve quindi essere modulato secondo i molteplici significati psicologici che questi temi assumono per l'individuo. La consulenza genetica è altresì il momento di processi decisionali complessi, riguardanti molteplici aspetti legati alla malattia genetica tra i quali particolare rilievo assumono sia le scelte riproduttive in situazione di rischio, sia la scelta fra conoscere o meno la propria costituzione genetica e quindi il proprio rischio di malattia. Si tratta di scelte che, per le loro risonanze profonde, non possono essere delegate ad alcuna figura professionale e richiedono la piena autonomia decisionale, come condizione essenziale perché l'esito di tali scelte - quale che sia - venga integrato in modo non distruttivo nel mondo psicologico ed etico dell'individuo o della coppia. La validità clinica è determinata dalla sensibilità clinica (probabilità che il test sia positivo in individui con la patologia in esame), dalla specificità clinica (probabilità che il test sia negativo in individui senza la patologia in esame) e dal valore predittivo positivo (probabilità che un individuo risultato positivo al test abbia effettivamente la patologia in esame). I fattori che limitano la validità clinica di un test genetico sono l'eterogeneità genetica, che riduce la sensibilità clinica, e la penetranza ridotta, che riduce il valore predittivo positivo (VPP). I due fenomeni hanno ovviamente conseguenze diverse nella pratica clinica.

Eterogeneità. La stessa patologia può essere determinata da mutazioni diverse nello stesso gene (eterogeneità allelica) o mutazioni in loci diversi (eterogeneità da locus). Un unico test genetico solitamente non è in grado di identificare mutazioni in loci diversi e spesso nemmeno tutti gli alleli patologici di un determinato locus, soprattutto quando sono numerosi. Le conseguenze di queste limitazioni sono accettabili se si esaminano mutazioni con una frequenza complessiva di almeno il 90-95%, come la mutazione b-39 del gene beta della globina per la talassemia in Sardegna, e la mutazione DF508 per la fibrosi cistica nei paesi del Nord Europa. In qualche caso, i test basati su riconoscimento di alterazioni grossolane, come proteine troncate, che possono derivare da molte mutazioni differenti, possono avere una sensibilità maggiore rispetto ai test diretti sul DNA che non sono in grado di identificare tutte le mutazioni di questo tipo. In ogni caso la pratica impossibilità di identificare tutte le possibili mutazioni a carico di un dato gene si riflette in una riduzione della sensibilità clinica. Nelle neoplasie comuni, come il carcinoma della mammella, carcinoma del colon e melanoma, solo una piccola percentuale dei pazienti è portatrice di mutazioni trasmissibili ereditariamente. Pertanto la sensibilità clinica di test genetici per la identificazione di queste mutazioni sarà bassa se eseguita su individui affetti da queste neoplasie indipendentemente dalla loro storia familiare, anche impiegando test capaci di identificare tutte o quasi tutte le mutazioni trasmissibili ereditariamente. Viceversa, nelle famiglie ad alto rischio con più soggetti affetti da queste neoplasie in due o più generazioni, la sensibilità, determinata valutando la proporzione di soggetti affetti con test positivo, risulta più elevata.

Penetranza. La penetranza è la percentuale di individui che avendo un dato genotipo mostrano il carattere associato a quel genotipo. La valutazione della penetranza corrisponde al valore predittivo di un test che identifica un dato genotipo. La penetranza incompleta può dipendere da altri geni "modificatori" o da fattori

ambientali favorevoli. Ad esempio, nell'ambito delle famiglie ad alto rischio per carcinoma mammario, il 20-30% delle donne che hanno ereditato la mutazione ai geni BRCA1 e BRCA2 non svilupperà la neoplasia; questa ridotta penetranza può essere attribuita al mancato intervento di mutazioni somatiche o di altri fattori genetici o ambientali che possono concorrere nel processo della trasformazione neoplastica (quindi in caso di positività al test sarà molto importante un percorso preventivo (ambientale nutrizionale nutraceutico diagnostico)).

Consulenza e consenso informato A differenza di altre analisi in uso nella pratica clinica i risultati dei test genetici hanno numerose implicazioni sul piano psicologico, sociale e riproduttivo. Il patrimonio genetico rappresenta infatti un elemento fondante dell'identità personale e familiare. La decifrazione e la circolazione dell'informazione genetica possono assumere, più di altre informazioni biologiche, aspetti di minaccia e di violazione del sé oltre che esporre a potenziali discriminazioni sociali. Principio: Devono essere considerati parti integranti di un test genetico la comunicazione e l'interpretazione dei risultati e la consulenza sulle loro possibili implicazioni. Nell'offrire un test genetico ad un soggetto è necessario discutere preliminarmente tutte le possibili implicazioni dei diversi risultati in quanto: a) spesso le malattie predette dai test genetici non possono essere curate o prevenute e quindi l'individuo che deve decidere se sottoporsi al test può trovarsi a valutare l'utilità dell'informazione genetica anche su un piano non medico; b) a seconda dell'attendibilità del test genetico varia il rischio che l'utente possa intraprendere, a seguito del risultato, azioni che sarebbero inopportune se il risultato fosse errato; ciò è tanto più rilevante in quanto, il valore predittivo di un test genetico e la sua attendibilità sono sovente difficilmente valutabili; c) soggetti o coppie che attraverso test genetici apprendano di avere un rischio di concepire figli affetti possono evitare il concepimento o la nascita di tali figli ricorrendo anche alle tecniche di fecondazione assistita con seme eterologo o alla diagnosi prenatale; le decisioni nella sfera riproduttiva che conseguono al risultato di un test genetico possono essere assai complesse e le azioni da intraprendere non senza rischi; d) i test genetici possono rivelare informazioni anche sul futuro stato di salute di consanguinei del soggetto che vi si è sottoposto. L'eventuale comunicazione del risultato del test ai parenti potrebbe costituire una lesione del loro diritto a non conoscere la propria condizione genetica; d'altro canto, la mancata comunicazione potrebbe costituire una sottrazione di una informazione importante per la loro salute o per quella dei loro figli. e) il test genetico può rivelare informazioni non richieste, come ad esempio una non paternità o il sesso del nascituro. In questo caso si pone il problema se comunicare o meno l'informazione non richiesta. f) il risultato di un test genetico potrebbe essere usato da compagnie di assicurazione o datori di lavoro per operare una discriminazione nei confronti di persone ad alto rischio per una malattia genetica. g) la conoscenza del risultato potrebbe portare ad una stigmatizzazione dei soggetti in questione e delle loro famiglie. Il consenso informato ad un test genetico è il risultato di un processo che deve aiutare il soggetto a decidere se sottoporsi o meno al test. Tale processo consultoriale è una tappa essenziale sia nella sperimentazione del test che nel suo uso routinario. Infatti, in entrambe le situazioni, è della massima importanza che il consenso informato nasca da un dialogo nel corso del quale il/la potenziale utente riceve dal/la sanitario/a che gestisce il test genetico, informazioni complete e accurate riguardo a tutte le possibili implicazioni dei risultati ottenibili.