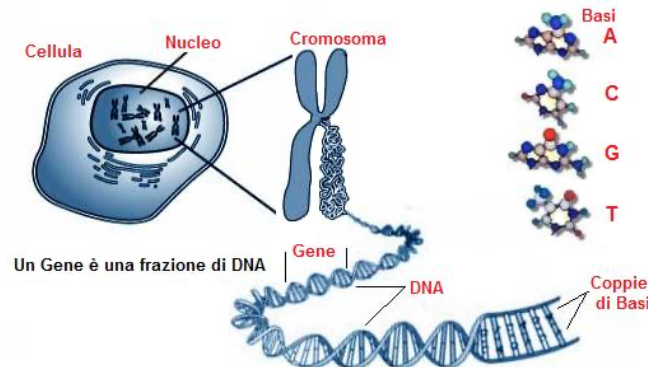




Gentile Paziente/Genitori,
poiché Lei o suo/a figlio/a ha indicazione clinica a sottoporsi all'analisi di sequenziamento del DNA, la preghiamo di leggere attentamente questo documento: esso contiene le informazioni necessarie perché lei possa dare il suo consenso consapevole all'esecuzione dell'esame.

CHE COSA è LA RICERCA DI MUTAZIONI DEL DNA PER RT-PCR O SEQUENZIAMENTO?

Il sequenziamento consiste nell'individuare e ordinare tutti i nucleotidi che costituiscono il nostro patrimonio genetico così come si susseguono nel genoma. I nucleotidi sono quattro e sono le molecole di base con le quali è costruito il DNA (acido desossiribonucleico). Sono indicati anche con il termine di basi e più precisamente sono: Adenina (A), Timina (T), Guanina (G) e Citosina (C). Sequenziare vuol dire quindi "leggere" l'ordine in cui sono disposte le basi lungo il DNA, cioè le lettere del codice genetico.



Negli ultimi anni lo sviluppo di nuove tecnologie di sequenziamento ha permesso di analizzare in contemporanea più geni associati ad una determinata patologia fino all'analisi, in un unico esperimento, di tutti i geni a oggi noti. I cambiamenti di base presenti in un individuo sono denominati varianti: numerose varianti determinano solo la variabilità biologica tra gli individui e vengono perciò definite varianti benigne. Altre, invece, più rare, possono essere la causa di patologie (mutazioni) e vengono definite varianti patogenetiche; altre ancora possono avere significato non noto allo stato attuale delle conoscenze. Le varianti benigne e presumibilmente benigne non vengono riportate nel referto.


Il sequenziamento è in grado di evidenziare errori a livello del DNA, detti mutazioni. Le mutazioni possono essere localizzate sia nelle regioni codificanti che non codificanti dei geni. Ciascun test genetico ricerca mutazioni in regioni specifiche. Oltre al sequenziamento, vi sono alcune tecniche, come la Real Time PCR (RT-PCR), che consentono l'analisi di mutazioni in loci specifici e ricorrenti. La RT-PCR è una tecnica che consente di evidenziare la presenza di specifiche mutazioni mediante l'uso di sonde che riconoscono selettivamente solo il *locus* in analisi. Per quanto riguarda il sequenziamento, si possono sequenziare varianti solo nel gene analizzato (codificanti e/o non codificanti), eseguire l'analisi dell'esoma (Whole Exome Sequencing, WES), che permette di individuare mutazioni nella parte codificante di tutti i geni ad oggi noti, o effettuare l'analisi in pannelli genici, ossia analizzare un numero ristretto di geni associati/candidati a patologie specifiche. Questo implica che mutazioni al di fuori delle regioni analizzate non vengono rilevate. Esiste anche la possibilità di effettuare analisi di pannelli di geni a partire da WES e concentrare l'analisi esclusivamente dei geni contenuti nel pannello, perciò definito virtuale, e non di tutti i geni sequenziati da WES. Informazioni più dettagliate riguardo l'indicazione del test in base al sospetto diagnostico verranno fornite dal Medico Specialista.

QUANDO SI ESEGUE L'ANALISI DI RT-PCR O SEQUENZIAMENTO DEL DNA?

L'analisi di sequenziamento del DNA può essere effettuata in epoca pre-natale o post-natale o su materiale abortivo.

In epoca pre-natale viene effettuata su un prelievo invasivo di campione biologico fetale (villi coriali, liquido amniotico o, più raramente, sangue cordonale).

In epoca post-natale viene eseguita generalmente su un prelievo di sangue periferico o un tampone della mucosa orale. Dalle cellule contenute nel sangue o da quelle di sfaldamento della mucosa orale presenti

 Sistema Socio Sanitario Regione Lombardia ASST Santi Paolo e Carlo	INFORMATIVA SULLA RICERCA DI MUTAZIONI NEL DNA PER RT-PCR O SEQUENZIAMENTO	AST_GEN_515_Ed01
		Approvazione: Direttore Genetica Medica
		Data di Emissione: 30.11.2022

nel tampone è possibile estrarre il DNA per il sequenziamento. In alcuni casi è possibile che l'analisi avvenga inizialmente su campioni tumorali del paziente. Spesso è utile eseguire un prelievo di sangue/tampone anche ai genitori o altri familiari, perché potrebbe essere necessario per una corretta interpretazione del risultato del test.

I criteri utilizzati sono quelli raccomandati dalle Linee Guida della Società Italiana di Genetica Umana e dell'Associazione Europea di Citogenetica (ECA). I tempi di refertazione variano da 10 a 180 giorni a seconda che sia un'analisi pre-natale o post-natale e del tipo di test richiesto, ossia sequenziamento di un singolo gene o sequenziamento dell'intero esoma.

CONSERVAZIONE: il materiale biologico è conservato secondo quanto riportato in AST_GEN_510 "INFORMATIVA AL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI". Secondo le linee guida della SIGU, l'eventuale materiale residuo va mantenuto 15 giorni in caso di analisi in epoca post-natale o 6 mesi in caso di analisi in epoca pre-natale se il risultato dell'analisi è conclusivo; mentre va conservato 10 anni in caso di esito dubbio.

CHE RISULTATI PUO' DARE L'ANALISI DI SEQUENZIAMENTO DEL DNA?

Esito normale: non si identificano varianti clinicamente significative; in questo caso non verranno rese note le varianti considerate benigne, cioè prive di un chiaro effetto patogenetico.

Esito patologico: si identificano varianti associate ad una condizione genetica ben definita, ereditate o *de novo* (assenti sia nel padre sia nella madre).

Esito dubbio: si identificano varianti, in uno o più geni, di significato incerto, ereditate o *de novo*, questo può accadere solo in caso di analisi di sequenziamento. Tali varianti potrebbero essere sia patogenetiche sia benigne, ma non è possibile, in base alle conoscenze attuali, essere certi della loro correlazione con la patologia in analisi.


Tutte le varianti del DNA a significato patologico e/o incerto verranno discusse in sede di consulenza genetica. L'esito di questo esame dovrà in ogni caso essere interpretato dallo Specialista che lo ha richiesto il quale potrà darLe ulteriori chiarimenti in merito. L'identificazione di un'alterazione patogenetica può rappresentare la base per ulteriori accertamenti o percorsi clinici pre e postnatali appropriati e per un adeguato counseling genetico familiare. È possibile che l'esito dell'analisi di sequenziamento del DNA non conduca alla conclusione dell'iter diagnostico. In ogni caso, la possibilità di approfondimento diagnostico verrà discussa in sede di consulenza genetica, il medico genetista valuterà test genetici che possano permettere ulteriori approfondimenti.

Poiché le conoscenze genetiche sono in continua evoluzione, l'interpretazione del risultato potrebbe variare nel tempo. Pertanto, in caso di risultato negativo o di identificazione di varianti a significato incerto è possibile che lo specialista richieda una rivalutazione dei dati a distanza di tempo. Un risultato normale non esclude comunque la presenza di una anomalia genetica non nota.

Si distinguono due tipologie di risultati di mutazioni patogenetiche o probabilmente patogenetiche che possono comparire nel referto di laboratorio:

- risultati primari: strettamente connessi al sospetto diagnostico e al quesito clinico per cui viene richiesto il test.
- risultati secondari: sono rappresentati da varianti patogenetiche o probabilmente patogenetiche in geni-malattia che non sono correlati al quesito diagnostico. Esiste una lista di geni-malattia le cui varianti possono rappresentare risultati secondari. Questa lista è curata dall'American College of Medical Genetics (ACMG). Il laboratorio si attiene a questa lista per definire quali siano i risultati secondari. I risultati secondari sono prevalentemente riscontrabili in esperimenti di WES. La segnalazione della presenza di varianti patogenetiche o verosimilmente tali in questi geni rappresenta un beneficio concreto e diretto in termini di terapia o di prevenzione o di consapevolezza delle scelte riproduttive.

La volontà di conoscere eventuali risultati secondari riscontrati dipende esclusivamente da Lei mediante la

 Sistema Socio Sanitario Regione Lombardia ASST Santi Paolo e Carlo	INFORMATIVA SULLA RICERCA DI MUTAZIONI NEL DNA PER RT-PCR O SEQUENZIAMENTO	AST_GEN_515_Ed01
		Approvazione: Direttore Genetica Medica
		Data di Emissione: 30.11.2022

decisione che fornirà nel consenso all'esecuzione dell'analisi genetica.

- In caso di esecuzione di RT-PCR, singoli geni o pannelli, anche virtuali a partire da WES, non vengono inseriti nel referto eventuali risultati secondari in quanto non sono compresi nell'analisi eseguita.
- In caso di esecuzione di WES su minori, vengono segnalati, in base alla volontà espressa nel consenso, esclusivamente risultati secondari che possano incidere in età pediatrica con la salute del paziente e vengono discussi con lo specialista, attenendosi a quanto riportato nelle liste curate da ACMG.
- In caso di esecuzione di WES su adulti, vengono segnalati, in base alla volontà espressa nel consenso, i risultati secondari attenendosi a quanto riportato nelle liste curate da ACMG.

POSSIBILI LIMITI E PROBLEMATICHE CONNESSE ALL'ANALISI DI SEQUENZIAMENTO DEL DNA

Esistono limiti connessi alla natura stessa dei campioni. Il fallimento dell'analisi può verificarsi in rari casi, per motivi generalmente correlati a materiale insufficiente per l'estrazione del DNA. Mediante analisi di sequenziamento del DNA non è possibile diagnosticare malattie a base genetica dovute a alterazioni di numero di copia di sequenze di DNA. Un risultato negativo dell'analisi non esclude la possibilità che vi sia una mutazione causativa, cioè presente negli individui affetti e associata allo sviluppo della patologia, in una porzione di DNA non indagata dal test effettuato. L'interpretazione del risultato ottenuto, inoltre, è basata sulle conoscenze scientifiche attuali. Esiste, inoltre, la possibilità che il test effettuato risulti negativo solo per una limitazione della tecnica utilizzata. Per tale motivo, nel referto saranno riportati i parametri di qualità dell'analisi effettuata.

ATTENZIONE: nei soggetti che si sono sottoposti a trapianto di midollo osseo non può essere eseguita l'analisi di sequenziamento del DNA su sangue periferico poiché le cellule presenti nel campione sono quelle del donatore. È necessario utilizzare in questo caso un altro tipo di materiale biologico (es. biopsia cutanea). Esiste inoltre la possibilità di ottenere informazioni inattese sui rapporti di consanguineità/non paternità. Si sottolinea che in caso di paternità diversa da quella dichiarata, il risultato dell'analisi di sequenziamento (sul trio) può non essere informativo.

COSA SUCCEDDE SE RIFIUTO L'ANALISI DI SEQUENZIAMENTO?

La mancata esecuzione dell'analisi comporta il fatto che non si potrà rispondere al quesito iniziale o sospetto clinico di eventuali anomalie.

Per qualsiasi chiarimento contattare la SC Genetica Medica, al numero 0281843976/0240222846 (Lunedì-Venerdì, ore 10-12) o via mail genetica.medica@asst-santipaolocarlo.it

FIRMA DELL'INTERESSATO _____

FIRMA e TIMBRO DEL MEDICO RICHIEDENTE _____

La presente informativa deve essere fornita al paziente sempre prima del modulo di espressione della volontà (AST_GEN_511 "CONSENSO INFORMATO PER L'ESECUZIONE DI ANALISI DI GENETICA MEDICA E IL TRATTAMENTO DI DATI GENETICI") e unitamente al modulo AST_GEN_510 "INFORMATIVA AL TRATTAMENTO DEI DATI GENETICI". I tre documenti vanno poi archiviati insieme presso la SC Genetica Medica.