

TEST GENETICI

Essere informati, per informare correttamente

TEST DEL PORTATORE

L'obiettivo primario dello screening del portatore è l'identificazione dei portatori sani delle malattie genetiche più frequenti, affinché possano avere l'opportunità, ognuno in base ai propri valori personali, di evitare la nascita di un figlio affetto dalla patologia genetica ereditaria, trasmessa da loro senza saperlo



Introduzione

Ogni individuo è portatore sano, cioè senza sintomi, di almeno 3 o 4 malattie genetiche trasmissibili. Una coppia formata da due portatori sani della stessa malattia ha un rischio elevato, ad ogni concepimento, di avere figli affetti. Il numero delle coppie ad alto rischio genetico è funzione della frequenza dei portatori di un particolare gene nella popolazione. Ad esempio, per la talassemia, la probabilità di individuare una coppia ad alto rischio è di circa 1/600 coppie sottoposte al test. Per questo motivo in Italia è stato istituito lo screening universale e gratuito per identificare i portatori sani di talassemia.

L'obiettivo primario dello screening del portatore è l'identificazione dei portatori sani delle malattie genetiche più frequenti, affinché possano avere l'opportunità, ognuno in base ai propri valori personali, di evitare la nascita di un figlio affetto dalla patologia genetica ereditaria, trasmessa da loro senza saperlo.

Lo screening del portatore, come tutti i test di screening, dovrebbero essere promossi attraverso un'informazione capillare sfruttando tutti i canali possibili, coinvolgendo gli specialisti che sono a contatto con le coppie che desiderano procreare e la popolazione. Per esempio la popolazione universitaria o delle aziende, per aumentare il grado di consapevolezza sull'esistenza del test. A fronte di canali informativi ancora troppo limitati e poco sostenuti dalle politiche sanitarie, nel nostro Paese, come in tutta Europa, grazie allo sviluppo tecnologico dell'analisi del Dna, sono stati realizzati numerosi tipi di test, con specifiche potenzialità e limiti, che non sono conosciuti a sufficienza.

Anche per questo, è necessario e doveroso prevedere sempre una consulenza genetica pre-test,



FAUSTINA LALATTA
Specialista in
Genetica medica
e Pediatria
Milano

la raccolta del consenso per l'esecuzione dell'analisi concordata ed una restituzione dell'esito accompagnato dalla definizione scritta del rischio residuo che dipende dalle caratteristiche del test e dall'indicazione a priori al test stesso. Per rendere più accessibile la visita pre-test, viene in aiuto la telemedicina attraverso piattaforme autorizzate. È importante precisare che in nessun caso possono essere individuate tutte le malattie di cui due futuri genitori siano portatori sani, a prescindere dall'estensione e dalle qualità tecniche dello screening che si decide di effettuare. Esisterà sempre la probabilità di avere prole affetta da una delle 7mila malattie genetiche, da valutare caso per caso sulla base anche di altri fattori individuali quali l'etnia della coppia, la consanguineità tra i coniugi, la conoscenza o meno della loro anamnesi familiare.

Quando è indicato informare sul test del portatore

IL TEST DEL PORTATORE e/o il cariotipo è fortemente raccomandato in caso di familiarità positiva per malattie genetiche già diagnosticate o per coppie che abbiano sperimentato poliabortività, morte fetale o sterilità. In questi casi, il costo dell'analisi viene coperto dal Ssn. Da qui l'importanza di un'anamnesi accurata (**dovere informativo assoluto da parte dello specialista**).

È inoltre **appropriato** discutere del test del portatore con coloro che scelgono di sottoporsi a tecniche di fecondazione assistita sia omologa sia con donazione di gameti. In questi casi il pannello delle malattie indagate può essere più ampio (pannello esteso), anche sulla base delle esigenze informative della coppia.

È però importante informare sullo screening del

portatore ogni coppia che desideri una gravidanza anche in assenza di familiarità (**dovere informativo**). In questo caso l'esame è **volontario** ed il costo non è coperto dal Ssn (extra Lea). Il momento ottimale per informare ed avviare il test è la fase preconcezionale, ma può essere proposto anche nelle prime settimane di gravidanza.

Caratteristiche e limiti del test di screening del portatore

Il test del portatore non è diagnostico, ma è uno screening, pertanto non esclude che la coppia possa avere un bambino affetto dalla patologia indagata, ma ne riduce significativamente la probabilità. Questo a causa di limiti tecnici, biologici e di utilità clinica, il test indaga solo una porzione del gene delle condizioni selezionate e potrebbe non rilevare tutte le mutazioni dei geni inclusi nel pannello. Nei casi di eterogeneità, cioè più geni che causano la stessa malattia, se non viene regolarmente aggiornato potrebbe non includere tutti i geni conosciuti.

Per alcune condizioni, specificamente per la ricerca delle mutazioni del gene della fibrosi cistica bisogna sempre valutare l'estensione del test, che non deve essere inferiore a 70 mutazioni (I° livello), e saper quando utilizzare il test di II livello, cioè la sequenza dell'intero gene, per indagare il partner di un portatore accertato.

Un risultato negativo, cioè nessuna variante patogenetica trovata, si associa quindi ad un rischio residuo, talvolta non quantificabile, che va sempre discusso con lo specialista;

Un risultato positivo per varianti, può avere implicazioni anche importantissime sul percorso riproduttivo della coppia e spesso modificare anche il rischio riproduttivo dei familiari. Si parla di test "a cascata" quando, a seguito dell'indivi-

duazione di un portatore sano in una famiglia, si realizza la possibilità di eseguire il test per i consanguinei della stessa linea genetica.

L'analisi può mettere in evidenza varianti di incerto significato (Vus) a cui non è possibile fornire un significato sicuramente benigno o sicuramente patogenetico; maggiore è il numero delle condizioni rare ed ultra-rare indagate e maggiore è il rischio di individuare una Vus.

Come facilitare il test del portatore

L'APPROPRIATEZZA del test viene valutata durante una visita di genetica medica o durante una visita preconcezionale. La visita è caratterizzata dalla raccolta dei dati familiari, atto che permette di individuare eventuali malattie genetiche già diagnosticate in precedenza.

Sulla base della propria convinzione, guidata dallo specialista, dopo aver condiviso il consenso informato la coppia si sottoporrà ad un prelievo di sangue da cui si estrarrà il Dna e su cui verranno eseguite le indagini genetiche.

Pannelli utilizzati nella pratica clinica

CON IL TERMINE DI PANNELLO si intende un elenco di malattie di cui si vuole indagare la presenza o meno di mutazione. Esistono pannelli di diversa estensione.

PANNELLO STANDARD

Il pannello standard si avvale di diverse metodiche specifiche (es. Mlpa, Rp-Pcr, ecc.) per l'indagine dei meccanismi molecolari che causano le patologie recessive (autosomiche e X-linked) più frequenti nella nostra popolazione e per le quali vi è una rilevanza clinica maggiore (Figura 1).

PANNELLO ESTESO (ECC)

Si tratta di un'indagine, anche molto estesa, del genoma di un individuo attraverso la tecnologia di Next Generation Sequencing (Ngs). Il vantaggio di questo approccio risiede nella possibilità di analizzare simultaneamente più geni causativi di diverse patologie rare o ultra-rare a cui si associano quadri clinici gravi. Le patologie incluse nell'expanded panel sono state accuratamente selezionate secondo i principi dell'Acog (*The American College of Obstetricians and Gynecologists*, committee opinion Number 690; March 2017), tenendo conto di alcuni criteri-consenso quali:

- frequenza del portatore della patologia superiore a 1/100
- fenotipo ben definito
- effetto grave sulla qualità della vita
- compromissione cognitiva o fisica
- possibilità limitata di intervento medico o chirurgico
- esordio precoce nella vita.

Un pannello esteso di ragionevole ampiezza, che comprenda malattie particolarmente frequenti in alcune etnie, include dai 17 ai 27 geni.

PANNELLI MOLTO ESTESI, che includono centinaia di geni, anche molto rari, spesso proposti da aziende su base commerciale, non presentano necessariamente vantaggi clinici. Infatti, spesso non si conosce il fenotipo, non esiste una precisione sufficiente per indagare il partner di un portatore ed è difficile stabilire il rischio residuo. Analogamente hanno impatto clinico molto minore i test estesi che includono condizioni autosomiche dominanti per le quali, di regola, il soggetto con la mutazione mostra i sintomi del quadro clinico correlato che, pur nella sua variabilità, dovrebbe essere individuato clinicamente. Ad esempio sindrome di Marfan, Neurofibromatosi, Neuropatie periferiche, Rene policistico dell'adulto.

Le malattie genetiche più frequenti costituiscono il "pannello standard"

MALATTIA INDAGATA	GENE	CLINICA NELL'AFFETTO	FREQUENZA DEL PORTATORE IN ITALIA	DETECTION RATE
FIBROSI CISTICA (CF)	CFTR	Malattia multiorgano che comporta danni progressivi principalmente dell'apparato respiratorio e dell'apparato digerente. I sintomi più comuni comprendono infezioni polmonari e bronchiali persistenti con inesorabile danno polmonare, diarree croniche e deficit di accrescimento in statura e peso.	1 a 27- 1/30	87% per 70 mutazioni (I livello)
ATROFIA MUSCOLARE SPINALE (SMA)	SMN1	Coinvolge le cellule anteriori del midollo spinale e comporta gravissime conseguenze su tutte le funzioni motorie (deglutizione, respirazione e movimenti volontari)	1 a 35- 1/50	95%
SINDROME X-FRAGILE (X-FRAGILE)	FMR1	Si esprime quasi esclusivamente nei maschi e comporta ritardo cognitivo, del linguaggio, e disturbi comportamentali che richiedono assistenza e sorveglianza costante. Circa 1/3 delle donne portatrici manifesta ritardo cognitivo lieve-medio e menopausa precoce.	1 a 178 donne	99%
DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE E BECKER (DMB/DMD)	DMD	Caratterizzate dalla progressiva degenerazione delle fibre muscolari. Entrambe le forme sono associate a perdita delle capacità motorie in forma grave (Duchenne) o moderata (Becker). Le complicazioni cliniche più gravi riguardano l'apparato respiratorio e cardiocircolatorio.	< 1 a 500 donne	70% (tasso elevato di neomutazioni)

Test Simultaneo o Test Sequenziale?

Il test del portatore può essere eseguito contemporaneamente su entrambi i partner della coppia (Test Simultaneo). Approccio preferito nei casi in cui la gravidanza sia già avviata e quando si vuole raggiungere un livello di rischio residuo irrisorio. Alternativamente può essere eseguito ini-

zialmente su uno dei due partner, con eventuale estensione dell'indagine al secondo partner in caso di positività (Test Sequenziale). Questo approccio è tipico della fase preconcezionale. I percorsi riproduttivi delle coppie a rischio, in base ai risultati ottenuti, sono molteplici e devono essere sempre valutati nell'ambito della visita preconcezionale.

Geni ed eredità

IL CORREDO CROMOSOMICO umano è costituito da 22 paia di cromosomi, detti autosomi, e da una coppia di cromosomi che definiscono il sesso dell'individuo (XX per le femmine, XY per i maschi) detti eterosomi. Di ogni coppia di cromosomi, uno è di origine materna e uno di origine paterna. L'unione delle coppie di cromosomi, che avviene al momento del concepimento costituisce il patrimonio genetico, specifico ed unico dello zigote, cioè il potenziale embrione. I cromosomi sono composti di Dna e proteine e contengono quindi i geni, frammenti di Dna, dotati di una o più funzioni e la cui espressione è regolata da meccanismi genetici ed epigenetici. Le patologie dovute ad anomalie del patrimonio genetico si classificano pertanto in: **Cromosomiche**: cioè anomalie del numero e della struttura di uno o più cromosomi. Sono

identificate attraverso lo studio del cariotipo, cioè la fotografia dei cromosomi delle cellule di uno dei tanti tessuti di cui è composto l'organismo.

Submicroscopiche: piccole anomalie dette microdelezioni e microduplicazioni che sfuggono all'esame cromosomico ma si visualizzano con la tecnica Array-CGH. **Geniche**: cioè mutazioni di singoli geni che vengono indagate con l'analisi del Dna, mediante diverse tecniche molecolari. Le anomalie geniche sono numerosissime, più di 7mila e sono alla base di moltissime malattie genetiche ereditarie od occasionali (da neo-mutazioni). In base alla localizzazione dei geni causativi, vengono definite 'autosomiche' (dominanti o recessive) se sono dovute ai geni localizzati sui cromosomi da 1 al 22, oppure "legate alla X" se sono

causate da geni localizzati sui cromosomi X.

Per le forme **dominanti** la mutazione, in singola copia, produrrà sempre, o molto spesso, i sintomi della malattia (es. rene policistico dell'adulto, sindrome di Marfan, Neurofibromatosi). Queste mutazioni si osservano spesso in più generazioni di una famiglia. Le forme **recessive**, invece, si manifestano nei casi in cui un individuo riceva due mutazioni, ereditate ognuna da un genitore, entrambi portatori sani della stessa malattia. Nel caso delle patologie **legate al cromosoma X**, manifesteranno i segni della malattia quasi esclusivamente i maschi. In una notevole percentuale di casi, queste persone hanno ereditato la mutazione dalla propria madre, portatrice sana della mutazione localizzata sul cromosoma X.

