

## INTRODUZIONE

### Cosa sono i cromosomi e i geni

Il nostro materiale genetico è costituito da circa 20.000 geni, impacchettati all'interno di ogni nostra cellula in strutture chiamate cromosomi. Queste informazioni genetiche determinano le nostre caratteristiche e lo sviluppo di tutti i nostri organi, come il cervello, il cuore, i reni. Le cellule del corpo normalmente contengono 46 cromosomi, raggruppati in 23 coppie. Ognuna di queste coppie è ereditata per metà dalla madre e per metà dal padre. Le prime 22 coppie di cromosomi sono analoghe nell'uomo e nella donna. La 23<sup>ma</sup> coppia è denominata coppia dei cromosomi sessuali che sono rappresentati da due cromosomi X nella donna e da un cromosoma X ed un cromosoma Y nell'uomo.

Ogni gene ha una specifica funzione, sebbene al momento attuale non sia nota la funzione di tutti i geni. Una malattia genetica può insorgere se uno o più dei nostri geni non funziona correttamente. Può essere importante identificare un'alterazione genetica, generalmente chiamata "mutazione", alla base di una determinata patologia, sia per chiarire i rischi di ricorrenza nella famiglia sia per aumentare le conoscenze relative alle patologie genetiche. Un'alterazione genetica può avvenire per la prima volta in una persona (essere cioè di "nuova insorgenza", nuova mutazione), oppure può essere ereditata da uno o da entrambi i genitori.

In passato, poteva essere analizzato solo un gene alla volta, pertanto l'analisi di una patologia genetica che non fosse chiaramente causata da un gene specifico poteva richiedere anni di studio. Adesso è possibile, grazie a nuove tecniche di analisi, effettuare la sequenza di tutti i circa 20.000 geni noti in un singolo esperimento ("sequenziamento dell'esoma"). Tutto ciò si traduce in una notevole diminuzione dei tempi di diagnosi delle malattie genetiche. (Fonte: Documento Commissione SIGU-NGS – Versione Gennaio 2016)

### Termini e definizioni

Ai fini del presente consenso si intende per:

- a) **dato genetico**, il risultato di test genetici o ogni altra informazione che, indipendentemente dalla tipologia, identifica le caratteristiche genotipiche di un individuo trasmissibili nell'ambito di un gruppo di persone legate da vincoli di parentela;
- b) **campione biologico**, ogni campione di materiale biologico da cui possono essere estratti dati genetici caratteristici di un individuo;
- c) **test genetico**, l'analisi a scopo clinico di uno specifico gene o del suo prodotto o funzione o di altre parti del DNA o di un cromosoma, volta a effettuare una diagnosi o a confermare un sospetto clinico in un individuo affetto (test diagnostico), oppure a individuare o escludere la presenza di una mutazione associata ad una malattia genetica che possa svilupparsi in un individuo non affetto (test presintomatico) o, ancora, a valutare la maggiore o minore suscettibilità di un individuo a sviluppare malattie multifattoriali (test predittivo o di suscettibilità);
- d) **test farmacogenetico**, il test genetico finalizzato all'identificazione di specifiche variazioni nella sequenza del DNA in grado di predire la risposta "individuale" a farmaci in termini di efficacia e di rischio relativo di eventi avversi;
- e) **test farmacogenomico**, il test genetico finalizzato allo studio globale delle variazioni del genoma o dei suoi prodotti correlate alla scoperta di nuovi farmaci e all'ulteriore caratterizzazione dei farmaci autorizzati al commercio;
- f) **test sulla variabilità individuale**, i test genetici che comprendono: il test di parentela volto alla definizione dei rapporti di parentela; il test ancestrale volto a stabilire i rapporti di una persona nei confronti di un antenato o di una determinata popolazione o quanto del suo genoma sia stato ereditato dagli antenati appartenenti a una particolare area geografica o gruppo etnico; il test di identificazione genetica volto a determinare la probabilità con la quale un campione o una traccia di DNA recuperato da un oggetto o altro materiale appartenga a una determinata persona.

(Fonte: Provvedimento di Autorizzazione Generale al Trattamento dei Dati Genetici n. 8/2016, emesso dal Garante per la Protezione dei dati personali – Registro dei provvedimenti n. 530 del 15 dicembre 2016)

*File: Mod.75.03-03\_Consenso informato test genetici minori di età*

**Premesso che l'AMES utilizza le seguenti metodiche**

**Estrazione del DNA** a partire da diverse matrici (sangue periferico, tamponi buccali, tampini ginecologici, sperma, feci, espettorato, tessuto in paraffina e ecc....)

**PCR (Polymerase Chain Reaction):** un metodo per la sintesi in vitro di acidi nucleici che consente di amplificare, mediante cicli ripetuti, segmenti specifici di DNA. La tecnica prevede l'utilizzo di due inneschi (sequenze oligonucleotidiche specifiche) che funzionano come iniziatori per la sintesi del frammento di DNA che deve essere amplificato. Partendo da minime quantità di DNA è possibile ottenere circa  $10^9$  copie del frammento di interesse. I prodotti di amplificazione ottenuti possono essere separati e visualizzati mediante diverse tecniche di biologia molecolare.

**Elettroforesi capillare su gel:** la separazione viene condotta in un capillare di silice fusa, che permette di separare frammenti di DNA di lunghezza diversa anche per un solo nucleotide;

**Reverse dot bot:** i prodotti di amplificazione vengono fatti ibridare su una membrana su cui sono legate sonde specifiche per le mutazioni da analizzare.

**Gel di agarosio:** è una tecnica utilizzata per analizzare e separare gli acidi nucleici. Le molecole di DNA sono fatte migrare, in un campo elettrico, attraverso un gel di agarosio, che funge da setaccio, essendo costituito da una rete di pori, i quali consentono di separare le molecole in base alla loro grandezza: quelle più piccole attraversano più velocemente i pori rispetto a quelle più grandi quindi si avrà una separazione in funzione della velocità.

**Real-Time PCR:** tale metodica permette, utilizzando specifiche coppie di primer, la simultanea amplificazione, determinazione e differenziazione degli acidi nucleici di interesse. I risultati sono interpretati da specifici programmi attraverso la presenza della curva di fluorescenza che interseca la linea di threshold.

**MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification, MRC-Holland):** amplificazione mediante specifiche sonde di specifiche regioni geniche per la valutazione delle CNV (*Copy Number Variation*). I prodotti di PCR sono poi separati mediante elettroforesi capillare su gel e successivamente analizzati con il programma Coffalyser.

**SNP-array:** Chip contenenti sonde per specifici polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) distribuiti uniformemente sul genoma. Gli SNP-array costituiscono attualmente il metodo più avanzato di analisi citogenetica, che permette la contemporanea determinazione del copy number variation, e degli eventi di Loss of Heterozygosity (LOH) e Uniparental Disomy (UPD). Lo SNP-array utilizzato (HumanCytoSNP-12 BeadChip, Illumina) permette di rilevare le anomalie cromosomiche determinanti le sindromi più frequenti, mediante l'analisi ~ 300.000 SNP in ~ 250 regioni malattia, comprese le regioni subtelomeriche, pericentromeriche, e i cromosomi sessuali attraverso lo studio di oltre 800 geni. I dati ottenuti vengono analizzati mediante software specifici: GenomeStudio Software e BlueFuse Multi.

**Sequenziamento NGS (Next Generation Sequencing):** Sequenziamento in parallelo di milioni di frammenti di DNA, per la valutazione di mutazioni puntiformi (mutazioni di una singola coppia di basi), piccole inserzioni e/o delezioni. La metodica prevede un primo passaggio di generazione di librerie mediante Kit specifico (vedere specifiche del referto), che successivamente sono sequenziate su piattaforma NovaSeq 6000 o NextSeq 550 Illumina ed analizzate mediante software bioinformatici specifici (bcftfastq versione 2.20, Isaac Aligner versione 4, GATK "Genome Analysis Toolkit" versione 4, Samtools versione 1.9 e Bedtools versione 2).

**Sequenziamento di Sanger:** determinazione dell'ordine dei diversi nucleotidi (Adenina, Citosina, Guanina e Timina) di una specifica regione di DNA. La regione genica di interesse viene amplificata mediante una specifica coppia di primer, successivamente il prodotto di amplificazione ottenuto viene sequenziato, separato mediante elettroforesi capillare su gel ed analizzati con software specifici.

File: Mod.75.03-03\_Consenso informato test genetici minori di età

**MINORE ASSISTITO/A**

Cognome e nome ..... nato/a a ..... il .....  
residente in.....Comune.....Prov.....  
con codice fiscale: .....

**Il/la/i sottoscritto/a/i in qualità di esercente/i la potestà genitoriale, legale/i rappresentante/i dell'assistito/a come sopra generalizzato**

Dati:  dei genitori  del solo genitore presente  del tutore

**GENITORE 1/TUTORE**

Cognome e nome ..... nato/a a ..... il .....  
residente in.....Comune.....Prov.....  
con documento di riconoscimento:  Carta d'identità  Altro .....  
n°..... rilasciato da..... con scadenza.....  
con codice fiscale: .....

**GENITORE 2/TUTORE**

Cognome e nome ..... nato/a a ..... il .....  
residente in.....Comune.....Prov.....  
con documento di riconoscimento:  Carta d'identità  Altro .....  
n°..... rilasciato da..... con scadenza.....  
con codice fiscale: .....

**AVENDO**

- ottenuto informazioni dettagliate sulle finalità, sul significato, sui contenuti, sulle modalità, sui possibili risultati e sui limiti del test genetico richiesto;
- compreso le eventuali informazioni "inattese" che possono emergere dal test genetico richiesto e le possibili conseguenze mediche e psicologiche dei risultati, per sé e la sua famiglia;
- facoltà di interrompere in qualsiasi momento il decorso del test genetico richiesto;
- letto e compreso le "informazioni" ricevute ai sensi dell'art. 13 del Regolamento (UE) n. 2016/679 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 aprile 2016, relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché alla libera circolazione di tali dati ("Regolamento generale sulla protezione dei dati" - di seguito, "Regolamento" o "GDPR") e degli artt. 77 e 79 del D.Lgs n. 196/2003, con le modificazioni apportate dal D.Lgs. n. 101/2018 (G.U. n. 205 del 04/09/2018), e del Provvedimento di Autorizzazione Generale al Trattamento dei Dati Genetici n. 8/2016, emesso dal Garante per la Protezione dei dati personali (Rif. Registro dei provvedimenti n. 530 del 15/12/2016 pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale n. 303 del 29/12/2016);
- compreso, inoltre, che il trattamento riguarderà anche categorie di dati personali definiti "particolari" dal "Regolamento" (cfr. art. 9 del GDPR);
- acquisito consapevolezza dei diritti che gli sono riconosciuti dagli articoli da 15 a 22 del "Regolamento";
- **avuto il tempo e la possibilità di chiedere qualsiasi chiarimento sul test genetico richiesto, ed avendo ricevuto risposte esaurienti e comprensibili;**

*File: Mod.75.03-03\_Consenso informato test genetici minori di età*

