

FOGLIO INFORMATIVO E CONSENSO INFORMATO PER INDAGINE MOLECOLARE MEDIANTE SEQUENZIAMENTO NEXT-GENERATION SEQUENCING - NGS DEL GENOMA

Il sequenziamento del Genoma e l'analisi di varianti a carico di geni causativi di **malattie oncologiche** verranno eseguiti su DNA isolato da un campione preferibilmente di sangue periferico, in caso di impossibilità si preleverà un campione salivare mediante protocolli standardizzati, nei laboratori ubicati nel Centro di Genomica Clinica e Computazionale (Center for Clinical and Computational Genomics) della Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia Tecnologia (di seguito per brevità "C3G" o "Laboratorio C3G") presso l'area **Espace Aosta** in Via Lavoratori - Vittime del Col du Mont, 28, 11100 Aosta AO
E-mail: lab3g@iit.it

Gent.ma/o Signora/Signore,
con il presente foglio informativo si intende fornirLe alcuni chiarimenti riguardo le analisi a cui si sta sottoponendo. La invitiamo, pertanto, a leggere con attenzione il presente foglio informativo e a compilare il modulo allegato esprimendo o meno il Suo consenso.
Il Consenso Informato è composto da due parti: Foglio Informativo (che contiene una breve descrizione del test); Foglio di consenso (da firmare in caso di adesione al test). Lei riceverà una copia completa del Consenso Informato.

DEFINIZIONI

Il sequenziamento del genoma è una nuova modalità di test genetico che consente di analizzare l'intera sequenze del DNA, compresa quella dei geni per cui esiste una associazione verificata con malattia. Per una maggiore comprensione della presente informativa, appare utile fornirLe le seguenti definizioni:

Dati genetici: sono "dati personali relativi alle caratteristiche genetiche ereditarie di una persona fisica che forniscono informazioni univoche sulla fisiologia o sulla salute di detta persona fisica, e che risultano in particolare dall'analisi di un campione biologico della persona fisica in questione".

Dato genetico non è solamente il risultato di test genetici, ma anche ogni altra informazione che, indipendentemente dalla tipologia, riguarda la costituzione genetica di un individuo, ovvero i caratteri genetici trasmissibili nell'ambito di un gruppo di individui legati da vincoli di parentela. Può provenire anche da documentazione direttamente o indirettamente prodotta dall'interessato o da informazioni comunicate nel corso di colloqui con il personale medico.

I dati genetici sono dati personali del tutto peculiari in quanto coinvolgono la salute e l'identità biologica non solo dell'interessato ma anche della sua famiglia e sono protetti dalla normativa a tutela della privacy.

Test genetici: i test genetici sono esami che servono a identificare delle varianti del DNA potenzialmente trasmissibili e/o condivise con consanguinei. I test genetici sono di vario tipo e possono consentire di effettuare una diagnosi di malattia o di confermare un sospetto clinico in un individuo affetto da una malattia genetica (test diagnostici), di identificare i portatori sani di una malattia genetica (screening genetici), di individuare o escludere il gene responsabile di malattie genetiche i cui sintomi non sono presenti alla nascita, ma compaiono successivamente, anche in età avanzata (test preclinici) o ancora di valutare la maggiore o minore suscettibilità di un individuo a sviluppare malattie multifattoriali, ossia derivanti dall'interazione tra i geni e l'ambiente (test di suscettibilità).

Campione biologico: il campione biologico non è un dato personale, piuttosto una fonte di dati personali e viene definito dal garante della Privacy come "ogni campione di materiale biologico da cui possono essere estratti dati genetici caratteristici di un individuo". In questo caso specifico, per campione biologico si intende preferibilmente un campione di sangue, e in caso di impossibilità di prelievo sarà di saliva, da cui verrà estratto il DNA per le analisi genetiche in oggetto.

Sequenziamento dell'intero genoma: la lettura delle 3 miliardi di lettere del DNA che compongono il set di istruzioni che occorrono per far funzionare il nostro organismo (il genoma umano per l'appunto) verrà eseguito presso il Laboratorio C3G, equipaggiato con sequenziatori di ultima generazione (quale il Novaseq 6000 di Illumina), dotati di una processività elevata. La qualità del sequenziamento è elevata, poiché ognuna delle lettere del genoma sarà rilevata in almeno 30 letture, che permetterà di effettuare analisi molteplici per l'identificazione e classificazione di varianti e la loro associazione alle malattie oncologiche.

Analisi bioinformatica: le sequenze genomiche verranno analizzate bioinformaticamente presso il Laboratorio C3G. Di tutti i geni che compongono il genoma umano, saranno per primi esaminati quelli di cui è nota l'associazione con la malattia oggetto dello studio. Si tratta di pannelli di geni, composti da diverse decine o centinaia di geni, ma il numero è destinato a cambiare

nel tempo grazie all'acquisizione di nuove scoperte e dati scientifici. Pertanto, questi pannelli sono suscettibili di aggiornamenti nel tempo. Se si identificano mutazioni in questi geni, sarà possibile riconoscere la causa genetica della malattia. Nella metà dei casi circa, tuttavia, ci si aspetta di non trovare mutazioni nei geni già associati alla malattia. Se lei ci fornirà il consenso, estenderemo l'analisi a tutte le sequenze del genoma al fine di identificare l'eventuale causa genetica della sua malattia.

Risultati non previsti (incidental findings): il sequenziamento su larga scala del genoma può comportare un risultato non previsto, sebbene raro (<1%); questo significa che potranno essere identificate alterazioni genetiche con implicazioni anche rilevanti per la vostra salute o la salute di altri membri della famiglia. Un esempio di questo potrebbe essere una alterazione genetica associata ad un aumentato rischio di cancro o ad un'altra malattia genetica, ma anche l'identificazione dello "stato di portatore" di una malattia recessiva che è relativamente frequente nella popolazione. Vi sarà data la possibilità di decidere se si desidera essere informati sulla presenza di risultati non previsti.

BREVE DESCRIZIONE DELLE MALATTIE SU BASE GENETICA

Le malattie su base ereditaria possono avere una base genetica, quindi i familiari di un paziente possono essere a loro volta a rischio di sviluppare la malattia. Nelle cellule del nostro organismo sono localizzati i cromosomi, che contengono l'informazione genetica. In ogni cellula ci sono 46 cromosomi, organizzati in 23 coppie: ogni coppia è formata da un cromosoma ereditato dal padre e da un cromosoma ereditato dalla madre. Le prime 22 coppie di cromosomi sono simili nell'uomo e nella donna (autosomi), mentre la coppia 23 è costituita dai cromosomi sessuali, XX nella donna e XY nell'uomo. Ogni cromosoma è formato da una lunga sequenza di DNA, che in tratti diversi consente la codifica delle proteine necessarie per il nostro organismo, queste informazioni costituiscono i geni. Anche i geni sono solitamente presenti in coppie, uno di origine paterna ed uno di origine materna. Una malattia genetica si può verificare se uno o più geni non funzionano e può essere ereditaria, cioè trasmissibile di generazione in generazione. Le modalità con cui una malattia genetica si può trasmettere sono diverse e dipendono dal tipo di errore del DNA e dalla sua localizzazione (autosomica dominante, recessiva o legata al cromosoma X).

PATOLOGIA OGGETTO DI INDAGINE

Il **cancro** non è di solito una malattia ereditaria. Esistono però alcune mutazioni genetiche che possono predisporre a un maggiore rischio di sviluppare alcuni tipi di tumore e che possono essere ereditate da uno o da entrambi i genitori. Un maggiore rischio non equivale alla certezza di avere la malattia nel corso della vita, ma ne aumenta la probabilità.

Il cancro è però una malattia dei geni.

Nel corso della vita, le nostre cellule accumulano spontaneamente numerose mutazioni nei geni. La maggior parte può essere riparata o non causa problemi. Alcune però possono dare origine a un tumore. Il tumore ha infatti origine a partire da una cellula alterata, la cui crescita va fuori controllo e si moltiplica a dismisura. Normalmente in una cellula ci sono molti geni che ne controllano la crescita e ne garantiscono il funzionamento. Se tuttavia questi geni accumulano nel tempo mutazioni, questi meccanismi possono smettere di funzionare correttamente e la cellula può diventare tumorale.

Le mutazioni genetiche possono avere molteplici cause. Possono essere dovute a errori casuali durante la replicazione del DNA; a danni provocati dall'esposizione ad agenti chimici e fisici che si possono incontrare nell'ambiente, nel luogo di lavoro o per abitudini e comportamenti poco salutari; e a meccanismi di riparazione resi meno efficaci dall'invecchiamento. Quando non sono ereditate dai genitori e non possono essere trasmesse ai figli, perché non si trovano nella linea germinale, le mutazioni sono dette acquisite (o **mutazioni somatiche**). Quando invece le mutazioni all'origine di un tumore sono già presenti al momento della nascita, e sono state trasmesse dalla cellula uovo o dallo spermatozoo, sono ereditate da uno o da entrambi i genitori. Sono anche dette costitutive (o **mutazioni germinali**), dato che nel bambino si trovano in tutte le cellule dell'organismo, originate dalla cellula uovo fecondata. La presenza di queste mutazioni non comporta inevitabilmente la comparsa di un tumore, ma ne aumenta il rischio relativo rispetto al rischio di base di chi non ne è portatore. Per questo, più che di ereditarietà del cancro, è più corretto parlare di predisposizione ereditaria allo sviluppo della malattia nel corso della vita.

Una cellula deve accumulare diverse mutazioni prima di diventare una cellula tumorale. Se una o più mutazioni sono già presenti alla nascita, basta un minor numero di danni successivi nel DNA per raggiungere la soglia critica necessaria a innescare il processo di formazione e sviluppo del cancro. Nelle famiglie in cui si ritrovano queste mutazioni costitutive, i tumori sono più frequenti e tendono a manifestarsi con malattie in genere di alcuni tipi specifici, nello stesso lato della famiglia e in età giovanile.

In molte famiglie si registrano più casi di cancro, ma questo di per sé non significa necessariamente che vi sia una predisposizione genetica allo sviluppo della malattia. Le malattie oncologiche sono infatti molto frequenti in tutta la popolazione, soprattutto dopo una certa età. Solo in Italia si diagnosticano circa mille casi di tumore al giorno. Le famiglie poi,

oltre al patrimonio genetico, condividono spesso abitudini alimentari e comportamenti, il luogo e l'ambiente di residenza, a volte il tipo di attività professionale. Tutto ciò può, in vario modo e misura, contribuire all'aumento del rischio di sviluppare alcune malattie. Quindi il fatto che il cancro colpisca più membri dello stesso nucleo non è da solo un indizio sufficiente a stabilire la presenza di una componente ereditaria.

Attualmente si stima che nel nostro Paese complessivamente i casi di tumore riconducibili a una predisposizione familiare ed ereditaria – cioè associati alla presenza di mutazioni costitutive acquisite alla nascita – siano circa il 15-17 per cento del totale. Le mutazioni responsabili delle forme familiari di cancro sono in genere varianti difettose di geni chiamati oncosoppressori, cioè che ostacolano la formazione dei tumori, o di geni coinvolti nei processi di riparazione dei danni al DNA. Complessivamente tali mutazioni sono rare e si stima siano presenti in meno dell'1 per cento della popolazione generale.

Talvolta una mutazione ereditaria è strettamente associata a un singolo tumore, come quella del gene **WT1**, un gene oncosoppressore, responsabile del 5 per cento circa dei casi ereditari di nefroblastoma. Detto anche tumore di Wilms è un raro carcinoma del rene che si manifesta nella prima infanzia.

Più spesso le mutazioni costitutive favoriscono la formazione di più tumori benigni e maligni in diverse parti dell'organismo e sono pertanto associate a forme di predisposizione ereditaria che prendono il nome di sindromi. A oggi sono state individuate più di 50 sindromi che sono caratterizzate da più tipi di tumore localizzati in diversi organi e sono legate ad anomalie genetiche trasmesse dai genitori ai figli.

Tra le mutazioni associate a tumori in diverse parti del corpo, le più note sono quelle dei **geni BRCA1 e BRCA2**, che nei portatori, rispetto alla popolazione generale, aumentano nettamente il rischio di tumore al seno, sia in femmine e maschi, sia all'ovaio, nelle femmine.

Sebbene in misura minore, le **mutazioni del gene BRCA2** aumentano anche il rischio di tumore di stomaco e pancreas in entrambi i sessi e della prostata nell'uomo, ma raramente prima dei 45 anni di età. Di recente si è scoperto che anche le mutazioni del gene **PALB2** causano un aumentato rischio di sviluppare il tumore mammario.

Mutazioni del **gene APC** (Adenomatous Polyposis Coli) possono invece provocare la **poliposi adenomatosa familiare**, che si manifesta con la formazione nell'intestino, fin dalla più giovane età, di centinaia di polipi, che con il passare del tempo tendono a diventare cancerosi. La comparsa di lesioni maligne può essere prevenuta con un'attenta sorveglianza e la rimozione chirurgica della parte di organo interessato.

Anche la **sindrome di Lynch** aumenta il rischio di cancro al colon-retto, pur in assenza di un gran numero di polipi. Oltre a questo tipo di tumore, le persone affette sono geneticamente predisposte a sviluppare anche tumori in altri organi, in particolare endometrio e ovaio.

Un difetto nel gene che codifica per la proteina **p53**, un importante oncosoppressore, provoca la **sindrome di Li-Fraumeni**, una condizione rara, in cui si riscontra un aumento del rischio di tumori al seno e al cervello, osteosarcomi, tumori dei tessuti molli e delle ghiandole surrenali.

Altre sindromi, raggruppate sotto la sigla **MEN** (Multiple Endocrine Neoplasia) sono caratterizzate da diverse combinazioni di tumori benigni e maligni in vari tessuti, in particolare in quelli ghiandolari endocrini, dalla tiroide al pancreas, con formazioni tumorali in altri tessuti e talvolta anomalie di altro tipo.

Mutazioni nel gene oncosoppressore **PTEN** determinano la sindrome di Cowden, una rara malattia caratterizzata dallo sviluppo di numerosi tumori benigni con un aumentato rischio di tumori maligni che interessano il seno, la tiroide, l'endometrio, il rene e il colon-retto.

La probabilità di un'origine familiare della malattia aumenta con un alto numero di casi in famiglia (soprattutto se nello stesso ramo) e con l'età giovanile di insorgenza.

Altri fattori che fanno sospettare una predisposizione familiare sono:

- diversi casi in famiglia di un tumore raro, come quello al rene;
- diverse generazioni consecutive colpite dal cancro;
- sviluppo di più tumori nello stesso individuo (per esempio, in una donna, seno e ovaio);
- tumori che colpiscono bilateralmente gli stessi organi (entrambe le mammelle, per esempio);
- più di un tumore pediatrico tra fratelli;
- tumori molto rari nel sesso del soggetto affetto, come il tumore al seno in un uomo.

CONSERVAZIONE CAMPIONI BIOLOGICI E DATI

Il materiale biologico prelevato verrà conservato presso il Laboratorio C3G per il periodo dell'analisi o per il perseguimento degli scopi per i quali il materiale è stato raccolto e in ogni caso per un periodo di almeno dieci (10) anni dalla ricezione del campione. Trascorso tale lasso di tempo il materiale biologico sarà distrutto.

I dati analitici ed informatici vengono conservati per 20 anni.

I file che contengono i dati di sequenza e le analisi relative sono conservati per un periodo variabile: quelli chiamati BAM e/o FASTQ saranno conservati per almeno 2 anni, quelli denominati VCF per 20 anni.

Il trattamento avverrà esclusivamente dal personale espressamente autorizzato, nel rispetto delle misure di sicurezza previste.

NOTE INFORMATIVE SULL'ESECUZIONE DEL TEST

Recentemente sono stati sviluppati metodi per l'analisi del DNA che permettono di analizzare contemporaneamente numerosi geni (sequenziamento mediante tecnologie di *next-generation sequencing*). Questi metodi possono essere utilizzati per effettuare la diagnosi molecolare di malattie genetiche ereditarie.

- **Modalità di esecuzione del test:** sequenziamento massivo in parallelo dell'intera sequenza del genoma umano. Per effettuare la diagnosi molecolare è di norma sufficiente un prelievo di sangue. In rari casi (scarsa qualità del DNA) è possibile dover ripetere il prelievo (opzione preferibile), in alternativa è possibile utilizzare la saliva.
- **Modalità di individuazione delle varianti:** i risultati del sequenziamento verranno analizzati per individuare le varianti correlate al fenotipo clinico ossia analisi del gene/geni candidato/i: si tratta di uno o pochi geni causativi della patologia. In caso negativo, ossia assenza di varianti in un set specifico di geni, le analisi potranno essere estese a pannelli più ampi, qualora se ne ravvisi l'utilità clinica.
- **Possibili risultati del test:**

I risultati che si possono ottenere con questo tipo di test sono:

1. Identificazione della variante causativa di malattia. In questo caso i risultati del test possono riguardare, oltre al soggetto che lo ha eseguito, anche gli altri componenti del nucleo biologico, in quanto le anomalie genetiche possono essere ereditabili e/o trasmissibili. L'identificazione della variante può in rari casi avere come conseguenza una ridefinizione della malattia.
2. Non identificazione della variante causativa di malattia. Questo non esclude che la patologia abbia una base genetica, ma questa potrebbe essere associata a geni non compresi nel pannello o al momento non validati come associati alla patologia. In questo caso non è utile analizzare eventuali familiari.
3. Identificazione di una variante non associabile con certezza alla malattia. In questo caso l'esecuzione del test nei genitori/figli o in altri consanguinei potrebbe essere utile per chiarirne il ruolo.

In questi ultimi 2 casi, sarà comunque cura del Laboratorio C3G riesaminare i dati di sequenza periodicamente (ogni 2 anni circa), al fine di identificare varianti genetiche causa di malattia, che al momento dell'indagine non erano ancora note.

COMUNICAZIONE DEI RISULTATI:

I risultati dell'analisi dell'indagine molecolare mediante analisi *next-generation sequencing* verranno comunicati al medico curante e comunicati dallo stesso a lei. Qualora il Suo medico curante ne ravvisi la necessità potrà essere indirizzato ad una visita di consulenza genetica per discutere con un genetista medico le implicazioni del test, le ulteriori opzioni disponibili e qualsiasi altra informazione Lei riterrà necessaria.

TEMPI DI RISPOSTA MEDI:

60 giorni dal prelievo.

CONTATTI

Per qualsiasi domanda o chiarimento riguardante le analisi, o se si desidera modificare il proprio consenso, si prega di mettersi in contatto con i clinici o le strutture di riferimento:

Dr.....
Struttura Complessa.....
Ospedale.....
Contatti.....
Luogo e data.....